



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale Sciences de la matière

présentée par

Kenny Mebrouk

Préparée à l'unité de recherche UMR CNRS 6226

Institut des Sciences Chimiques de Rennes

UFR Sciences et Propriétés de la Matière

**Etudes des propriétés
optiques dans le NIR
des complexes Ni-
bis(dithiolène) neutres
pour des applications
en sciences des
matériaux et
biotechnologies**

**Thèse soutenue à Rennes
le 11 Octobre 2016 :**

devant le jury composé de :

Elena Ishow

Professeure Université de Nantes / *rapporteur*

Philippe Mesini

DR CNRS ICS, Strasbourg / *rapporteur*

Laurent Bouteiller

DR CNRS Université Pierre et Marie Curie / *examineur*

Yannick Arlot-Bonnemains

DR CNRS Université de Rennes 1 / *examinatrice*

Franck Camerel

CR CNRS Université de Rennes 1 / *directeur de thèse*

Marc Fourmigué

DR CNRS Université de Rennes 1 / *co-directeur de thèse*

Sommaire

<u>Introduction générale</u>	1
Chapitre 1 : Généralités sur les complexes dithiolène	3
<u>1. Définitions</u>	5
<u>2. Structure électronique</u>	7
<u>3. Propriétés physico-chimiques des complexes dithiolène</u>	11
3.1. Propriétés électrochimiques	11
3.2. Propriétés optiques	14
<u>4. Les différentes voies de synthèse des complexes dithiolène</u>	20
4.1. Synthèse des complexes $[Ni(R_2edt)_2]$ via l'intermédiaire dithiocétone	20
4.2. Synthèse des complexes $[Ni(R_2edt)_2]$ via l'intermédiaire dithiolate	21
<u>5. Objectifs du projet de thèse</u>	23
Chapitre 2 : Les complexes Ni-bis(dithiolène) pour la thérapie photothermique (PTT)	27
<u>1. Introduction à la PTT</u>	29
<u>2. Généralités sur les nanoparticules inorganiques</u>	31
2.1. Effet de perméabilité et de rétention tissulaire (EPR)	33
2.2. Les nanostructures d'or utilisées en PTT	34
2.3. Les limites des nanostructures d'or	37
<u>3. Les agents photothermiques organiques</u>	39
3.1. Les nanoparticules polymériques	39
3.2. Les porphysomes	41
3.3. Les colorants-NIR organiques	43
<u>4. Conclusion</u>	46
<u>5. Synthèse, caractérisation et utilisation de complexes Ni-bis(dithiolène) neutres pour la PTT</u>	47
5.1. Synthèses	48
5.1.1. Complexe dithiolène pégylés $[Ni(dtedt)_2]^0-(PEG)_4$	48
5.1.2. Complexes dithiolène pégylés $[Ni(dphedt)_2]^0-(PEG)_4$ et $[Ni(dphedt)_2]^0-(PEG)_8$..	49

5.1.3. Solubilité dans l'eau et propriétés optiques	50
5.2. Propriétés photothermiques du complexe $[Ni(dphedt)_2]^0-(PEG)_8$	51
5.2.1. Mesure de l'effet photothermique	51
5.2.2. Mesure de l'efficacité photothermique (η)	54
5.3. Étude in vitro du $[Ni(dphedt)_2]^0-(PEG)_8$ comme agent photothermique pour la PTT.....	57
5.4. Synthèse et étude cytotoxique du complexe $[Pt(dphedt)_2]^0-(PEG)_8$	60
5.5. Conclusion et perspectives.....	63

Chapitre 3 : Encapsulation de complexes Ni-bis(dithiolène) pour la libération photothermique contrôlée de principes actifs 67

<u>1. Introduction</u>	69
1.1. Les nanoparticules polymériques biocompatibles	71
1.2. Les liposomes utilisés en PTCR	73
<u>2. Applications des nanostructures inorganiques en PTCR</u>	77
<u>3. Applications des agents photoactifs organiques en PTCR</u>	82
3.1. Les nanoparticules organiques photoactives	82
3.1.1. Les nanoparticules polymériques photoactives.....	82
3.1.2. Les liposomes photoactifs.....	84
3.2. Les colorants-NIR organiques photoactifs pour la PTCR.....	87
3.3. Conclusion	94
<u>4. Applications des Ni-bis(dithiolène) en PTCR</u>	96
4.1. Nanovecteurs thermosensibles utilisés	96
4.1.1. Les nanoparticules polymériques à base de PEG_{42} -b-PMLABe	96
4.1.2. Méthodes de caractérisation des nanoparticules	99
4.1.3. Les liposomes à base d'Egg PC- PEG_{2000} -DSPE	102
4.2. Encapsulation des complexes Ni-bis(dithiolène).....	104
4.2.1. Nature des complexes Ni-bis(dithiolène) encapsulés	104
4.2.2. Préparation et caractérisation des NPs- PEG_{42} -b-PMLABe- Ni4C₁₂	105
4.2.3. Préparation et caractérisation des Lp- Ni8C₁₂ et des Lp- Ni8PEG	108
4.3. Libération photothermique contrôlée de carboxyfluorescéine ou de Doxorubicine.....	114
4.3.1. Les complexes Ni-bis(dithiolène) et l'oxygène singulet	114

4.3.2. Préparation et étude du relargage des NPs-PEG ₄₂ -b-PMLABe- Ni4C₁₂ -Dox	115
4.3.3. Préparation et étude du relargage des Lp- Ni8C₁₂ -CF.....	120
4.4. Études de cytotoxicité <i>in vitro</i> des nouveaux systèmes photoactifs	123
4.5. Conclusion et perspectives.....	125

Chapitre 4 : Les complexes Ni-bis(dithiolène) comme

métallogélifiants photoactifs..... 127

1. Généralités sur les gels 129

1.1. Les gélifiants de faible masse moléculaire 129

1.2. Les métallogélifiants..... 132

1.2.1. Les métallogels magnétiques..... 133

1.2.2. Les métallogels catalytiques..... 134

1.2.3. Les métallogels luminescents 134

1.2.4. Les métallogélifiants à cœur métal-bis(dithiolène) 138

2. Contrôle photothermique des propriétés de gélification de métallogels à base de Ni-bis(dithiolène) 142

2.1. Contrôle des propriétés de gélification d'organogels à l'aide de nanoparticules d'or..... 142

2.2. Les métallogels photoréactifs à base de [Ni(dphedt)₂]⁰-(cholestérol)₈..... 144

2.2.1. Synthèse des complexes [Ni(dphedt)₂]⁰-(cholestérol)₈..... 145

2.2.2. Caractérisation et tests de gélification des complexes [Ni(dphedt)₂]⁰-(cholestérol)₈..... 146

2.2.3. Étude de l'activité photothermique des métallogélifiants [Ni(dphedt)₂]⁰-(cholestérol)₈..... 150

3. Conclusion 154

Chapitre 5 : Ni-bis(timdt) : des complexes à fort potentiel..... 157

1. Introduction 159

2. Synthèse et propriétés des complexes [Ni(R₂-timdt)₂]..... 162

2.1. Nouvelle voie de synthèse des complexes [Ni(R₂-timdt)₂] 162

2.2. Propriétés optiques, électrochimiques et thermiques des [Ni(R₂-timdt)₂] 166

2.2.1. Propriétés optiques des complexes [Ni(R₂-timdt)₂] 166

2.2.2. Propriétés électrochimiques des complexes [Ni(R₂-timdt)₂]..... 168

2.2.3. Propriétés thermiques des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$	170
2.3. Étude de l'activité photothermique des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$	171
3. Conclusion	174
<u>Conclusion générale et perspectives</u>	177
Annexes	183
<u>Annexe A : Partie expérimentale</u>	185
<u>Annexe B du chapitre 1</u>	215
<u>Annexe C du chapitre 3</u>	225
<u>Annexe D du chapitre 4</u>	229
<u>Annexe E du chapitre 5</u>	235

Liste des abréviations

¹O₂	: Oxygène singulet
AFM	: Atomic Force Microscopy
BV	: Basse Vacante
CF	: CarboxyFluorescéine
CMG	: Concentration Minimum de Gélification
Cp	: Cyclopentadiényle
Cr	: Cristalline
Croc	: Croconaine
DFT	: Density Functional Theory
DLS	: Dynamic Light Scattering
dmedt	: 1,2-diméthyléthylène-1,2-dithiolate
DMI	: 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone
dmit	: 1,3-dithiole-2-thione-4,5-dithiolate
dmpe	: diméthylphosphine
Dox	: Doxorubicine
DPBF	: 1,3-diphénylisobenzofurane
dphedt	: 1,2-diphényléthylène-1,2-dithiolate
dtedt	: 1,2-dithioléthylène-1,2-dithiolate
edt	: éthylène-1,2-dithiolate
EPR	: Effet de Perméabilité et de Rétention
GUV	: Giant Unilamellar Vesicles
HO	: Haute Occupée
ICG	: IndoCyanine Green
IR	: InfraRouge
Iso	: Isotrope
LMWGs	: Low Molecular Weight Gelators
Lp	: Liposome
LSPR	: Localized Surface Plasmon Resonance
LTSL	: Low Temperature Sensitive Liposome
LUV	: Large Unilamellar Vesicles
MLV	: MultiLamellar Vesicles
mnt	: 1,2-maléonitrile-1,2-dithiolate
NIR	: Near Infrared
NPs	: Nanoparticules
OA	: Orbitale Atomique
OM	: Orbitale Moléculaire
PAA	: Acide PolyAcrylique
PAH	: Poly(allylamine)
PDT	: PhotoDynamique Therapy
PEDOT:PSS	: Poly(3,4-ÉthylèneDioxyThiophène):Poly(4-Styrène-Sulfonate)
PEG	: PolyÉthylène Glycol
PLGA	: Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)

PMLABe	:	Poly(MaLAte Benzyle)
POM	:	Polarized Optical Microscopy
PTCR	:	PhotoThermal Control Release
PTT	:	PhotoThermal Therapy
PTX	:	PacliTaXel
R2-timdt	:	N,N'-dialkylimidazolidine-2,4,5-trithione
ROS	:	Reactive Oxygen Species
R-thiazdt	:	N-alkyle-1,3-thiazoline-2-thione-4,5-dithiolate
RX	:	Rayons-X
SAXS	:	Small Angle X-ray Scattering
SOMO	:	Singly Occupied Molecular Orbitals
SUV	:	Small Unilamellar Vesicles
TEM	:	Transmission Electron Microscopy
T_{sol-gel}	:	Température de transition sol-gel
UV	:	Ultra-Violet

Introduction générale

Introduction générale

Aujourd'hui, un des grands sujets de recherche des laboratoires de chimie concerne l'élaboration de nouvelles molécules et matériaux de plus en plus performants pour les besoins de l'être humain et de la société. Dans cet esprit, depuis plusieurs décennies, les complexes dithiolène possédant des métaux de transitions comme le nickel, le palladium ou le platine font l'objet de nombreuses recherches, du fait de leurs propriétés optiques, électriques et magnétiques remarquables. De plus, ces composés présentent un système délocalisé d'électrons π , un cœur électroactif et riche en atomes de soufre, permettant de fortes interactions intermoléculaires à l'état solide. L'auto-assemblage de ces complexes conduit à la formation de matériaux possédant notamment des propriétés optiques et magnétiques très intéressantes.

Ce travail s'intéresse plus particulièrement aux propriétés optiques des complexes Ni-bis(dithiolène) neutres, qui ont la particularité, du fait de leur forte absorption et de leur non-luminescence, de posséder un effet photothermique dans le proche infrarouge (NIR). L'objectif est d'utiliser cette capacité à émettre de la chaleur sous irradiation laser NIR pour des applications en sciences des matériaux et en biotechnologie.

Le premier chapitre commencera par des rappels bibliographiques sur les complexes dithiolène puis se focalisera sur la structure électronique des complexes Ni-bis(dithiolène) afin de mieux comprendre l'origine de leur forte absorption dans le NIR.

Le second chapitre a pour but d'utiliser l'effet photothermique de ces complexes neutres pour la thérapie photothermique (PTT). Cette technique consiste à utiliser la chaleur émise par ces composés, sous irradiation laser, afin de détruire des cellules cancéreuses. Après une introduction sur cette technique et sur les agents photothermiques utilisés aujourd'hui, nous décrirons la conception et la synthèse de complexes de Ni-bis(dithiolène) neutres hydrosolubles, puis nous quantifierons pour la première fois l'effet photothermique de ce type de complexes et enfin nous les utiliserons en PTT *in vitro*.

Le but du troisième chapitre est d'exploiter les propriétés photothermiques de ces composés dans des nanovecteurs polymériques et lipidiques afin de faire de la libération

photothermique contrôlée de principes actifs ou de fluorophores sous irradiation laser NIR (PTCR).

L'objectif du quatrième chapitre va être d'élaborer des organogels de Ni-bis(dithiolène), capable de se désagréger sous irradiation laser NIR, afin d'en faire des systèmes potentiels pour la libération contrôlée de principe actifs.

Dans une dernière partie, nous nous intéresserons aux complexes de nickel de N,N'-dialkylimidazolidine-2,4,5-trithione ($[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$), connus pour posséder une très forte absorption dans le NIR. Après avoir développé une nouvelle voie de synthèse, à partir de liquide ionique, nous montrerons que ces composés possèdent des propriétés photothermiques supérieures aux autres systèmes métal-bis(dithiolène) précédemment étudiés, ce qui en fait des complexes très prometteurs pour les applications énoncées ci-dessus.

Chapitre 1 : Généralités sur les complexes dithiolène

Chapitre 1 : Généralités sur les complexes dithiolène

1. Définitions

Les complexes dithiolène ont connu un engouement important depuis ces 50 dernières années, notamment pour l'élaboration de matériaux moléculaires conducteurs ou à propriétés optiques dans le proche infrarouge (NIR).¹ Ces molécules sont constituées de un ou plusieurs ligands éthylène-1,2-dithiolate dont les atomes de soufre sont coordonnés à un centre métallique (Figure 1). Selon la nature du métal et des substituants (**R**) portés par le ligand éthylène-1,2-dithiolate, les complexes posséderont des propriétés optiques et électrochimiques très différentes. De plus, en fonction de la configuration électronique du métal, il y aura un, deux ou trois ligands coordonnés au métal.

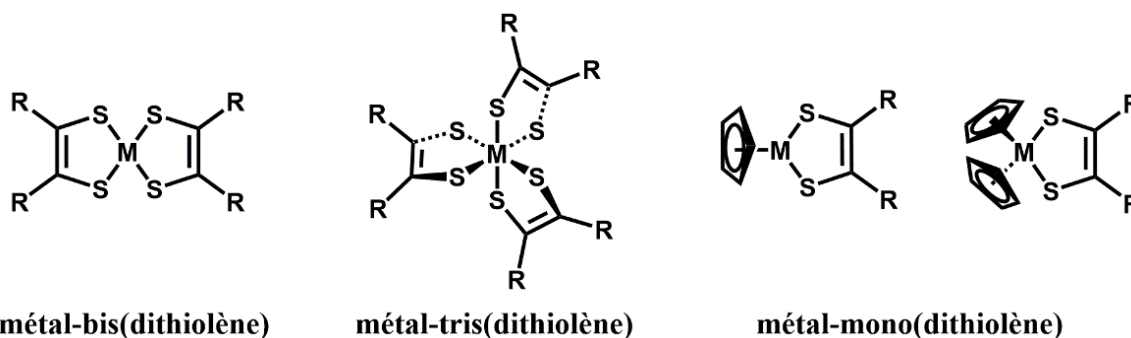


Figure 1 : Illustration de différents complexes dithiolène

Il existe quelques exemples de complexes métal-mono(dithiolène) avec le ligand cyclopentadiényle (Cp).² Les composés métal-tris(dithiolène) sont quant à eux rencontrés avec les métaux de transition des colonnes 4 à 8 (Ti, V, Fe,...).³ Ces complexes adoptent alors une géométrie octaédrique ou trigonale prismatique, en fonction du métal et du degré d'oxydation. Cependant, ces deux familles de complexes dithiolène ne sont pas les plus répandues dans la littérature. Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux complexes métal-bis(dithiolène), qui peuvent être formés avec des métaux de transition des groupes 8 à 12. De tous ces métaux, les plus couramment rencontrés sont le nickel (Ni(II)), le palladium (Pd(II)), le platine (Pt(II)) et l'or (Au(III)). Ces complexes de configuration d^8 ont une géométrie plan

¹ Stiefel E. I. *Prog. Inorg. Chem.* **2004**, vol 52 (Revue).

² (a) Nomura, M.; Geoffroy, M.; Adkine, P.; Fourmigué, M. *Inorg. Chem.* **2006**, 24, 5012-5021; (b) Guyon, F.; Fourmigué, M.; Clérac, R.; Amaudrut, J. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1996**, 21, 4093-4098; (c) Fourmigué, M.; Lenoir, C.; Coulon, C.; Guyon, F.; Amaudrut, J. *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 4979-85.

³ Wang, K. *Prog. Inorg. Chem.* **2004**, 52, 267.

carré et certains d'entre eux peuvent être dimérisés à l'état solide (Figure 2) du fait d'interactions métal-métal ($M \cdots M$) ou métal-soufre ($M \cdots S$) entre les composés.⁴

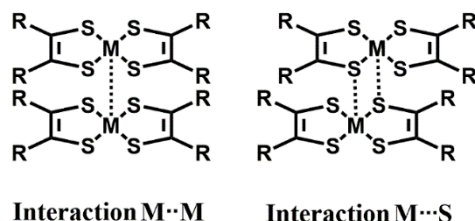


Figure 2 : Illustration des interactions responsables de la dimérisation de certains complexes

De plus, ces complexes peuvent être homoleptiques, c'est-à-dire que le centre métallique est coordonné uniquement par des ligands éthylène dithiolate.⁵ Cependant, il faut noter que dans cette classe de composés, il existe une distinction entre les complexes symétriques où le métal est coordonné par des ligands dithiolène identiques (Figure 3 : $[M(mnt)_2]$) et les composés dissymétriques où cette fois-ci le métal est coordonné par des ligands dithiolène de nature différente (Figure 3 : $[M(dmit)(mnt)]$). Enfin, ces complexes peuvent aussi être hétéroleptiques, dans ce cas, le métal est coordonné par des ligands de différente nature (Figure 3 : $[M(dmpe)(edt)]$).⁶

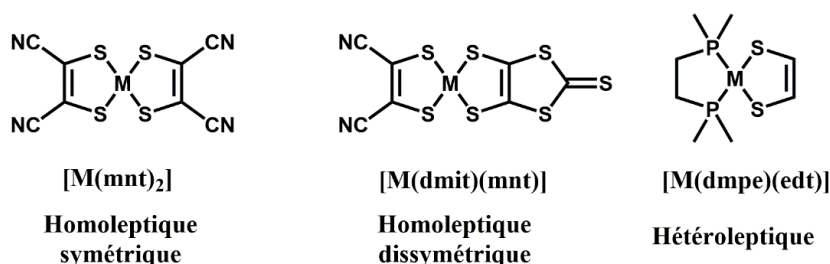


Figure 3 : Illustration des complexes métal-bis(1,2-maléonitrile-1,2-dithiolate) $[M(mnt)_2]$, métal-(1,3-dithiole-2-thione-4,5-dithiolate)(1,2-maléonitrile-1,2-dithiolate) $[M(dmit)(mnt)]$ et métal-bis(diméthylphosphino)(éthane)(éthylènedithiolate) $[M(dmpe)(edt)]$.

Par conséquent, il existe un très grand nombre de complexes dithiolène, se différenciant les uns des autres par leur centre métallique, la nature des ligands et leur nombre. Ces travaux de thèse s'intéresseront plus particulièrement aux propriétés électroniques des complexes homoleptiques et symétriques de Ni-bis(dithiolène) neutres, pour des applications en science des matériaux et en biotechnologie. Dans cet objectif, la prochaine partie détaillera la structure électronique de ces composés, afin de mieux comprendre l'origine des propriétés optiques de ces complexes Ni-bis(dithiolène) plan carré.

⁴ Mueller-Westerhoff, U. T.; Nazzari, A.; Cox, R. J.; Giroud, A. M. *Mol. Cryst. Liquid Cryst.* **1980**, 56, 249-255.

⁵ Faulmann, C.; Cassoux, P. *Prog. Inorg. Chem.* **2004**, 52, 399.

⁶ Bevilacqua, J. M.; Zuleta, J. A.; Eisenberg, R. *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 258-66.

2. Structure électronique

Le diagramme orbitalaire du ligand éthylène-1,2-dithiolate (edt^{2-}) peut être déterminé en s'appuyant sur le diagramme orbitalaire π du butadiène. En effet, une analogie peut être faite entre les quatre orbitales π du butadiène ($\Psi_1, \Psi_2, \Psi_3, \Psi_4$) et celles du ligand edt^{2-} ($\Psi_1, \Psi_2, \Psi_5, \Psi_6$). Les deux atomes de carbone terminaux du butadiène sont quant à eux remplacés par des atomes de soufre. Le système énergétique du ligand edt^{2-} représenté ci-dessous (Figure 4b) est restreint aux niveaux proches de la HO et de la BV. De ce fait, la plupart des OM liantes et antiliantes de type σ constituant le squelette du ligand ne sont pas représentées ici puisqu'elles sont respectivement de plus basse et de plus haute énergie. Dans cette fenêtre énergétique, le système est composé de 4 OM π ($\Psi_1, \Psi_2, \Psi_5, \Psi_6$) correspondant à celles du butadiène et de 2 OM σ (Ψ_3, Ψ_4) correspondant aux OA de type p_x ou p_y des atomes de soufre. Il faut noter que la HO du ligand edt^{2-} a la même symétrie que la BV du butadiène (Figure 4a-b).

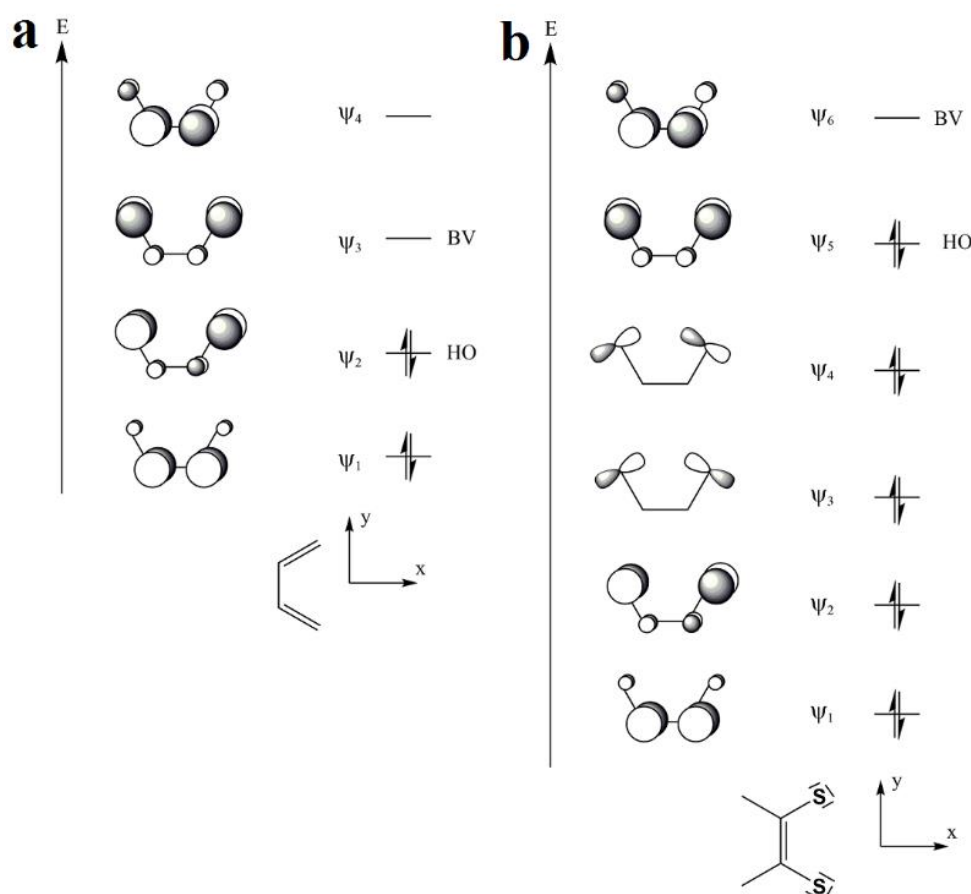


Figure 4 : Diagramme des orbitales moléculaires (a) du butadiène et (b) du ligand éthylène-1,2-dithiolate (edt^{2-})

Puisque nous allons travailler avec des complexes bis-coordinés, la seconde étape est de déterminer le diagramme orbitalaire de deux ligands éthylène-1,2-dithiolate réunis en configuration plan carré (Figure 5). En fait, chacune des OM $\Psi_1, \Psi_2, \Psi_3, \Psi_4, \Psi_5$ et Ψ_6 , décrites

ci-dessus, va générer une OM liante (Ψ'_n , n = impaire) et une OM antiliante (Ψ'_n , n = paire). Comme les deux fragments éthylène-1,2-dithiolate sont assez éloignés l'un de l'autre, il n'y a pas de réelles liaisons $S \cdots S$ entre les deux ligands, par conséquent les OM liantes et antiliantes sont quasiment dégénérées (Ψ'_1 / Ψ'_2 , $\Psi'_3 / \Psi'_4 \dots$), c'est-à-dire de niveau d'énergie très proche (Figure 5).

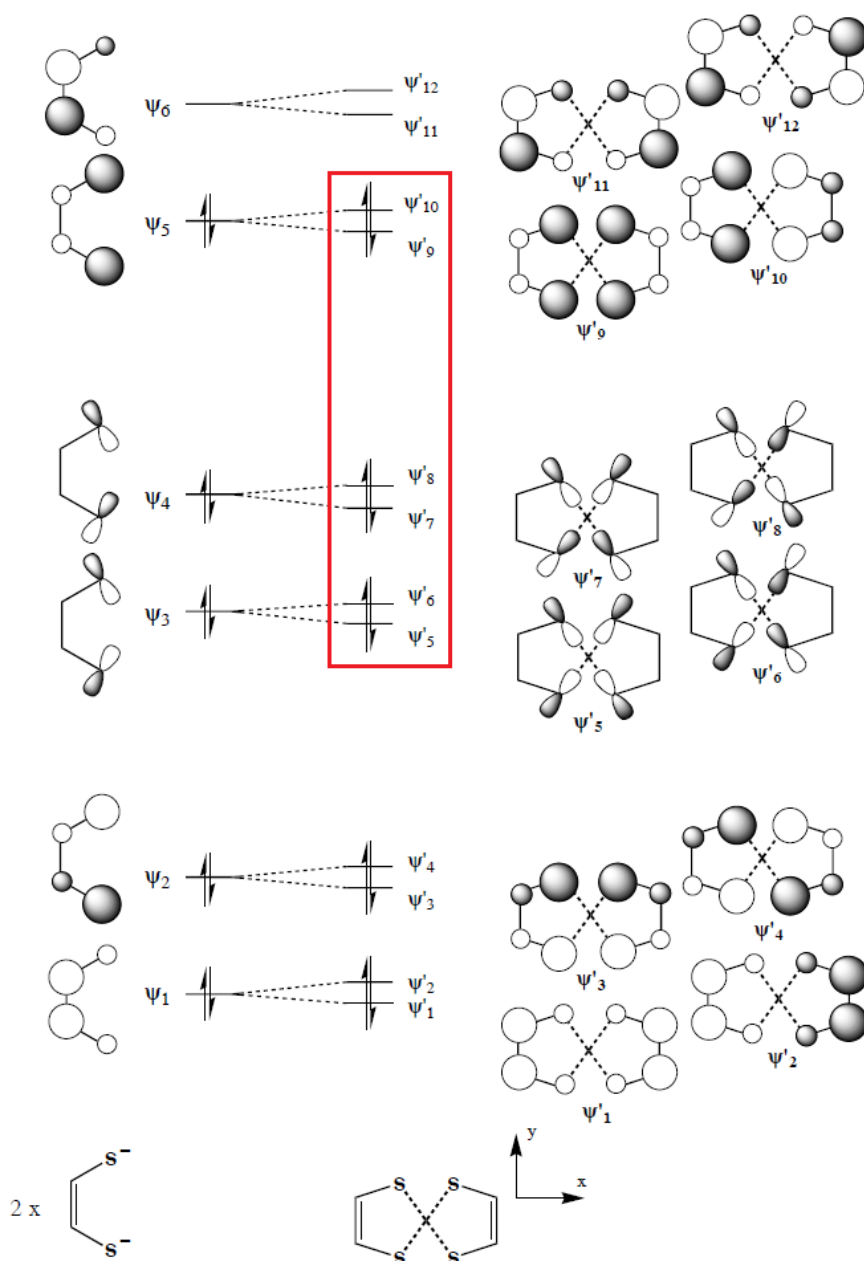


Figure 5 : diagramme orbitalaire de deux ligands éthylène-1,2-dithiolate réunis en configuration plan carré

En s'appuyant sur ces informations, le diagramme orbitalaire d'un complexe de Ni-bis(dithiolène) va pouvoir être obtenu par interaction des 12 OM décrites ci-dessus (Figure 5), avec les orbitales d du métal. Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux orbitales

frontières (Ψ'_7 à Ψ'_{10}), c'est-à-dire dans la région où s'effectuent les transitions électroniques à l'origine des propriétés optiques de ces complexes. Les OM du fragment bis(éthylène-1,2-dithiolate), de symétrie D_{2h} , vont interagir avec les orbitales d du métal de même symétrie. Dans ce groupe D_{2h} , les orbitales du métal d_{xy} , d_{xz} , d_{yz} , $d_{x^2-y^2}$ et d_z^2 sont respectivement de symétrie B_{1g} , B_{2g} , B_{3g} , A_g et A_g , tandis que les OM Ψ'_7 , Ψ'_8 , Ψ'_9 et Ψ'_{10} du ligand sont respectivement des OM de symétrie B_{2u} , B_{1g} , B_{1u} et B_{2g} . Ainsi seules les OM d_{xy} et d_{xz} vont interagir respectivement avec les Ψ'_8 et Ψ'_{10} , de même symétrie, pour former les OM B_{1g} et B_{2g} liantes (l) et antiliantes (al) (Figure 6). Les OM B_{2u} , B_{1u} , B_{3g} et A_g seront quant à elles non liantes (nl) car elles n'ont aucune symétrie commune. Il faut noter que les OM B_{1g} liante et antiliante sont à des niveaux respectivement plus bas et plus haut en énergie (Figure 6) car la liaison est de nature σ et non π contrairement aux OM B_{2g} .

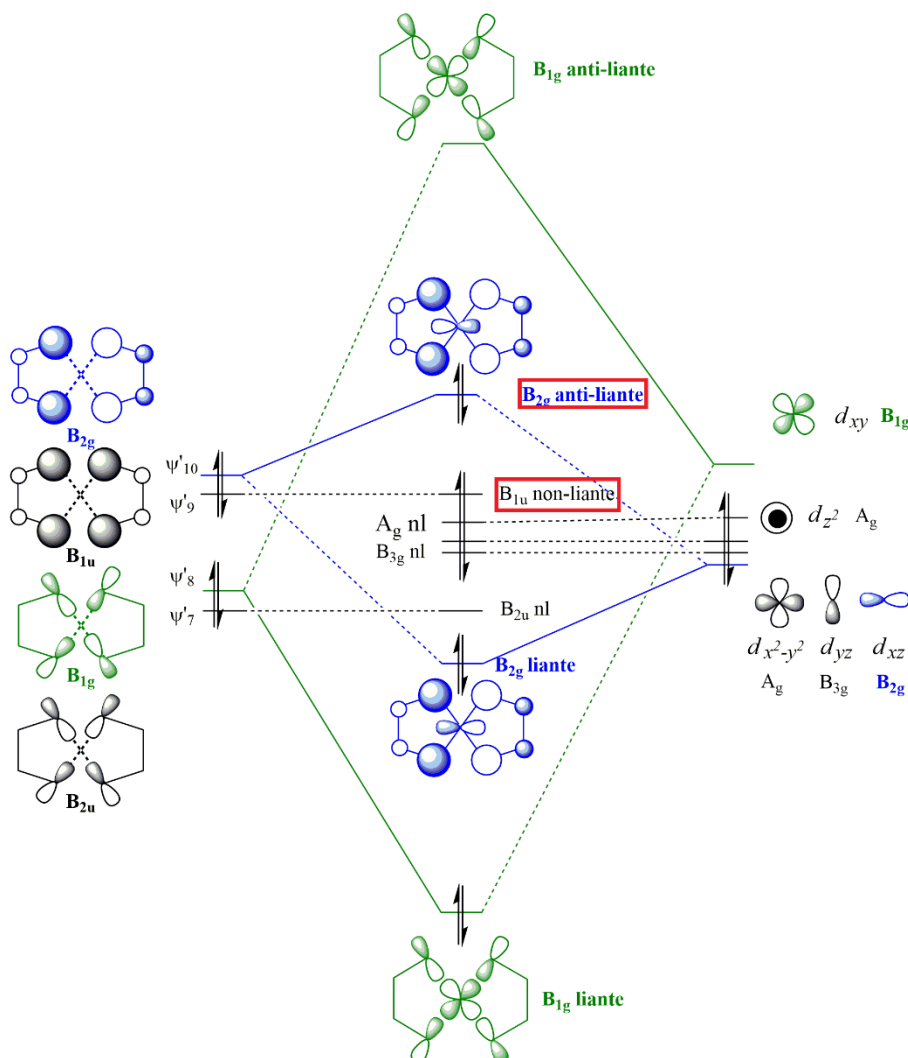


Figure 6 : Diagramme qualitatif des orbitales moléculaires d'un complexe Ni-bis(dithiolène) dianionique, $[\text{Ni}(\text{edt})_2]^{2-}$

Il faut maintenant remplir les orbitales moléculaires du complexe Ni-bis(dithiolène) avec les électrons disponibles. Le fragment bis(éthylène-1,2-dithiolate) possède 8 électrons répartis équitablement sur ses OM $\Psi'_7, \Psi'_8, \Psi'_9$ et Ψ'_{10} . Le nombre d'électrons que possède le nickel dépendra de son degré d'oxydation. Prenons l'exemple ici d'un complexe dianionique de Nickel (II) d^8 qui possède donc 8 électrons. Par conséquent, il y a 16 électrons à répartir sur les différentes OM, en commençant par remplir celles de plus basse énergie (B_{1g} liante). Il faut noter que dans cet état d'oxydation le complexe $[\text{Ni}(\text{edt})_2]^{2-}$ possède une HO (Figure 7) de haute énergie, il sera donc facile à oxyder.

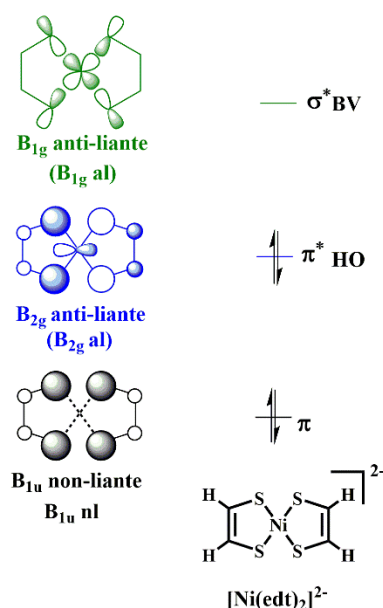


Figure 7 : Illustration des orbitales frontières d'un complexe de Ni-bis(dithiolène) dianionique $[\text{Ni}(\text{edt})_2]^{2-}$

Dans le prochain paragraphe, nous allons nous intéresser à l'influence du degré d'oxydation du complexe sur son diagramme orbitalaire et aux différentes propriétés résultantes.

3. Propriétés physico-chimiques des complexes dithiolène

3.1. Propriétés électrochimiques

Les complexes Ni-bis(dithiolène) peuvent exister sous différents états d'oxydation, du fait du métal qui peut s'oxyder mais également des ligands éthylène-1,2-dithiolate qui possèdent des propriétés rédox qui leurs sont propres. En effet ce ligand edt^{2-} , dit « non innocent »,⁷ peut s'oxyder d'une espèce dianionique en une espèce monoanionique radicalaire qui s'oxyde elle-même en espèce neutre, dithiocétone ou dithiète (Figure 8).

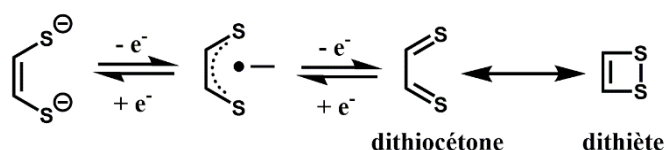


Figure 8 : Caractère non-innocent du ligand éthylène-1,2-dithiolate

Par conséquent, en fonction de l'état rédox du ligand mais aussi de celui du métal, les complexes Ni-bis(dithiolène) peuvent avoir jusqu'à quatre états rédox (Figure 9). Effectivement, le composé dianionique peut s'oxyder en espèce radicalaire monoanionique puis en espèce neutre et enfin en radical monocation. Néanmoins, lors de leur synthèse, ces complexes sont rarement obtenus sous forme de cation. De ce fait, nous allons nous focaliser sur les trois autres espèces.

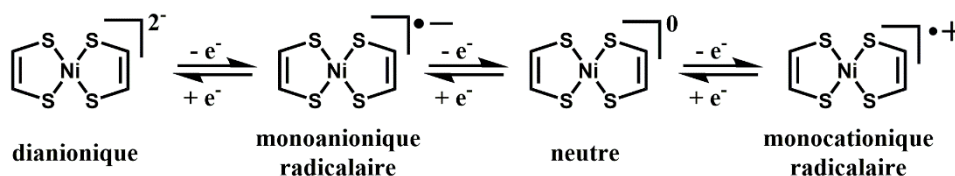


Figure 9 : Illustration des différents états rédox d'un complexe Ni-bis(dithiolène)

S'il n'y a aucune ambiguïté en ce qui concerne la configuration électronique du complexe de nickel dianionique (Voir Figure 6), à savoir deux ligands dithiolate de charge 2^- et un centre métallique Ni(II) d^8 , il en est autrement des autres espèces. En effet, l'espèce monoanionique radicalaire peut être présentée sous deux configurations électroniques, soit un Ni(III) d^7 avec deux ligands dithiolates 2^- , soit un Ni(II) d^8 avec un ligand dithiolate 2^- et l'autre radicalaire (Figure 10).⁸ En raisonnant de la même façon, il y a cette fois-ci quatre configurations possibles pour l'espèce neutre.

⁷ Mueller-Westerhoff, U. T.; Vance, B.; Yoon, D. I. *Tetrahedron* **1991**, 47, 909-932.

⁸ Lim, B.S.; Formichev, D. M.; Holm, R. H. *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 4257-4262.

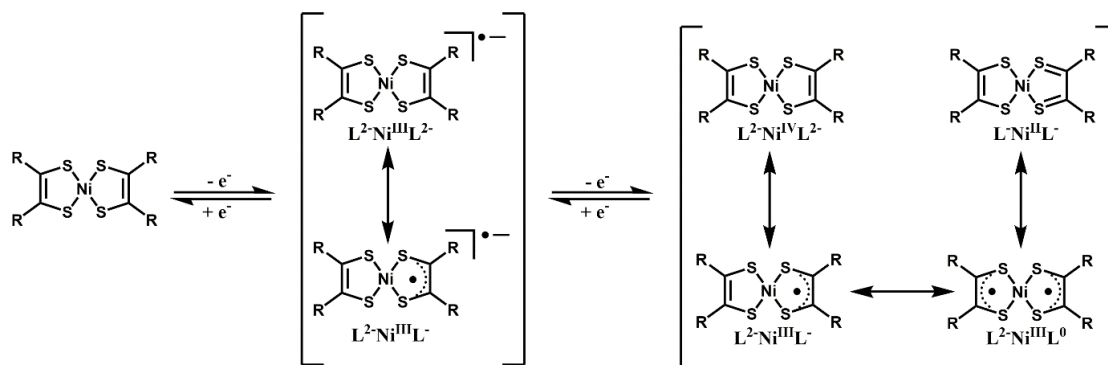


Figure 10 : Illustration des configurations des complexes Ni-bis(dithiolène) en fonction du degré d'oxydation.

Par conséquent, les complexes Ni-bis(dithiolène) ne doivent pas être considérés avec d'un côté les ligands et de l'autre le métal mais doivent être regardés dans leur ensemble, selon le remplissage des OM (Figure 11). Pour l'espèce dianionique, la HO correspond à la B_{2g} anti-liante, qui deviendra la SOMO (en anglais Singly Occupied Molecular Orbital) pour l'espèce monoanionique radicalaire puis la BV pour l'espèce neutre. Dans ces trois cas, cette OM a à la fois un caractère métallique et ligand, d'où une délocalisation des électrons dans le cœur du complexe.

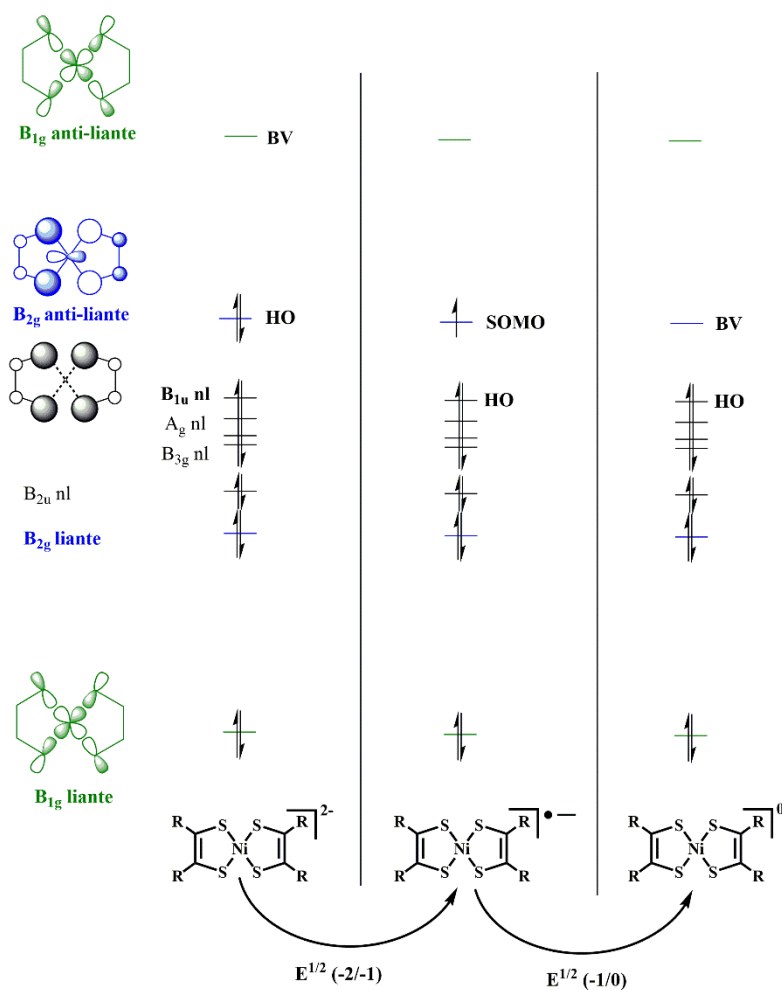


Figure 11 : Diagramme orbitalaire d'un complexe dithiolène en fonction de son degré d'oxydation.

Le degré d'oxydation du complexe Ni-bis(dithiolène) isolé est régi par le niveau énergétique de la HO et de la BV. En effet, un complexe est d'autant plus stable que sa HO et sa BV sont basses en énergie. Ainsi, des groupements électrodonneurs comme dans le cas du $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]^{2-}$ (Figure 12) vont enrichir le cœur dithiolène en électron, entraînant une élévation du niveau énergétique des OM frontières (HO et BV), avec une augmentation plus importante pour la HO. Par conséquent, ces composés vont donner facilement leurs électrons (oxydation) afin d'avoir une nouvelle HO de plus basse énergie. Ces composés à caractère réducteur sont donc majoritairement isolés sous forme neutre. Au contraire, les substituants électro-attracteurs (ex : $[\text{Ni}(\text{mnt})_2]$, Figure 12) vont descendre le niveau énergétique de la HO et de la BV, ce qui va stabiliser les espèces réduites (dianioniques). Le tableau ci-dessous illustre cette variation des propriétés rédox et des gammes de potentiel de stabilité des différents états, en fonction de la nature des substituants R.

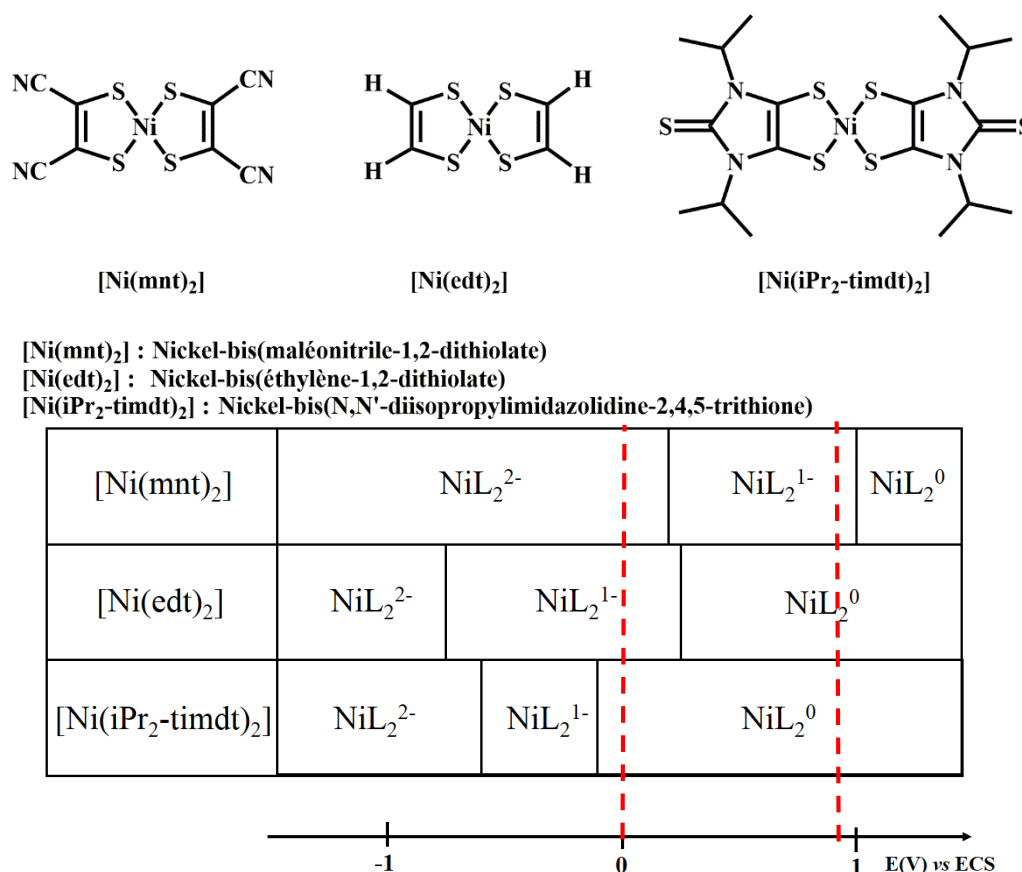


Figure 12 : Evolutions des potentiels rédox $\text{NiL}_2^{2-}/\text{NiL}_2^{1-}$ et $\text{NiL}_2^{1-}/\text{NiL}_2^0$ en fonction de la nature du ligand.

En conclusion, les complexes Ni-bis(dithiolène) peuvent exister à différents degrés d'oxydation, avec une densité électronique localisée sur le cœur du complexe (métal + ligands). Dans les conditions normales,* ces composés peuvent donc être isolés sous différentes formes,

* Une espèce est stable électrochimiquement à l'air dans une gamme de potentiel entre 0 et +0,8 V vs ECS

selon le caractère électrodonneur ou électroattracteur des groupements substituant les ligands éthylène dithiolate. En effet, les groupements donneurs favorisent la formation des espèces oxydées tandis que les substituants électroattracteurs celle des complexes dianioniques. Cette particularité électronique a également une influence sur les propriétés optiques de ces complexes Ni-bis(dithiolène), que nous allons maintenant détailler ci-dessous.

3.2. Propriétés optiques

Les complexes dithiolène absorbent fortement dans le proche infrarouge (NIR),^{4,7} cette propriété est due à une transition électronique π - π^* de faible énergie entre les OM B_{1u} non-liante (B_{1u} nl) et B_{2g} anti-liante (B_{2g} al). Dans le cas des complexes de Ni-bis(dithiolène), les composés monoanioniques et neutres peuvent donc absorber dans le NIR du fait de cette possible transition électronique (Figure 13). Les espèces dianioniques ne possèdent quant à elles pas cette propriété, puisque leurs OM B_{1u} nl et B_{2g} al sont toutes deux remplies et que la transition électronique entre la HO (B_{2g} al, π^*) et la BV (B_{1g} al, σ^*) est interdite de symétrie (Figure 13).

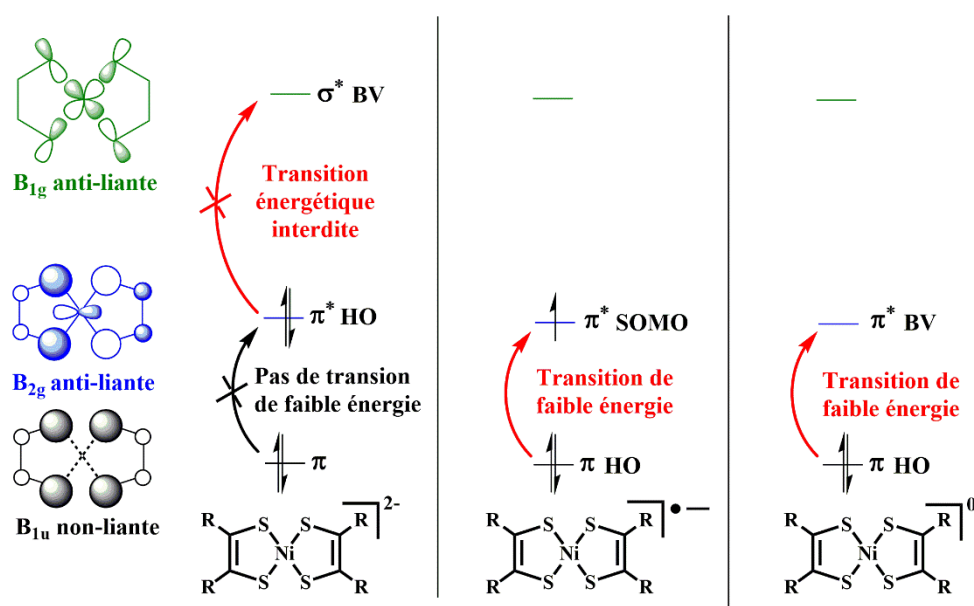


Figure 13 : Représentation des transitions énergétiques entre les orbitales frontières

Il faut noter, que pour un même complexe Ni-(bis)dithiolène, les espèces monoanioniques absorbent à des longueurs d'onde plus élevées dans le NIR, que les composés

neutres. A titre d'exemple, ce phénomène a été illustré au sein du laboratoire par Lorcy et coll.,⁹ en faisant de la spectroélectrochimie sur un complexe dianionique de Ni-bis(N-éthyle-1,3-thiazoline-2-thione-4,5-dithiolate) ($[\text{PPh}_4]_2[\text{Ni}(\text{Et-thiazdt})_2]$). En effet, l'espèce dianionique qui n'absorbe pas dans le NIR s'oxyde en espèce monoanionique, qui a un maximum d'absorption à 1280 nm ($\epsilon \sim 20\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$, Figure 14). Puis en continuant d'augmenter le potentiel appliqué à la solution, le $[\text{Ni}(\text{Et-thiazdt})_2]^{-1}$ s'oxyde au fur et à mesure en espèce neutre. Cela se traduit par l'apparition d'une bande d'absorption vers de plus faibles longueurs d'onde ($\lambda_{\text{max}} = 1022\text{ nm}$, $\epsilon = 55\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$, Figure 14).

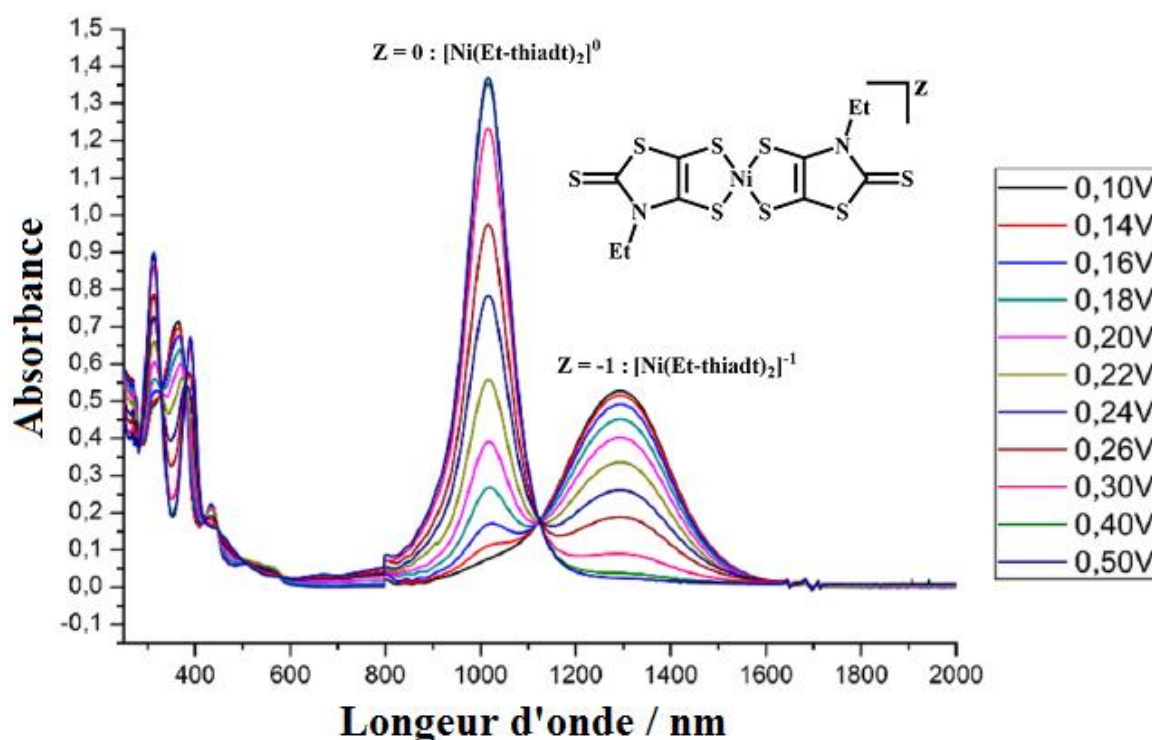


Figure 14 : Étude spectroélectrochimique de l'oxydation du complexe dianionique $[\text{PPh}_4]_2[\text{Ni}(\text{Et-thiazdt})_2]$ en solution dans le dichlorométhane et en présence de l'électrolyte $[\text{NBu}_4][\text{PF}_6]$ ($[\text{C}] = 0,2\text{ M}$). Ref 9.

Ce déplacement de la bande d'absorption en fonction du degré d'oxydation, s'explique par le fait que le gap énergétique (ΔE) entre les OM B_{1u} non-liante et B_{2g} antiliante est plus faible dans le cas de l'espèce monoanionique. Holm et coll.⁸ ont fait des calculs DFT (Density Functional Theory) sur des complexes de Ni-bis(1,2-diméthyléthylène-1,2-dithiolate) ($[\text{Ni}(\text{dmedt})_2]$) monoanionique ($\lambda_{\text{max}} = 932\text{ nm}$) et neutre ($\lambda_{\text{max}} = 771\text{ nm}$), afin d'estimer le gap énergétique entre les OM frontières (Figure 15).

⁹ Filatre-Furcate, A.; Bellec, N.; Jeannin, O.; Auban-Senzier, P.; Fourmigué, M.; Vacher, A.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2014**, 53, 8681-8690.

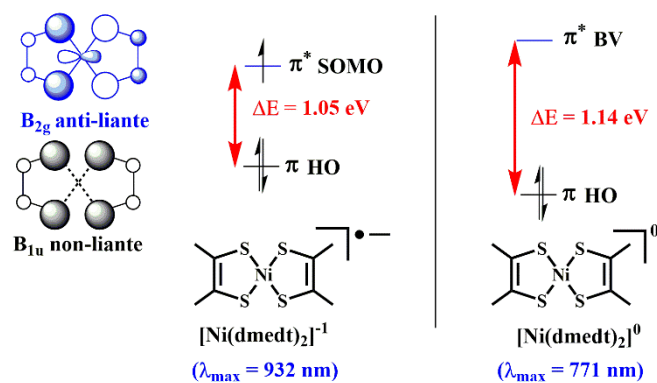


Figure 15 : Evolution du gap énergétique (ΔE) en fonction du degré d'oxydation

Ces calculs confirment que le ΔE entre les OM B_{1u} nl et B_{2g} al est plus faible dans le cas du complexe monoanionique $[\text{Ni}(\text{dmedt})_2]^{-1}$, avec une valeur de 1,05 eV tandis que pour l'espèce neutre il est de 1,14 eV. Le degré d'oxydation du complexe n'est pas le seul facteur permettant de faire varier la position de la bande d'absorption. Effectivement la nature des ligands influence aussi le gap énergétique des OM B_{1u} nl et B_{2g} al. Arca et coll. ont ainsi déterminé par DFT le gap énergétique de deux complexes neutres puis ont corrélé ces résultats à la position de leur bande d'absorption (Figure 16).¹⁰ Ces calculs montrent clairement que le gap énergétique entre les OM B_{1u} nl et B_{2g} al diminue avec le caractère donneur des substituants. En effet, l'enrichissement en électron du cœur dithiolène, permet d'augmenter plus fortement le niveau énergétique de la HO, que celui de la BV. Ainsi le complexe $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{-timdt})_2]^0$ absorbe à ~ 1000 nm alors que le complexe non substitué $[\text{Ni}(\text{edt})_2]^0$ absorbe à ~ 720 nm.

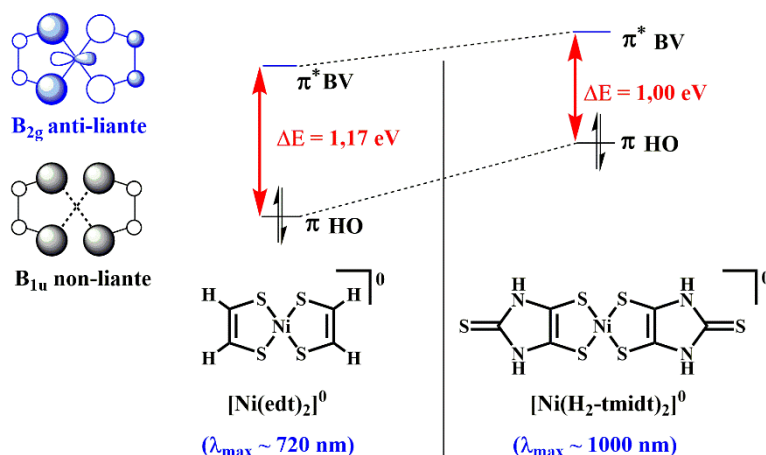


Figure 16 : Evolution du gap énergétique (ΔE) en fonction de la nature des substituants

¹⁰ Aragoni, M. C.; Arca, M.; Demartin, F.; Devillanova, F. A.; Garau, A.; Isaia, F.; Lelj, F.; Lippolis, V.; Verani, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7098-7107.

En conclusion, les complexes Ni-bis(dithiolène) absorbent fortement dans le NIR ($\epsilon \sim 20\,000\text{--}50\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$). La position de cette bande et son intensité dépendent du degré d'oxydation et de la nature des substituants du complexe. Par conséquent, en faisant varier ces paramètres, il est possible de moduler la longueur d'onde d'absorption des complexes dans le NIR. De ce fait, les composés Ni-bis(dithiolène) ont fait l'objet de nombreuses recherches notamment pour des applications dans les lasers pulsés.¹¹ Un exemple très répandu est celui des lasers solides de Nd/YAG qui sont utilisés par exemple en dermatologie.

Petit encart sur les lasers à colorants

Ce paragraphe est un petit aparté sur le principe de fonctionnement des lasers Nd/YAG qui ont utilisé les propriétés optiques remarquables des complexes Ni-bis(dithiolène). Le Nd/YAG est un solide cristallin d'yttrium et d'aluminium ($\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$, YAG) où 1% des ions yttrium (Y^{3+}) sont remplacés par des ions néodyme (Nd^{3+}). Le mécanisme d'action, pour un laser continu de Nd/YAG, consiste à exciter à $\sim 780\text{ nm}$ les ions Nd^{3+} à l'aide d'une lampe flash au krypton ou d'une diode laser, ce processus est appelé pompage optique. Les atomes passent alors dans leur état excité (E_2) jusqu'à inversion de la population, c'est-à-dire jusqu'à ce que le nombre d'atomes dans leur état excité (E_2) soit plus important que le nombre d'atomes dans leur état fondamental (E_0 , Figure 17).

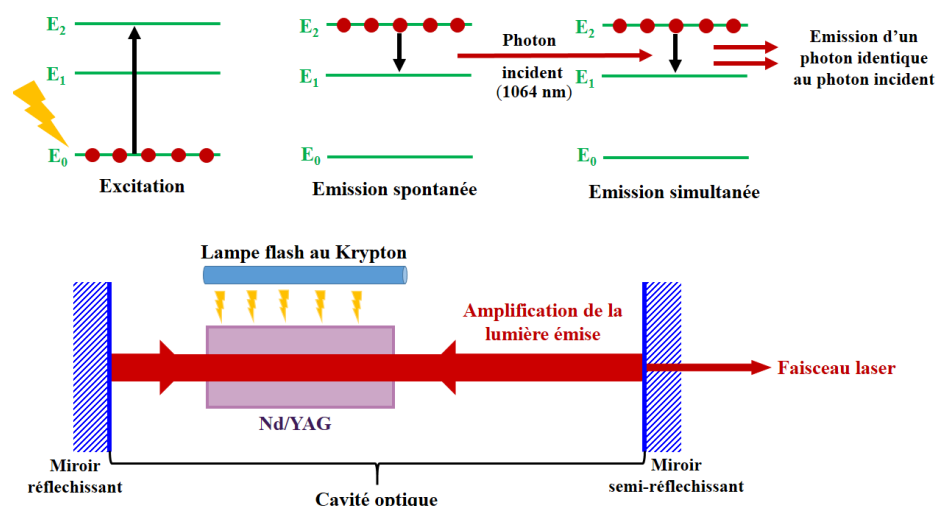


Figure 17 : Illustration de la formation d'un faisceau laser continu dans un système Nd/YAG.

Les premiers électrons retombent à un niveau plus bas en énergie (E_1) par émission spontanée de lumière, possédant une longueur d'onde typique de $1\,064\text{ nm}$. Cette dernière est ensuite amplifiée dans la cavité optique à l'aide d'un jeu de miroirs. En effet, les allers retours

¹¹ Drexhage, K. H.; Mueller-Westerhoff, U. T. *IEEE Quantum Electron.* **1972**, QE-8, 759-759.

de l'onde lumineuse permettent aux photons émis spontanément de rencontrer un atome dans son état excité, qui va alors se désexciter en émettant exactement le même photon par émission simultanée. On a donc deux photons au lieu d'un seul : la quantité de lumière est doublée. Ce processus se répète en cascade : chacun des photons ainsi émis va en produire deux autres et ainsi de suite... En répétant de nombreuses fois ce phénomène, il est possible de créer une émission de lumière qui est composée de photons tous identiques, de même longueur d'onde, émis en même temps et dans la même direction comme s'ils étaient la copie conforme les uns des autres, c'est la lumière laser. Cette lumière laser traverse ensuite le miroir semi-réfléchissant pour sortir de la cavité optique.

Dans le cas d'un laser pulsé à colorant, un commutateur optique à base d'une solution de complexe Ni-bis(dithiolène), absorbant à la longueur d'onde d'émission du Nd/YAG (1064 nm), est placé dans la cavité optique (Figure 18).¹¹ Ainsi, la lumière émise par émission spontanée est absorbée au cours du temps par le complexe Ni-bis(dithiolène), il n'y a donc pas de photon disponible pour provoquer l'émission simultanée (Figure 18a). Or, lorsque le système de pompage fournit plusieurs atomes excités et que l'énergie est seulement perdue par émission spontanée, la population stockée dans le niveau supérieur (E_2) peut devenir très grande.

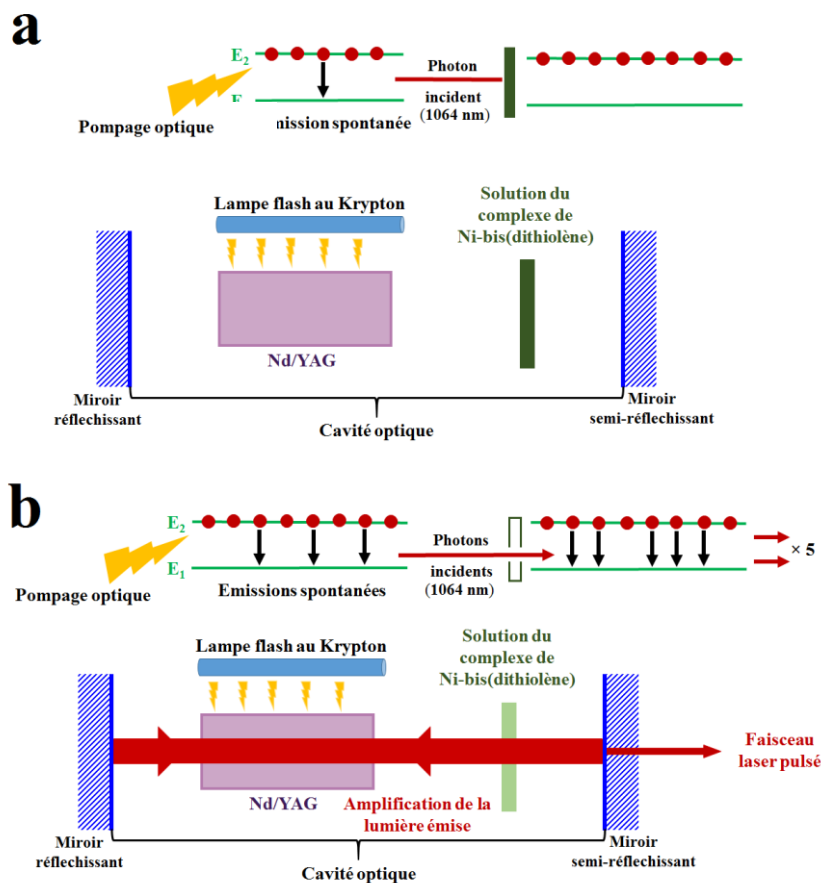


Figure 18 : Illustration du système de fonctionnement d'un laser pulsé (a) avant et (b) après saturation du niveau supérieur (E_2).

L'énergie stockée dans le niveau E_2 atteint au bout d'un certain temps un niveau maximum. L'énergie de l'émission spontanée est alors trop importante pour l'absorbeur à base de Ni-(bis)dithiolène. Par conséquent, la lumière émise passe à travers la solution, entraînant ainsi l'émission simultanée d'un grand nombre de photons, conduisant à un pulse laser d'une très grande puissance. Le système revient alors à son état d'équilibre et la solution de complexe Ni-bis(dithiolène) absorbe à nouveau la lumière produite par l'émission spontanée.

En conclusion, la structure électronique des complexes Ni-bis(dithiolène) leur a permis de trouver des applications en optique. Elle leur permet également de posséder des propriétés conductrices ou magnétiques à l'état solide,^{12,13} selon l'empilement des molécules et leur degré d'oxydation. Récemment, nous avons montré qu'il était possible de mélanger des complexes de Ni-bis(dithiolène) neutres diamagnétiques avec des composés Au-bis(dithiolène) neutres paramagnétiques, afin de faire des alliages dont les propriétés magnétiques et conductrices dépendent de leur composition (Annexe B).¹⁴ Cependant, nous ne nous attarderons pas sur ce projet car nos travaux de thèse sont principalement axés sur les propriétés optiques des complexes de Ni-bis(dithiolène) neutres. Nous allons maintenant nous intéresser aux différentes voies de synthèse permettant d'obtenir des colorants Ni-bis(dithiolène) à forte absorption dans le NIR.

¹² a) Bousseau, M.; Valade, L.; Legros, J. P.; Cassoux, P.; Garbauskas, M.; Interrante, L. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1908-1916; b) Brossard, L.; Ribault, M.; Valade, L.; Cassoux, P. *Physica B* **1986**, *143*, 378-380.

¹³ Robertson, N.; Cronin, L. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *227*, 93-127.

¹⁴ Mebrouk, K.; Kaddour, W.; Auban-Senzier, P.; Pasquier, C.; Jeannin, O.; Camerel, F.; Fourmigué, M. *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 7454-7460.

4. Les différentes voies de synthèse des complexes dithiolène

Il existe deux schémas réactionnels majeurs pour obtenir des complexes Ni-bis(dithiolène). Ces voies de synthèse se différencient principalement par l'intermédiaire réactionnel soufré utilisé. En effet, dans un cas c'est une dithiocétone tandis que dans l'autre c'est un dithiolate.

4.1. Synthèse des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{edt})_2]$ via l'intermédiaire dithiocétone

Cette voie de synthèse consiste à faire réagir les composés de départ α -dicétone ou α -hydroxycétone, préalablement fonctionnalisés par les groupements R désirés, avec un agent de sulfuration tels que le P_4S_{10} ou le réactif de Lawesson (Figure 19). L'intermédiaire dithiocétone oxydé formé, le plus souvent non isolable, est ensuite directement engagé dans la réaction de métallation en présence de Ni^0 ou de $\text{Ni}(\text{II})$ afin d'obtenir les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{edt})_2]$ directement sous forme oxydée neutre (Figure 19).

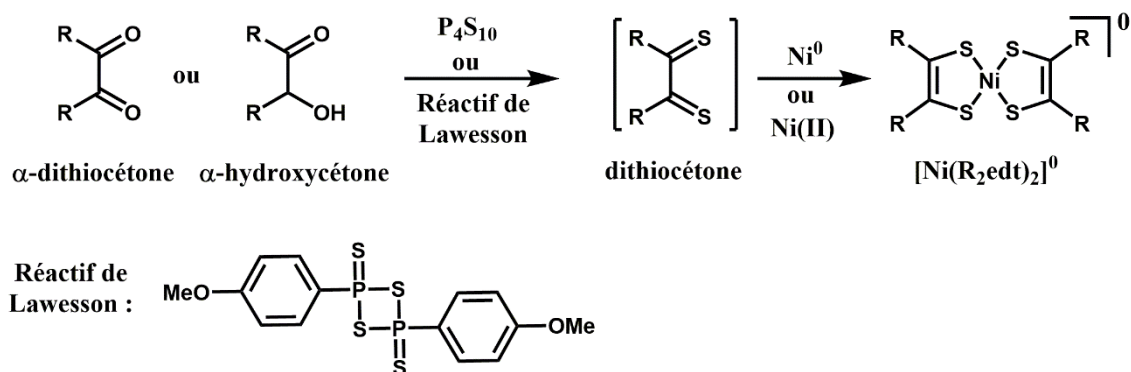


Figure 19 : Voie de synthèse des $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{edt})_2]^0$ via l'intermédiaire soufré dithiocétone

De manière générale, cette méthode est utilisée pour des composés possédant des groupements R alkyle ou aromatiques.¹⁵ Plus récemment, Arca et coll. l'ont utilisée pour synthétiser les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$,¹⁶ dont les propriétés électroniques ont été présentées précédemment (Figure 12 et 16).

¹⁵ Schrauzer, G. N.; Mayweg, V. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1483-1489.

¹⁶ Aragoni, M. C.; Arca, M.; Cassano, T.; Denotti, C.; Devillanova, F. A.; Frau, R.; Isaia, F.; Lelj, F.; Lippolis, V.; Nitti, L. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *10*, 1939-1947.

4.2. Synthèse des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{edt})_2]$ via l'intermédiaire dithiolate

La seconde voie de synthèse consiste à faire réagir un intermédiaire dithiolate avec du nickel (II) pour donner le complexe dianionique $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{edt})_2]^{2-}$ désiré. Si ce dernier possède des groupements R électroattracteurs, tel que le $[\text{Ni}(\text{mnt})_2]^{2-}$ (Figure 20), il sera alors isolable. Dans le cas contraire, il s'oxydera facilement à l'air ou à l'aide d'oxydants appropriés tels que I_2 , Br_2 ou encore un sel de ferricinium, pour donner l'espèce monoanionique radicalaire ou l'espèce neutre ou voire même l'espèce monocationique. Une autre voie utilisée pour oxyder les complexes est l'électrocrystallisation. Par application d'un courant dans une cellule constituée de deux compartiments, l'espèce en solution dans le compartiment anodique s'oxyde et précipite sous forme de cristaux sur l'électrode.

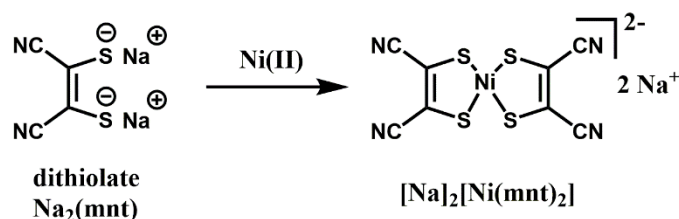


Figure 20 : Voie de synthèse du $[\text{Na}]_2[\text{Ni}(\text{mnt})_2]$ via l'intermédiaire soufré dithiolate.

Le dérivé dithiolate peut soit être synthétisé et isolé sous forme de sel de sodium comme dans le cas du ligand mnt présenté ci-dessus (Figure 20) ou bien être formé *in situ* lors de la synthèse, comme par exemple dans la préparation des complexes $[\text{Ni}(\text{R-thiazdt})_2]$ (Figure 21).¹⁷ Le dithiolate formé par réaction de lithiation/sulfuration réagit alors directement avec le métal pour donner le complexe désiré.

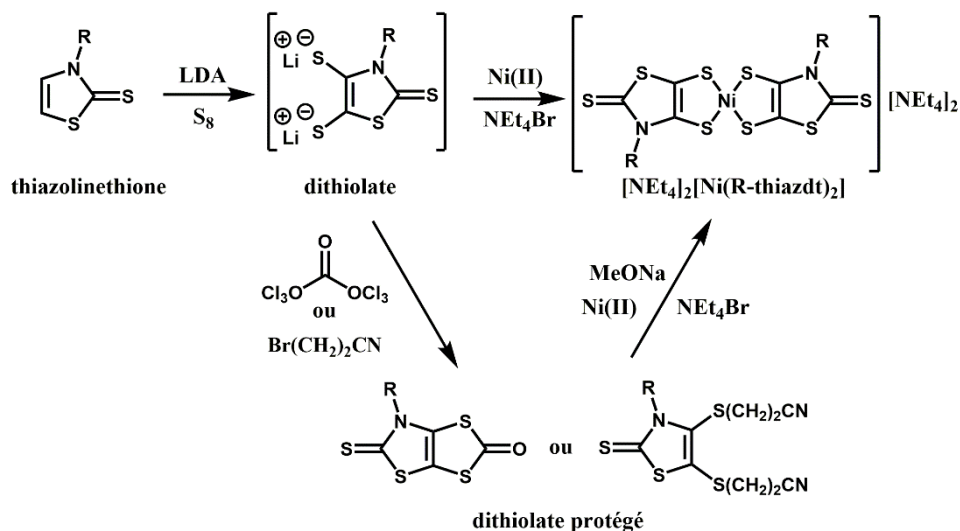


Figure 21 : Voies de synthèse des $[\text{NEt}_4]_2[\text{Ni}(\text{R-thiazdt})_2]$

¹⁷ Eid, S.; Fourmigué, M.; Roisnel, T.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 10647-10654.

Dans certains cas, le dithiolate préparé *in situ* peut aussi être protégé, par exemple à l'aide de bromopropionitrile ou de triphosgène puis purifié et déprotégé en milieu basique pour donner, en présence de Ni(II), le complexe désiré (Figure 21). Cette technique permet notamment d'améliorer le rendement. Un autre exemple très répandu de ce type de synthèse est celui des complexes Ni-bis(dithiolène) obtenus à partir du $[\text{NEt}_4]_2[\text{Zn}(\text{dmit})_2]$ (Figure 22).¹⁸ Lors de la première réaction, les atomes de soufre coordonnés au Zinc sont alkylés par des groupements électrophiles (R-X). Les dérivés 1,3-dithiole-2-thione obtenus sont ensuite déprotégés en milieu basique et l'intermédiaire 1,2-dithiolate généré se coordine au Ni (II), pour former le complexe $[\text{Ni}((\text{RS})_2\text{edt})_2]^{2-}$. Très souvent, le dérivé 1,3-dithiol-2-thione est transformé en intermédiaire 1,3-dithiol-2-one à l'aide d'acétate de mercure (II) (Figure 22). En effet, l'oxygène étant plus électronégatif que le soufre, il favorise la déprotection du dithiolate, améliorant ainsi le rendement de la réaction

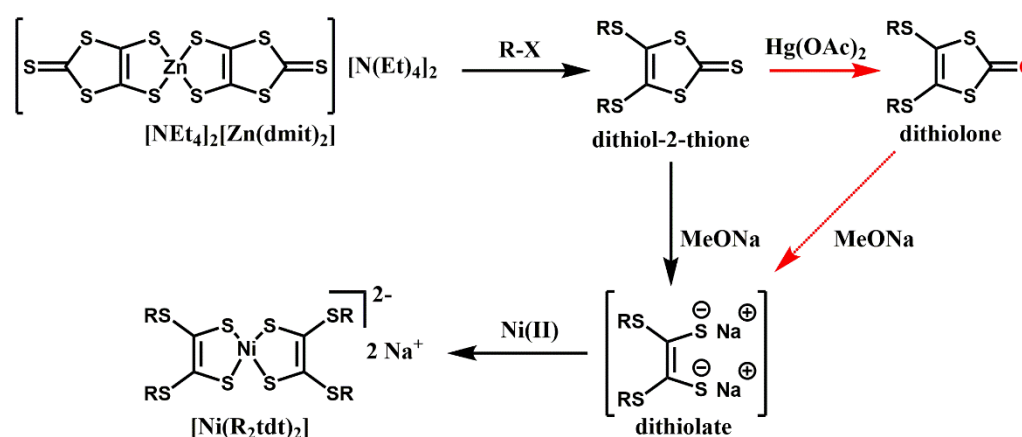


Figure 22 : Voies de synthèses des $[\text{Ni}((\text{RS})_2\text{edt})_2]^{2-}$ à partir du $[\text{NEt}_4]_2[\text{Zn}(\text{dmit})_2]$

En conclusion, l'ensemble de ces voies de synthèse permettent d'isoler, plus ou moins efficacement, une grande variété de complexes Ni-bis(dithiolène). Le sujet de thèse étant axé sur les propriétés optiques de ces composés neutres, nous avons privilégié dans un premier temps le premier schéma réactionnel, puisqu'il permet d'isoler directement des complexes neutres Ni-bis(dithiolène), à partir d' α -dicétone ou d' α -hydroxycétone, en utilisant comme agent de sulfuration du P_4S_{10} ou le réactif de Lawesson.

¹⁸ a) Tatewaki, Y.; Watanabe, T.; Watanabe, K.; Kikuchi, K.; Okada, S. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 16121-16127;
b) Rabaca, S.; Duarte, M. C.; Santos, I. C.; Fourmigué, M.; Almeida, M. *Inorg. Chim. Acta* **2007**, 360, 3797-3801.

5. Objectifs du projet de thèse

Les paragraphes précédents ont montré que les complexes Ni-bis(dithiolène) sont de forts absorbeurs dans le NIR. De plus, ils sont non-luminescents. Par conséquent, lorsqu'ils sont irradiés à leur longueur d'onde d'absorption par une source laser, l'énergie absorbée est convertie en chaleur dans le milieu, c'est ce qu'on appelle l'effet photothermique. Cette propriété photothermique des complexes Ni-bis(dithiolène), peu connue, a notamment été proposée dans une application pour l'impression d'images par transfert thermique (ex : flocage de maillots).¹⁹

L'objectif de ce travail est d'exploiter cet effet photothermique dans des applications en biotechnologie et en sciences des matériaux.

Dans un premier temps (Chapitre 2), nous allons nous focaliser sur l'utilisation de ces complexes pour la thérapie photothermique (en anglais PhotoThermal Therapy, PTT). Cette technique consiste à utiliser la chaleur émise par des composés, sous irradiation laser, afin de détruire des cellules cancéreuses. Après une introduction sur cette technique et sur les agents photothermiques utilisés aujourd'hui, nous décrirons la conception et la synthèse de complexes de Ni-bis(dithiolène) neutres hydrosolubles. L'effet photothermique de nos complexes sera ensuite quantifié avant d'être appliqué en PTT. L'irradiation laser se fera de façon continue par une diode dans le proche infrarouge.

Dans un second temps (Chapitre 3), nous encapsulerons des complexes hydrophiles ou des complexes hydrophobes Ni-bis(dithiolène) dans des nanoparticules de polymères ou des liposomes, contenant des principes actifs. L'enjeu est ici d'utiliser l'effet photothermique de ces composés pour faire de la délivrance contrôlée de principes actifs sous irradiation laser dans le proche infrarouge (NIR).

Le chapitre 4 sera quant à lui consacré à l'étude d'organogels à coeur Ni-bis(dithiolène). L'objectif sera alors de préparer des organogels capable de se désagréger sous irradiation laser NIR, afin d'en faire également des systèmes potentiellement intéressants pour la libération contrôlée de principe actifs.

¹⁹ Kawakami, S.; Kajima, Y. *Japan Kokai Tokkyo Koho*, JP 04153086, A 19920526, **1992**.

Finale­ment, dans le chapitre 5, nous étudierons une autre famille de complexes dithiolène, les $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$, qui sont des complexes Ni-bis(dithiolène) connus pour absorber plus fortement dans le NIR. Après avoir développé une nouvelle voie de synthèse de ce type de complexe, nous montrerons que ces composés possèdent des propriétés photothermiques remarquables, ce qui en fait des complexes très prometteurs pour de futures applications exploitant l'effet photothermique des complexes métal-bis(dithiolène).

- ¹ Stiefel E. I. *Prog. Inorg. Chem.* **2004**, vol 52 (Revue).
- ² (a) Nomura, M.; Geoffroy, M.; Adkine, P.; Fourmigué, M. *Inorg. Chem.* **2006**, 24, 5012-5021; (b) Guyon, F.; Fourmigué, M.; Clérac, R.; Amaudrut, J. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 21, 4093-4098; (c) Fourmigué, M.; Lenoir, C.; Coulon, C.; Guyon, F.; Amaudrut, J. *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 4979-85.
- ³ Wang, K. *Prog. Inorg. Chem.* **2004**, 52, 267-314.
- ⁴ Mueller-Westerhoff, U. T.; Nazzari, A.; Cox, R. J.; Giroud, A. M. *Mol. Cryst. Liquid Cryst.* **1980**, 56, 249-255.
- ⁵ Faulmann, C.; Cassoux, P. *Prog. Inorg. Chem.* **2004**, 52, 399.
- ⁶ Bevilacqua, J. M.; Zuleta, J. A.; Eisenberg, R. *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 258-66.
- ⁷ Mueller-Westerhoff, U. T.; Vance, B.; Yoon, D. I. *Tetrahedron* **1991**, 47, 909-932.
- ⁸ Lim, B.S.; Formichev, D. M.; Holm, R. H. *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 4257-4262.
- ⁹ Filatre-Furcate, A.; Bellec, N.; Jeannin, O.; Auban-Senzier, P.; Fourmigué, M.; Vacher, A.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2014**, 53, 8681-8690.
- ¹⁰ Aragoni, M. C.; Arca, M.; Demartin, F.; Devillanova, F. A.; Garau, A.; Isaia, F.; Lelj, F.; Lippolis, V.; Verani, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7098-7107.
- ¹¹ Drexhage, K. H.; Mueller-Westerhoff, U. T. *IEEE Quantum Electron.* **1972**, QE-8, 759-759.
- ¹² a) Bousseau, M.; Valade, L.; Legros, J. P.; Cassoux, P.; Garbauskas, M.; Interrante, L. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 1908-1916; b) Brossard, L.; Ribault, M.; Valade, L.; Cassoux, P. *Physica B* **1986**, 143, 378-380.
- ¹³ Robertson, N.; Cronin, L. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 227, 93-127.
- ¹⁴ Mebrouk, K.; Kaddour, W.; Auban-Senzier, P.; Pasquier, C.; Jeannin, O.; Camerel, F.; Fourmigué, M. *Inorg. Chem.* **2015**, 54, 7454-7460.
- ¹⁵ Schrauzer, G. N.; Mayweg, V. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 1483-1489.
- ¹⁶ Aragoni, M. C.; Arca, M.; Cassano, T.; Denotti, C.; Devillanova, F. A.; Frau, R.; Isaia, F.; Lelj, F.; Lippolis, V.; Nitti, L. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 10, 1939-1947.
- ¹⁷ Eid, S.; Fourmigué, M.; Roisnel, T.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 10647-10654.
- ¹⁸ a) Tatewaki, Y.; Watanabe, T.; Watanabe, K.; Kikuchi, K.; Okada, S. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 16121-16127; b) Rabaca, S.; Duarte, M. C.; Santos, I. C.; Fourmigué, M.; Almeida, M. *Inorg. Chim. Acta* **2007**, 360, 3797-3801.
- ¹⁹ Kawakami, S.; Kajima, Y. *Japan Kokai Tokyo Koho*, JP 04153086, A 19920526, **1992**.

Chapitre 2 : Les complexes Ni-bis(dithiolène) pour la thérapie photothermique

Chapitre 2 : Les complexes Ni-bis(dithiolène) pour la thérapie photothermique

1. Introduction à la PTT

La chirurgie conventionnelle est une technique efficace pour retirer les tumeurs bien définies, accessibles et localisées sur des régions non vitales. Cependant, le taux de mortalité élevé des patients et la nature invasive des opérations dues aux résections chirurgicales rendent cette technique inutilisable pour le traitement des petites métastases mal définies ou des tumeurs situées dans des régions vitales. La thérapie photothermique (en anglais PhotoThermal Therapy, PTT) est un procédé non invasif pouvant être une alternative à la chirurgie conventionnelle. En effet, la PTT repose sur l'utilisation de l'hyperthermie pour tuer les cellules cancéreuses. L'hyperthermie est l'élévation locale ou générale de la [température](#) du corps au-dessus de la valeur normale (37 à 37,5 °C chez l'humain) par accumulation de chaleur exogène. Cette procédure en plus d'être non invasive est relativement simple à mettre en œuvre et permet de réduire le temps de récupération et les complications pouvant être liées à une opération. En thérapie photothermique, l'hyperthermie est locale et les cellules cancéreuses sont exposées à une température entre 41°C et 47°C pendant 10 minutes. Sous de telles conditions, des dommages irréversibles sont causés aux cellules par dénaturation des protéines et/ou destruction des membranes cellulaires.¹

De nombreuses méthodes, incluant l'irradiation laser,^{2,3} les microondes,^{4,5} les ultrasons et les impulsions magnétiques,^{6,7} permettent d'induire localement de l'hyperthermie. Cependant, ces techniques n'ont pas encore abouti cliniquement. En effet, pour induire l'élimination des tumeurs à partir de ces procédés, une énergie élevée est appliquée sur la zone souhaitée entraînant la détérioration des tissus cancéreux comme des tissus sains se trouvant

¹ Svaasand, L.; Gomer, C.; Morinelli, E. *Lasers Med. Sci.* **1990**, *5*, 121-128.

² Philipp, C. M.; Rohde, E.; Berlien, H. *Semin. Surg. Oncol.* **1995**, *11*, 290-298.

³ Prudhomme, M.; Tang, J.; Rouy, S.; Delacretaz, G.; Salathe, R. P.; Godlewski, G. *Lasers Surg. Med.* **1996**, *19*, 445-450.

⁴ Seki, T.; Wakabayashi, M.; Nakagawa, T.; Imamura, M.; Tamai, T.; Nishimura, A.; Yamashiki, N.; Okamura, A.; Inoue, K. *Cancer* **1999**, *85*, 1694-1702.

⁵ Mirza, A. N.; Fornage, B. D.; Sneige, N.; Kuerer, H. M.; Newman, L. A.; Ames, F. C.; Singletary, S. E. *Cancer J.* **2001**, *7*, 95-102.

⁶ Jolesz, F. A.; Hynynen, K. *Cancer J.* **2002**, *8*, S100-S112.

⁷ Hilger, I.; Andrä, W.; Bähring, R.; Daum, A.; Hergt, R.; Kaiser, W. A. *Invest. Radiol.* **1997**, *32*, 705-712

entre la tumeur et le stimulus. Une des solutions est d'utiliser des énergies électromagnétiques qui soient peu absorbées par les tissus. Les lasers proche infrarouge (NIR) répondent bien à cette condition. En effet, c'est dans le NIR entre 800 nm et 1400 nm que la peau, les organes, le sang et l'eau absorbent le moins (Figure 1). Cette zone d'absorption où les tissus sont le moins endommagés et où la pénétration laser est augmentée, s'appelle la fenêtre biologique ou fenêtre thérapeutique.⁸

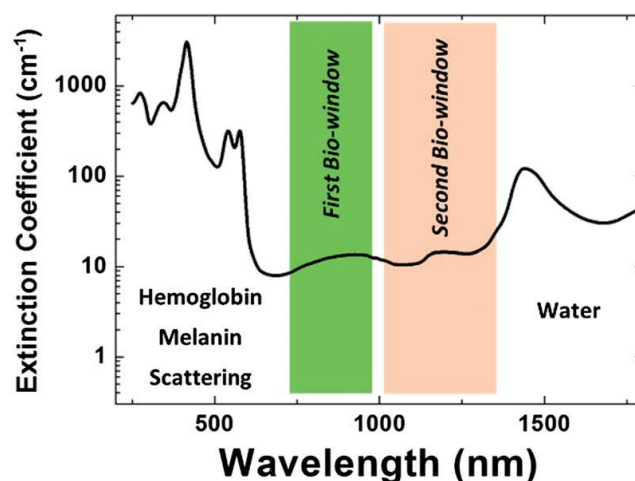


Figure 1: Evolution du coefficient d'extinction molaire des tissus humains en fonction de la longueur d'onde. Ref 8

En PTT, l'hyperthermie est induite à l'aide d'agents photothermiques. Ce sont des matériaux capables d'absorber l'énergie électromagnétique du stimulus et de la convertir en chaleur dans le milieu. L'utilisation d'agents photothermiques, absorbant dans le NIR, est une réelle opportunité pour la PTT. Par conséquent, différents agents photothermiques NIR ont été étudiés ces dernières années, dont les nanoparticules inorganiques (les nanostructures d'or,⁹ les nanomatériaux de carbone,¹⁰ ...), les colorants organiques et les polymères conducteurs.^{11,12} Les propriétés de certains de ces matériaux photoactifs vont être détaillées ci-après.

⁸ Jaque, D.; Martinez Maestro, L.; del Rosal, B.; Haro-Gonzalez, P.; Benayas, A.; Plaza, J. L.; Rodriguez, E. M.; Solé, J. G. *nanoscale* **2014**, 6, 9494-9530.

⁹ Hauck, T. S.; Jennings, T. L.; Yatsenko, T.; Kumaradas, J. C.; Chan, W. C. *Adv. Mater.* **2008**, 20, 3832-3838.

¹⁰ Yuan, A.; Wu, J.; Tang, X.; Zhao, L.; Xu, F.; Hu, Y. *J. Pharm. Sci.* **2013**, 102, 6-28.

¹¹ Moon, H. K.; Lee, S. H.; Choi, H. C. *ACS nano* **2009**, 3, 3707-3713.

¹² Cheng, L.; Yang, K.; Chen, Q.; Liu, Z. *ACS nano* **2012**, 6, 5605-5613.

2. Généralités sur les nanoparticules inorganiques

Les nanostructures inorganiques d'or, d'argent, de cuivre ou de palladium possèdent une forte bande de résonance plasmonique de surface localisée (LSPR), leur conférant des propriétés qui sont à l'origine de multiples applications (Schéma 1).¹³

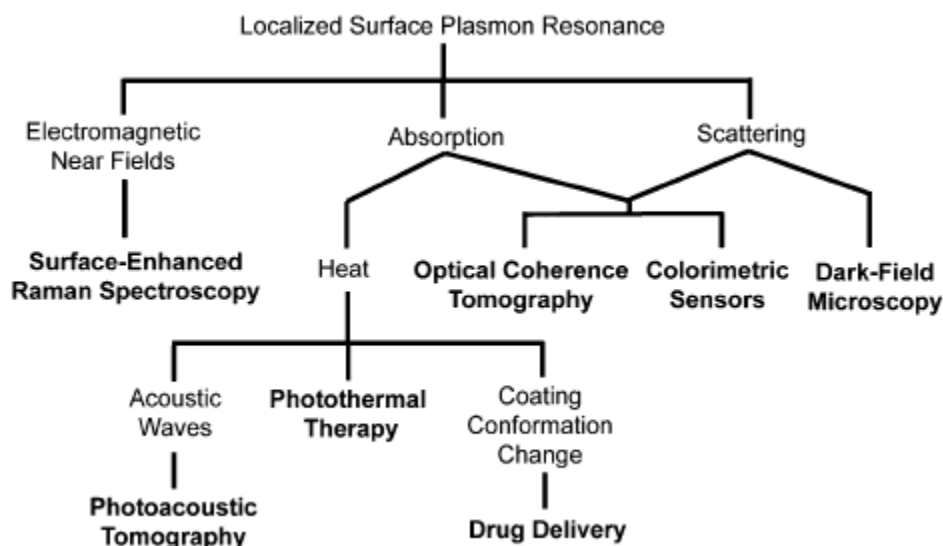


Schéma 1 : Illustration des différentes propriétés que possèdent les nanostructures grâce à leur bande LSPR et les applications possibles indiquées en gras. Ref 13

Cette bande LSPR est induite par l'oscillation collective, en surface, des électrons libres de la nanoparticule, sous un champ électromagnétique induit par exemple par une irradiation laser (Figure 2A).¹⁴

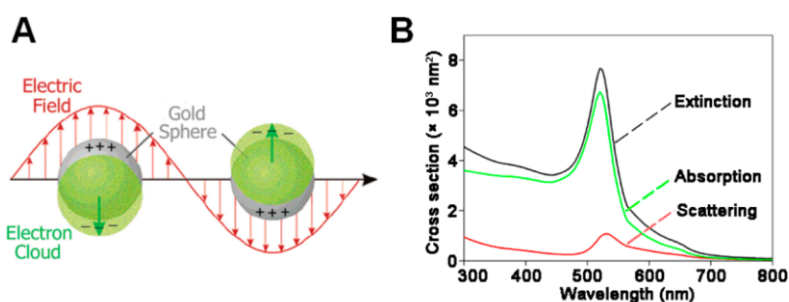


Figure 2 : (A) Illustration de l'oscillation collective des électrons libres d'une nanosphère d'or, responsable de la bande LSPR; (B) Spectre d'extinction, d'absorption et de diffusion, calculés pour des nanosphères d'or de 50 nm de diamètre. Ref 14

Lors de l'irradiation laser, l'apparition de cette bande LSPR peut être traduite par deux types d'interaction lumière-matière: la diffusion (scattering) qui est la déviation du faisceau

¹³ Oldenburg, S. J.; Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 288, 243–247.

¹⁴ Xia, Y.; Halas, N. J. *MRS Bull.* **2005**, 30, 338–348.

laser incident à la même fréquence et dans toutes les directions, lors de l'impact avec la nanostructure, et l'absorption qui est la lumière absorbée par la nanostructure puis convertie en chaleur dans le milieu. Ensemble ces deux procédés conduisent à l'extinction (extinction = diffusion (en anglais scattering) + absorption; Figure 2B) qui représente l'atténuation de l'intensité du faisceau incident.

Comme mentionné dans la partie précédente, une forte bande LSPR dans le NIR est nécessaire pour des applications biomédicales, du fait de la transparence élevée des tissus dans cette région. Cette condition est validée par certaines nanostructures d'or, d'argent et de cuivre ainsi que leurs alliages. Les nanostructures composées d'autres métaux ont une bande LSPR dans la région UV et/ou réagissent avec l'oxygène.¹⁵ Puisque les nanostructures de cuivre sont instables à l'air et que les ions Ag^+ sont potentiellement toxiques pour le système biologique,^{16,17} les nanostructures d'or sont considérées comme étant la meilleure alternative pour des applications biomédicales. En effet, les nanostructures d'or possèdent de nombreux avantages :

- Une efficacité photothermique élevée, ce qui permet d'utiliser un minimum de nanoparticules pour atteindre l'hyperthermie nécessaire à un traitement par PTT.
- Une haute stabilité contre le photoblanchiment, contrairement aux colorants organiques.¹⁸
- Une accumulation des nanoparticules dans les sites tumoraux par effet de perméabilité et de rétention tissulaire (EPR), du fait de leur taille nanométrique.

¹⁵ Creighton, J. A.; Eadon, D. G. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1991**, 87, 3881–3891.

¹⁶ Karlsson, H. L.; Cronholm, P.; Gustafsson, J.; Möller, L. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, 21, 1726–1732.

¹⁷ Van Aerle, R.; Lange, A.; Moorhouse, A.; Paszkiewicz, K.; Ball, K.; Johnston, B. D.; Bastos, E.; Booth, T.; Tyler, C. R.; Santos, E. M. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, 47, 8005–8014.

¹⁸ Cho, E. C.; Kim, C.; Zhou, F.; Copley, C. M.; Song, K. H.; Chen, J.; Li, Z.-Y.; Wang, L. V.; Xia, Y. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 9023–9028.

2.1. Effet de perméabilité et de rétention tissulaire (EPR)

Quand une tumeur solide atteint une certaine taille, le système vasculaire situé à proximité n'est plus suffisant pour l'approvisionner en oxygène et lui permettre de continuer sa prolifération.¹⁹ Dû à ce manque de nutriments, les cellules meurent et sécrètent des facteurs de croissance qui déclenchent la formation de nouveaux vaisseaux. Ce processus appelé angiogenèse, favorise le développement rapide de nouveaux vaisseaux sanguins (Figure 3) permettant de fournir les nutriments nécessaires à la croissance de la tumeur.²⁰ Ces nouveaux vaisseaux possèdent de nombreux défauts dont la malformation des jonctions étanches entre les cellules endothéliales, dont la fonction est de retenir le sang dans les vaisseaux sanguins. Les trous résultants peuvent aller de 200 à 2000 nm (contre 8 nm pour les tissus sains) selon l'environnement et la localisation de la tumeur.²¹

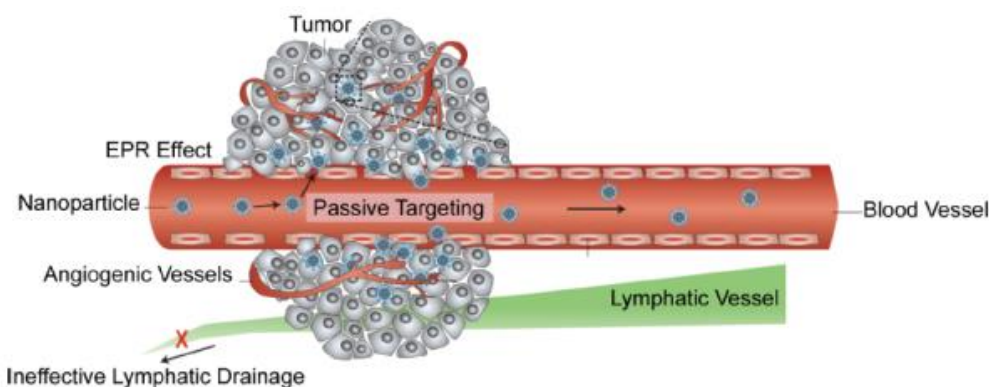


Figure 3 : Illustration de l'Effet de Perméabilité et de Rétention (EPR). Ref ²²

Les nanoparticules profitent de l'abondance de ces veines irrégulières et de ces cavités pour s'extravaser et s'accumuler dans la tumeur. De plus, les cellules cancéreuses subissent un faible drainage lymphatique permettant d'augmenter le temps de rétention des nanoparticules extravasées dans le tissu tumoral. Ce processus d'accumulation passive des nanoparticules est mieux connu sous le terme d'Effet de Perméabilité et de Rétention (EPR).³³ L'effet EPR s'applique préférentiellement aux particules nanométriques entre 10-150 nm de diamètre. L'accumulation et la rétention des nanoparticules dans la tumeur sont très intéressantes pour la PTT. En effet, lors de l'irradiation laser des nanoparticules, l'hyperthermie va se faire localement et préférentiellement dans la tumeur provoquant sa destruction tout en minimisant les dommages sur les tissus sains à proximité.

¹⁹ Skrabalak, S. E.; Au, L.; Li, X.; Xia, Y. *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 2182–2190,

²⁰ Oldenburg, S. J.; Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 288, 243–247.

²¹ Huang, X.; El-Sayed, I. H.; Qian, W.; El-Sayed, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 2115–2120.

²² Chen, J.; Glaus, C.; Laforest, R.; Zhang, Q.; Yang, M.; Gidding, M.; Welch, M. J.; Xia, Y. *Small*, **2010**, 6, 811–817.

2.2. Les nanostructures d'or utilisées en PTT

Les nanostructures d'or ont été étudiées et modulées dans le but de répondre aux conditions nécessaires à la PTT :

- Une taille entre 10 et 150 nm pour satisfaire l'effet EPR.
- Une bande LSPR dans le NIR pour minimiser les dommages sur les tissus environnants lors de l'irradiation laser
- Un maximum d'énergie absorbée puis convertie en chaleur.

L'objectif est de modifier les propriétés de la bande LSPR, c'est-à-dire la position de la bande et le rapport absorption/extinction. Le modèle idéal pour la PTT est d'avoir des nanostructures d'or qui possèdent une bande LSPR dans le NIR tout en convertissant la totalité de l'énergie absorbée en chaleur dans le milieu, soit un rapport absorption/extinction égal à 1 c'est-à-dire l'absence de diffusion (scattering).

Les nanosphères d'or ayant un diamètre entre 5 et 70 nm (Figure 4A) sont les premières nanostructures d'or à avoir été étudiées pour leur effet photothermique.²³ Leur bande LSPR autour de 520-530 nm est cependant insuffisante pour des applications biomédicales. Par conséquent, le diamètre de ces nanosphères a été augmenté (150 nm) afin que la bande LSPR se positionne dans le NIR (700-900 nm, Figure 4B). Cependant, cette modification entraîne une perte de l'effet photothermique non-négligeable (ratio absorption/extinction quasiment nul Figure 4B).

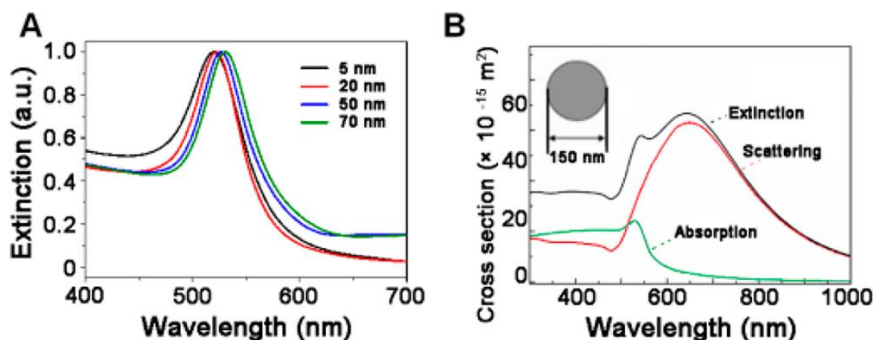


Figure 4: (A) Bande plasmon de nanosphères d'or de différents diamètres; (B) Rapport absorption/extinction d'une nanosphère de 150 nm de diamètre. Ref 23

²³ Skrabalak, S. E.; Chen, J.; Sun, Y.; Lu, X.; Au, L.; Cobley, L. M.; Xia, Y. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1587–1595.

En conclusion, combiner une bande LSPR dans le NIR tout en gardant un bon effet photothermique est donc difficile pour ce type de géométrie. Une des solutions est de modifier la forme de la nanostructure d'or. En effet, le changement de géométrie a plus d'impact que le changement de taille sur l'oscillation des électrons libres lors de l'irradiation et donc sur la bande LSPR. Plusieurs géométries comme les nanocages, les nanocoquilles et les nanobâtonnets d'or permettent de remédier à ce problème (Figure 5).^{13,24,25}

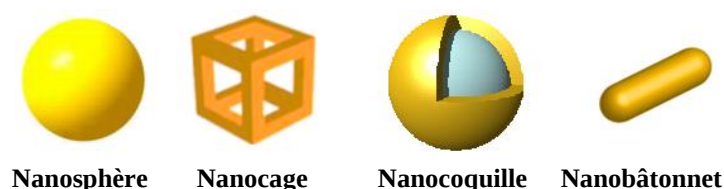


Figure 5 : Illustration de différentes géométries de nanostructures d'or

Même si les nanocoquilles ou les nanocages d'or ont trouvé des applications en PTT *in vitro* ou *in vivo*,^{26,27} les nanobâtonnets d'or sont ceux qui ont été les plus utilisés pour ce type d'application, du fait de leur absorbance élevée (Figure 6B) et de leur rapport absorption/extinction proche de 1 (Figure 6B),²⁸ ce qui leur procurent une efficacité photothermique supérieure aux autres nanostructures d'or. Les électrons libres de la bande LSPR oscillent selon deux modes. Le mode transversal, où les électrons oscillent dans le sens de la largeur du nanobâtonnet pour donner une faible bande LSPR à environ 520 nm (Figure 6A). L'autre est longitudinal et les électrons libres oscillent dans le sens de la longueur du nanobâtonnet pour donner une bande LSPR dans le NIR. Ainsi plus le rapport longueur/largeur du nanobâtonnet (Figure 6A) est élevé, plus la bande LSPR se déplace vers le NIR. En conclusion, plus un nanobâtonnet d'or est fin et long, plus il absorbe dans le NIR et plus son rapport absorption/extinction est élevé.

²⁴ Cobley, C. M.; Chen, J.; Cho, E. C.; Wang, L. V.; Xia, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 44–56.

²⁵ Shi, W.; Sahoo, Y.; Swihart, M. T.; Prasad, P. N. *Langmuir* **2005**, *21*, 1610–1617.

²⁶ Ji, X.; Shao, R.; Elliott, A. M.; Stafford, R. J.; Esparza-Coss, E.; Bankson, J. A.; Liang, G.; Luo, Z.-P.; Park, K.; Markert, J. T.; Li, C. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 6245–6251.

²⁷ Hu, M.; Chen, J.; Li, Z.-Y.; Au, L.; Hartland, G. V.; Li, X.; Marquez, M.; Xia, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1084–1094.

²⁸ Von Maltzahn, G.; Park, J.-H.; Agrawal, A.; Bandaru, N. K.; Das, S. K.; Sailor, M. J.; Bhatia, S. N. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 3892–3900.

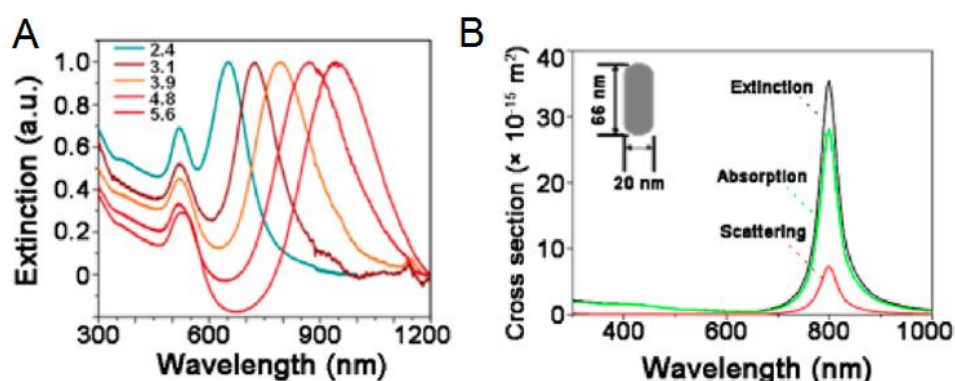


Figure 6 : (A) Bande LSPR de nanobâtonnets d'or de différents ratios longueur/largeur; (B) Rapport absorption/extinction d'un nanobâtonnet d'or de 66 nm de longueur et de 20 nm de largeur. Ref 28

En s'appuyant sur ces résultats, Bhatia et coll. ont injecté une solution de nanobâtonnets d'or-PEG à des souris porteuses d'une tumeur cancéreuse.²⁸ Les chaînes PEG permettent d'augmenter la furtivité du nanobâtonnet d'or dans l'organisme. Sans irradiation laser, il n'y a pas d'hyperthermie et la tumeur continue à grossir pour atteindre, au bout de 20 jours, 4 à 5 fois sa taille de départ (Figure 7A). L'irradiation, après injection de la solution saline seule, ne modifie pas le grossissement de la tumeur au cours du temps. Par contre, en présence de nanobâtonnets d'or-PEG, l'irradiation permet de faire disparaître complètement la tumeur (Figure 7A). Il faut noter que l'irradiation (810 nm, 2 W/cm², 5 min) n'a lieu qu'une seule fois à J0 lors du traitement. Cette intervention non invasive est efficace, car les souris traitées en présence de nanobâtonnets d'or-PEG ont toutes un taux de survie supérieur à 50 jours (Figure 7B) tandis que les autres n'ont pas survécu.

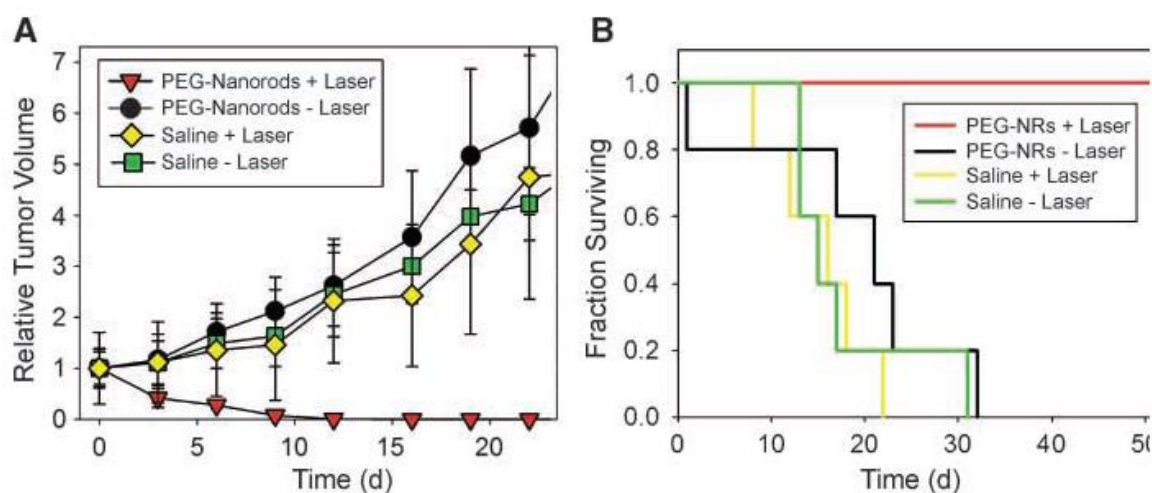


Figure 7 : (A) Évolution de la taille de la tumeur au cours du temps en fonction du traitement appliqué à J0: solution saline sans irradiation laser (vert), avec irradiation laser (jaune; 810 nm, 2 W/cm², 5 min), solution de nanobâtonnet d'or sans irradiation laser (noir) et avec irradiation laser (rouge, 810 nm, 2 W/cm², 5 min); (B) Taux de survie des souris au cours du temps en fonction du traitement réalisé à J0, Ref 28

2.3. Les limites des nanostructures d'or

Malgré tous les progrès réalisés sur les nanostructures d'or pour en faire des agents photoactifs efficaces en PTT, il existe encore des inconvénients à résoudre pour pouvoir passer au stade clinique. Premièrement, elles sont instables photothermiquement.²⁹ Lors de l'irradiation, les nanostructures d'or peuvent changer de forme (Figure 8a et 8b), entraînant la modification de la position de la bande LSPR, du NIR vers le visible (Figure 9).

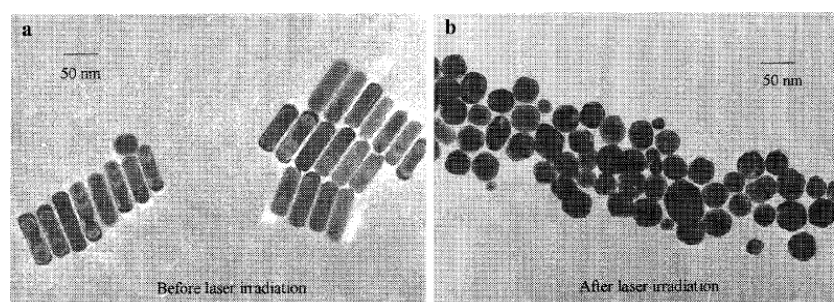


Figure 8 : Forme des nanostructures d'or (a) avant irradiation, (b) après irradiation (laser pulsé, 800 nm, 100 fs, 52 μ J). Ref 29

Cette variation de la bande LSPR provoque une perte de l'efficacité photothermique au cours de l'irradiation. En effet, il y a de moins en moins d'absorption à la longueur d'onde d'irradiation initiale choisie dans le NIR (Figure 9).

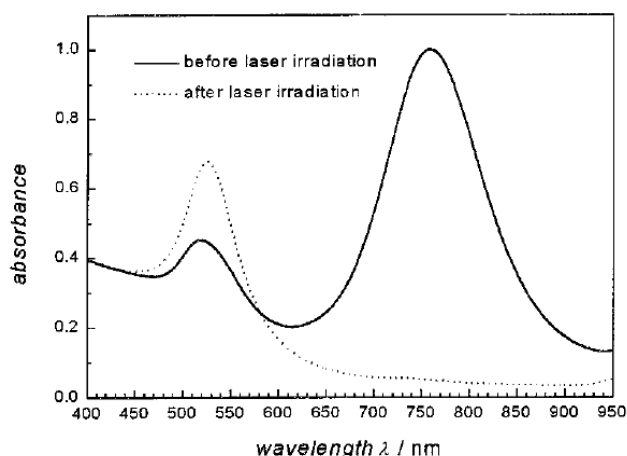


Figure 9 : Position de la bande LSPR avant et après irradiation laser (laser pulsé, 800 nm, 100 fs, 52 μ J). Ref 29

Le deuxième point à améliorer est la clairance des nanoparticules d'or dans l'organisme. Zhou et coll. ont montré que 70% d'entre-elles avec un diamètre inférieur à 6 nm peuvent être

²⁹ Link, S.; El-Sayed, M. A. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 8410–8426.

éliminées par les reins.³⁰ Cependant, à cette taille, on perd les propriétés de la bande LSPR si importante en PTT.

D'autres systèmes inorganiques, tels que les nanotubes de carbone,³¹ les nanoparticules de palladium et les chalcogénures de cuivre ont été exploités pour faire de la PTT.^{32,33} En effet ces systèmes présentent un effet photothermique capable de détruire des cellules cancéreuses. Cependant, ces nanomatériaux n'ont jamais atteint le stade clinique du fait de leur non biodégradabilité entraînant une cytotoxicité à long terme sur les fonctions vitales.^{34,35} Une des solutions envisagées est d'utiliser des agents photothermiques organiques. En effet, les molécules organiques sont métabolisées et éliminées plus facilement par l'organisme. Pour ces raisons, les nanoparticules polymériques et les colorants organiques ont également été étudiés en PTT.

³⁰ Zhou, C.; Long, M.; Qin, Y.; Sun, X.; Zheng, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 3168–3172.

³¹ Moon, H. K.; Lee, S. H.; Choi, H. C. *ACS nano* **2009**, *3*, 3707–3713.

³² Dumas, A.; Couvreur, P. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2153–2157.

³³ Guo, L.; Panderi, I.; Yan, D. D.; Szulak, K.; Li, Y.; Chen, Y.; Ma, H.; Niesen, D. B.; Seeram, N.; Ahmed, A.; Bingfang, Y.; Pantazatos, D.; Lu, W. *ACS nano* **2013**, *7*, 8780–8793.

³⁴ Yang, S.; Guo, W.; Lin, Y.; Deng, X.; Wang, H.; Sun, H.; Liu, Y.; Wang, X.; Wang, W.; Chen, M.; Huang, Y.; Sun, Y. *J. Phys. Chem. C*, **2007**, *111*, 17761–17764.

³⁵ Jia, G.; Wang, H. F.; Yan, L.; Wang, X.; Pei, R. J.; Yan, T.; Zhao, Y. L.; Guo, X. B. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 1378–1383.

3. Les agents photothermiques organiques

3.1. Les nanoparticules polymériques

Les nanoparticules polymériques (NPs-polymériques) sont des nanomatériaux sphériques constitués de polymères conducteurs.³⁶ Il existe quatre grands types de NPs polymériques permettant de faire de la PTT. Les NPs-polyanilines,³⁷ les NPs-PEDOT:PSS (poly(3,4-éthylènedioxythiophène):poly(4-styrène-sulfonate)),³⁸ les NPs-polydopamines et les NPs-polypyrroles.^{39,40} Toutes ces nanoparticules polymériques possèdent un effet photothermique qui a été exploité en PTT, selon le même principe que les NPs-PEDOT:PSS décrites ci-dessous.

Les NPs-PEDOT:PSS sont des nanoparticules organiques constituées de deux polymères, le poly(3,4-éthylènedioxythiophène) dit PEDOT et le poly(4-styrène-sulfonate) dit PSS (Figure 10).³⁸ Ces nanoparticules chargées négativement ont été modifiées dans un premier temps par interaction électrostatique avec le poly(allylamine) (PAH) chargé positivement. Le nanomatériau résultant, chargé positivement, est recouvert par interaction électrostatique avec de l'acide polyacrylique (PAA) chargé négativement. L'auto-assemblage entre le PAH et le PAA est ensuite renforcé à l'aide de liaisons covalentes obtenues par couplage peptidique. La dernière étape consiste à greffer des chaînes polyéthylène glycol aminées (6-arm-PEG-NH₂) à la surface des NPs-PEDOT:PSS modifiées. Ces 4 étapes permettent d'obtenir des NPs-PEDOT:PSS-PEG stables en milieu physiologique, d'augmenter leur biodisponibilité et leur accumulation par effet EPR dans la tumeur.

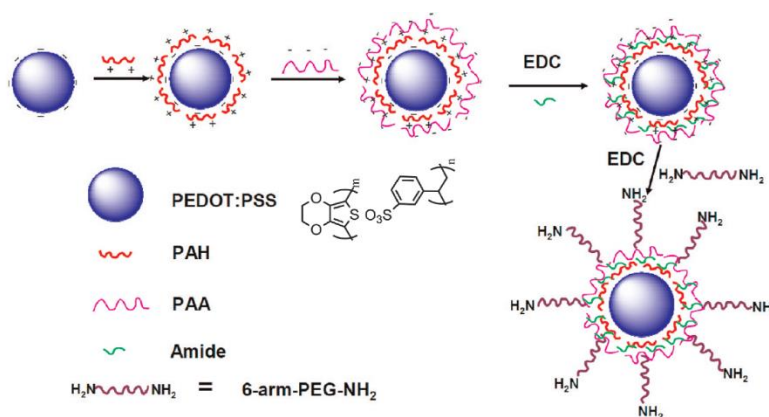


Figure 10 : Illustration de la synthèse des NPs-PEDOT:PSS-PEG. Ref 38

³⁶ Heeger, A. J. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2660-2682.

³⁷ Yang, J.; Choi, J.; Bang, D.; Kim, E.; Lim, E. K.; Park, H.; Suh, J. S.; Lee, K.; Yoo, K. H.; Kim, E. K.; Huh, Y. M.; Haam, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 441-444.

³⁸ Cheng, L.; Yang, K.; Chen, Q.; Liu, Z. *ACS nano* **2012**, *6*, 5605-5613.

³⁹ Liu, Y.; Ai, K.; Liu, J.; Deng, M.; He, Y.; Lu, L. *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 1353-1359.

⁴⁰ Chen, M.; Fang, X.; Tang, S.; Zheng, N. *Chem. Comm.* **2012**, *48*, 8934-8936.

En 2013, Cheng et coll. démontrent que les NPs-PEDOT:PSS-PEG sont de bons absorbeurs dans le NIR (Figure 11a).³⁸ Le greffage des chaînes PEG, apporte de nombreux avantages aux NPs-PEDOT:PSS mais ne modifie en rien leurs propriétés d'absorbance dans le NIR. De plus, ces nanoparticules ont un effet photothermique sous irradiation (Figure 11b).

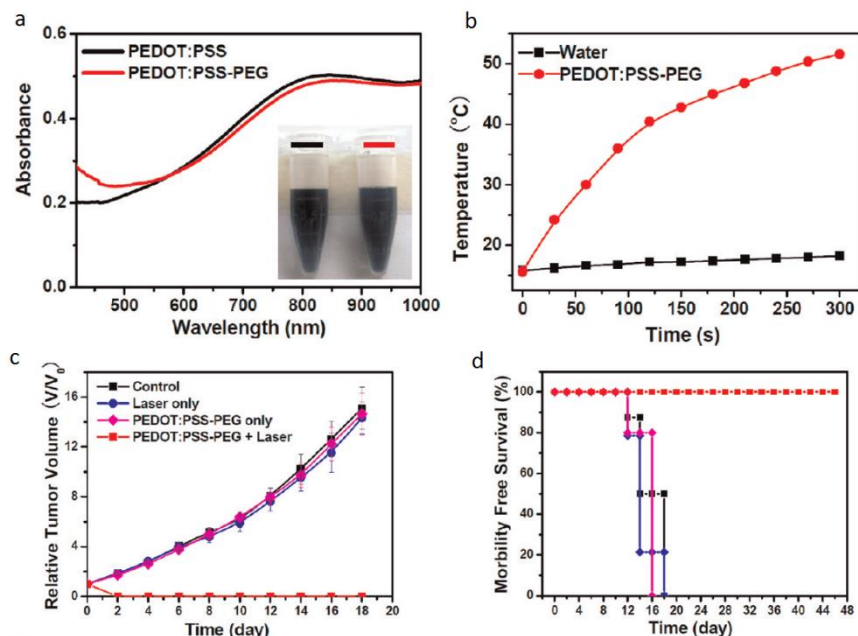


Figure 11 : (a) Spectroscopie UV-Vis-NIR de solutions (0,02 mg/mL) de NPs-PEDOT:PSS et de NPs-PEDOT:PSS-PEG; (b) Évolution de la température de solutions de NPs-PEDOT:PSS-PEG (0,1 mg/mL) et dans l'eau, sous irradiation laser (808 nm, 1 W/cm²) en fonction du temps; (c) Évolution du volume relatif de la tumeur en fonction du temps selon le traitement choisi; (d) Taux de survie des souris au cours du temps en fonction du traitement appliqué. Ref 38

Au regard des différentes propriétés que possèdent ces nanoparticules organiques, des études PTT *in vivo* ont été réalisées. Les NPs-PEDOT:PSS-PEG ont été injectées par intraveineuse (200 μ L, 1 mg/mL) dans des souris. Les premiers résultats montrent que l'irradiation ou les nanoparticules seules ne permettent pas d'endiguer le grossissement de la tumeur (Figure 11c). En revanche, la synergie des deux (laser + NPs-PEDOT:PSS-PEG) supprime la tumeur après traitement. Les souris sous thérapie photothermique ont toutes survécu 48 jours après irradiation (Figure 11d), contrairement à celles ayant reçu un autre traitement. L'injection de ces nanoparticules organiques à une concentration de 10 mg/kg n'a montré aucune cytotoxicité vis-à-vis de l'organisme. Le dernier intérêt des NPs-PEDOT:PSS-PEG est leur bonne accumulation par effet EPR ($\sim 30\%$).³⁸

A l'image des NPs-PEDOT:PSS-PEG de nombreuses nanoparticules polymériques ont été développées ces dernières années pour la PTT. Malgré les résultats encourageants obtenus, le passage du stade préclinique au stade clinique ne progresse pas aussi vite qu'espéré. En effet, la non reproductibilité des échantillons provenant du même ou de différents laboratoires est la principale limite pharmaceutique. Cette variabilité d'un batch à l'autre est une barrière aux évaluations et développements cliniques. L'absence de stratégies, de techniques et de tests standardisés pour l'évaluation et la caractérisation des nanomatériaux est un autre obstacle à la détermination du nanomatériau le plus efficace. En conclusion, la préparation des nanoparticules polymériques à grande échelle, tout en respectant les bonnes pratiques de fabrication et les règlements régis par les organismes pharmaceutiques, est le défi à surmonter pour aller vers l'application clinique de ces nanomatériaux.

3.2. Les porphysomes

Les porphysomes sont des liposomes formulés à partir de lipides fonctionnalisés par des porphyrines. Les unités monomères ne possèdent pas une efficacité photothermique suffisante pour une application en PTT. Ce sont cependant des composés pouvant être utiles en thérapie photodynamique (PDT) car sous irradiation, ils produisent de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) qui dénature les cellules cancéreuses mais aussi les tissus sains. Lorsque ces monomères s'auto-assemblent, ils forment un porphysome. Dans ces nanomatériaux, la densité des unités porphyrine est élevée ($> 80\,000$ par particule). Cette compacité des unités porphyrine induit l'auto-extinction (Figure 12) de leur état excité triplet, à l'origine de la formation de $^1\text{O}_2$.⁴¹ Une plus grande partie de l'énergie absorbée est alors relâchée sous forme de chaleur dans le milieu.

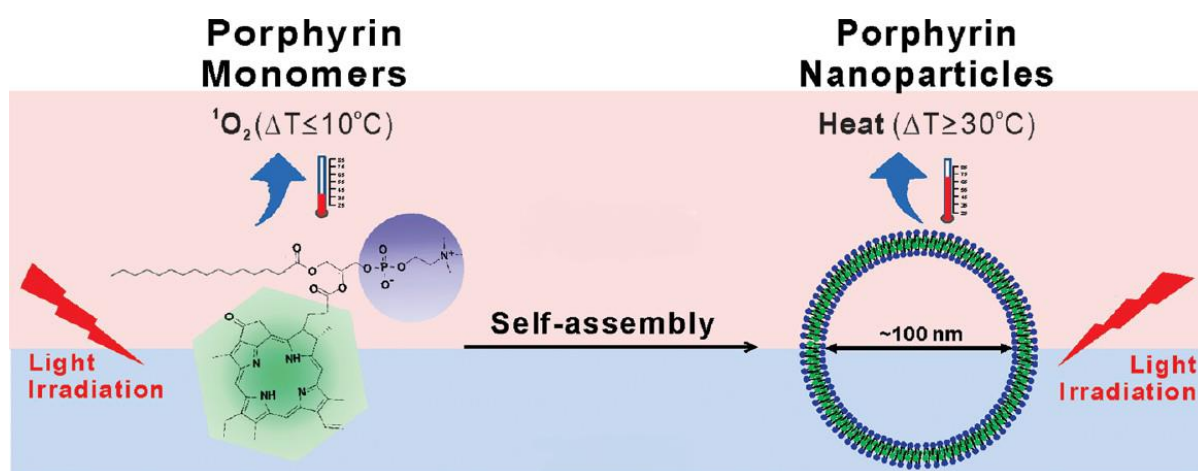


Figure 12 : Illustration des propriétés photophysiques des porphyrines avant et après auto-assemblage. Ref 41

⁴¹ Jin, C.S.; Lovell, J.F.; Chen, J.; Zheng, G. *ACS nano* **2013**, 7, 2541-2550.

La position de la bande d'absorption des porphysomes (Figure 13b) dépend de la structure de la porphyrine (Figure 13a) qui fonctionnalise le lipide. En effet, lorsque la porphyrine est complexée à un métal tel que le magnésium (Mg), la bande d'absorption se décale vers le NIR.⁴²

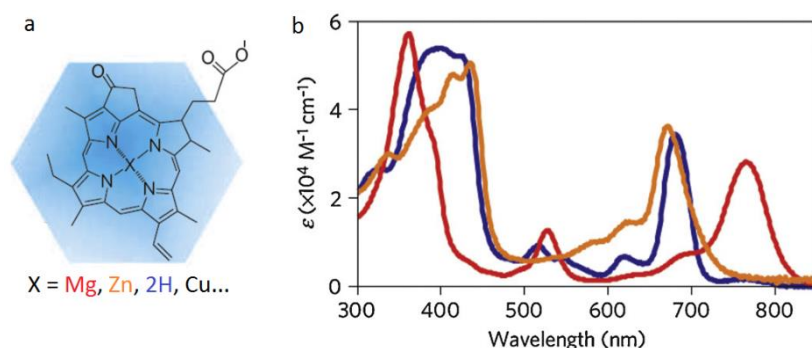


Figure 13 : (a) Illustration de différents complexes de porphyrine possibles; (b) Spectroscopie UV-Vis-NIR de différentes porphyrines : X = Mg (rouge), Zn (orange), 2H (bleue). Ref 42

En 2011, Jin et coll. ont injecté des porphysomes (X = 2H) dans des souris pour des études PTT.⁴¹ L'efficacité photothermique de ces nanoparticules (Figure 14a) a permis d'éradiquer (Figure 14b) la tumeur chez les souris traitées. Toutes les souris ayant reçu le traitement (porphysomes + irradiation) ont survécu 28 jours après traitement (Figure 14c ; rouge) contrairement aux autres qui ont toutes péri, avec l'irradiation seule ou les porphysomes seuls.

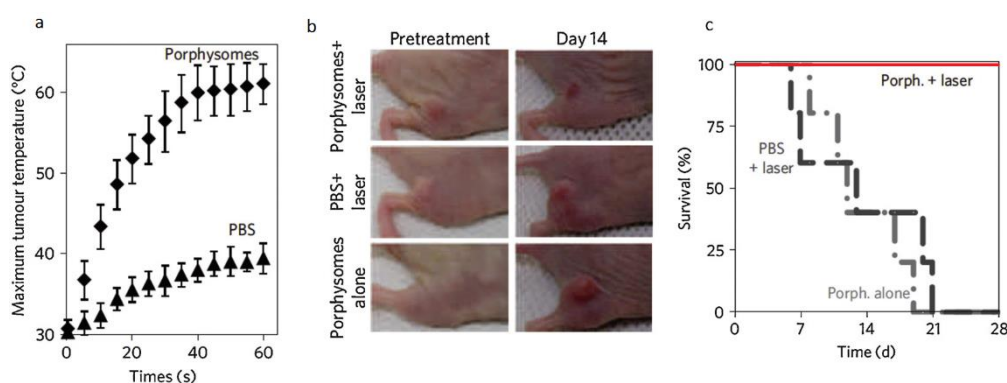


Figure 14 : (a) Évolution de la température de la tumeur, sous irradiation laser (673 nm, 750 mW/cm²), après injection d'une solution de PBS (Phosphate Buffered Saline) pure ou de porphysomes (10 mg/Kg); (b) Photographies de l'évolution de la tumeur au cours du temps en fonction du traitement administré; (c) Le taux de survie des souris au cours du temps en fonction du traitement administré : Porphysomes + irradiation laser (Porph. + laser ; -), Porphysomes sans irradiation (Porph. alone ; - ● -), PBS + laser (---). Ref 41

Ces résultats encourageants couplés à la faible cytotoxicité des porphysomes (1 g/Kg, X = 2H) en font un candidat prometteur pour la PTT. Cependant ces nanoparticules sont encore à optimiser afin que leur maximum d'absorption soit dans le NIR (> 800 nm).

⁴² Lovell, J. F.; Jin, C. S.; Huynh, E.; Jin, H.; Kim, C.; Rubinstein, J. L.; Chan, W. C. W.; Cao, W.; Wang, L.; Zheng, G. *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 324–332.

3.3. Les colorants-NIR organiques

Les colorants-NIR sont des molécules organiques absorbant dans le proche infrarouge. Elles peuvent être utilisées en imagerie, en thérapie photodynamique (PDT) mais aussi en thérapie photothermique (PTT). En effet, lors de l'irradiation laser, les colorants-NIR vont absorber l'énergie du laser et être dans un état excité singulet. Une faible partie de l'énergie sera dissipée sous forme de lumière (fluorescence), permettant ainsi de réaliser de l'imagerie. Tandis que l'autre partie de l'énergie, peut être relarguée sous forme de chaleur par relaxation vibrationnelle et autres transitions non-radiatives pour la PTT. Un dernier mécanisme est possible, cette fois-ci l'énergie passe de l'état excité singulet à l'état excité triplet par croisement intersystème. Dans cette configuration, les colorants-NIR peuvent induire des espèces réactives tels que des radicaux libres ou de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), utile en PDT (Figure 15). Cependant, l'effet photothermique est le processus majoritaire suite à l'absorption de la lumière par les colorants-NIR.

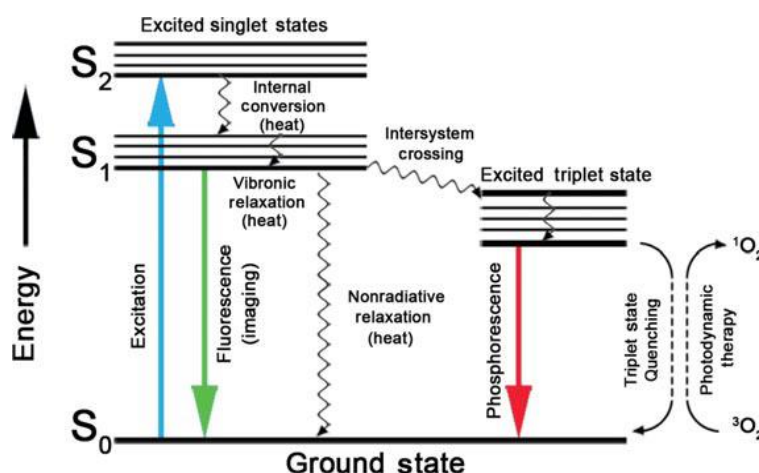


Figure 15 : Illustration du diagramme énergétique des colorants-NIR et des différents processus possibles. Ref 43

Depuis ces dix dernières années, un nombre important de colorants-NIR organiques ont été synthétisés. La majorité de ces composés sont des dérivés cyanine qui ont trouvé une première application en imagerie par fluorescence.⁴³ Ces molécules avec une forte absorption dans le NIR peuvent être aussi utilisées comme agent photothermique pour la PTT. Les dérivés cyanine les plus communément utilisés (Figure 16) sont à la fois des agents fluorescents et photothermiques. Ces molécules permettent à la fois de situer la tumeur par imagerie de

⁴³ Zheng, C. F.; Zheng, M. B.; Gong, P.; Jia, D. X.; Zhang, P. F.; Shi, B. H.; Sheng, Z. H.; Ma, Y. F.; Cai, L. T. *Biomaterials* **2012**, 33, 5603–5609.

fluorescence puis de la détruire par PTT. Cette technique est mieux connue sous le nom de théranostique (thérapie + diagnostique).

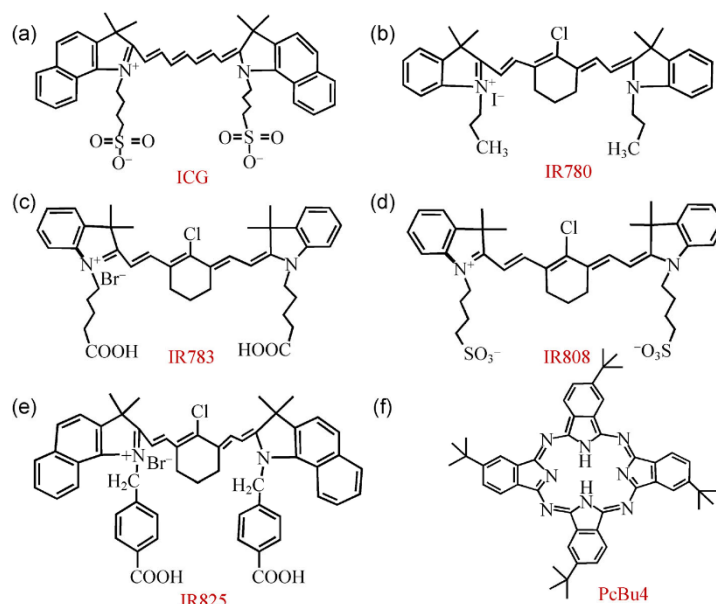


Figure 16 : Structures chimiques de différents colorants-NIR organiques. Ref 43

Ces colorants-NIR, de petits poids moléculaire, sont facilement éliminés par l'organisme et n'ont pas de toxicité à long terme. Parmi ces nombreuses molécules, l'indocyanine green (ICG; Figure 16a) est la seule à avoir reçu l'approbation de l'«US Food and Drug Administration» (FDA). En 2012, Sharfirstein et coll. ont utilisé l'ICG pour supprimer des tumeurs par PTT.⁴⁴ Pour cela, des souris ont été traitées avec ou sans ICG. En présence du dérivé cyanine un effet photothermique (Figure 17a) est observé lors de l'irradiation laser. Cette montée en température, permet d'endiguer le grossissement (Figure 17c) de la tumeur.

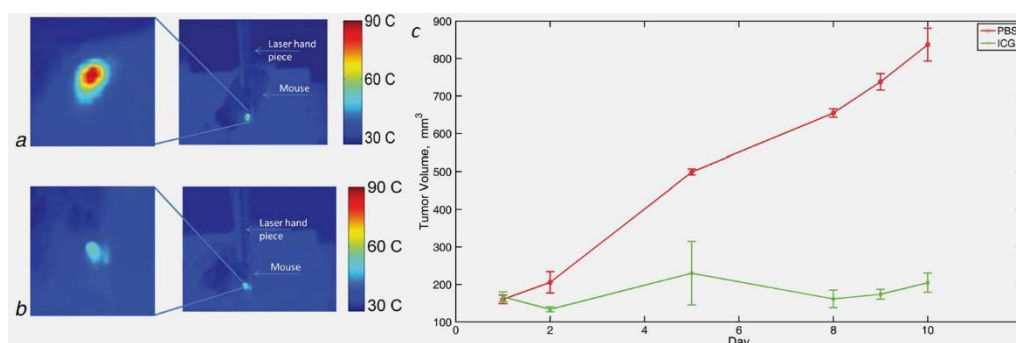


Figure 17 : Élévation de la température de la tumeur sous irradiation laser (808 nm, 433 W/cm², 0,2 s) (a) avec l'ICG en solution dans du PBS (4 mg/Kg) ou (b) PBS seul; (c) Évolution du volume de la tumeur, après irradiation laser (808 nm, 433 W/cm², 0,2 s), selon le traitement administré. Ref 44

⁴⁴ Sharfirstein, G.; Baumler, W.; Hennings, L. J.; Siegel E. R.; Friedman R.; Moreno M. A.; Webber, J.; Jackson, C.; Griffin, R. J. *Int J Cancer* **2012**, 130, 1208–1215.

Peu d'études en PTT ont été réalisées avec des colorants-NIR libres en solution. En effet, ces composés possèdent un certain nombre d'inconvénients, freinant leur utilisation sous forme libre. Par exemple, l'ICG a un temps de demi-vie extrêmement court (~ 3 min).¹⁰ De plus, sous forme libre, elles ont une très faible accumulation par effet EPR et sont rapidement éliminées par l'organisme. De ce fait, une puissance d'irradiation importante est nécessaire pour atteindre la température désirée le plus vite possible. Pour respecter ces conditions, des lasers pulsés dans le NIR (808 nm) avec une grande puissance (433 W/cm^2) sont utilisés. Cependant à une telle puissance, les tissus sains se trouvant entre le laser et la tumeur sont également endommagés. Un autre inconvénient, est l'instabilité des colorants-NIR libres en solution aqueuse (Figure 18a) et leur tendance à s'agréger à hautes concentrations.⁴⁵

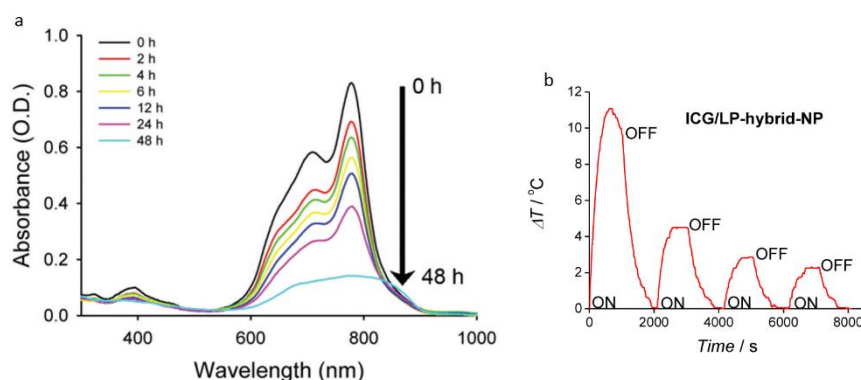


Figure 18 : (a) Spectres UV-Vis-NIR à différents temps d'une solution d'ICG dans l'eau; (b) Élévation de la température en fonction du temps, après 4 cycles d'irradiation laser (808 nm, 15 min) d'une solution d'ICG. Ref 45, 46

Les deux derniers points négatifs sont le photoblanchiment et l'instabilité sous irradiation laser des colorants-NIR (Figure 18b).⁴⁶ De nombreux travaux pour synthétiser des colorants-NIR avec une biodistribution, une accumulation et une stabilité plus importante ont été menés ces dernières années. C'est le cas de l'IR-780 et de l'IR-808 (Figure 16b et 16d). Récemment,⁴⁷ elles ont été utilisées, pour de l'imagerie par fluorescence. Ces nouveaux colorants-NIR répondent aux critères recherchés. A faible dose, pour faire de l'imagerie, l'IR-780 n'est pas cytotoxique. Néanmoins quand on augmente la concentration, pour faire de la PTT, il devient toxique et provoque une mort rapide des souris. Seul l'IR-808 reste peu toxique à des hautes concentrations et peut être envisagé pour des applications en PTT.

⁴⁵ Wang, Y. G.; Kim, H.; Mun, S.; Kim, D.; Choi, Y. *Quant Imaging Med Surg.* **2013**, 3, 132-140.

⁴⁶ Samit, G.; Scott, K. S.; Graeme, T. S.; Felicia, M. R.; Bradley, D. S. *Langmuir*, **2015**, 31, 7826-7834.

⁴⁷ Tan, X.; Luo, S.; Wang, D.; Su, Y.; Cheng, T.; Shi, C. *Biomaterials* **2012**, 33, 2230-2239.

4. Conclusion

En conclusion, de nombreux agents photothermiques ont été mis au point ces dernières années pour la PTT. Les nanomatériaux inorganiques possèdent une bonne efficacité photothermique mais leur non-biodégradabilité est une barrière à leur développement clinique. Les agents organiques sont biocompatibles mais connaissent des limites de stabilité, de reproductibilité et de bioaccumulation dans la tumeur. Il n'existe pas d'agent photothermique idéal pour la PTT et de nombreuses recherches doivent encore être menées. Pour commencer, un futur candidat à la PTT doit respecter certains critères :

- Une forte bande d'absorption dans le NIR, pour avoir une conversion lumière-chaaleur efficace. Ceci permettrait d'utiliser de plus faibles concentrations et puissances d'irradiation laser.
- Une stabilité sous irradiation, afin d'avoir un effet photothermique qui dure plus longtemps sans avoir besoin d'injecter plus de produit.
- Une bonne solubilité dans les liquides biocompatibles. Cela permet d'avoir une biodistribution dans le sang et une accumulation dans la tumeur plus importante.
- Une facilité de fonctionnalisation, pour faire varier aisément certains paramètres (solubilité, toxicité...) mais aussi pour rendre bio-sélectif le produit envers les tumeurs et/ou cellules cancéreuses.
- Une faible toxicité, dans le but d'avoir un traitement avec un minimum d'effets secondaires et une bonne clairance dans l'organisme.

Pour répondre à ces besoins, nous nous sommes intéressés aux complexes Ni-bis(dithiolène). Nous avons choisi de travailler avec les complexes neutres de nickel car ils ont un fort coefficient d'absorption ($\sim 30\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) et un maximum d'absorption entre 600 nm et 1200 nm selon la nature des substituant sur le ligand dithiolène. De plus, ces complexes sont non-luminescents, ce qui implique que toute l'énergie absorbée devrait être relâchée sous forme de chaleur dans le milieu. Cette propriété particulière des complexes Ni-bis(dithiolène) a été proposée pour une application en impression thermique sur film mince par irradiation laser.⁴⁸ Cependant, l'effet photothermique de ces molécules n'a jamais été quantifié. Les objectifs de mon travail de thèse dans la partie suivante sont donc de synthétiser des complexes hydrosolubles, d'évaluer leur effet photothermique dans le NIR, puis de les utiliser en PTT *in vitro*.

⁴⁸ Kawakami, S.; Kojima, Y. *Japan Kokai Tokkyo Koho*, JP 04153086, A 19920526, **1992**.

5. Synthèse, caractérisation et utilisation de complexes Ni-bis(dithiolène) neutres pour la PTT

Les complexes de Ni-bis(dithiolène) choisis, sont des dérivés du Ni-bis(1,2-diphényléthylène-1,2-dithiolate) $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0$ ou du Ni-bis(1,2-dithioléthylène-1,2-dithiolate) $[\text{Ni}(\text{dtedt})_2]^0$. Ces complexes ont été préférés aux autres car ils ont des maxima d'absorption se trouvant dans la fenêtre biologique (Figure 19) et ils sont facilement fonctionnalisables en vue d'en faire des complexes hydrosolubles.⁴⁹

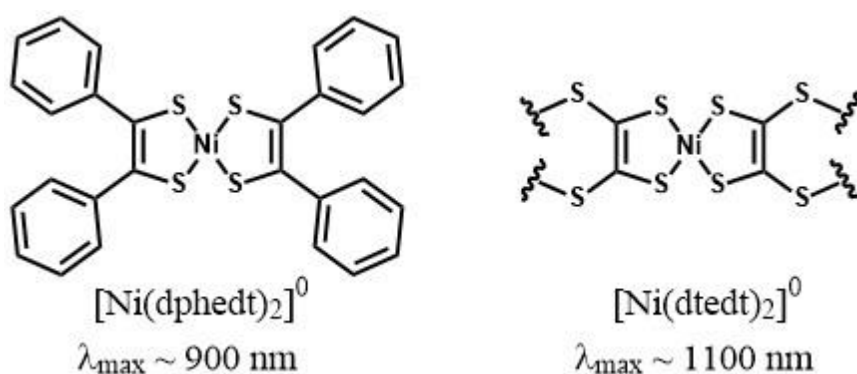


Figure 19 : Illustration des complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0$ et $[\text{Ni}(\text{dtedt})_2]^0$ et indication de leur maximum d'absorption qui varie légèrement en fonction de la substitution des ligands et du solvant utilisé lors de la mesure.

En s'inspirant des travaux d'Ohta et de Cassoux,^{50,51} nous avons greffé des chaînes polyéthylène glycol sur ces complexes. Les chaînes PEG ont été sélectionnées pour leur bonne solubilité dans l'eau et leur biocompatibilité. Les précurseurs dithiolène-PEG sont tout d'abord préparés en plusieurs étapes, puis la réaction de métallation en présence de chlorure de nickel (II) hexahydrate ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) permet d'isoler le complexe désiré. En suivant cette stratégie, trois nouveaux complexes dithiolène neutres (Figure 20) portant des chaînes PEG ont été obtenus (les modes opératoires sont disponibles en Annexe A : Partie expérimentale).

⁴⁹ Mueller-Westerhoff, U. T.; Vance, B.; Yoon, D. I. *Tetrahedron* **1991**, 47, 909-932.

⁵⁰ Ohta, K.; Takagi, A.; Muroki, H.; Yamamoto, I.; Matsuzaki, K. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1987**, 147, 15-24.

⁵¹ Faulmann, C.; Errami, A.; Donnadieu, B.; Malfant, I.; Legros, J.; Cassoux, P.; Rovira, C.; Canadell, E. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 3856-3873.

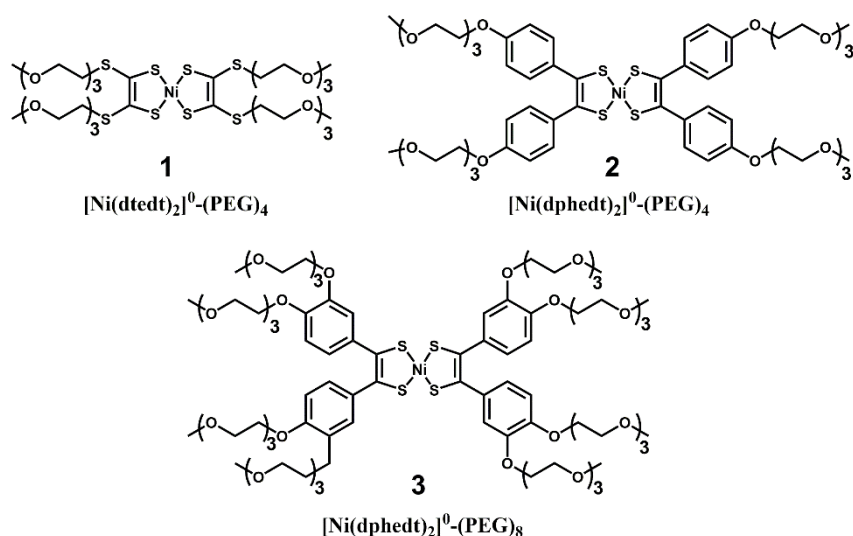


Figure 20 : Illustration des trois complexes de Ni-bis(dithiolène)-PEG obtenus dans le cadre de nos travaux.

5.1. Synthèses

5.1.1. Complexe dithiolène pégylés $[\text{Ni}(\text{dtetd})_2]^0\text{-(PEG)}_4$

La synthèse du complexe $[\text{Ni}(\text{dtetd})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ **1** se fait en deux étapes (Figure 21). Dans une première étape, le dérivé 4,5-dithiole-1-thione bis(PEG) **4** est obtenu par réaction du $[\text{Zn}(\text{dmit})_2][\text{NEt}_4]_2$ avec du 2-méthoxy(2-éthoxy(2-éthoxyéthyl)) *p*-toluènesulfonate (PEG-Ts). Dans une seconde étape, **4** est déprotégé avec du méthanolate de sodium pour donner le ligand dithiolate **5** auquel on ajoute directement le chlorure de nickel (II).⁷³ Le complexe monoanionique obtenu $[\text{Ni}(\text{dtetd})_2]^{-1}\text{-(PEG)}_4$ est stabilisé par ajout de tétrabutylammonium puis oxydé à l'aide de diiode et de iodure de sodium (NaI) pour obtenir le complexe neutre $[\text{Ni}(\text{dtetd})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ **1** désiré, sous forme d'une huile verte avec un rendement de 48%.

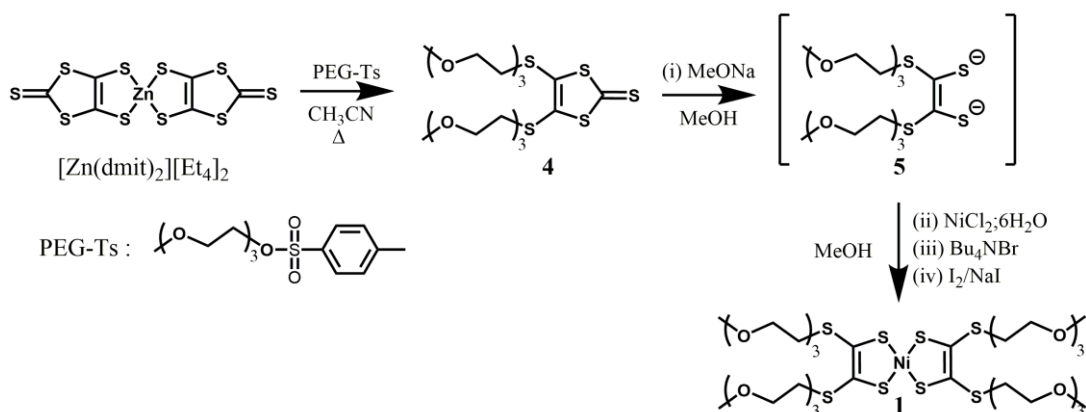


Figure 21 : Schéma réactionnel d'obtention de $[\text{Ni}(\text{dtetd})_2]^0\text{-(PEG)}_4$

5.1.2. Complexes dithiolène pégylés $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ et $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$

Les complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0$ **2** et **3** portant respectivement 4 et 8 chaînes PEG sont obtenus en 5 étapes (Figure 22) selon le même schéma réactionnel, seuls les produits de départ changent. Les dérivés méthoxybenzoïne **6** et **6'** sont préparés par condensation de Wenz entre deux molécules de *p*-anisaldéhyde pour **6** ou de veratraldéhyde pour **6'**. Comme décrit,⁵² les dérivés méthoxybenzoïne bruts sont ensuite directement oxydés en présence de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) pour donner après purification, les intermédiaires méthoxybenzile **7** et **7'**. Dans une troisième étape, les groupements méthoxy sont hydrolysés en milieu acide (HBr 47% et acide acétique) afin de donner quantitativement les composés hydroxybenzile **8** et **8'**. La quatrième étape, est une réaction de Williamson entre **8** ou **8'** et le PEG-Ts, pour obtenir après purification les précurseurs PEG-benzile **9** et **9'**.⁵³ La dernière réaction qui conduit aux complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ et $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ se fait en deux étapes successives, sans isoler l'intermédiaire réactionnel. Dans un premier temps, la sulfuration des dérivés PEG-benzile se fait en présence de P_4S_{10} . L'intermédiaire thiophosphoré obtenu est ensuite hydrolysé directement en présence de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et d'eau,⁵⁴ pour donner les complexes ciblés **2** et **3** sous forme d'une huile verte.

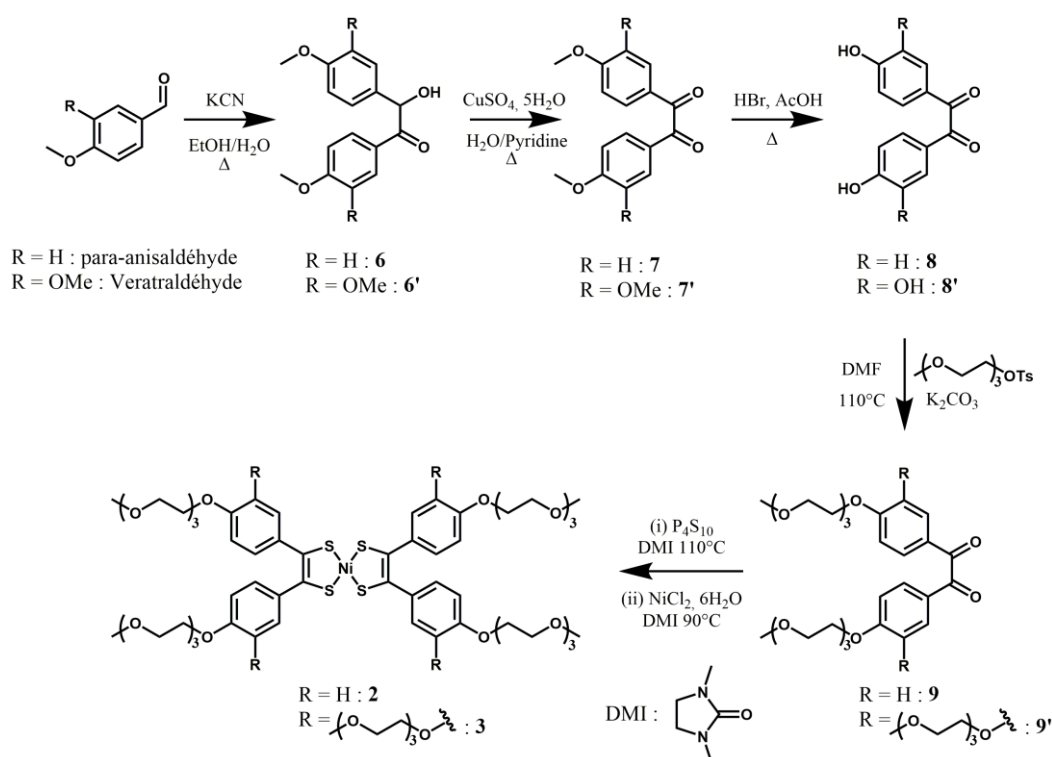


Figure 22 : Schéma réactionnel d'obtention de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ **2** et de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ **3**.

⁵² Wenz, G. *Makromol. Chem., Rapid Commun.* **1985**, 6, 577-584.

⁵³ Williamson, A. W. *Philos. Mag.*, **1850**, 37, 350-356.

⁵⁴ Arumugam, K.; Bollinger, J. E.; Fink, M.; Donahue, J. P. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 3283-3288.

Dans la littérature, le solvant le plus couramment utilisé pour réaliser la dernière étape est le 1,4-dioxane. Néanmoins, dans ces conditions, les produits désirés ne sont pas obtenus. Des travaux antérieurs effectués au sein du laboratoire ont montré que le remplacement du 1,4-dioxane par le 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone (DMI) permettait d'améliorer les rendements de synthèse des complexes dithiolène.⁵⁵ En s'appuyant sur ces résultats, nous avons utilisé le DMI qui nous a permis d'obtenir les complexes **2** et **3** avec des rendements respectifs de 58% et de 37%. Des essais pour fonctionnaliser le complexe avec 12 chaînes PEG ont également été menés. Dans cet objectif, des groupements phényle substitués par 3 chaînes PEG ont été liés à chaque phényle du ligand par une liaison ester. Cependant le complexe souhaité n'a jamais pu être isolé car l'encombrement stérique, autour de l' α -dicétone, est probablement trop important pour permettre la sulfuration et la complexation.

5.1.3. *Solubilité dans l'eau et propriétés optiques*

Dans un premier temps, la solubilité dans l'eau de ces nouveaux complexes a été déterminée. Pour cela, une petite quantité de complexe Ni-bis(dithiolène) est mise en suspension dans l'eau puis soniquée au bain à ultrasons. Le complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ (**2**) est complètement insoluble dans l'eau. La molécule $[\text{Ni}(\text{dtedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ (**1**) est partiellement soluble. Une légère coloration verte de la solution est observée mais la majorité du produit reste insoluble dans l'eau. En revanche, le complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ (**3**), portant 8 chaînes polyéthylène glycol est parfaitement soluble dans l'eau, donnant à la solution une couleur verte (Figure 23), caractéristique des complexes de Ni-bis(dithiolène) neutres en solution. La solubilité de cette molécule est supérieure à 10 mg/mL soit 5 mmol/L.

Pour appréhender le caractère hydrophile ou lipophile du complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$, un calcul de LogP a été réalisé dans un mélange eau-octanol. Le LogP est égal au logarithme du rapport des concentrations du complexe dans l'octanol et dans l'eau ($\text{LogP} = \text{Log}(C_{\text{oct}}/C_{\text{eau}})$). Si le LogP est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement, si le Log P est négatif cela signifie que la molécule considérée est hydrophile. Dans cet objectif, une quantité établie de complexe a été dissoute dans un mélange 50/50 d'octanol et d'eau. Après agitation et séparation des deux phases, le dosage par spectroscopie UV-Vis-NIR ne montre aucune trace de **3** dans l'eau. Ces résultats mettent en évidence que le

⁵⁵ Perochon, R.; Piekara-Sady, L.; Jurga, W.; Clérac, R.; Fourmigué, M. *Dalton Trans.* **2009**, 16, 3052-3061.

complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ a un très fort caractère lipophile, malgré une bonne solubilité dans l'eau.

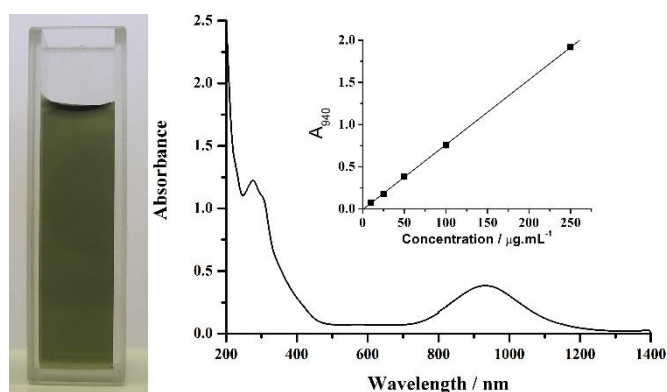


Figure 23 : Illustration d'une solution ($C = 500 \mu\text{g/mL}$) et d'un spectre UV-Vis-NIR ($C = 50 \mu\text{g/mL}$) du complexe **3** dans l'eau. (Insert : Évolution de l'absorbance à 940 nm en fonction de la concentration en **3**)

Le spectre d'absorption UV-Vis-NIR du complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ **3** dans l'eau, montre une forte bande d'absorption entre 700 nm et 1200 nm (Figure 23) avec un maximum d'absorption dans le NIR à 936 nm et un haut coefficient d'absorption molaire ($\epsilon \sim 14\,200 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées dans le dichlorométhane ($A_{\text{max}} = 948 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 36\,000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). De plus, l'absorbance suit parfaitement la loi de Beer-Lambert. Ce résultat, indique l'absence d'interactions intermoléculaires au-dessous de $250 \mu\text{g/mL}$.

En conclusion, un complexe de Ni-bis(dithiolène) hydrosoluble et absorbant dans le NIR a été synthétisé. Nous nous sommes alors intéressés aux propriétés photothermiques de ce nouveau complexe.

5.2. Propriétés photothermiques du complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$

5.2.1. Mesure de l'effet photothermique

L'effet photothermique du complexe **3** a été quantifié à l'aide du montage suivant composé :

- Une diode laser d'une longueur d'onde d'irradiation de 940 nm, correspondant au maximum d'absorption du complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$.
- Une lentille, permettant de focaliser et d'ajuster la taille du spot du faisceau laser sur l'échantillon. En fonction de la taille du spot, l'intensité du faisceau laser est réglée pour avoir la puissance en W/cm^2 désirée.

- Une cuve UV, contenant la solution recevant l'irradiation laser.
- Un thermocouple, plongeant dans la solution et relié à un multimètre, pour déterminer en temps réel, à l'aide d'un logiciel, l'élévation de température en fonction du temps.

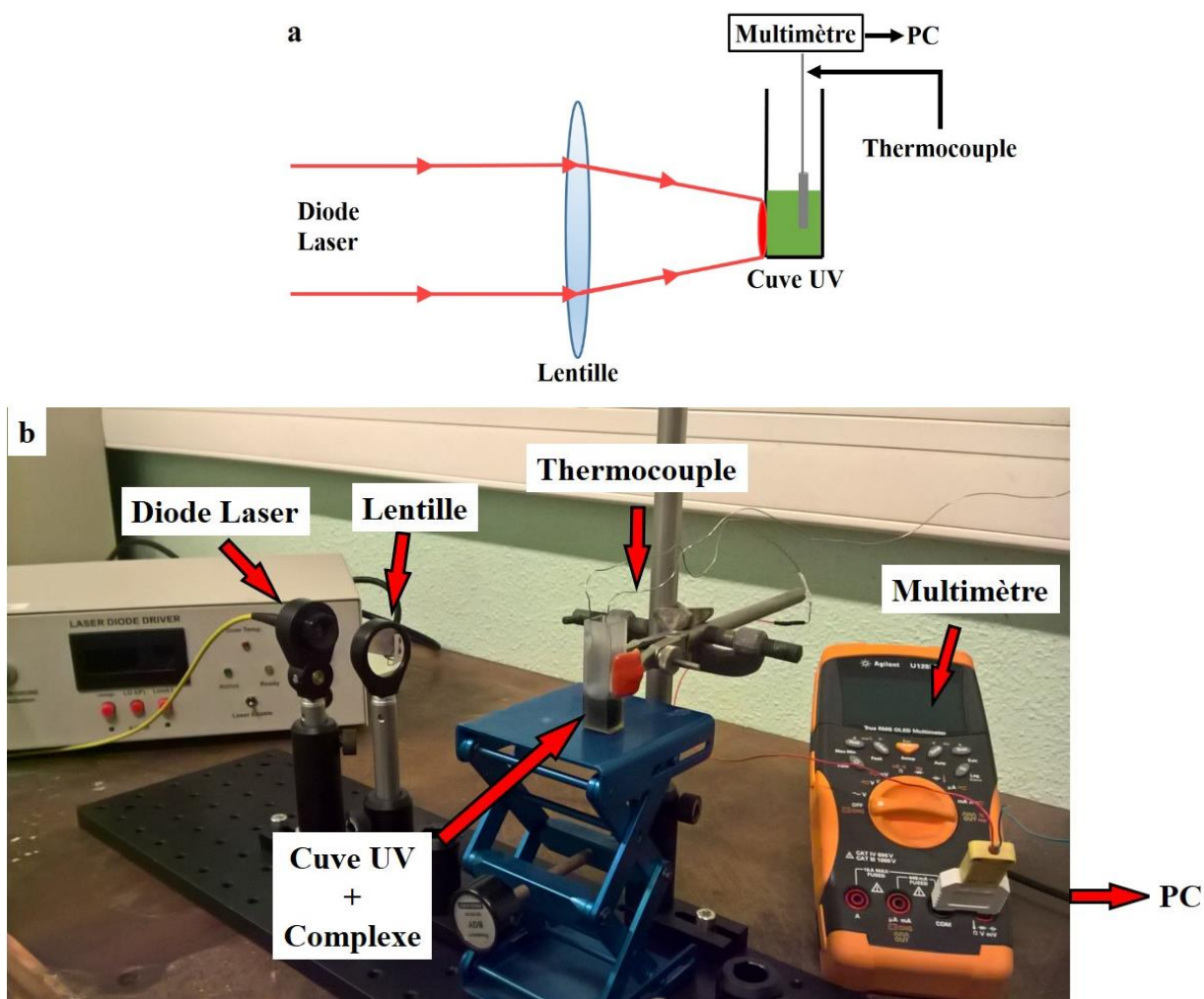


Figure 24 : (a) Schéma du montage permettant de mesurer l'effet photothermique d'un composé; (b) Photographie du montage réalisé.

Une fois le montage réglé (Figure 24), des solutions de différentes concentrations en $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$, allant de 0 $\mu\text{g/mL}$ à 500 $\mu\text{g/mL}$, ont été préparées. Tous les échantillons ont été irradiés (Figure 25) successivement pendant 10 min avec un laser à 940 nm et à des puissances variables (1 W/cm^2 , 2 W/cm^2 et 5 W/cm^2). Les mesures d'élévation de température ($\Delta T = T_{\text{mesurée}} - T_{\text{ambiante}}$) en fonction du temps, aux différentes puissances, montrent qu'au-dessous de 25 $\mu\text{g/mL}$, le complexe 3, a une activité photothermique trop faible pour être détectée, même aux plus fortes puissances (Figure 25).

Au-dessus de 25 $\mu\text{g/mL}$, quelle que soit la puissance d'irradiation, un effet photothermique est observé et le ΔT augmente avec la concentration. Par exemple, à une

puissance de 1 W/cm^2 et sans complexe le ΔT est de 7°C dans l'eau pure, alors qu'à une concentration de $500 \mu\text{g/mL}$ en complexe un ΔT de 20°C est mesuré (Figure 25a). Comme attendu, le ΔT augmente aussi en fonction de la puissance. En effet, en gardant la même concentration de $500 \mu\text{g/mL}$ mais cette fois-ci avec une puissance de 5 W/cm^2 un ΔT de 65°C est mesuré (Figure 25d).

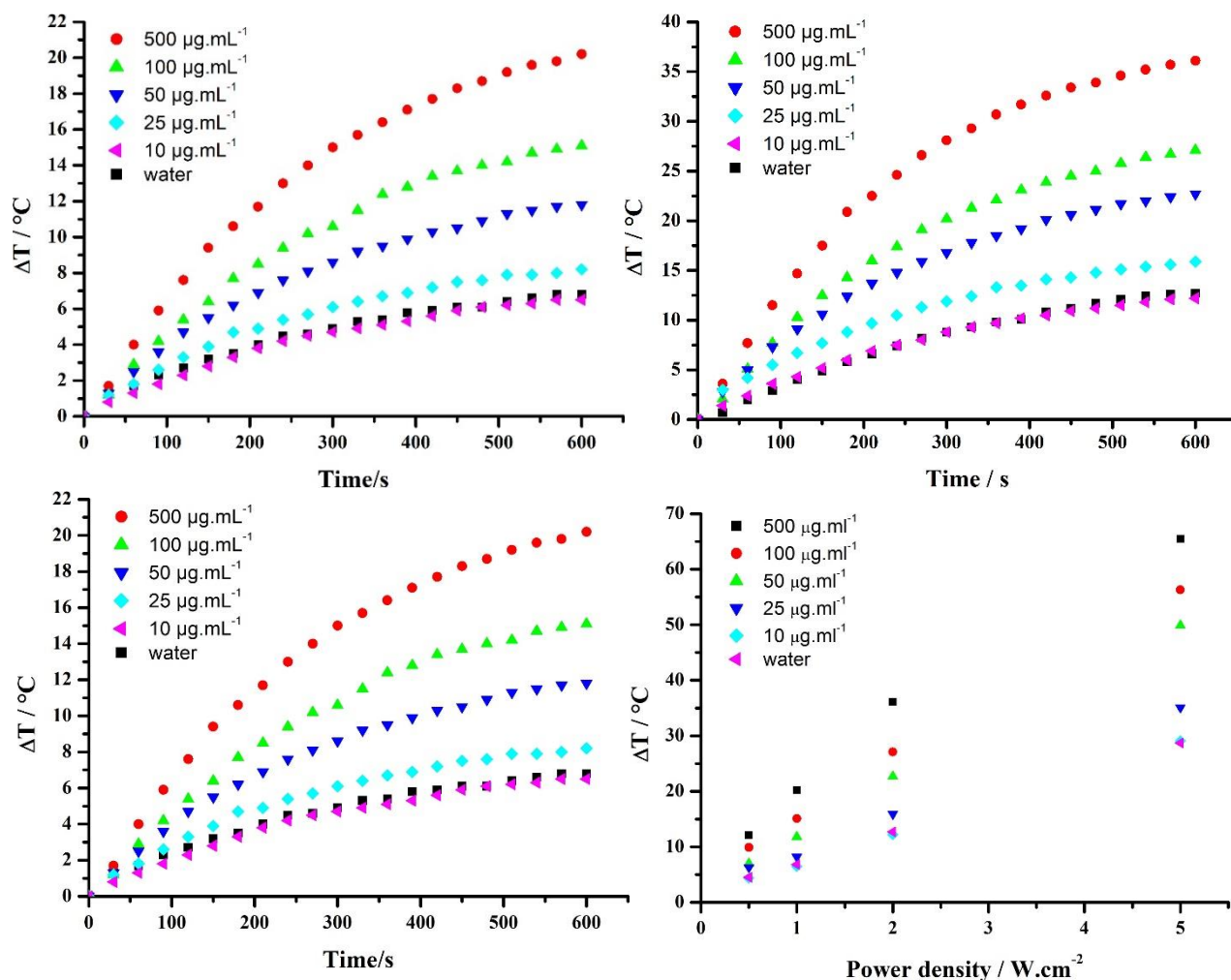


Figure 25 : Mesure de l'élévation de température, à différentes concentrations en **3**, en fonction du temps et à des puissances variables (a) 1 W/cm^2 (b) 2 W/cm^2 (c) 5 W/cm^2 ; (d) Élévation de température maximum atteinte, en fonction de la puissance du laser et à différentes concentrations.

5.2.2. *Mesure de l'efficacité photothermique (η)*

L'efficacité photothermique (η) représente la quantité de lumière absorbée qui a été convertie en chaleur dans le milieu. Cette mesure a été réalisée sur trois échantillons à 50, 100 et 500 $\mu\text{g/mL}$ en $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ dans l'eau. Chaque solution a été irradiée pendant 10 min à 940 nm avec une puissance de 1W/cm^2 , soit 0,785 W pour un faisceau laser de 1 cm de diamètre, puis le laser a été éteint et la mesure du ΔT a continué à se faire pendant 10 minutes (Figure 26).

Les valeurs de η ont été calculées en utilisant l'équation suivante (Eq 1), décrit par Roper et coll. et basée sur l'équilibre énergétique du système :⁵⁶

$$\eta = \frac{(hS\Delta T_{\text{max}} - Q_{\text{eau}})}{I \times (1 - 10^{-A_{940}})} \quad (\text{Eq 1})$$

h est le coefficient de transfert de chaleur, S est l'aire de la surface irradiée de la cuve, ΔT_{max} est l'élévation de température maximum atteinte et dépend de la concentration de l'échantillon irradié, I est la puissance du laser appliquée à l'échantillon (0,785 W) et A_{940} est l'absorbance à 940 nm. La valeur hS est déduite de l'équation suivante (Eq 2) :

$$\tau_s = \frac{(m_{\text{eau}} \times C_{p_{\text{eau}}})}{hS} \quad (\text{Eq 2})$$

τ_s est la constante de temps du système, m_{eau} est la masse d'eau introduite (1.00 g) et $C_{p_{\text{eau}}}$ est la capacité calorifique de l'eau (4.18 J.g^{-1}). τ_s correspond au coefficient directeur (Figure 26b, 26d, 26f et 26h) de la régression linéaire de la droite $t = -\ln(\Delta T/\Delta T_{\text{max}}) \times \tau_s$ obtenue sur la période de temps où le laser est éteint. Le dernier terme qui reste à définir est Q_{eau} , il correspond à la chaleur dissipée à partir de l'énergie absorbée par une solution d'eau pure. Soit $Q_{\text{eau}} = hS\Delta T_{\text{max}}$ avec les termes hS et ΔT_{max} déterminés de la même façon que précédemment mais sur une solution d'eau pure, ne contenant pas de complexe de Ni-bis(dithiolene), et irradiée dans les mêmes conditions.

⁵⁶ Roper, D. K.; Ahn, W.; Hoepfner, M. *J. Phys.Chem. C* **2007**, *111*, 3636–3641.

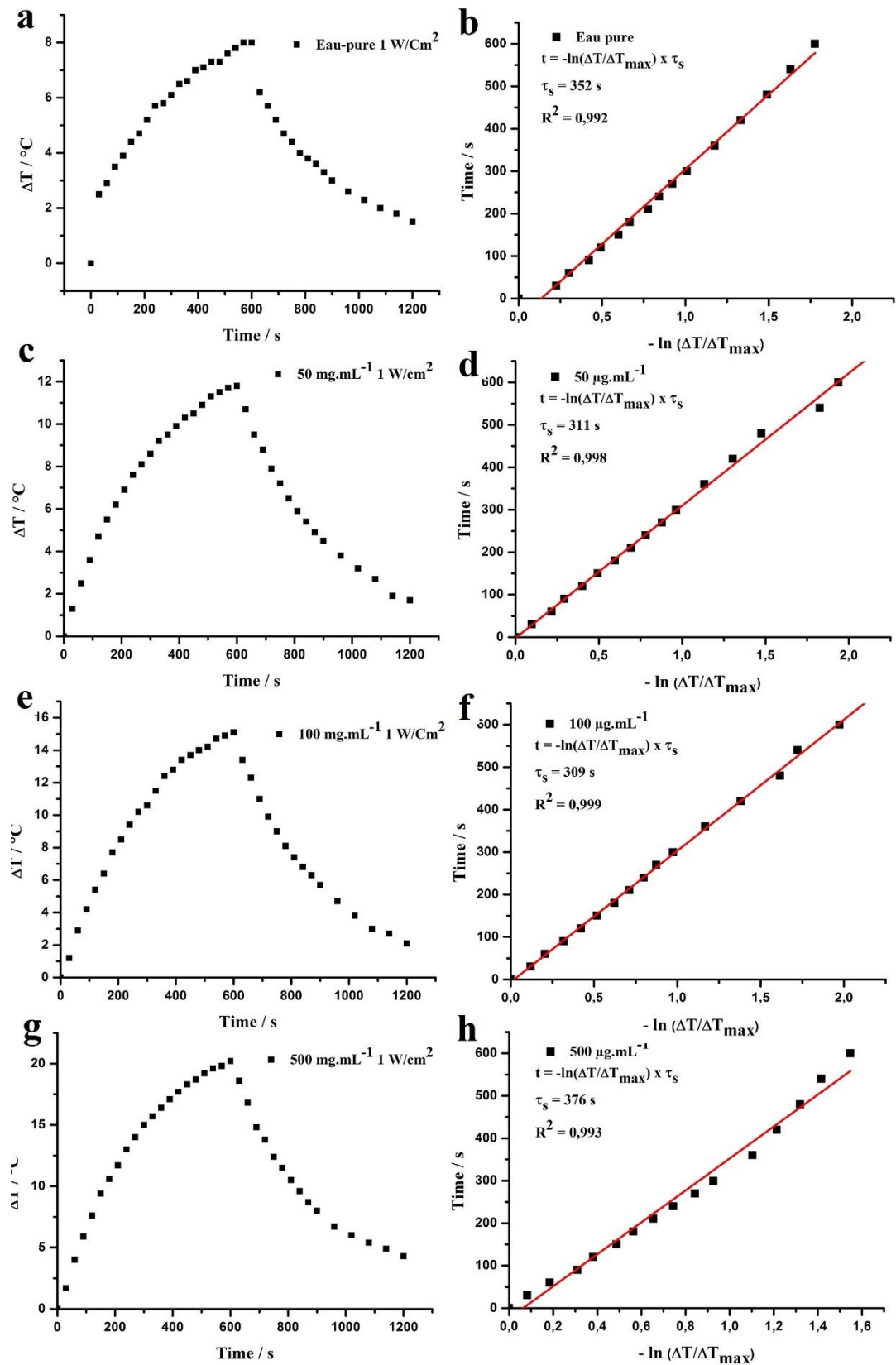


Figure 26 : Mesure du ΔT sous irradiation laser (940 nm, 1 W/cm^2) pendant 10 min puis sans irradiation (10 min) à différentes concentrations (a) Eau pure (c) 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (e) 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (g) 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Détermination de la constante de temps du système, τ_s , aux différentes concentrations (b) Eau pure (d) 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (f) 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (h) 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

A l'aide de ces équations, les rendements d'efficacité photothermiques (Tableau 1) ont été calculés pour chaque échantillon en tenant compte des variables dépendant de la concentration ($\Delta T_{\max}$ et A_{940}). Il faut noter que le hS est du même ordre de grandeur pour les différents échantillons car il représente la constante du système qui dépend principalement de la nature du solvant utilisé.

	hS	$\Delta T_{\max}$ (°C)	A_{940}	η
Eau pure	0,0118	8	0	0 %
50 $\mu\text{g/mL}$	0,0134	11,8	0,386	14 %
100 $\mu\text{g/mL}$	0,0135	15,1	0,771	17 %
500 $\mu\text{g/mL}$	0,0111	20,2	3,856	16 %

Tableau 1 : Valeurs des variables à différentes concentrations, permettant de calculer les différentes efficacités photothermiques ($I = 0,785 \text{ W}$)

Ces mesures et ces calculs ont permis de déterminer une moyenne de l'efficacité photothermique pour ce complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ d'environ 16 %. Par conséquent, 16 % de l'énergie absorbée par la molécule est transformée puis relâchée sous forme de chaleur dans le milieu. Ces résultats sont comparables à ceux des nanostructures d'or ($\eta \sim 13\text{-}22\%$) qui font actuellement l'objet d'un grand intérêt,⁵⁷ par la communauté scientifique, pour la thérapie photothermique. De plus, ces complexes possèdent l'avantage d'être stables sous irradiation laser contrairement aux nanoparticules d'or et aux colorants-NIR organiques. En effet, après plusieurs cycles d'irradiation (Figure 27), l'élévation de température du complexe **3** est toujours la même, ce qui confirme la stabilité thermique et photochimique des complexes Ni-bis(dithiolène) sous irradiation laser.⁴⁹

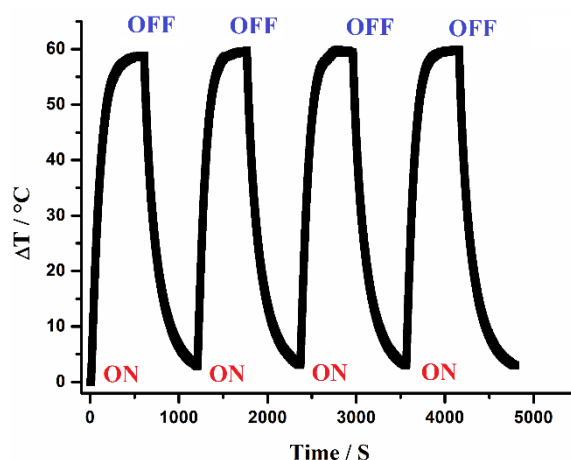


Figure 27 : Mesure de la stabilité photothermique du complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ après 4 cycles d'irradiation laser (940 nm, 5 W/cm², 10 min irradiation / 10 min de refroidissement).

⁵⁷ Huang, P.; Lin, J.; Li, W.; Rong, P.; Wang, Z.; Wang, S.; Wang, X.; Sun, X.; Aronova, M.; Niu, G.; Leapman, R. D.; Nie, Z.; Chen, X. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 13958–13964.

La photo-stabilité du complexe **3** associée à sa bonne efficacité photothermique dans le NIR, nous a amené à explorer le potentiel de cette molécule comme agent photothermique pour la PTT.

5.3. Étude *in vitro* du $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{PEG})_8$ comme agent photothermique pour la PTT

Dans un premier temps, des tests de cytotoxicité *in vitro* ont été réalisés sur des cellules cancéreuses (786-0) provenant d'un patient atteint d'un carcinome rénal. Pour cela, le complexe **3** a été mis en présence des cellules incubées 786-0, à différentes concentrations dans une plaque multi-puits. Après 24h d'incubation à 37°C, la viabilité des cellules est mesurée à l'aide d'un test MTT. En fait, le sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) est introduit après les 24h dans chaque puits, contenant les cellules 786-0 et différentes quantités du complexe **3**. Les différents milieux de culture sont à nouveau incubés pendant 3 heures à environ 37°C.

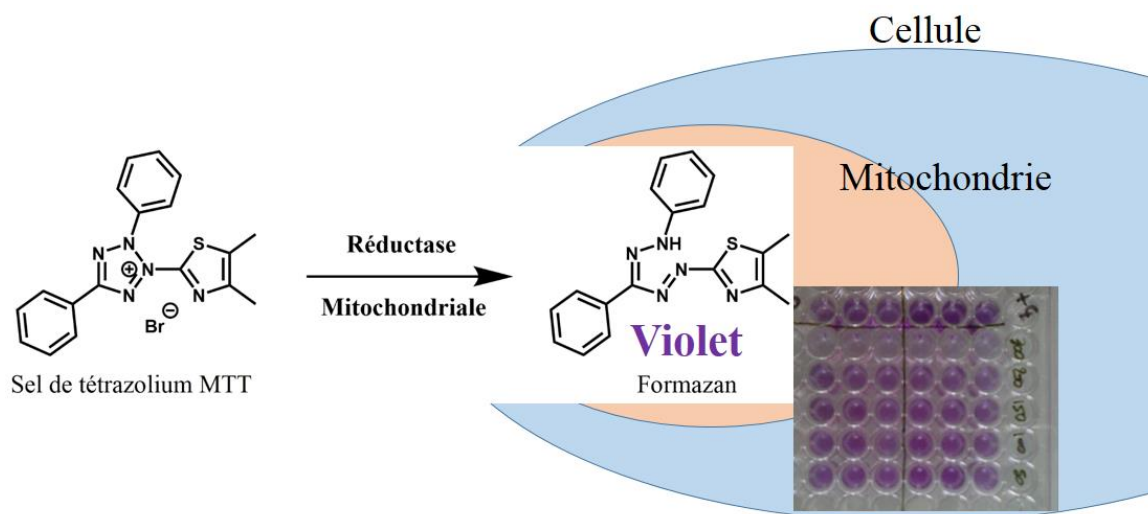


Figure 28 : Illustration du test MTT sur des cellules vivantes.

Lors de cette nouvelle incubation, le cycle tétrazolium du MTT est réduit en Formazan, par une enzyme réductase mitochondriale des cellules vivantes (Figure 28). Cette réaction forme un précipité de couleur violette dans la mitochondrie. La quantité de précipité formée est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Il suffit donc, après les 3 heures d'incubation, de dissoudre les cellules, leurs mitochondries et donc les précipités de Formazan violets dans du DMSO. Un simple dosage, par spectroscopie UV-Vis, de la densité optique à 550 nm permet alors de connaître la quantité relative de cellules vivantes.

En suivant ce procédé, la cytotoxicité du complexe de nickel octa-pégylé envers les cellules cancéreuses 786-0 a été déterminée. Plus la concentration en complexe **3** augmente, plus le produit est cytotoxique pour les cellules 786-0. A partir de 250 $\mu\text{g/mL}$, la viabilité des cellules, au bout de 24 heures, passe de 80% à 60% (Figure 29). Un produit avec une cytotoxicité élevée risque de donner des effets secondaires indésirables, ce qui est le cas de nombreux médicaments utilisés en chimiothérapie. Pour minimiser ces effets, la concentration en complexe utilisée ne dépassera pas les 100 $\mu\text{g/mL}$ (60 μM) dans nos expériences. Il faut noter, que plus le temps d'incubation est long plus le complexe **3** est cytotoxique. Effectivement, après 48 heures d'incubation en présence de 100 $\mu\text{g/mL}$ de **3**, la viabilité passe de 80 % à 30 %.

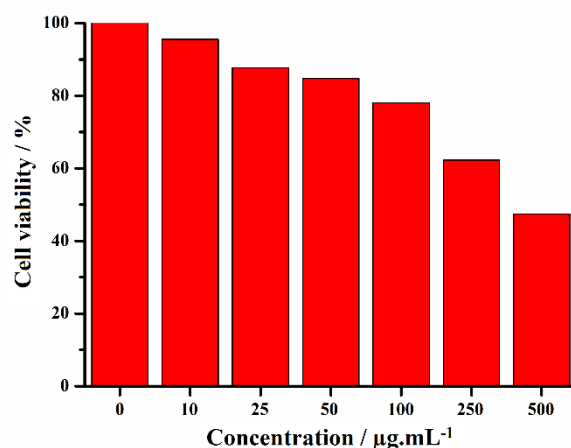


Figure 29 : Viabilité des cellules cancéreuses (786-0, en fonction de la concentration en complexe **3**, après 24 heures d'incubation à 37°C.

Cette première étude a permis d'établir la concentration maximale en $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{PEG})_8$ qui sera utilisée dans les tests *in vitro* sous irradiation laser. Avant de réaliser cette expérience, il faut déterminer la puissance d'irradiation permettant d'atteindre l'hyperthermie ($\sim 50^\circ\text{C}$). Les mesures d'efficacité photothermique étant réalisées à une température ambiante d'environ 20°C , le ΔT_{max} atteint doit donc être au minimum de 30°C . Pour induire la mort cellulaire, une puissance d'irradiation à 5 W/cm^2 à partir d'une concentration à 50 $\mu\text{g/mL}$ en complexe **3** respectent ces conditions (Figure 30a). En effet, une plus faible puissance de 2 W/cm^2 requiert une concentration supérieure à 100 $\mu\text{g/mL}$.

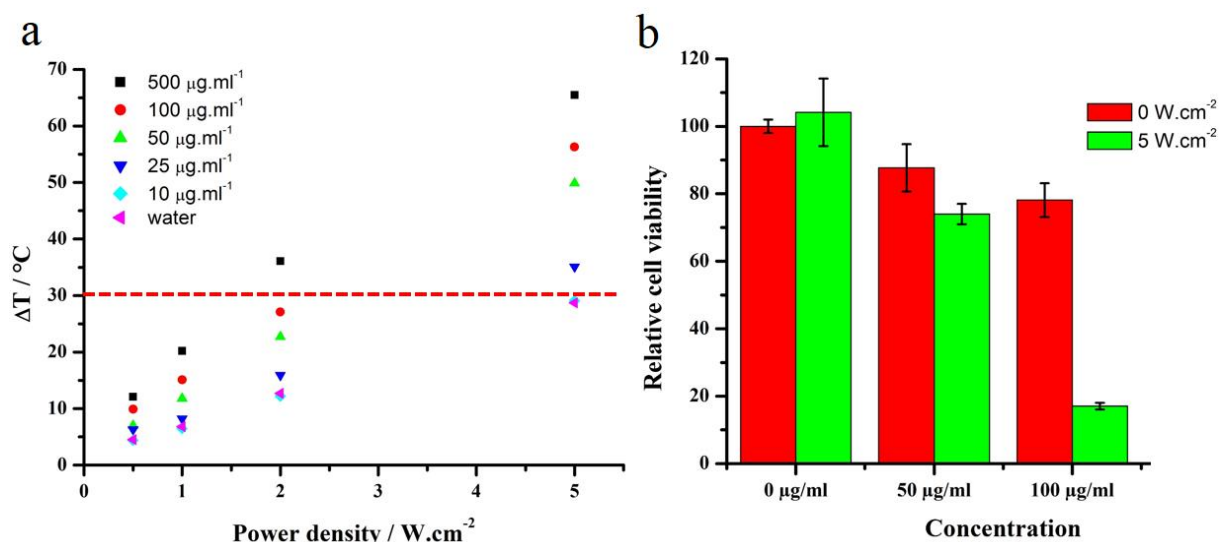


Figure 30 : (a) Élévation de température maximum atteinte, sous irradiation laser (940 nm, 10 min), en fonction de la puissance et à différentes concentrations en **3**; (b) Viabilité relative des cellules cancéreuses à différentes concentrations en complexe **3** avec ou sans irradiation (940 nm, 5 W/cm², 10 min).

Pour évaluer son potentiel en thérapie photothermique, le complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{PEG})_8$ est incubé à différentes concentrations (de 0 μg/mL à 100 μg/mL) et en présence de cellules cancéreuses 786-0. Après 24 heures d'incubation, les puits contenant le milieu de culture, sont irradiés individuellement à 5 W/cm² pendant 10 min. Après irradiation, un test MTT est réalisé pour déterminer la viabilité des cellules après traitement. En l'absence du complexe **3**, l'irradiation laser seule n'a aucune influence sur la viabilité des cellules. A une concentration de 50 μg/mL, l'effet photothermique est insuffisant pour atteindre l'hyperthermie nécessaire à la destruction des cellules cancéreuses. Par contre, lorsque la concentration en Ni-bis(dithiolène) octa-pégylé est de 100 μg/mL, la viabilité des cellules cancéreuses passe de 80 % sans irradiation à 20% après 10 minutes d'irradiation (Figure 30b). Les images obtenues par microscopie à contraste de phase, avant et après irradiation, confirment que l'effet photothermique du $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{PEG})_8$ engendre la mort cellulaire. Sans complexe (contrôle) mais avec irradiation, les cellules cancéreuses sont viables puisque leur forme ne change pas (Figure 31a et 31b). De même en présence du complexe **3** et sans irradiation (Figure 31c), l'image correspond à celle du contrôle (Figure 31a). Par contre, après irradiation en présence de **3**, les cellules ont adopté une forme ronde (Figure 31d), signe de mort cellulaire.

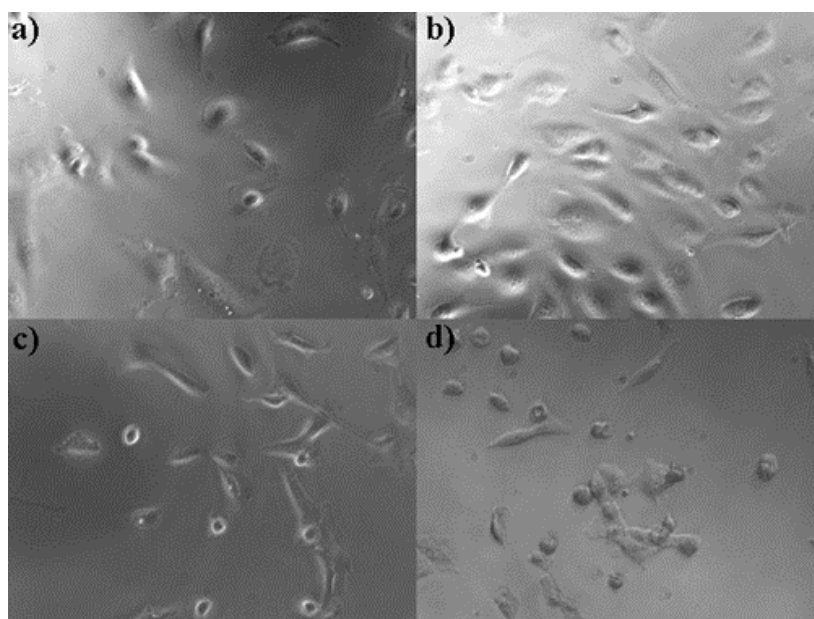


Figure 31 : Images obtenues par microscopie à contraste de phase (a) contrôle, (b) sans complexe **3** et avec irradiation, (c) avec complexe **3** et sans irradiation (d) avec complexe **3** et avec irradiation (940 nm, 5 W/cm², 10 min).

Ces premiers résultats *in vitro* mettent en évidence que les complexes de nickel-bis(dithiolène) peuvent être de bons candidats comme agent thérapeutique photoactif dans le NIR pour faire de la thérapie photothermique (PTT). Face à ces résultats encourageants, nous avons décidé de remplacer l'atome de Ni par celui de Pt afin d'étudier l'impact du centre métallique sur la cytotoxicité.

5.4. Synthèse et étude cytotoxique du complexe [Pt(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈

Le complexe de platine octa-pégylé **3'** a été obtenu (Figure 32) en partant du composé dicétone **9'** précédemment préparé (Figure 22) et en remplaçant le NiCl₂, après sulfuration au P₄S₁₀ dans du DMI, par le tétrachloroplatinate (II) de potassium (K₂PtCl₄). Après purification sur colonne de silice, le complexe **3'** est obtenu sous forme d'une huile mauve avec un rendement de 21%. Des tentatives pour synthétiser le complexe d'or [Au(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈ et le complexe de palladium [Pd(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈ ont été réalisées mais les produits désirés n'ont jamais pu être isolés. Ce complexe de Pt **3'** a un caractère lipophile et une solubilité comparable à celui du complexe de nickel **3** (> 10 mg/mL).

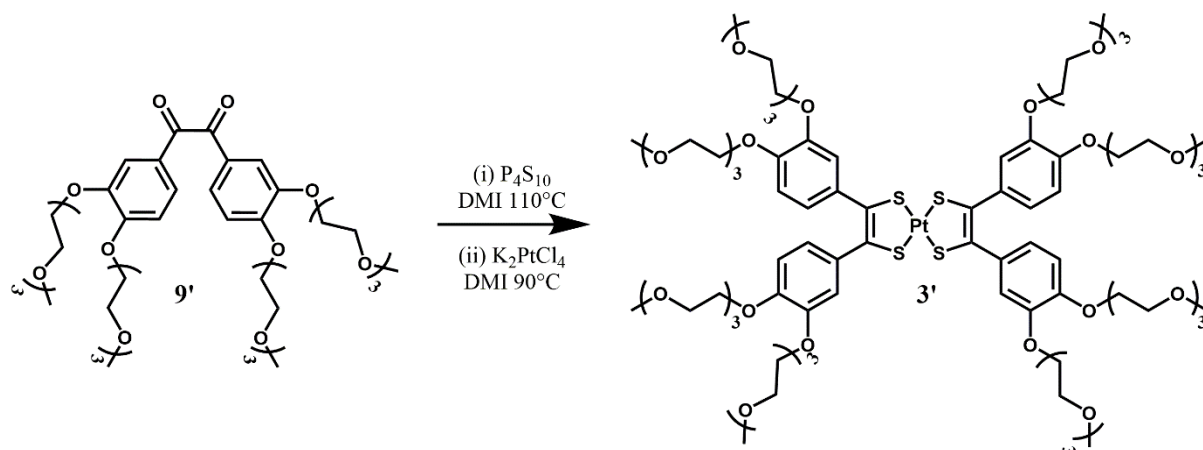


Figure 32 : Schéma de synthèse du $[\text{Pt}(\text{dphedt})_2]^{0}-(\text{PEG})_8$ **3'**.

L'analyse par spectroscopie UV-Vis-NIR met en évidence que la variation du centre métallique a une influence sur la position de la bande d'absorption dans le NIR. Dans notre système, en remplaçant le nickel par du platine, un effet hypsochrome est observé (Figure 33). En effet, le maximum d'absorption dans le NIR (940 nm pour le complexe de Ni) se déplace vers de plus faibles longueurs d'onde (878 nm pour le complexe de Pt). Ce déplacement de la bande d'absorption est classique pour ce type de complexes. De plus, le coefficient d'absorption molaire ($\epsilon \sim 19\,700\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) du complexe de platine **3'** est du même ordre de grandeur que celui du $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0}-(\text{PEG})_8$.

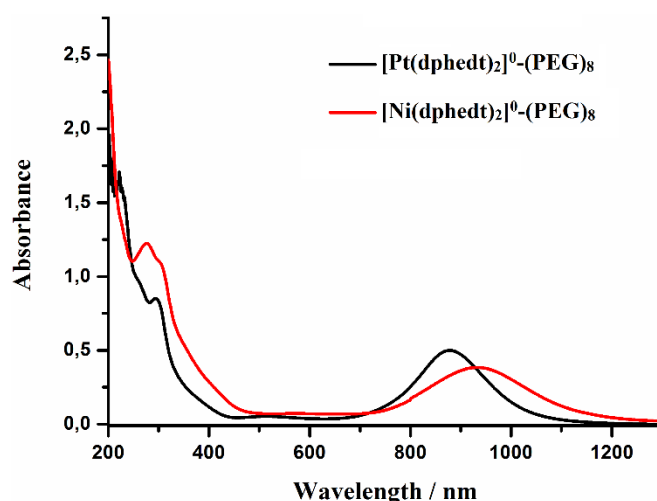


Figure 33 : Spectroscopie UV-Vis-NIR des complexes de $[\text{Pt}(\text{dphedt})_2]^{0}-(\text{PEG})_8$ et de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0}-(\text{PEG})_8$ à une concentration de 50 $\mu\text{g/mL}$.

Les mesures d'efficacité photothermique n'ont pas pu être menées, faute de laser ayant une longueur d'onde d'irradiation correspondant au maximum d'absorption du complexe **3'** dans le NIR. Malgré tout, des études de cytotoxicité *in vitro* ont été réalisées pour déterminer si un des deux complexes était à privilégier par la suite. De la même façon que précédemment

le complexe de Pt **3'** a été incubé en présence de cellules cancéreuses 786-0 pendant 24 heures, puis un test MTT a été effectué (Figure 34). Cette expérience, met en évidence que le remplacement du centre métallique de Ni par du Pt n'a pas d'influence notable sur la cytotoxicité des complexes bis(dithiolène).

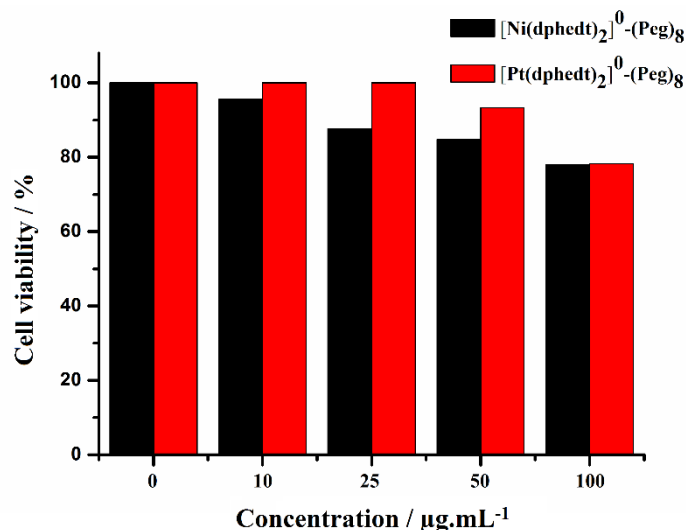


Figure 34 : Viabilité des cellules cancéreuses (786-0) de patients atteints d'un carcinome rénal, en fonction de la concentration en [Pt(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈ ou en [Ni(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈, après 24 heures d'incubation à 37°C.

Au vu de ces premiers résultats, le complexe de Ni est plus intéressant. En effet, il est obtenu plus facilement et avec un meilleur rendement (37 % pour le Ni contre 21 % pour le Pt). De plus, le Ni a un coût inférieur à celui du Pt, sans être plus cytotoxique *in vitro* (Aldrich NiCl₂·6H₂O (5g) ~ 30 € ; Aldrich K₂PtCl₄ (5g) ~ 900 €). Le principal intérêt d'utiliser un autre centre métallique est de pouvoir irradier à d'autres longueurs d'onde dans la fenêtre thérapeutique.

Il faut noter que des essais pour obtenir d'autres complexes hydrosolubles ont été réalisés, en remplaçant cette fois-ci les chaînes PEG par des groupements hydroxyles, des ammoniums quaternaires ou des sucres (glucoses) (Figure 35).

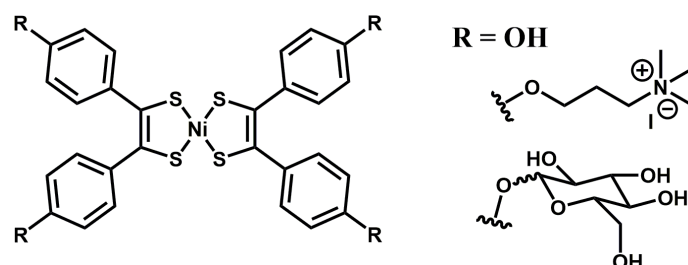


Figure 35 : Illustration des complexes Ni-bis(dithiolène) envisagés en remplaçant le groupement PEG par d'autres fonctions hydrophiles.

Malgré plusieurs tentatives, les complexes attendus n'ont jamais pu être isolés et/ou caractérisés pour des études *in vitro*. Les complexes Ni-bis(dithiolène) hydrophiles, portant des groupes fonctionnels réactifs, semblent beaucoup plus difficiles à isoler que les complexes hydrophobes, possédant des chaînes grasses. Cette observation est probablement due au caractère électrophile de l'atome de nickel dans le complexe, pouvant ainsi être attaqué par les fonctions nucléophiles présentes en bout de chaîne (OH, I⁻).

5.5. Conclusion et perspectives

En conclusion, de nouveaux complexes métal-bis(dithiolène) solubles dans l'eau ont été synthétisés, en greffant des chaînes polyéthylène glycol sur le cœur dithiolène. La variation du centre métallique permet de choisir sa longueur d'onde d'irradiation mais n'a pas d'influence notable sur la cytotoxicité *in vitro* des complexes. Le complexe de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ possède quelques avantages sur le complexe de $[\text{Pt}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ le rendant plus attractif. Cette molécule, à base de nickel, a une efficacité photothermique (~ 16 %) comparable à celle des nanostructures d'or utilisés en PTT (~13-22 %) et est stable sous irradiation laser NIR (940 nm, 0,5-5 W/cm²) contrairement à l'indocyanine green ou aux nanobâtonnets d'or. De plus, les expériences *in vitro* ont montré que ce complexe pouvait induire la mort cellulaire par irradiation laser NIR. Tous ces résultats mettent en évidence que cette classe de complexes métalliques est une nouvelle génération d'agents thérapeutiques pour la PTT. Malgré tous ces avantages, de nombreux points restent à approfondir (bioaccumulation, biodégradabilité, biocompatibilité...).

L'inconvénient majeur de ces complexes de Ni-bis(dithiolène) est leur cytotoxicité non négligeable. En effet, des trop hautes concentrations ne peuvent pas être employées, limitant ainsi l'utilisation de plus faibles puissances d'irradiation, pour atteindre l'hyperthermie. L'autre point à améliorer est l'absorption du complexe par les cellules. Effectivement, si le milieu de culture est filtré avant irradiation, pour éliminer le complexe n'ayant pas été absorbé, la mort cellulaire n'est plus induite. Ce résultat signifie que la quantité de complexe assimilé par les cellules cancéreuses par endocytose est trop faible. Le dernier désagrément tient à la difficulté à obtenir différents complexes Ni-bis(dithiolène) solubles dans les milieux biologiques.

D'une façon générale, les agents thérapeutiques développés ces dernières années pour la PTT rencontrent des problèmes de cytotoxicité, de bioaccumulation, de clairance, de coût ou d'efficacité, faisant barrage à leur utilisation en phase clinique. Une des solutions serait de les

encapsuler dans des liposomes ou des nanoparticules polymériques biocompatibles. Cette technique résoudrait un certain nombre de difficultés rencontrées jusqu'ici :

- Premièrement, des agents photoactifs hydrophiles comme hydrophobes pourraient être utilisés selon la nature du nanovecteur employé.
- Deuxièmement, la cytotoxicité des agents photoactifs serait grandement diminuée car ils se trouveraient dissimulés dans des nanoobjets composés de lipides ou de polymères biocompatibles.
- Troisièmement, une quantité plus faible de produit pourrait être utilisée, tout en gardant la même efficacité photothermique. Effectivement, les agents thérapeutiques concentrés dans le nanovecteur engendreraient, sous irradiation laser, une accumulation locale de la chaleur beaucoup plus importante que lorsqu'ils sont dispersés dans l'organisme.
- Quatrièmement, les chances d'absorption des composés par les cellules cancéreuses seraient grandement augmentées par effet EPR. De plus, une fonctionnalisation des nanovecteurs serait aussi possible pour cibler un certain type de cellules cancéreuses et/ou tumeurs.
- Cinquièmement, l'encapsulation de l'agent photoactif avec un anticancéreux rendrait le traitement beaucoup plus efficace. En effet, la thérapie photothermique permettrait d'éradiquer le site primaire de la tumeur tandis que les anticancéreux élimineraient les métastases résultantes dans l'organisme. Cette technique serait très prometteuse car elle traiterait complètement le cancer et diminuerait les risques de récurrence du patient.

Dans cet objectif d'être toujours plus performant, nous avons tenté d'encapsuler nos complexes de Ni-bis(dithiolène) hydrophiles et hydrophobes, dans des liposomes et des nanoparticules polymériques biocompatibles, en présence de principes actifs. Le but est de faire à la fois de la PTT et de la libération contrôlée de principes actifs sous irradiation laser NIR. Effectivement, l'élévation de température due à l'effet photothermique, lors du traitement par PTT, rendrait plus perméable les nanovecteurs et donc favoriserait la libération du principe actif au moment désiré et dans la zone irradiée.

- ¹ Svaasand, L.; Gomer, C.; Morinelli, E. *Lasers Med. Sci.* **1990**, *5*, 121-128.
- ² Philipp, C. M.; Rohde, E.; Berlien, H. *Semin. Surg. Oncol.* **1995**, *11*, 290-298.
- ³ Prudhomme, M.; Tang, J.; Rouy, S.; Delacretaz, G.; Salathe, R. P.; Godlewski, G. *Lasers Surg. Med.* **1996**, *19*, 445-450.
- ⁴ Seki, T.; Wakabayashi, M.; Nakagawa, T.; Imamura, M.; Tamai, T.; Nishimura, A.; Yamashiki, N.; Okamura, A.; Inoue, K. *Cancer* **1999**, *85*, 1694-1702.
- ⁵ Mirza, A. N.; Fornage, B. D.; Sneige, N.; Kuerer, H. M.; Newman, L. A.; Ames, F. C.; Singletary, S. E. *Cancer J.* **2001**, *7*, 95-102.
- ⁶ Jolesz, F. A.; Hynynen, K. *Cancer J.* **2002**, *8*, S100-S112.
- ⁷ Hilger, I.; Andrä, W.; Bähring, R.; Daum, A.; Hergt, R.; Kaiser, W. A. *Invest. Radiol.* **1997**, *32*, 705-712.
- ⁸ Jaque, D.; Martinez Maestro, L.; del Rosal, B.; Haro-Gonzalez, P.; Benayas, A.; Plaza, J. L.; Rodriguez, E. M.; Solé, J. G. *nanoscale* **2014**, *6*, 9494-9530.
- ⁹ Hauck, T. S.; Jennings, T. L.; Yatsenko, T.; Kumaradas, J. C.; Chan, W. C. *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 3832-3838.
- ¹⁰ Yuan, A.; Wu, J.; Tang, X.; Zhao, L.; Xu, F.; Hu, Y. J. *Pharm. Sci.* **2013**, *102*, 6-28.
- ¹¹ Moon, H. K.; Lee, S. H.; Choi, H. C. *ACS nano* **2009**, *3*, 3707-3713.
- ¹² Cheng, L.; Yang, K.; Chen, Q.; Liu, Z. *ACS nano* **2012**, *6*, 5605-5613.
- ¹³ Oldenburg, S. J.; Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *288*, 243-247.
- ¹⁴ Xia, Y.; Halas, N. J. *MRS Bull.* **2005**, *30*, 338-348.
- ¹⁵ Creighton, J. A.; Eadon, D. G. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1991**, *87*, 3881-3891.
- ¹⁶ Karlsson, H. L.; Cronholm, P.; Gustafsson, J.; Möller, L. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, *21*, 1726-1732.
- ¹⁷ Van Aerle, R.; Lange, A.; Moorhouse, A.; Paszkiewicz, K.; Ball, K.; Johnston, B. D.; Bastos, E.; Booth, T.; Tyler, C. R.; Santos, E. M. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47*, 8005-8014.
- ¹⁸ Cho, E. C.; Kim, C.; Zhou, F.; Cobley, C. M.; Song, K. H.; Chen, J.; Li, Z.-Y.; Wang, L. V.; Xia, Y. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 9023-9028.
- ¹⁹ Skrabalak, S. E.; Au, L.; Li, X.; Xia, Y. *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 2182-2190.
- ²⁰ Oldenburg, S. J.; Averitt, R. D.; Westcott, S. L.; Halas, N. J. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *288*, 243-247.
- ²¹ Huang, X.; El-Sayed, I. H.; Qian, W.; El-Sayed, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2115-2120.
- ²² Chen, J.; Glaus, C.; Laforest, R.; Zhang, Q.; Yang, M.; Gidding, M.; Welch, M. J.; Xia, Y. *Small*, **2010**, *6*, 811-817.
- ²³ Skrabalak, S. E.; Chen, J.; Sun, Y.; Lu, X.; Au, L.; Cobley, L. M.; Xia, Y. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1587-1595.
- ²⁴ Cobley, C. M.; Chen, J.; Cho, E. C.; Wang, L. V.; Xia, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 44-56.
- ²⁵ Shi, W.; Sahoo, Y.; Swihart, M. T.; Prasad, P. N. *Langmuir* **2005**, *21*, 1610-1617.
- ²⁶ Ji, X.; Shao, R.; Elliott, A. M.; Stafford, R. J.; Esparza-Coss, E.; Bankson, J. A.; Liang, G.; Luo, Z.-P.; Park, K.; Markert, J. T.; Li, C. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 6245-6251.
- ²⁷ Hu, M.; Chen, J.; Li, Z.-Y.; Au, L.; Hartland, G. V.; Li, X.; Marquez, M.; Xia, Y. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1084-1094.
- ²⁸ Von Maltzahn, G.; Park, J.-H.; Agrawal, A.; Bandaru, N. K.; Das, S. K.; Sailor, M. J.; Bhatia, S. N. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 3892-3900.
- ²⁹ Link, S.; El-Sayed, M. A. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 8410-8426.
- ³⁰ Zhou, C.; Long, M.; Qin, Y.; Sun, X.; Zheng, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 3168-3172.
- ³¹ Moon, H. K.; Lee, S. H.; Choi, H. C. *ACS nano* **2009**, *3*, 3707-3713.
- ³² Dumas, A.; Couvreur, P. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2153-2157.
- ³³ Guo, L.; Panderi, I.; Yan, D. D.; Szulak, K.; Li, Y.; Chen, Y.; Ma, H.; Niesen, D. B.; Seeram, N.; Ahmed, A.; Bingfang, Y.; Pantazatos, D.; Lu, W. *ACS nano* **2013**, *7*, 8780-8793.
- ³⁴ Yang, S.; Guo, W.; Lin, Y.; Deng, X.; Wang, H.; Sun, H.; Liu, Y.; Wang, X.; Wang, W.; Chen, M.; Huang, Y.; Sun, Y. *J. Phys. Chem. C*, **2007**, *111*, 17761-17764.
- ³⁵ Jia, G.; Wang, H. F.; Yan, L.; Wang, X.; Pei, R. J.; Yan, T.; Zhao, Y. L.; Guo, X. B. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 1378-1383.
- ³⁶ Heeger, A. J. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2660-2682.
- ³⁷ Yang, J.; Choi, J.; Bang, D.; Kim, E.; Lim, E. K.; Park, H.; Suh, J. S.; Lee, K.; Yoo, K. H.; Kim, E. K.; Huh, Y. M.; Haam, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 441-444.
- ³⁸ Cheng, L.; Yang, K.; Chen, Q.; Liu, Z. *ACS nano* **2012**, *6*, 5605-5613.
- ³⁹ Liu, Y.; Ai, K.; Liu, J.; Deng, M.; He, Y.; Lu, L. *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 1353-1359.
- ⁴⁰ Chen, M.; Fang, X.; Tang, S.; Zheng, N. *Chem. Comm.* **2012**, *48*, 8934-8936.
- ⁴¹ Jin, C. S.; Lovell, J. F.; Chen, J.; Zheng, G. *ACS nano* **2013**, *7*, 2541-2550.
- ⁴² Lovell, J. F.; Jin, C. S.; Huynh, E.; Jin, H.; Kim, C.; Rubinstein, J. L.; Chan, W. C. W.; Cao, W.; Wang, L.; Zheng, G. *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 324-332.
- ⁴³ Zheng, C. F.; Zheng, M. B.; Gong, P.; Jia, D. X.; Zhang, P. F.; Shi, B. H.; Sheng, Z. H.; Ma, Y. F.; Cai, L. T. *Biomaterials* **2012**, *33*, 5603-5609.

- ⁴⁴ Shafirstein, G.; Baumler, W.; Hennings, L. J.; Siegel E. R.; Friedman R.; Moreno M. A.; Webber, J.; Jackson, C.; Griffin, R. J. *Int J Cancer* **2012**, *130*, 1208–1215.
- ⁴⁵ Wang, Y. G.; Kim, H.; Mun, S.; Kim, D.; Choi, Y. *Quant Imaging Med Surg.* **2013**, *3*, 132-140.
- ⁴⁶ Samit, G.; Scott, K. S.; Graeme, T. S.; Felicia, M. R.; Bradley, D. S. *Langmuir*, **2015**, *31*, 7826–7834.
- ⁴⁷ Tan, X.; Luo, S.; Wang, D.; Su, Y.; Cheng, T.; Shi, C. *Biomaterials* **2012**, *33*, 2230-2239.
- ⁴⁸ Kawakami, S.; Kojima, Y. *Japan Kokai Tokkyo Koho*, JP 04153086, A 19920526, **1992**.
- ⁴⁹ Mueller-Westerhoff, U. T.; Vance, B.; Yoon, D. I. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 909-932.
- ⁵⁰ Ohta, K.; Takagi, A.; Muroki, H.; Yamamoto, I.; Matsuzaki, K. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1987**, *147*, 15-24.
- ⁵¹ Faulmann, C.; Errami, A.; Donnadieu, B.; Malfant, I.; Legros, J.; Cassoux, P.; Rovira, C.; Canadell, E. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 3856-3873.
- ⁵² Wenz, G. *Makromol. Chem., Rapid Commun.* **1985**, *6*, 577-584.
- ⁵³ Williamson, A. W. *Philos. Mag.*, **1850**, *37*, 350-356.
- ⁵⁴ Arumugam, K.; Bollinger, J. E.; Fink, M.; Donahue, J. P. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3283-3288.
- ⁵⁵ Perochon, R.; Piekara-Sady, L.; Jurga, W.; Clérac, R.; Fourmigué, M. *Dalton Trans.* **2009**, *16*, 3052-3061.
- ⁵⁶ Roper, D. K.; Ahn, W.; Hoepfner, M. *J. Phys.Chem. C* **2007**, *111*, 3636–3641.
- ⁵⁷ Huang, P.; Lin, J.; Li, W.; Rong, P.; Wang, Z.; Wang, S.; Wang, X.; Sun, X.; Aronova, M.; Niu, G.; Leapman, R. D.; Nie, Z.; Chen, X. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 13958–13964.

Chapitre 3 : Encapsulation de complexes Ni-
bis(dithiolène) pour la libération photothermique
contrôlée de principes actifs

Chapitre 3 : Encapsulation de complexes Ni-bis(dithiolène) pour la libération photothermique contrôlée de principes actifs

L'objectif de ce chapitre est d'utiliser les complexes Ni-bis(dithiolène) comme agents photoactifs pour la libération photothermique contrôlée de médicament (en anglais PhotoThermal Control Release, PTCR). Pour cela, une première partie introduira la PTCR et présentera les deux types de nanovecteurs couramment utilisés pour ce type de thérapie. La seconde partie, fera l'état de l'art des différents agents photothermiques inorganiques employés en PTCR. La troisième section s'intéressera cette fois-ci aux divers systèmes photothermiques organiques. La dernière partie, sera quant à elle dédiée aux travaux de cette thèse, portant sur l'utilisation des complexes Ni-bis(dithiolène) en PTCR.

1. Introduction

La libération contrôlée de médicaments repose sur l'encapsulation d'un principe actif dans des nanoparticules, appelées aussi nanovecteurs, qui transportent le médicament jusqu'à la zone souhaitée pour le libérer ensuite à la demande (Figure 1). L'encapsulation de principes actifs dans les nanovecteurs, permet de résoudre les problèmes causés par un grand nombre de médicaments sous forme libre, incluant leur faible solubilité, leur instabilité, leur clairance rapide, et, en particulier, leur manque de sélectivité,¹ qui est responsable de la cytotoxicité et des effets secondaires indésirables lors du traitement. Les nanovecteurs utilisés pour la libération contrôlée sont habituellement formulés, de façon à relarguer le médicament en réponse à des stimuli internes ou externes.

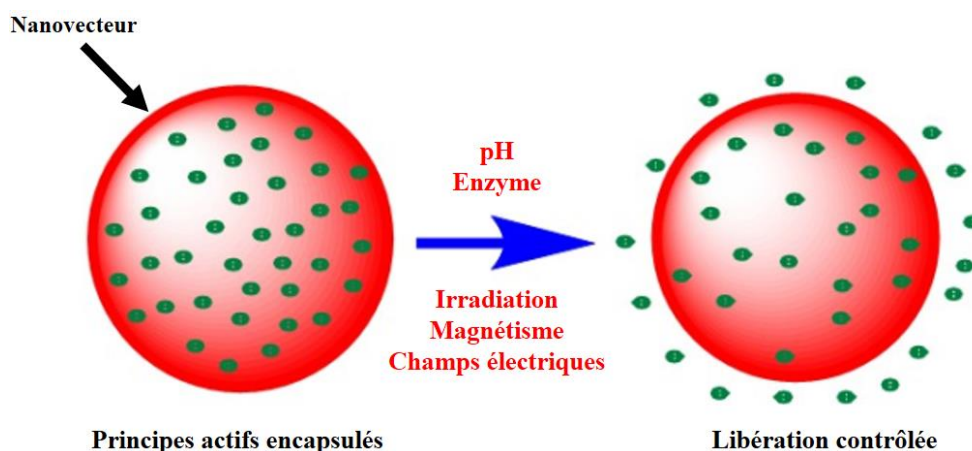


Figure 1 : Illustration de la libération contrôlée de médicaments. Ref 2

¹ Peer, D.; Karp, J. M.; Hong, S.; Farokhzad, O. C.; Margalit, R.; Langer, R. *Nat. nanotechnol.* **2007**, 2, 751–760.

Le stimulus chimique peut être une enzyme² ou un pH caractéristique³ d'un type de cancer. En effet, les cellules cancéreuses possèdent des enzymes et/ou un pH différents des cellules saines. Ainsi, lorsqu'un nanovecteur, sensible au stimulus désiré, est en contact avec une cellule cancéreuse, il s'expose à des conditions environnementales qui provoquent l'ouverture du nanovecteur et la délivrance du médicament. Cependant, la formulation des systèmes qui répondent aux changements subtils des conditions environnementales est un défi compliqué à relever. Par conséquent, les stimuli externes tels que l'irradiation,⁴ le magnétisme ou les champs électriques,^{5,6} font l'objet d'une grande attention depuis ces dernières années.

Les agents photothermiques de PTT (chapitre 2) sont considérés comme des candidats très prometteurs pour des applications en libération contrôlée de médicaments. En effet, leur absorption dans le NIR, permet de protéger les tissus sains lors de l'irradiation laser et leur effet photothermique engendre une accumulation de chaleur au sein du nanovecteur, stimulant la libération du médicament. De plus, la synergie combinant l'hyperthermie et la chimiothérapie est remarquablement efficace pour détruire les cellules cancéreuses.⁷

Les nanovecteurs utilisés, en libération photothermique contrôlée (PTCR) sont principalement des liposomes et des nanoparticules polymériques biocompatibles (Figure 2).

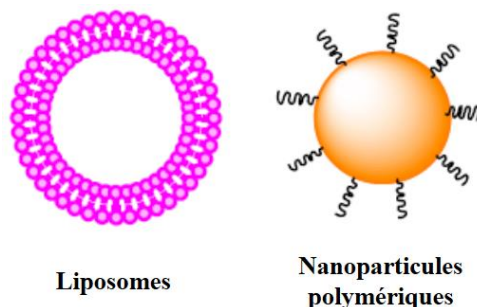


Figure 2 : Illustration d'un liposome et d'une nanoparticule polymérique

Ce choix s'explique par le fait que l'on peut moduler la thermo-sensibilité de ces nanovecteurs, selon la nature des polymères ou des lipides les constituant et ainsi libérer plus ou moins facilement le médicament, lors de la montée en température sous irradiation laser. Les

² Jiang, T.; Olson, E. S.; Nguyen, Q. T.; Roy, M.; Jennings, P. A.; Tsien, R. Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 17867–17872.

³ Cui, J. W.; Wang, Y. J.; Caruso, F. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 4718–4723.

⁴ Wu, G. H.; Mikhailovsky, A.; Khant, H. A.; Fu, C.; Chiu, W.; Zasadzinski, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8175–8177.

⁵ Timko, B. P.; Dvir, T.; Kohane, D. S. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 4925–4943.

⁶ Wood, K. C.; Zacharia, N. S.; Schmidt, D. J.; Wrightman, S. N.; Andaya, B. J.; Hammond, P. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2008**, *105*, 2280–2285.

⁷ Liu, H. Y.; Chen, D.; Li, L. L.; Liu, T. L.; Tan, L. F.; Wu, X. L.; Tang, F. Q. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 891–895.

deux paragraphes suivants vont décrire plus particulièrement ces deux systèmes biocompatibles, largement utilisés pour la libération de principes actifs. Le premier met en avant l'utilité des nanoparticules polymériques pour la PTCR tandis que le second présente les avantages des nanovecteurs lipidiques pour ce procédé.

1.1. Les nanoparticules polymériques biocompatibles

Les nanoparticules polymériques, utilisées comme nanovecteurs, doivent respecter un certain nombre de règles, elles ont besoin d'être :

- biocompatibles et non toxiques.
- biodégradables. Les molécules résultant de sa décomposition, après la libération du médicament encapsulé, sont tenues d'être non toxiques.
- furtives pour ne pas être éliminées dès le départ par le système réticulo-endothélial (RES), qui sont des cellules responsables de la destruction des corps considérés comme étrangers.
- adaptées pour transporter une grande quantité de principes actifs, qui doit être libéré de manière contrôlée sur son site d'action.

Pour répondre à ces besoins, les nanoparticules sont souvent formulées à partir d'un polymère à blocs amphiphile tel que le poly(lactique-co-glycolique)-*bloc*-poly(éthylène glycol) (PLGA-*b*-PEG) ou le poly(malate de benzyle)-*bloc*-poly(éthylène glycol) (PMLABe-*b*-PEG).⁸ La partie hydrophobe (PLGA ou PMLABe) forme le cœur de la nanoparticule, tandis que la partie hydrophile (PEG) se trouve à l'extérieur, afin d'assurer la solubilité et d'augmenter sa furtivité vis-à-vis du RES.

⁸ Huang, Z.W.; Laurent, V.; Chetouani, G.; Ljubimova, J.Y.; Holler, E.; Benvegnu, T.; Loyer, P.; Cammas-Marion, S. *Int. J. Pharm.* **2012**, 423, 84–92.

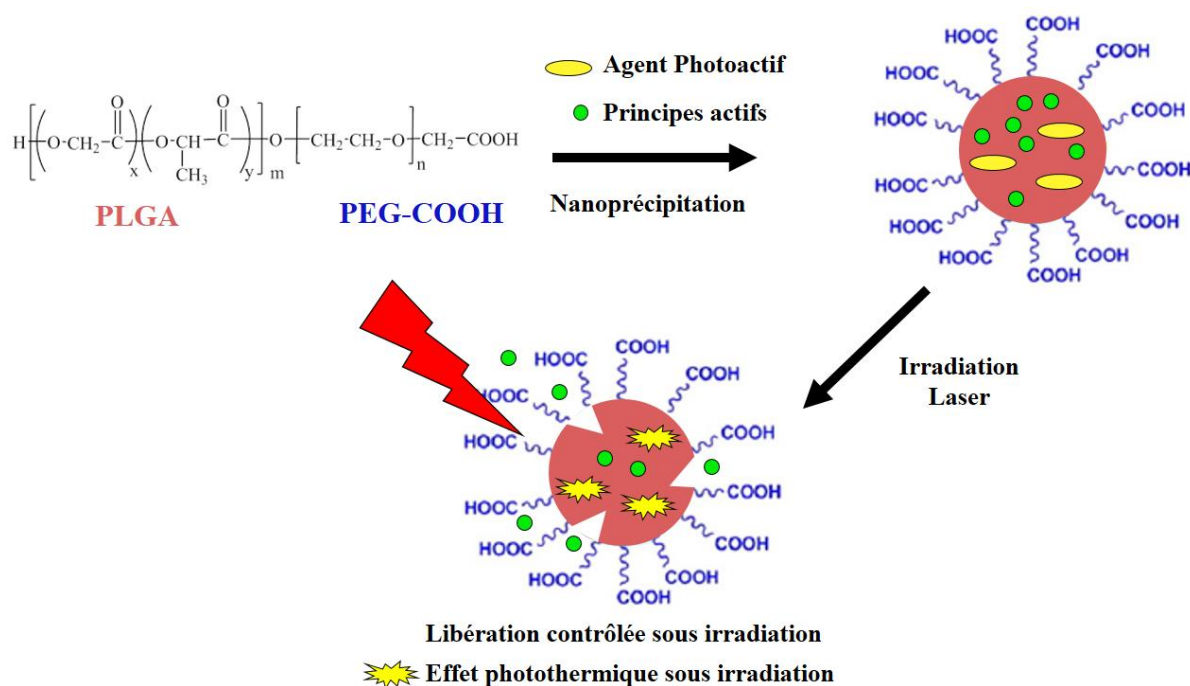


Figure 3 : Illustration de la préparation d'une nanoparticule polymérique biocompatible, encapsulant un médicament et un agent photothermique, puis libération contrôlée du principe actif sous irradiation laser.

Le cœur de la nanoparticule étant hydrophobe, des agents photothermiques fortement lipophiles seront privilégiés tandis que des médicaments amphiphiles, c'est-à-dire aussi bien solubles dans l'eau que dans les solvants organiques, pourront être utilisés avec ce type de système. En effet lors de la formulation, l'agent photothermique et le médicament seront encapsulés dans le cœur par interaction hydrophobe avec le polymère. Lors de l'irradiation laser, la montée en température, due à l'effet photothermique des agents photoactifs, va augmenter la perméabilité ou créer des « brèches » dans les nanoparticules, provoquant ainsi un échange entre le cœur et le milieu extérieur hydrophile. Les principes actifs, étant amphiphiles, vont pouvoir se libérer du cœur de la nanoparticule et exercer leur action au niveau des cellules cancéreuses. Les agents photoactifs restent quant à eux piégés dans la nanoparticule car ils ne possèdent aucune interaction favorable avec l'environnement extérieur. Ils peuvent cependant continuer à altérer les cellules cancéreuses par PTT. Les nanoparticules polymériques sont formulées de façon à avoir une taille adéquate (50-150 nm) pour s'accumuler par effet EPR, selon le mécanisme décrit précédemment (Chapitre 2, 2.1). Il est aussi possible de fonctionnaliser la partie externe des nanoparticules pour les rendre plus sélectives envers un type de cancer. Pour cela, des couplages peptidiques peuvent être envisagés,⁹ entre les fonctions acides carboxyliques terminales du copolymère (Figure 3) et des agents de ciblage tumoraux.

⁹ Zhang, X. Q.; Xu, X.; Bertrand, N.; Pridgen, E.; Swami, A.; Farokhzad, O. C. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, 64, 1363-1384.

1.2. Les liposomes utilisés en PTCR

Décrits pour la première fois dans les années 1960 par Bangham et coll. et utilisés comme systèmes d'encapsulation au début des années 1970,^{10,11} les liposomes sont devenus depuis des nanovecteurs incontournables pour la recherche et les applications médicales, cosmétiques et alimentaires.^{12,13} Les liposomes sont des vésicules de phospholipides renfermant un cœur hydrophile. Les phospholipides sont des unités amphiphiles constituées d'une tête hydrophile (sel de phosphate d'ammonium quaternaire) et d'une double queue hydrophobe (chaînes alcane). En solution dans l'eau, les parties hydrophobes interagissent entre elles de façon à orienter les parties hydrophiles vers le milieu aqueux (Figure 4). Cette structuration thermodynamiquement favorable est assurée par les liaisons hydrogène, les forces de van der Waals et autres interactions électrostatiques.¹⁴

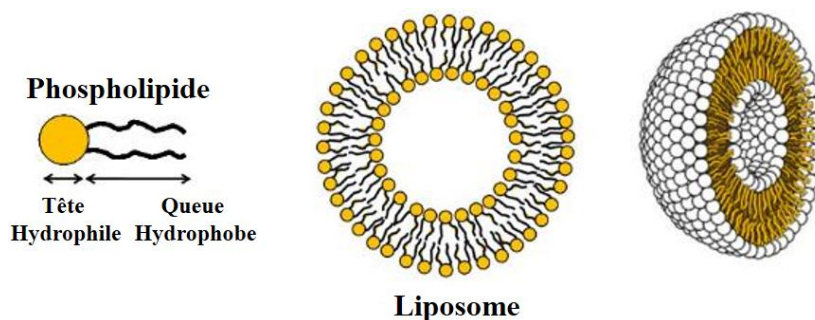


Figure 4 : Illustration de l'auto-assemblage des phospholipides pour former un liposome. Ref 14

En fonction des conditions de préparation, les liposomes peuvent posséder une ou plusieurs bicouches lipidiques, rendant le nanovecteur plus ou moins volumineux. Il existe 4 types de liposomes (Figure 5) :¹⁵

- Les petites vésicules unilamellaires (SUV)
- Les grandes vésicules unilamellaires (LUV)
- Les vésicules géantes unilamellaires (GUV)
- Les vésicules multilamellaires (MLV)

Pour des applications médicales contre le cancer, les LUV et les SUV ont une taille adéquate pour privilégier l'accumulation par effet EPR. Un des avantages de ce type de système

¹⁰ Bangham, A. D.; Standish, M. M.; Watkins, J. C. *J. Mol. Biol.* **1965**, *13*, 238–252.

¹¹ Gregoriadis, G. *N. Engl. J. Med.* **1976**, *295*, 704–710.

¹² Betz, G.; Aeppli, A.; Menshutina, N.; Leuenberger, H. *Int. J. Pharm.* **2005**, *296*, 44–54.

¹³ Mozafari, M. R.; Johnson, C.; Hatziantoniou, S.; Demetozos, C. *J. Liposome Res.* **2008**, *18*, 309–327.

¹⁴ Israelachvili, J. N.; Marcelja, S.; Horn, R. G. *Q. Rev. Biophys.* **1980**, *13*, 121–200.

¹⁵ Pattni, B. S.; Chupin, V. V.; Torchilin, V. P. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 10938–10966.

est de pouvoir encapsuler aussi bien des principes actifs hydrophobes qu'hydrophiles. Effectivement les composés hydrophobes seront retenus dans la bicouche lipidique tandis que les molécules hydrophiles seront incorporées dans le cœur du liposome.

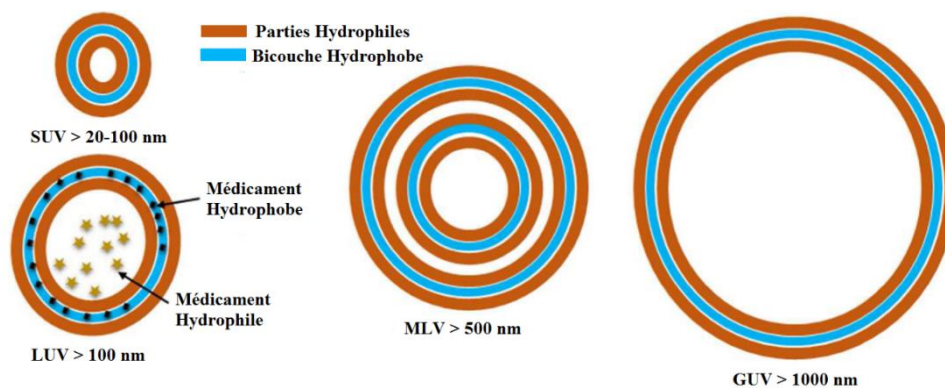


Figure 5 : Les différents types de liposomes utilisés dans la littérature. Ref 15

Chaque type de liposome peut exister sous différentes générations (Figure 6). La première génération correspond aux liposomes conventionnels, constitués d'une couche lipidique et d'un cœur hydrophile. L'inconvénient de cette génération est la rapidité de leur clairance par le système réticulo-endothélial. La seconde génération correspond à la PEGylation de la surface du liposome. Cette étape permet de rendre le liposome furtif, ce qui augmente son temps de circulation dans l'organisme, change sa biodistribution et permet une accumulation préférentielle dans la tumeur ou les cellules cancéreuses via l'effet EPR. La troisième génération représente les liposomes portant des molécules de ciblage à l'extrémité des chaînes PEG. Cette dernière modification, permet d'avoir une sélectivité vis-à-vis d'un type de cancer et de faciliter l'internalisation du médicament par des mécanismes de type endocytose.

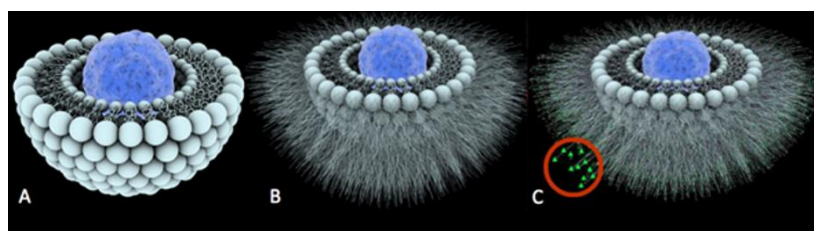


Figure 6 : (A) Liposome de première génération. (B) Liposome furtif (deuxième génération) (C) Liposome de troisième génération portant des molécules de ciblage. Ref 15

Pour faire de la libération photothermique contrôlée de médicaments, des liposomes thermosensibles (TLS) de deuxième ou troisième génération sont utilisés. Selon sa nature, l'agent photoactif peut être situé dans le cœur (hydrophile),¹⁶ dans la paroi (hydrophobe) ou à

¹⁶ Al-Jamal, W. T.; Kostarelos, K. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1094–1104.

la surface du liposome par adsorption ou par complexation d'agents photoactifs à cœur métallique (Figure 7).

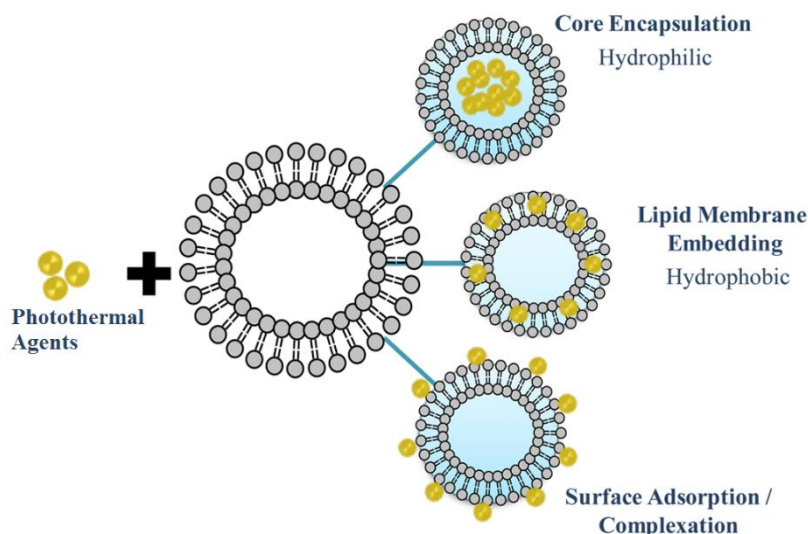


Figure 7 : Différentes stratégies utilisées pour obtenir des TLS photothermiques. Ref 16

Il faut noter que tous les liposomes sont plus ou moins thermosensibles, selon leur température de transition de phase (T_m) solide-liquide. Au-dessous de leur T_m , les liposomes sont dans leur état solide, la membrane lipidique est ordonnée et condensée, empêchant le médicament encapsulé d'être relargué dans l'environnement. Sous irradiation, lorsque la montée en température, due à l'effet photothermique, dépasse la T_m , l'enveloppe lipidique subit une transition de phase solide (ordonnée)-liquide (désordonnée). Ce changement de propriété conduit à l'augmentation de la perméabilité de la paroi, facilitant ainsi la libération des principes actifs. Lorsque l'irradiation laser est stoppée et que la température repasse au-dessous de la T_m , la membrane retourne dans son état solide et la libération du médicament est freinée. Cette technique permet de maîtriser la délivrance du médicament en fonction du temps d'irradiation.

Un autre facteur qui gouverne la vitesse de relargage des principes actifs est la composition de la paroi lipidique. En effet, dans le cas d'une membrane lipidique constituée uniquement de DPPC ($T_m \sim 42-45^\circ\text{C}$, Figure 8a), aucune libération n'est observée au-dessous de la T_m . Par contre, au-dessus de la T_m , il y a une faible perméabilité entraînant une délivrance modérée du médicament. Lorsque 10 % de MPPC, qui est un lipide monoalkyle, appelé aussi lysolipide, est introduit dans la membrane (Figure 8b), la T_m n'est plus que de 41°C . Ces liposomes thermosensibles à base de lysolipide (LTSL) libèrent une faible quantité de principes actifs à 37°C et ont une délivrance ultra-rapide au-dessus de la T_m . Le DSPE-PEG₂₀₀₀ a peu d'influence sur la T_m , il va cependant augmenter la stabilité et la furtivité du liposome dans l'organisme. Ainsi selon l'objectif recherché, les liposomes seront formulés de façon à libérer, sous irradiation, plus ou moins vite le médicament au moment désiré.

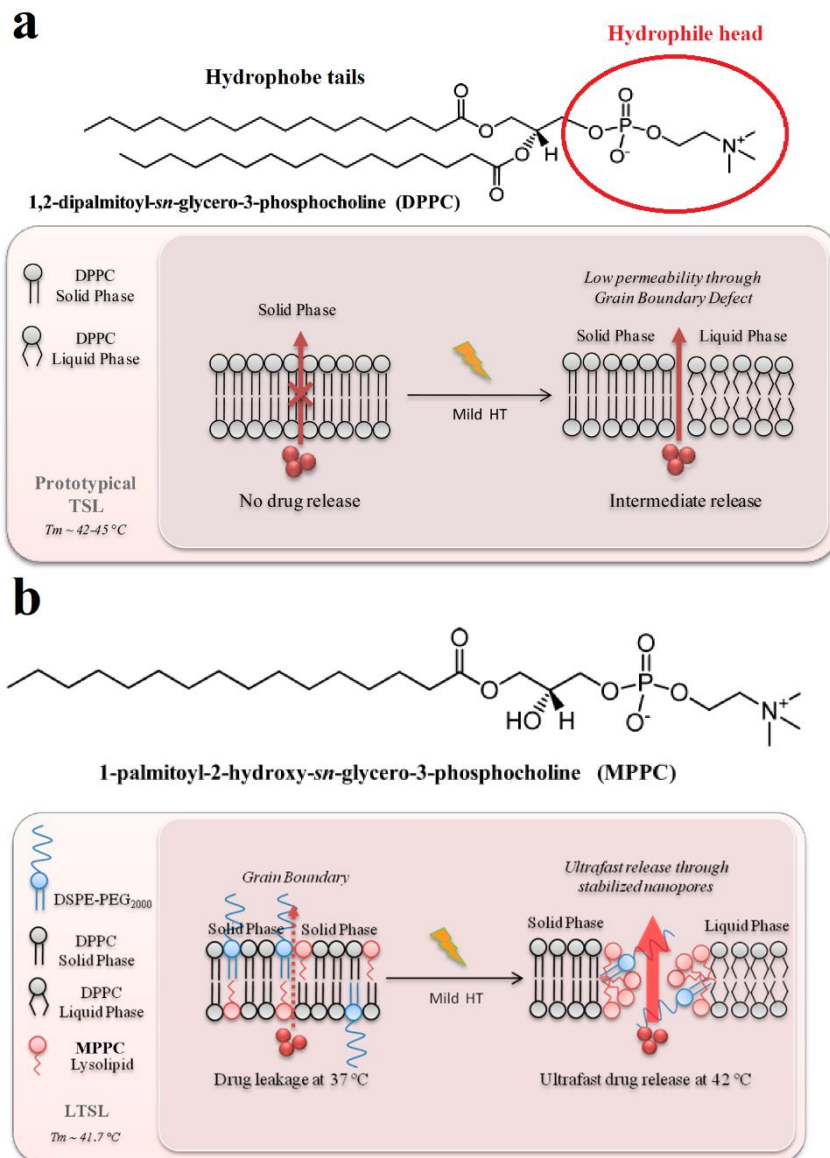


Figure 8 : Illustration de la formation des nanopores dans la membrane lipidique des (a) TSL et des (b) LTSL. Ref 16

En conclusion, ces deux derniers paragraphes ont montré que les nanoparticules polymériques et les liposomes sont particulièrement adaptés pour la libération photothermique contrôlée de principes actifs (PTCR), du fait de leur thermosensibilité et de leur biocompatibilité. De plus, les médicaments encapsulés peuvent être délivrés plus ou moins rapidement dans la zone souhaitée selon le temps d'irradiation et la composition des nanovecteurs. Par conséquent, les deux parties suivantes vont être consacrées aux agents photothermiques inorganiques puis organiques, capables de moduler la perméabilité du nanovecteur grâce à leur propriété photothermique.

2. Applications des nanostructures inorganiques en PTCR

Il existe deux systèmes distincts pour faire de la PTCR avec des nanostructures inorganiques. Le premier consiste à utiliser directement les nanoparticules métalliques comme nanovecteurs. Dans ce cas, les principes actifs sont, soit greffés à la surface des nanoparticules, soit encapsulés à l'intérieur. Sous irradiation laser, l'effet photothermique peut alors conduire à la libération du principe actif soit par clivage des chaînes greffées à la surface (Figure 9a),¹⁷ soit par fusion du polymère enrobant la nanocage (Figure 9b) ou par désagrégation d'un gel immobilisant le médicament dans la nanocage (Figure 9c).¹⁸ Il faut noter que l'illustration ci-dessous donne l'exemple de nanostructures d'or, cependant des nanomatériaux de carbone,¹⁹ de Pd ou de chalcogénure métallique ont aussi été utilisés.^{20,21}

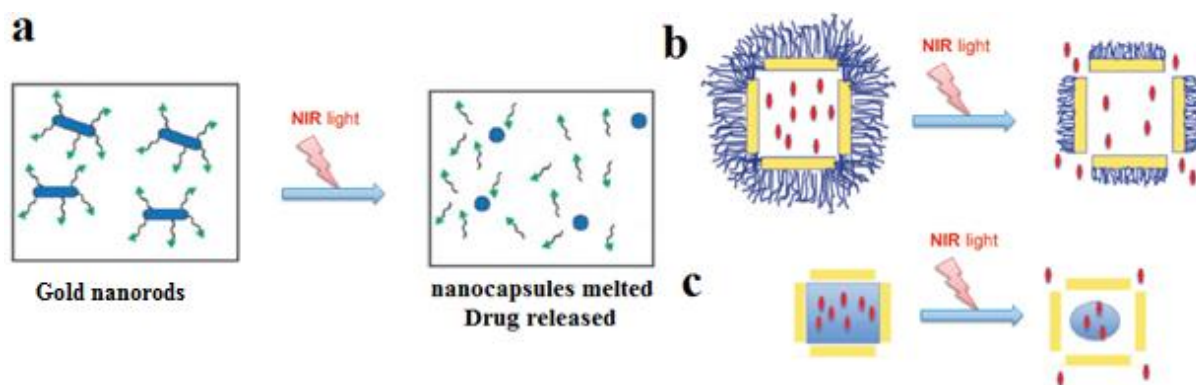


Figure 9 : (a) Des principes actifs sont greffés sur des nanobâtonnets d'or. Lors de l'irradiation et de la montée en température, les nanobâtonnets d'or fondent et libèrent le médicament; (b) Une nanocage d'or poreuse est enveloppée d'un polymère thermosensible. Sous irradiation, l'effet photothermique fait fondre le polymère environnant, entraînant la délivrance du médicament par les pores désobstrués; (c) Les principes actifs sont piégés à l'intérieur de la nanocage par un matériau à transition de phase solide-liquide. Pendant la montée en température, le matériau encapsulant le principe actif passe de sa forme solide (gel) à sa forme liquide, le principe actif peut donc être libéré par les pores de la nanocage. Ref 17, 18

Le second système utilise, cette fois-ci, les nanomatériaux inorganiques, uniquement comme composants photoactifs et non plus comme nanovecteurs photothermiques. Ils sont donc encapsulés dans des matériaux composites thermosensibles tels que les liposomes ou les nanoparticules polymériques. Les nanostructures inorganiques peuvent se trouver dans le cœur, la paroi ou à la surface des nanovecteurs. Sous irradiation, ils vont absorber la lumière et générer

¹⁷ Takahashi, H.; Niidome, Y.; Yamada, S. *Chem. Commun.* **2005**, 17, 2247–2249.

¹⁸ Dreaden, E. C.; Alkilany, A. M.; Huang, X.; Murphy, C. J.; El-Sayed, M. A. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 2740–2779.

¹⁹ Elhissi A. M. A.; Ahmed W.; Hassan I. U.; Dhanak V. R.; D'Emanuele A. *Journal of drug delivery* **2012**, 1-10.

²⁰ Tang S.H.; Chen M.; Zheng N.F. *nano Res.* **2015**, 8, 165–174.

²¹ Guo, L.; Yan, D. D.; Yang, D.; Li, Y.; Wang, X.; Zalewski, O.; Yan, B.; Lu, W. *ACS nano* **2014**, 8, 5670–5681.

une chaleur locale suffisante ($T > T_m$) pour altérer la structure du nanovecteur et entraîner la libération des principes actifs (Figure 10).

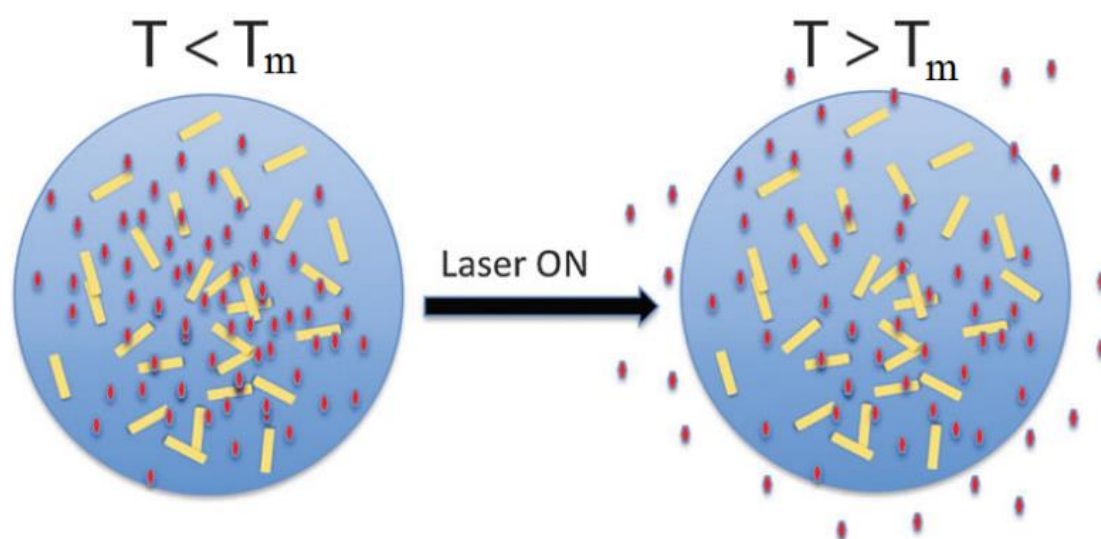


Figure 10 : Illustration de la libération d'un médicament, sous irradiation laser NIR, encapsulé en présence de nanobâtonnets d'or. Ref 18

Ce système est bien plus intéressant car les nanoparticules inorganiques sont confinées dans les nanovecteurs, permettant une accumulation de chaleur locale plus efficace que lorsqu'elles sont dispersées dans l'organisme. Par conséquent, une quantité moins importante de nanostructures inorganiques et/ou une puissance d'irradiation plus faible, peuvent être utilisées, tout en gardant la même efficacité. L'autre avantage est la diminution de la cytotoxicité de ces nanomatériaux, lorsqu'ils sont dissimulés dans des nanovecteurs polymériques ou lipidiques. Il existe cependant peu d'exemple de nanostructures inorganiques encapsulées dans des nanoparticules polymériques ou liposomes. Par conséquent, le paragraphe suivant sera consacré uniquement aux nanoparticules d'or qui sont pratiquement les seuls nanoparticules inorganiques à avoir été encapsulées dans de tels systèmes. En effet, les autres nanostructures inorganiques tels que les nanomatériaux de carbone et les chalcogénures de cuivre,^{22,23} ont majoritairement été utilisés avec des nanoparticules de silice mésoporeuse pour faire de la PTCR. Cependant, ces nanovecteurs inorganiques de silice ne font pas l'objet de cette thèse.

²² He, D.; Li, X.; He, X.; Wang, K.; Tang, J.; Yang, X.; He, X.; Yang, X.; Zou, Z. *J. Mater. Chem. B* **2015**, 3, 5588-5594.

²³ Wu, L.; Wu, M.; Zeng, Y.; Zhang, D.; Zheng, A.; Liu, X.; Liu, J. *nanotechnology* **2015**, 26, 25102-25111.

Les nanoparticules d'or les plus couramment utilisées pour faire de la libération photothermique contrôlée de principes actifs (PTCR) sont les nanocoquilles, les nanocages et les nanobâtonnets.^{24,25} Ces nanoobjets peuvent être encapsulés ou greffés à la surface des liposomes ou des nanoparticules polymériques. En 2008, Zasadzinski et coll. préparent des nanocoquilles creuses suffisamment petites (~ 33 nm de diamètre et 3 nm d'épaisseur),²⁶ pour être incorporées dans les liposomes ou greffées à leurs surfaces par un lien Au-S-PEG-Liposome (Figure (11a, b, c), tout en conservant leur absorbance dans le NIR (Figure 11d). Ils vérifient dans un premier temps, à l'aide d'images obtenues par cryomicroscopie électronique à transmission (Cryo-TEM, Figure 11), que les nanocoquilles creuses sont situées à l'endroit désiré du liposome à base de DPPC.

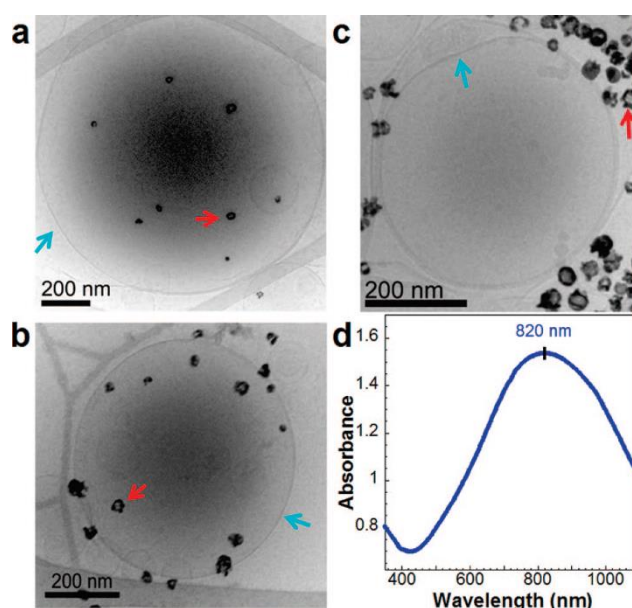


Figure 11 : Images obtenues par Cryo-TEM afin de déterminer la position des nanocoquilles creuses (flèche rouge) dans les liposomes (flèche bleue) : (a) à l'intérieur, (b) greffés sur les parois, (c) libres en solution; (d) Spectre UV-Vis-NIR des nanocoquilles creuses. Ref 26

Ensuite, pour démontrer le concept de la PTCR, de nouveaux lots de liposomes photoactifs sont préparés en coencapsulant cette fois-ci un agent fluorescent, la 6-carboxyfluorescéine (CF). Ce procédé permet de calculer, par spectroscopie de fluorescence, le pourcentage de CF libéré du liposome au cours de l'irradiation laser. En l'absence d'agents photoactifs, il n'y a pas de libération de CF (Figure 12a). C'est donc bien la montée en température due à l'effet photothermique qui augmente la perméabilité du liposome. De plus,

²⁴ Yang, J.; Shen, D.; Zhou, L.; Li, W.; Li, X.; Yao, C.; Wang, R.; El-Toni, A. M.; Zhang, F.; Zhao, D. *Chem. Mater.* **2013**, 25, 3030-3037.

²⁵ Zhang, Z.; Wang, L.; Wang, J.; Jiang, X.; Li, X.; Hu, Z.; Ji, Y.; Wu, X.; Chen, C. *Adv. Mater.* **2012**, 24, 1418-1423.

²⁶ Wu, G.; Mikhailovsky, A.; Khant, H. A.; Fu, C.; Chiu, W.; Zasadzinski, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8175-8177.

ces premiers résultats montrent, que plus l'agent photoactif est près de la membrane, plus la libération du fluorophore est favorisée (Figure 12b). Effectivement 93 % de la CF est libérée lorsque l'agent photoactif est greffé sur la paroi contre 30 % lorsqu'il est à l'extérieur du liposome, c'est à dire sous forme libre.

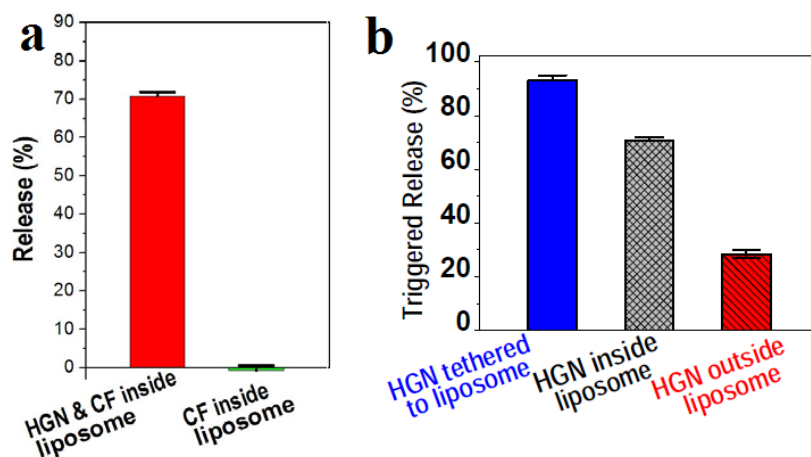


Figure 12 : (a) Libération de la CF sous irradiation laser (laser pulsé 800 nm, 2,2 W/cm², 130 fs, 500 s) en fonction de la solution étudiée; (b) Relargage de la CF sous irradiation (laser pulsé 800 nm, 2,2 W/cm², 130 fs, 500 s) en fonction de la position des nanocoquilles creuses dans le liposome. Ref 26

En s'appuyant sur ces premiers résultats, de nouveaux procédés ont été mis en place. En 2011, You et coll. ont coencapsulé,²⁷ dans une nanoparticule polymérique de poly(lactide-co-glycolide) (PLGA), un anticancéreux, le paclitaxel (PTX, 5% en masse par rapport à la quantité de polymère utilisée) et des nanocoquilles d'or creuses de 36 nm de diamètre avec une épaisseur de couche de 4 nm (HAuNSs). Après formulation, les microsphères (MS) polymériques (PTX/HAuNS-MS) possèdent une taille entre 1 et 10 μ m et ont une structure dense avec une surface non poreuse (Figure 13a).

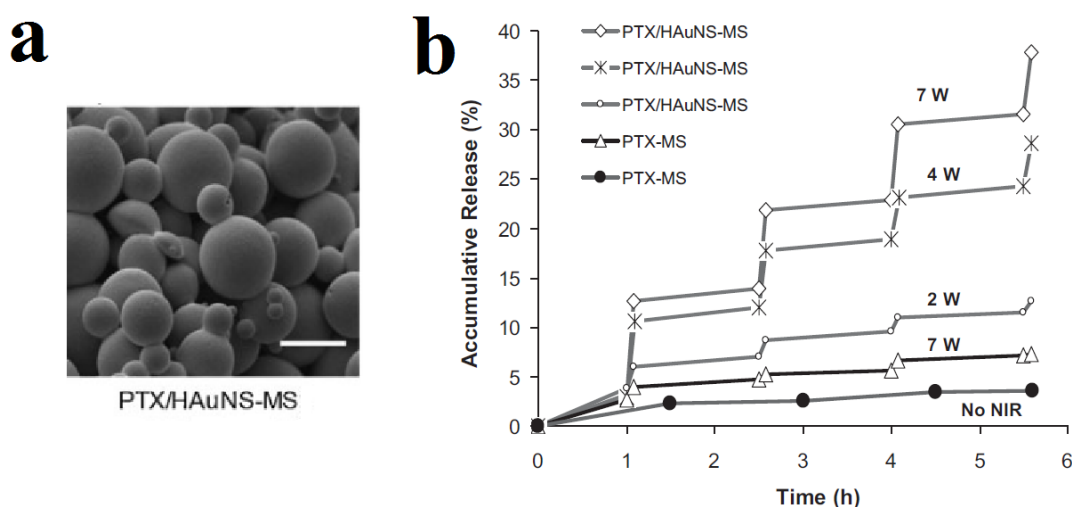


Figure 13 : (a) Image des PTX/HAuNS-MS (échelle : 10 μ m) obtenue par microscope électronique à balayage (MEB); (b) Étude de la libération de PTX à partir des PTX/HAuNS-MS sous irradiation laser (808 nm, 5 min) et à différentes puissances. Ref 27

²⁷ You, J.; Shao, R.; Wei, X.; Gupta, S.; Li, C. *Small* **2010**, 6, 1022-1031.

Le taux de relargage de l'anticancéreux PTX a été quantifié par mesure HPLC. Pour cela, les échantillons sont irradiés pendant 5 min puis laissés au repos 1h30. Ce procédé est répété 4 fois de suite par échantillon et les mesures HPLC sont faites avant et après irradiation, afin de déterminer la quantité de PTX libérée. La délivrance de l'anticancéreux est grandement augmentée lors de l'irradiation, puis la libération stagne lorsque l'échantillon n'est plus exposé au laser. De plus, le taux de PTX relargué augmente avec la puissance d'irradiation laser. Ces résultats mettent en évidence, que la libération de l'anticancéreux peut être modulée en fonction de la puissance, de la durée et de la fréquence de répétition des irradiations laser (Figure 13b). Le faible pourcentage de PTX libéré, en l'absence de nanocoquilles d'or dans les microsphères, confirme que la libération résulte directement de l'effet photothermique induit par les HANs. En effet, les chaînes polymériques deviennent plus flexibles lors de l'élévation locale de la température, favorisant ainsi la libération de PTX.

En conclusion, ces résultats ont démontré la faisabilité de moduler la libération de médicament, en utilisant l'irradiation laser NIR comme stimulus externe et les nanostructures d'or comme agent photothermique dans les nanovecteurs. Le contrôle spatio-temporel de la délivrance de principes actifs peut être facilement réalisé à l'aide de cette technique. En effet, les principes actifs peuvent être libérés en une ou plusieurs fractions selon le temps et la puissance d'irradiation laser utilisée. Les agents photothermiques organiques ont également été encapsulés, en présence de principes actifs, dans des nanoparticules polymériques ou des liposomes. Ces systèmes, totalement organiques utilisés pour des applications en PTCR, vont maintenant être décrits dans cette troisième partie.

3. Applications des agents photoactifs organiques en PTCR

3.1. Les nanoparticules organiques photoactives

Dans le chapitre précédent (Chapitre 2, Paragraphe 3.1), il a été mis en évidence que les nanoparticules organiques, à base de polymères conducteurs et de porphyrines, sont de forts absorbeurs dans le NIR, qu'elles ont une bonne accumulation par effet EPR dans le site tumoral, qu'elles permettent l'ablation de tumeur par thérapie photothermique et qu'elles ont une faible cytotoxicité *in vivo*. Du fait de leur biocompatibilité, ces nanomatériaux organiques ont la particularité de pouvoir être à la fois l'agent photoactif et le nanovecteur.

3.1.1. Les nanoparticules polymériques photoactives

Ces nanomatériaux organiques à base de polymère permettent à la fois d'encapsuler un médicament et de le libérer par effet photothermique sous exposition laser NIR. La libération photothermique contrôlée de principes actifs (PTCR) peut être réalisée en utilisant des nanoparticules de polydopamine,²⁸ des microsphères de polypyrrole ou des nanostructures de PEDOT:PSS (poly(3,4-éthylènedioxythiophène):poly(4-styrène-sulfonate)).²⁹ Peu importe la nature du polymère, le principe reste le même. Dans un premier temps, les anticancéreux sont encapsulés au cœur des nanomatériaux polymériques, puis une fois que les nanovecteurs ont atteint la tumeur, ils sont irradiés par un laser NIR, afin de libérer les principes actifs dans la zone souhaitée et au moment désiré. En 2013, Liu et coll. sont les premiers à utiliser un tel système pour faire de la PTCR.³⁰ Dans cet objectif, ils ont utilisé des nanoparticules polymériques à base de PEDOT:PSS, dans lesquelles ils ont encapsulé 40 % en masse de Doxorubicine (Dox) par rapport à la masse de PEDOT initialement introduite (Figure 14). Le noyau de PEDOT:PSS contenant le médicament est recouvert d'une couche de PAH (poly(allylamine)), de PAA (poly(acide acrylique)) puis de PEG, selon la méthode décrite dans le chapitre 2 (Figure 10), pour donner une nanoparticule de PEDOT:PSS-PAH-PAA-PEG-Dox d'environ 150 nm de diamètre.

²⁸ Zhang, R.; Su, S.; Hu, K.; Shao, L.; Deng, X.; Sheng, W.; Wu, Y. *nanoscale* **2015**, 7, 19722-19731.

²⁹ Wang, J.; Lin, F.; Chen, J.; Wang, M.; Ge, X. *J. Mater. Chem. B* **2015**, 3, 9186-9193.

³⁰ Gong, H.; Cheng, L.; Xiang, J.; Xu, H.; Feng, L.; Shi, X.; Liu, Z. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, 23, 6059-6067.

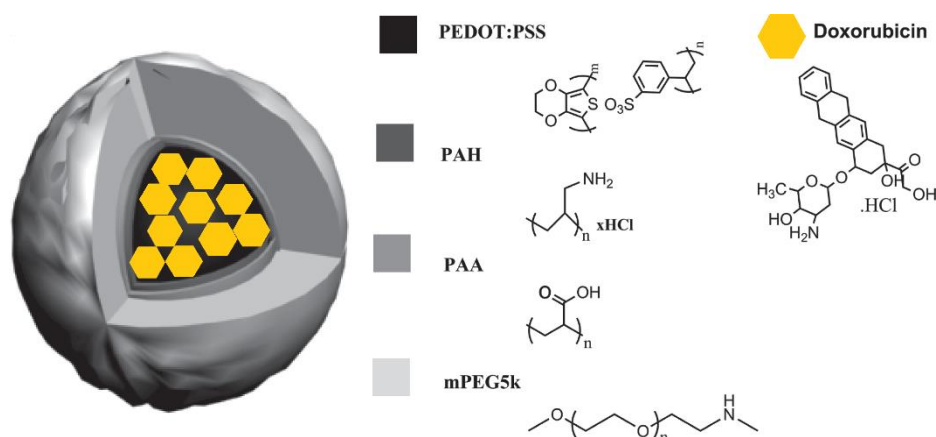


Figure 14 : Illustration d'une nanoparticule de PEDOT:PSS-PEG-Dox. Ref 30

Une fois les nanoparticules préparées, des études de cytotoxicité *in vitro* ont été menées. Pour cela, des solutions de différentes concentrations en PEDOT:PSS-PEG-Dox et en Dox libre ont été mis en présence de cellules cancéreuses (4T1). Après 48 heures d'incubation, les viabilités des cellules sont mesurées à l'aide de tests MTT. Sous forme libre, la Dox induit 50 % de mort cellulaire (IC₅₀) à une concentration d'environ 0,7 μ M, tandis que lorsqu'elle est encapsulée dans les PEDOT:PSS-PEG-Dox, il faut une concentration en anticancéreux d'environ 3,2 μ M pour atteindre le même IC₅₀. Pareillement aux autres systèmes rencontrés jusqu'ici, la Dox encapsulée est moins cytotoxique que sa forme libre (Figure 15a), ce qui permettra de la véhiculer jusqu'à la tumeur sans induire d'effet secondaire dû à l'attaque des cellules saines par la Dox. Une fois que les PEDOT:PSS-PEG-Dox atteindront la zone désirée, l'effet photothermique des nanoparticules démontré ci-dessous (Figure 15b) permettra de libérer ensuite la Dox au moment choisi.

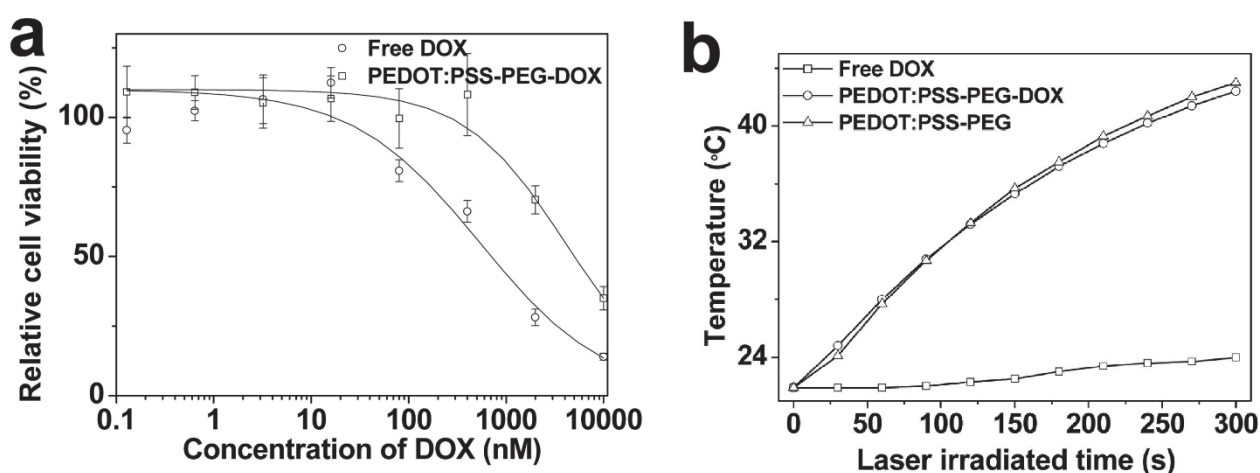


Figure 15 : (a) Viabilité relative des cellules cancéreuses 4T1 après 48h d'incubation avec des PEDOT:PSS-PEG-Dox ou de la Dox libre; (b) Elévation de la température de solutions de Dox libre, de PEDOT:PSS-PEG et de PEDOT:PSS-PEG-Dox sous irradiation laser (808 nm, 0,25 W/cm²) et en fonction du temps. Ref 30

Afin de déterminer si la libération photothermique contrôlée de médicament est envisageable avec ce type de système, des études *in vitro* sous irradiation laser NIR ont été menées (Figure 16). Après 24h d'incubation, la Dox libre (0,03 mg/mL) détruit au mieux 25 % des cellules cancéreuses, quelle que soit la puissance d'irradiation appliquée. Les nanoparticules de PEDOT:PSS-PEG, sous une faible exposition laser (0,1-0,15 W/cm²), n'ont aucune influence sur la viabilité des cellules. L'effet photothermique à 0,2 W/cm² permet d'éradiquer 60 % des 4T1, néanmoins, il reste moins efficace que la combinaison de l'effet photothermique avec la chimiothérapie qui induit 80 % de mort cellulaire.

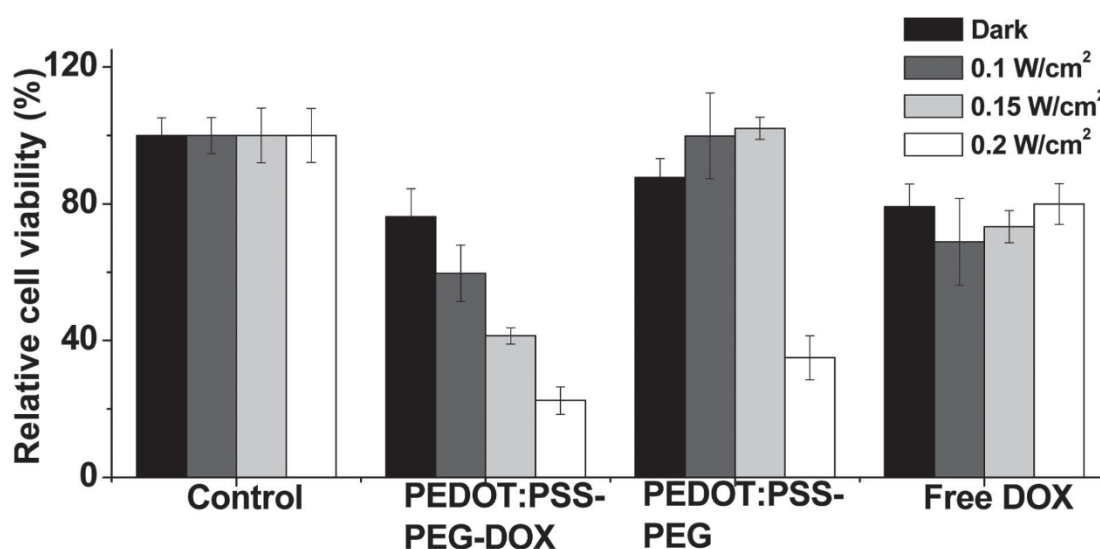


Figure 16 : Viabilité relative des cellules cancéreuses 4T1 selon le traitement appliqué. Les tests MTT sont réalisés suite au 24h d'incubation ou après irradiation laser (808 nm, 20 min). Ref 30

En conclusion, les polymères absorbant dans le NIR peuvent être utilisés comme des nanovecteurs photoactifs. Le principal avantage de ce système est de ne pas avoir à encapsuler un agent photoactif en plus du médicament. De plus, il a été démontré que l'effet photothermique pouvait être utilisé pour favoriser la libération des anticancéreux. Mais surtout il a été montré que la combinaison de la thérapie photothermique et de la chimiothérapie à un effet synergique évident dans la lutte contre le cancer.

3.1.2. Les liposomes photoactifs

Les liposomes photoactifs sont constitués de phospholipides fonctionnalisés par des porphyrines. Les phospholipides permettent de former les nanovecteurs tandis que les porphyrines sont les agents photoactifs. Ces nanovecteurs photoactifs, aussi appelés porphysomes, ont été présentés dans le chapitre précédent (paragraphe 3.2), pour des applications en PTT. Ces nanoparticules présentent l'avantage de posséder une bonne

biocompatibilité et biodégradabilité dans l'organisme. Cependant, ils ont l'inconvénient de ne pas être assez stables pour encapsuler et retenir un médicament. En regardant d'un peu plus près la structure (Figure 17a) de ces porphysomes à base de pyro-lipide, Lovell et coll. ont noté que la chaîne alcane était plus longue que celle portant le groupement porphyrine.³¹ Ils ont alors émis l'hypothèse que cette variance était la cause d'un mauvais assemblage des monomères, lors de la formation des porphysomes, entraînant des problèmes de stabilité. Pour vérifier cette hypothèse, ils ont synthétisé un nouveau monomère, le HPPH-lipide (Figure 17a), respectant cette fois-ci les longueurs de chaînes. Pour déterminer si ce changement de structure a une influence sur la stabilité et les propriétés d'encapsulation des porphysomes, des nanovésicules à partir de pyro-lipides ou de HPPH-lipides ont été préparées, en présence de PEG-lipide pour améliorer leurs propriétés physiologiques. Les porphysomes ont été hydratés avec une solution de calcéine, qui est un agent fluorescent, puis filtrés à la fin de la préparation afin d'éliminer la calcéine non encapsulée. Les taux d'encapsulation de ces différents porphysomes ont ensuite été suivis par spectroscopie de fluorescence. Comme attendu, les nanoparticules à base de Pyro-lipide ne sont pas assez stables pour retenir la calcéine qui n'est donc pas encapsulée, d'où l'absence d'émission de fluorescence même après destruction des nanoparticules avec du détergent (Triton X-100). Les nanovésicules à base de HPPH-lipide présentent quant à elles une bonne efficacité d'encapsulation (Figure 17b). Le signal de fluorescence est dans un premier temps inhibé à cause de l'effet de concentration de la calcéine dans le cœur des liposomes. En ajoutant du Triton X-100, les porphysomes sont détruits, libérant la calcéine qui se retrouve diluée dans le milieu, permettant ainsi de retrouver le signal de fluorescence. Ces études ont confirmé que la modification de structure du monomère permettait de faire des porphysomes stables avec une meilleure efficacité d'encapsulation.

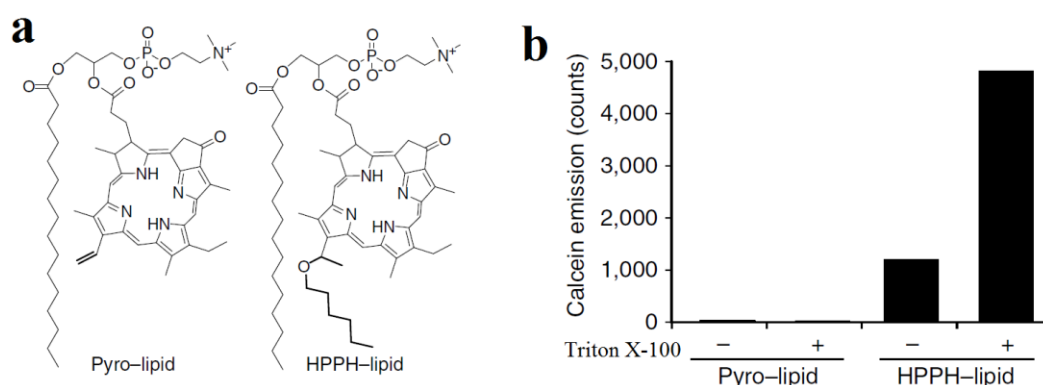


Figure 17 : (a) Structures du pyro-lipide et du HPPH-Lipide; (b) Mesure de l'émission de fluorescence de la calcéine retenue dans les nanovésicules à base de pyro-lipide ou de HPPH-lipide, avant et après ajout de détergent (Triton X-100). Ref 31

³¹ Carter, K. A.; Shao, S.; Hoopes, M. I.; Luo, D.; Ahsan, B.; Grigoryants, V. M.; Song, W.; Huang, H.; Zhang, G.; Pandey, R. K.; Lovell J. F. *Nat. Commun.* **2014**, 5, 4546/1-4546/11.

Ils ont ensuite cherché à faire de la PTCR en utilisant le porphysome HPPH. Pour cela des nanovésicules à base de HPPH-lipide et contenant de la Doxorubicine (Dox) ont été irradiées à plusieurs puissances et pendant différents temps. La Dox libérée est suivie par fluorescence. Les premières expériences confirment que la Dox peut être libérée sous irradiation laser NIR et que la vitesse de libération dépend de la puissance et du temps d'irradiation (Figure 18a). Ils ont aussi démontré, en irradiant par intermittence les nanovésicules, que la membrane lipidique du porphysome pouvait se déformer puis se reformer, libérant ou stoppant ainsi la délivrance du médicament (Figure 18b).

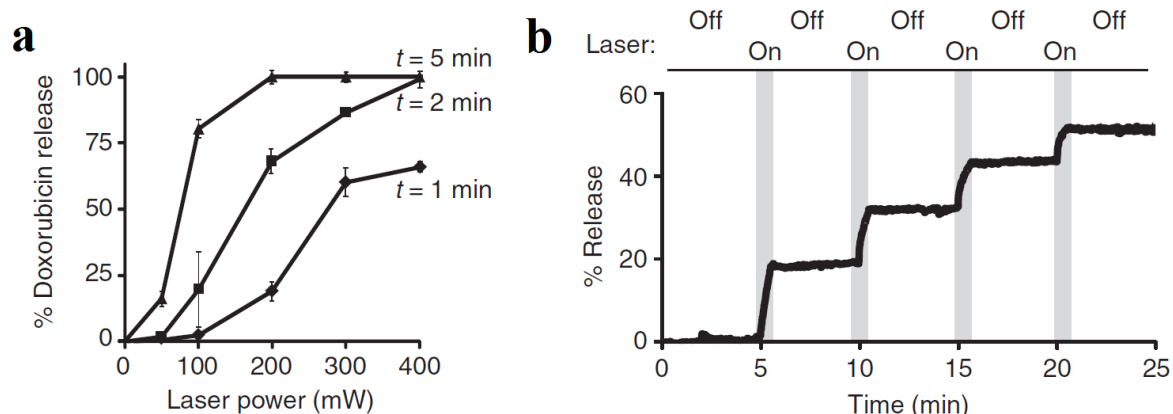


Figure 18 : (a) Mesure du pourcentage de Dox libérée des nanovésicules HPPH, en fonction de la puissance et du temps d'irradiation laser (658 nm); (b) Mesure du pourcentage de Dox libérée des porphysomes HPPH sous irradiation laser par intermittence (658 nm, 120 mW, 1 min). Ref 31

Ces résultats encourageants ont mené à des essais *in vitro* et *in vivo*. Les nanovésicules seules, la Dox libre et les porphysomes-Dox ont été incubés, pendant 24 heures (Figure 19a), en présence de cellules cancéreuses (Panc-1). L'irradiation laser seule ou la présence de nanovésicules vides n'a aucun effet sur la viabilité des cellules cancéreuses. Les porphysomes-Dox sans irradiation suppriment 15 % des Panc-1 car un peu de Dox est libérée dans le milieu. Par contre, sous exposition laser, ils induisent plus de 50 % de mort cellulaire, ce qui est plus efficace que le traitement avec de la Dox libre à la même concentration. La synergie de la PTT avec la chimiothérapie rend cette thérapie plus performante. Cette observation est confirmée par l'étude *in vivo* (Figure 19b). En effet, les souris atteintes d'une tumeur cancéreuse et ayant reçu l'injection de la solution de porphysomes-Dox (10 mg/kg), sont plus nombreuses à avoir survécu 100 jours après l'exposition laser, que celles n'ayant pas reçu le même traitement.

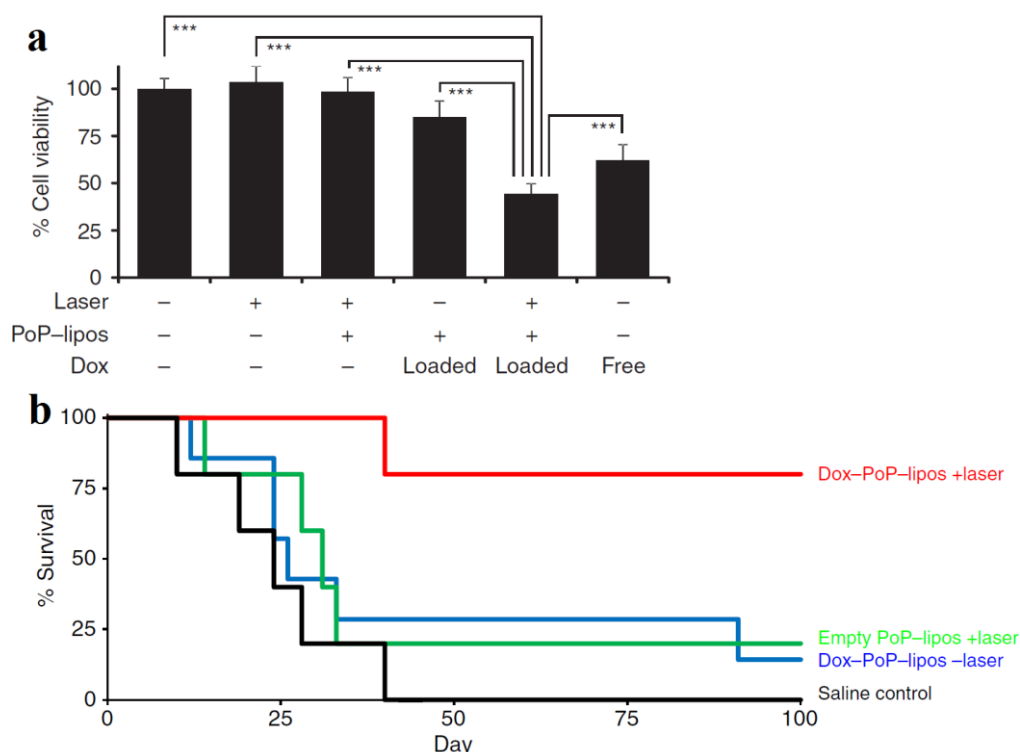


Figure 19 : (a) Étude *in vitro* de la viabilité des cellules cancéreuses, après 24h d'incubation, en présence de Dox libre (10 µg/mL), de porphysomes ou de porphysomes-Dox (10 µg/mL de Dox encapsulée). La viabilité des cellules est mesurée par test MTT après irradiation laser NIR (658 nm, 200 mW/cm², 5 min); (b) Taux de survie, des souris atteintes d'une tumeur en fonction du traitement appliqué. Ref 31

En conclusion, des porphysomes stables et capables d'encapsuler des anticancéreux ont été mis au point à partir de HPPH-lipide. Sous exposition laser NIR, les nanovésicules délivrent les principes actifs, avec un contrôle spatiotemporel très intéressant. La vitesse de libération dépend de la puissance et du temps d'irradiation. Ces systèmes sont des candidats potentiels à la libération photothermique contrôlée d'anticancéreux. Malgré les faibles puissances utilisées, de l'ordre du mW, des porphysomes absorbant plus loin dans le NIR seraient souhaitables pour préserver les tissus sains.

3.2. Les colorants-NIR organiques photoactifs pour la PTCR

Les colorants-NIR organiques traditionnellement utilisés ont été décrits dans le chapitre 2 (paragraphe 3.3). Ces dérivés cyanine et porphyrine (Figure 20 et 21) possèdent une forte absorption dans le NIR et une efficacité photothermique comparable aux nanostructures d'or. Cependant, leur utilisation est limitée à cause de leur instabilité et de leur photoblanchiment sous irradiation laser. Des travaux récents ont démontré que des complexes de galodinium-

bis(naphthalocyanine) (GdSand) ou des molécules d'indocyanine heptaméthine (IR825),^{32,33} encapsulés dans des nanoparticules organiques, possédaient un effet photothermique sans photoblanchiment.

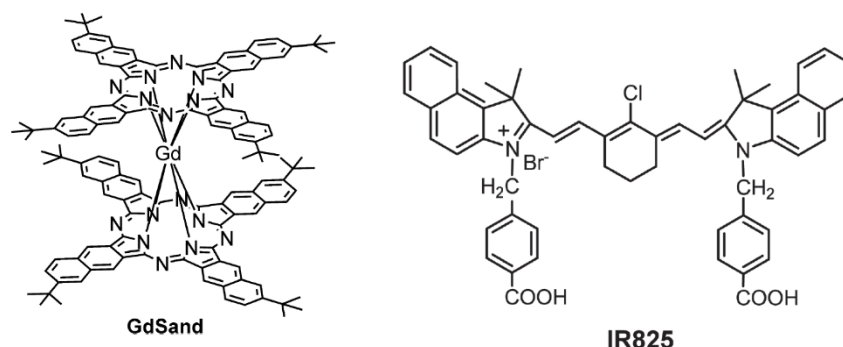


Figure 20 : Structure du GdSand et de l'IR825. Ref 32, 33

Typiquement, le photoblanchiment est dû à une réaction chimique du colorant-NIR avec le dioxygène singulet ($^1\text{O}_2$) qui est produit lors de l'irradiation laser par transfert d'énergie, de la molécule dans son état excité triplet vers le dioxygène ($^3\text{O}_2$).³⁴ De plus, $^1\text{O}_2$ est une espèce agressive qui pourrait altérer le médicament, lors de la libération photothermique contrôlée, le rendant ainsi inefficace. Par conséquent, des molécules ne produisant pas d'espèces réactives oxygénées (ROS) seront privilégiées, pour permettre un effet photothermique efficace, tout en assurant une libération saine des principes actifs. Dans cet objectif, Smith et coll. ont synthétisé un nouveau colorant-NIR,³⁵ la croconaine (Croc). Cette molécule, ne produisant pas de ROS, a été encapsulée dans des liposomes ou des nanoparticules hybrides lipide-polymère (Lp-hybride-NPs). La première étude, consiste à étudier les propriétés optiques et photothermiques des Lp-hybride-NPs, dopées avec trois colorants-NIR (Figure 21), la Croc, l'IR780 et la célèbre Indocyanine Green (ICG).

³² Mathew, S.; Murakami, T.; Nakatsuji, H.; Okamoto, H.; Morone, N.; Heuser, J. E.; Hashida, M.; Imahori, H. *ACS nano* **2013**, 7, 8908–8916.

³³ Cheng, L.; He, W.; Gong, H.; Wang, C.; Chen, Q.; Cheng, Z.; Liu, Z. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, 23, 5893–5902.

³⁴ Sheng, Z.; Hu, D.; Zheng, M.; Zhao, P.; Liu, H.; Gao, D.; Gong, P.; Gao, G.; Zhang, P.; Ma, Y.; Cai, L. *ACS nano* **2014**, 8, 12310–12322.

³⁵ Guha, S.; Shaw, S. K.; Spence, G. T.; Roland, F. M.; Smith, B. D. *Langmuir* **2015**, 31, 7826–7834.

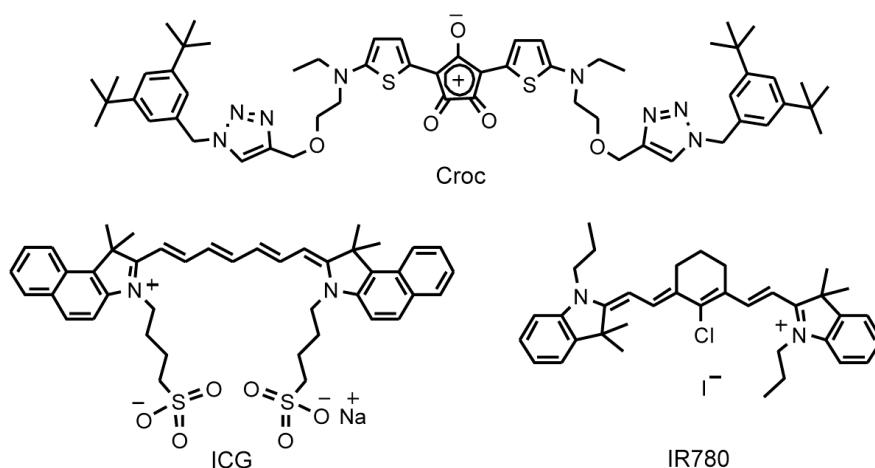


Figure 21 : Structures des colorants NIR utilisés dans cette étude. Ref 35

Les Lp-hybrides-NPs sont constituées d'un cœur polymérique hydrophobe (PLGA) recouvert d'une bicouche lipidique (MPEG-DSPE(2000) + lécithine) (Figure 22). Ces 3 substances biocompatibles ont été approuvées par la FDA (Food and Drug Administration aux Etats-Unis). Le coeur hydrophobe permet d'encapsuler des médicaments et/ou colorants lipophiles, tandis que les chaines PEG empêchent les nanoparticules de s'auto-agréger et diminuent leur reconnaissance par le système immunitaire. Ces nanoparticules ont un diamètre moyen de 68 nm et sont stables après 15 jours à température ambiante.

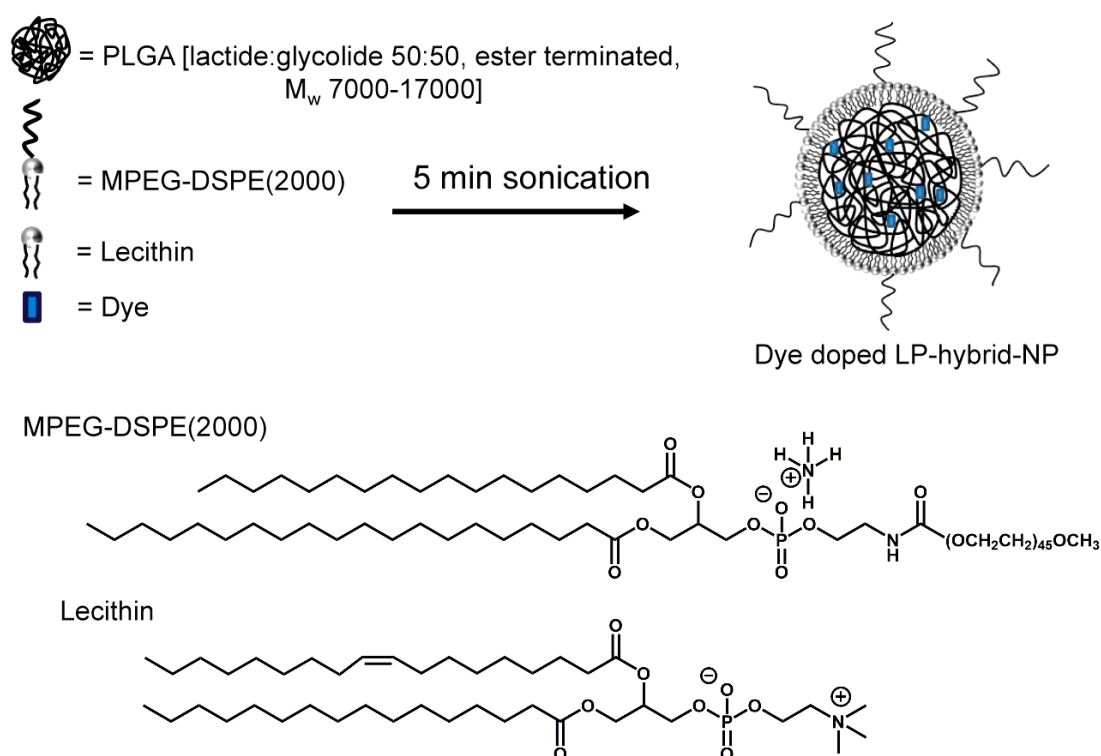


Figure 22 : Illustration de la préparation des Lp-hybride-NPs dopées avec différents colorants. Ref 35

Les Lp-hybride-NPs encapsulant de la Croc, de l'IR 780 ou de l'ICG ont été préparées de façon identique puis exposées sous irradiation laser. La mesure de l'élévation de température en fonction du temps (Figure 23a), indique que les Lp-hybride-NPs/Croc ont une meilleure efficacité photothermique que les deux autres systèmes. De plus, l'absorbance des différentes nanoparticules (Figure 23b-d), avant et après irradiation laser, démontre clairement la destruction totale de l'IR780 et de l'ICG dans les Lp-hybride-NPs, contrairement à la croconaine. La seconde bande d'absorption à environ 720 nm est due à une agrégation partielle des colorants-NIR à l'intérieur des nanoparticules.

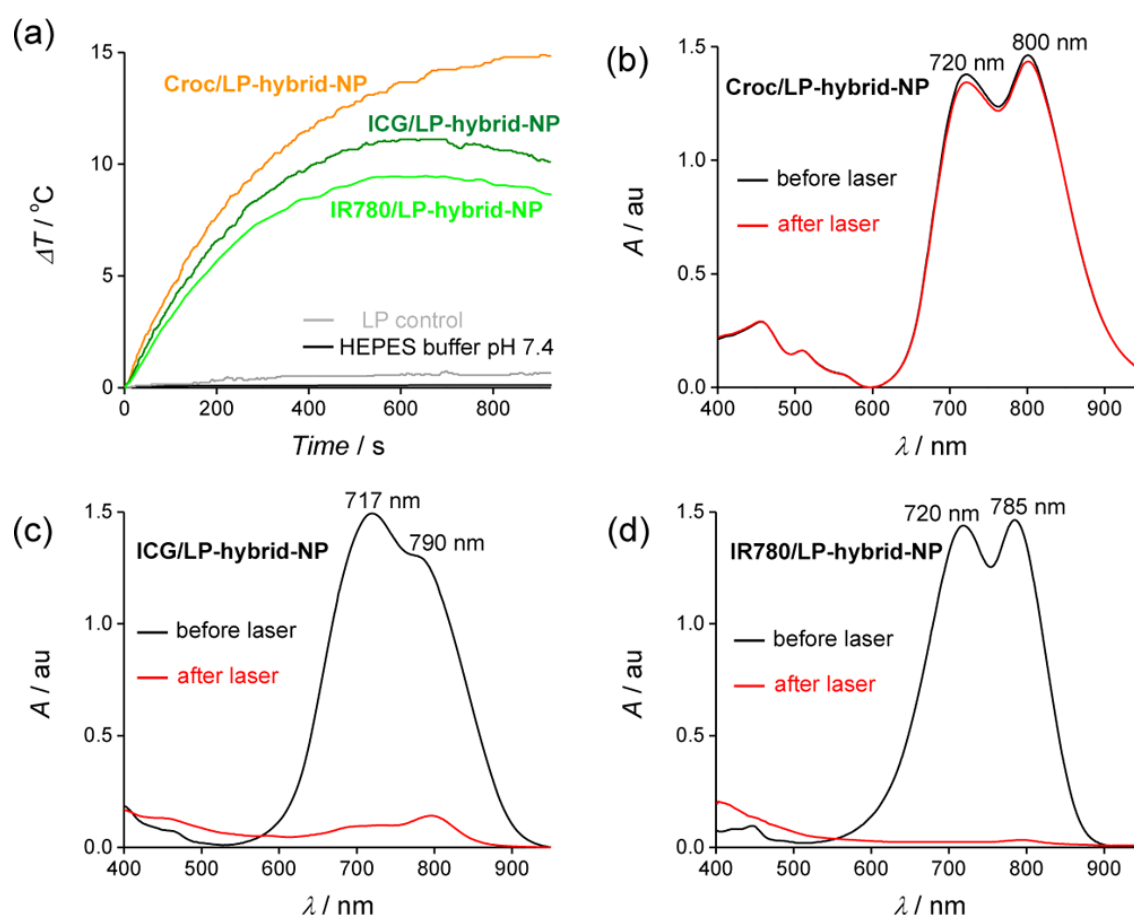


Figure 23 : (a) Élévation de la température de solutions de Croc/Lp-hybride-NPs, d'IR780/Lp-hybride-NPs et d'ICG/Lp-hybride-NPs sous irradiation laser NIR (808 nm, 3,5 W/cm², 15 min); (b-d) Spectres d'absorption des différentes solutions de nanoparticules, avant et après irradiation (808 nm, 3,5 W/cm², 15 min). Ref 35

Le problème de photostabilité de l'IR780/Lp-hybride-NPs et de l'ICG/Lp-hybride-NPs est encore plus flagrant, lorsque les échantillons sont irradiés par intermittence (Figure 24). Les élévations de température sont constantes, d'un cycle à l'autre, dans le cas des nanoparticules contenant de la croconaine. Les nanomatériaux encapsulant de l'IR780 ou de l'ICG, ont quant à eux un effet photothermique de plus en plus faible, du fait de leur altération sous irradiation.

Par conséquent les Croc/Lp-hybride-NPs sont les nanostructures les plus intéressantes pour l'utilisation de l'effet photothermique.

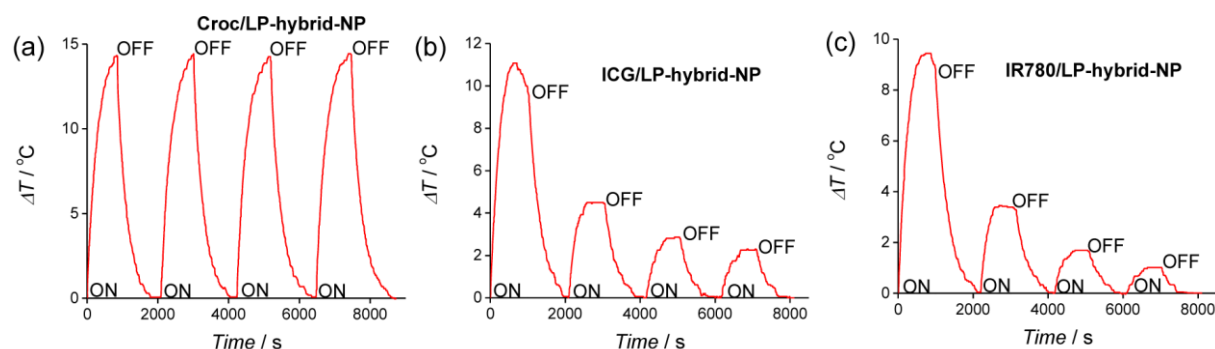


Figure 24 : Évolution de la température des échantillons de (a) Croc/Lp-hybride-NPs, (b) ICG/Lp-hybride-NPs et (c) IR780/Lp-hybride-NPs après 4 cycles d'irradiation laser (808 nm, 3,5 w/cm², 15 min ON/15 min OFF). Ref 35

L'équipe de Smith a ensuite étudié l'effet de l'oxygène singlet sur la Doxorubicine (Dox). Pour cela, de la Dox a été encapsulée dans le cœur lipophile des Lp-hybrides-NPs, en présence des colorants-NIR correspondants. Sans irradiation laser, les absorbeurs-NIR n'ont aucun effet néfaste sur l'anticancéreux. Cependant, lors de l'irradiation de l'ICG/Dox/Lp-hybride-NPs ou de l'IR780/Dox/Lp-hybride-NPs, une perte de fluorescence de l'anticancéreux est observée. En fait, sous irradiation, l'ICG et l'IR780 produisent de l'oxygène singlet qui réagit avec la Dox dans la nanoparticule, entraînant sa photooxydation et son altération (Figure 25b-c). La structure de la Dox décomposée n'a pas encore été élucidée, mais des études indiquent clairement que la Dox photooxydée perd grandement de son efficacité thérapeutique.³⁶ Ces résultats sont confirmés par l'expérience réalisée avec les Croc/Dox/Lp-hybride-NPs. En effet, l'anticancéreux est stable en présence d'un colorant-NIR ne produisant pas de $^1\text{O}_2$ tel que la Croc (Figure 25a).

³⁶ Ramu, A.; Mehta, M. M.; Liu, J.; Turyan, I.; Aleksic, A. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2000**, 46, 449–458.

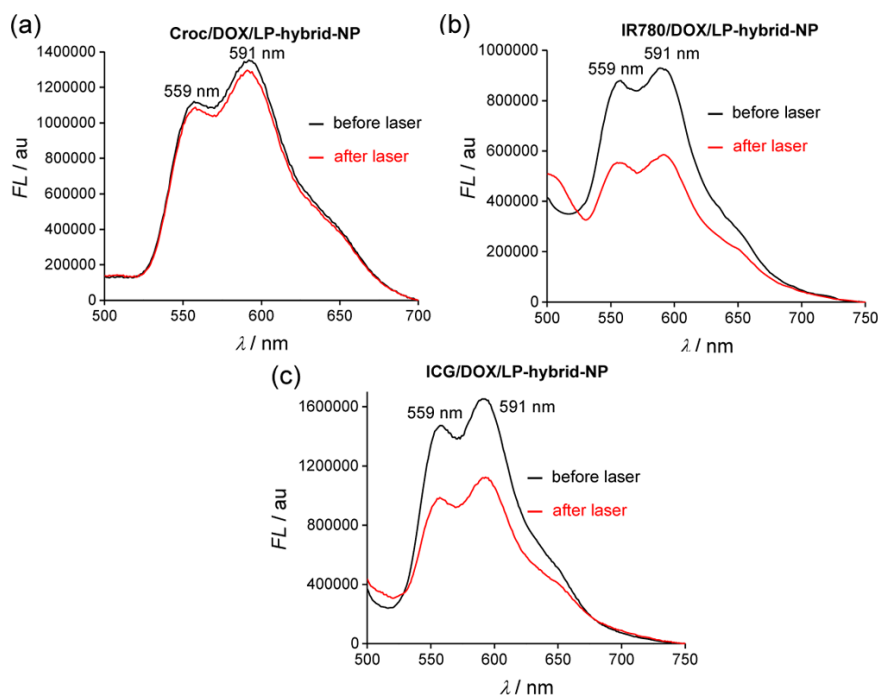


Figure 25 : Évolution de la fluorescence de la Dox encapsulée ($\lambda_{\text{ex}} = 480$ nm), avant ou après irradiation (808 nm, 3,5 W/cm², 15 min) des échantillons de (a) Croc/DOX/Lp-hybride-NPs (b) IR780/DOX/Lp-hybride-NPs, (c) ICG/DOX/Lp-hybride-NPs. Ref 35

L'effet photothermique non agressif de la Croc, c'est-à-dire sans génération d'¹O₂ destructif, est vraiment très attrayant pour des applications en libération photothermique contrôlée de médicament. Dans cet objectif, des essais pour mesurer l'effet de l'irradiation laser sur la délivrance de la Dox encapsulée dans le système Croc/DOX/Lp-hybride-NPs, ont été menés. Le pourcentage de Dox libérée au cours du temps est mesuré par fluorescence. Sans irradiation, 50 % de la Dox est relarguée au bout de 18 h. A contrario, lorsque les échantillons ont été irradiés pendant 15 min au préalable, 50 % de l'anticancéreux est libéré en 6 h (Figure 26). Par conséquent, l'effet photothermique de la Croc permet de libérer de façon contrôlée et stable le médicament.

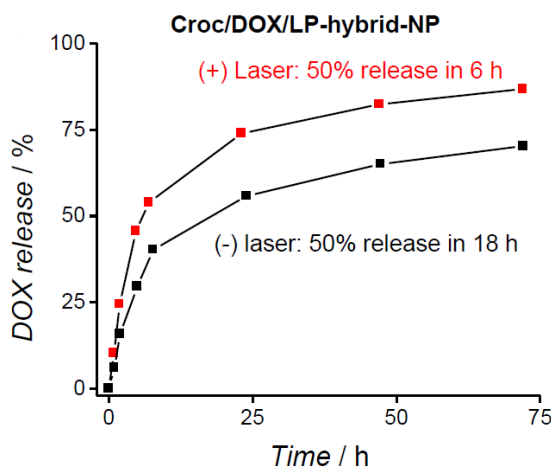


Figure 26 : Pourcentage de Dox libérée, des Croc/DOX/Lp-hybride-NPs, après irradiation laser ou non (808 nm, 3,5 W/cm², 15 min). Ref 35

Dans le but d'avoir un meilleur contrôle spatiotemporel de la libération du médicament, des liposomes encapsulant de la Croc et un agent fluorescent ont été mis au point. Les nanoparticules lipidiques ont l'avantage d'être plus ou moins perméables selon la température du milieu. Pour ces études, des liposomes thermosensibles à base de DPPC et de MPEG-DSPE(2000) ont été préparés en présence de Croc et de 6-carboxyfluorescéine (CF), qui est un agent fluorescent. La 6-carboxyfluorescéine est encapsulée dans le cœur hydrophile du liposome tandis que la Croc est retenue dans la double couche lipidique (Figure 27).

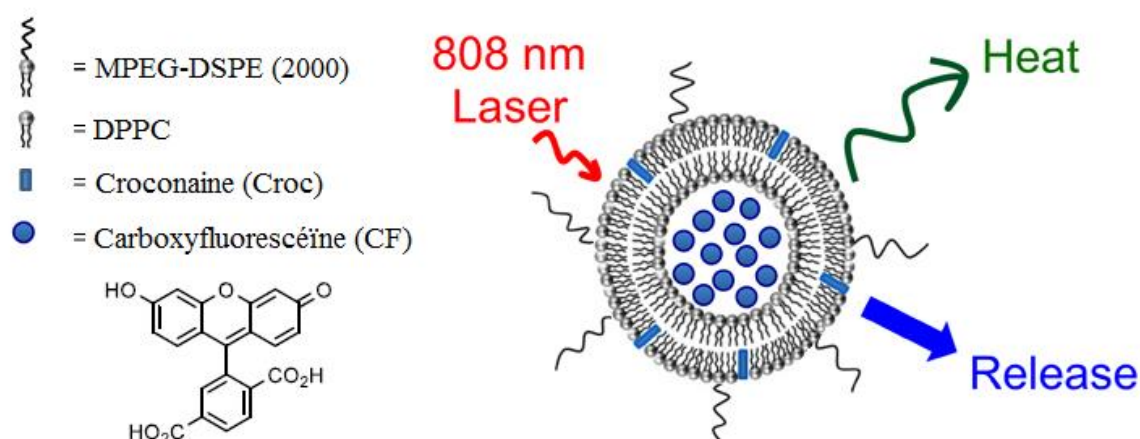


Figure 27 : Illustration de la composition des Croc/CF/Liposomes. Ref 35

Une caractéristique intéressante de ce type de liposomes thermosensibles est leur capacité à libérer le médicament de façon fractionnée par irradiation laser discontinue. La stabilité de la Croc, après plusieurs cycles d'irradiations laser, en fait un bon candidat pour ce type de système. Par conséquent, un échantillon de Croc/CF/Liposomes a été irradié par intermittence. Trois cycles d'irradiation d'une minute, suivi de 10 min d'interruption ont été menés. Le pourcentage de CF libérée au cours de l'expérience a été mesuré par fluorescence. Cette expérience démontre clairement la capacité de ce système à libérer en plusieurs portions le médicament (Figure 28).

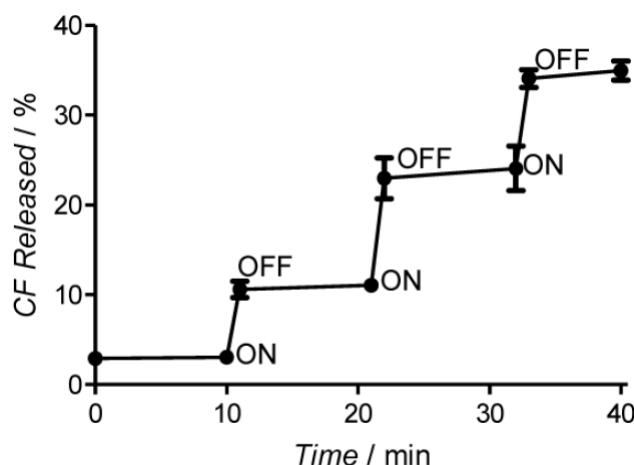


Figure 28 : Pourcentage de 6-carboxyfluorescéine (CF) libérée par irradiation laser discontinue (808 nm, 3,5 W/cm², 1 min ON / 10 min OFF). Ref 35

Ce concept permet de limiter le nombre d'injections lors de la thérapie. En effet, dans le cas d'une libération totale du médicament après la première irradiation, une concentration modérée doit être utilisée, pour ne pas le rendre cytotoxique pour le patient. Par conséquent, une fois le médicament éliminé de l'organisme, une seconde injection est nécessaire si la première n'a pas suffi et ainsi de suite. Cependant, en utilisant le système de libération fractionnée, une concentration très élevée de médicament peut être encapsulée, puis la dose nécessaire est libérée en fonction de la puissance et du temps d'irradiation. Cette technique confère une délivrance spatiotemporelle plus efficace.

3.3. Conclusion

Les agents photoactifs inorganiques comme organiques ont montré leur capacité à pouvoir être utilisés en libération photothermique contrôlée. Cette technique est très prometteuse comme thérapie contre le cancer. Elle met en jeu la combinaison de la PTT et de la chimiothérapie qui par effet synergique détruit les cellules cancéreuses. Les médicaments peuvent être libérés en une seule fois ou en plusieurs fractions selon le nanovecteur utilisé et les conditions d'irradiation (temps, cycle, puissance d'irradiation). La PTCR étant un procédé récent (~ 6 ans), peu d'études sur la cytotoxicité à long terme ont été publiées. Cependant, il en ressort que les nanoparticules polymériques et les liposomes semblent être les systèmes les mieux adaptés à ce type de thérapie. La majorité des agents photoactifs utilisant ce type de nanovecteurs sont organiques (polymères, porphysomes, colorants-NIR) et connaissent certaines limites. Les porphysomes ayant été utilisés en PTCR absorbent à ~ 650 nm. Malgré la faible puissance d'irradiation appliquée, les tissus peuvent être endommagés à cette longueur

d'onde. Les nanoparticules polymériques ont quant à elles toujours le même problème de reproductibilité d'un échantillon à l'autre. Les colorants-NIR photostables et ne produisant pas d'oxygène singulet, tels que la croconaine sous irradiation, figurent à ce jour comme les plus prometteurs pour la PTCR. Cependant, il existe peu de molécules possédant de telles propriétés. De ce fait, de nouveaux agents photothermiques respectant ces caractéristiques sont à rechercher, afin de faire progresser ce nouveau type de thérapie. Par conséquent, les travaux de cette thèse consistent à étudier le potentiel des complexes Ni-bis(dithiolène) pour des applications en PTCR.

4. Applications des Ni-bis(dithiolène) en PTCR

Cette dernière partie est consacrée aux travaux de thèse mis en œuvre pour élaborer des nanovecteurs à base de polymère ou de lipide, encapsulant divers complexes Ni-bis(dithiolène) pour des applications en PTCR. Pour cela, nous allons tout d'abord synthétiser et caractériser les nanoparticules polymériques et les liposomes seuls. Ensuite, les complexes Ni-bis(dithiolène) vont être encapsulés puis des essais de libération photothermique contrôlée de principes actifs et de fluorophores seront menés. Pour finir, la cytotoxicité *in vitro* de ces nouveaux nanovecteurs photoactifs sera évaluée.

4.1. Nanovecteurs thermosensibles utilisés

Afin de respecter le modèle le plus adapté à la PTCR, des nanoparticules polymériques et des liposomes ont été employés pour tenter de coencapsuler des complexes de Ni-bis(dithiolène) avec des médicaments. Ces nanovecteurs à base de polymères ou de lipides sont issus d'une collaboration avec l'équipe Chimie Organique et Supramoléculaire (COS) de l'ISCR, à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Rennes (ENSCR).

4.1.1. Les nanoparticules polymériques à base de PEG₄₂-PMLABe

En s'appuyant sur l'expérience de nos coll. dans ce domaine, nous avons décidé d'utiliser, dans une première approche, le poly(éthylène glycol)-*b*-poly(malate de benzyle) (PEG₄₂-*b*-PMLABe). C'est un copolymère à bloc amphiphile, permettant de préparer des nanoparticules stables, pouvant encapsuler des principes actifs ou des agents fluorescents. De plus, comme la plupart des polymères dérivés du poly(acide malique) (PMLA), il possède l'avantage d'être biocompatible, non-toxique et biodégradable.³⁷ La préparation de ces nanoparticules à base de PEG₄₂-*b*-PMLABe se fait en 2 parties. La première consiste à synthétiser le PEG₄₂-*b*-PMLABe et la seconde est l'auto-assemblage du copolymère à blocs pour donner les nanoparticules polymériques désirées.

Le PEG₄₂-*b*-PMLABe a été obtenu en 4 étapes par l'équipe COS selon le procédé décrit en Figure 29.³⁷⁻³⁸ Le produit de départ, l'acide aspartique **11**, est mis en présence de bromure de sodium, d'acide sulfurique et de nitrite de sodium. Cette réaction permet de transformer,

³⁷ Huang Z. W.; Laurent V.; Chetouani G.; Ljubimova J. Y.; Holler E.; Benvegnu T.; Loyer P.; Cammas-Marion S. *Int. J. Pharm.* **2012**, 423, 84-92.

³⁸ Cammas, S.; Renard, I.; Langlois, V.; Guérin, P. *polymer* **1996**, 37,4215–4220.

dans un premier temps, la fonction amine de **11** en sel de diazonium **12**, qui est ensuite substitué par un atome de brome, pour donner après recristallisation dans l'acétonitrile, l'acide (*RS*)-bromosuccinique **13**. Dans la seconde étape, le dérivé bromé **13** réagit avec de l'anhydride trifluoroacétique (TFAA) dans le THF à 0 °C pour former, après déshydratation et cyclisation, l'intermédiaire réactionnel anhydride **14**, sur lequel est ajouté de l'alcool benzylique. Dans cette troisième étape, l'alcool benzylique attaque par substitution nucléophile, soit en position 2, soit en position 5 du composé anhydride **14**. L'attaque nucléophile est privilégiée en position 2 car c'est la plus électrophile, du fait de la proximité avec l'atome de brome. Par conséquent, l'acide (*RS*)-3-benzyloxycarbonyl-3-bromopropanoïque **16** est obtenu en majorité par rapport à l'acide (*RS*)-2-bromo-3-benzyloxycarbonylpropanoïque **15** avec un ratio de (2:1). Le produit brut contenant **15** et **16** est ensuite solubilisé dans un mélange eau/dichlorométhane (1/1, pH = 7,2) et chauffé à 45°C pour obtenir, après cyclisation intramoléculaire, le (*RS*)-4-benzyloxycarbonyl-2-oxetanone (MLABe) **17**. Lors de cette étape, la fonction carboxylate (-COO⁻ à pH = 7,4) fait une substitution intramoléculaire du brome, formant ainsi le produit désiré **17** avec un rendement de 20 %, après purification par chromatographie sur silice et distillation sous vide. La dernière étape, consiste à utiliser le bloc PEG comme amorceur de polymérisation du MLABe. Pour cela, le monomère MLABe **17**, solubilisé dans du THF, est transféré sur une solution d' α -méthyl- ω -carboxylate-PEG₄₂ de potassium (MeO-PEG₄₂-COO⁻ K⁺) en présence d'éther couronne (6-crown-12) dans du THF. La fonction carboxylate de la chaîne PEG attaque en position 4 du MLABe **17**, amorçant la polymérisation anionique par ouverture de cycle. La nouvelle fonction carboxylate formée **18** peut attaquer une autre molécule de MLABe et le procédé continue ainsi de suite. La réaction de polymérisation est complète, lorsque la bande $\nu_{C=O}$ ($\sim 1850\text{ cm}^{-1}$) caractéristique du dérivé lactone **17** a disparu du spectre infrarouge (IR). Par cette méthode, le copolymère à bloc PEG₄₂-*b*-PMLABe **19** a été obtenu avec une masse molaire de 17 880 g/mol, déterminée par RMN ¹H.

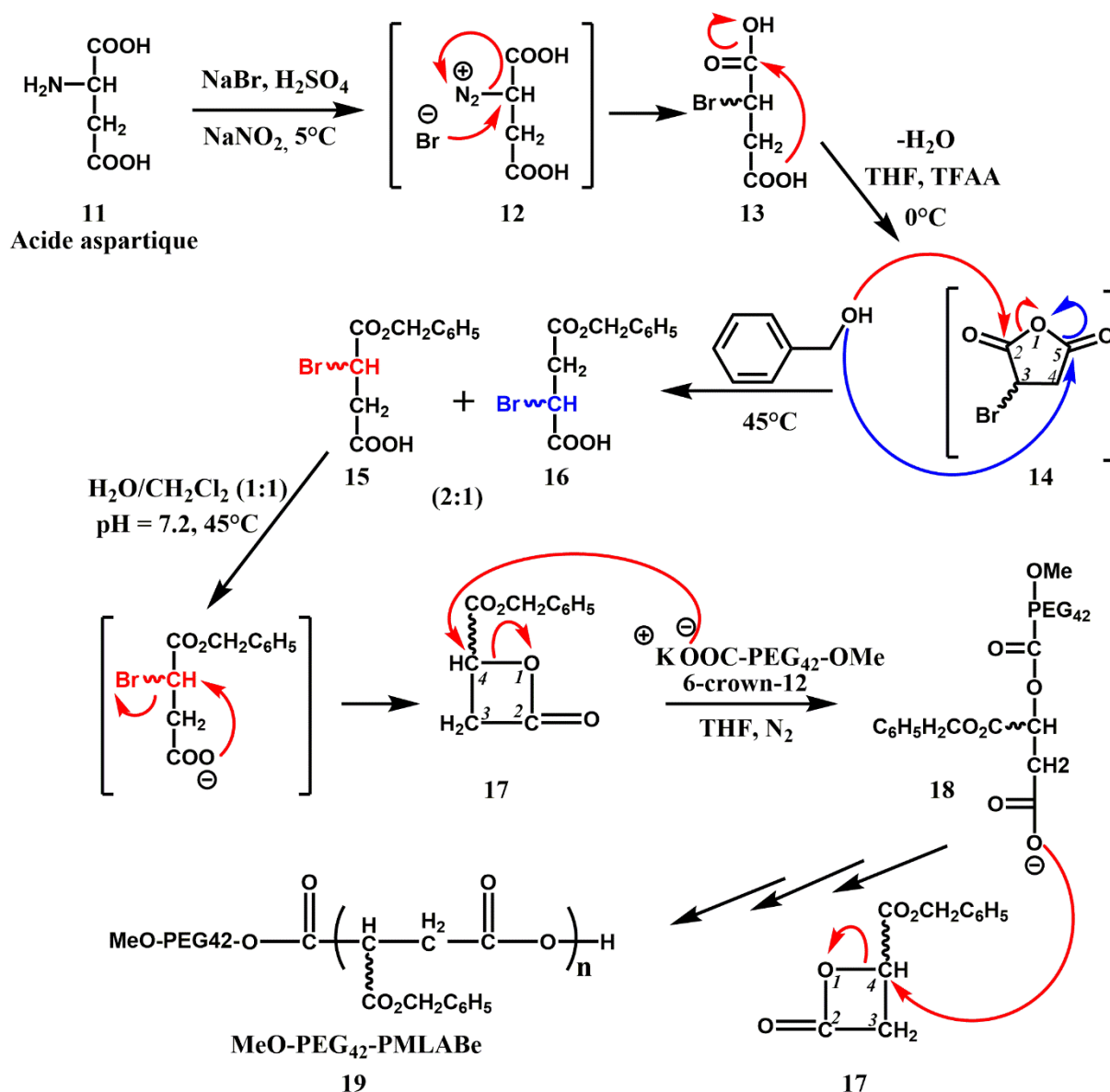


Figure 29 : Voie de synthèse du copolymère à bloc PEG₄₂-b-PMLABe.

Une fois le polymère **19** synthétisé, les nanoparticules sont préparées par nanopréciipitation. Cette méthode décrite par Fessi et coll. repose sur l'auto-assemblage du polymère dans un mélange eau/solvant organique.³⁹ Pour cela, le polymère est d'abord solubilisé dans un solvant organique miscible à l'eau, tel que l'acétone ou le THF. Dans notre cas, le PEG₄₂-b-PMLABe (5 mg) est dissous dans 1 mL de THF puis rapidement additionné dans 2 mL d'eau distillée sous forte agitation. Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 10 min. Lors de ce procédé, les parties hydrophobes du polymère (PMLABe) vont s'agréger, en laissant les parties hydrophiles (PEG₄₂) en contact avec l'eau (Figure 30). Cette agglomération permet de former des nanoparticules de PEG₄₂-b-PMLABe. Le THF est

³⁹ Thioune, O.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. *Int. J. Pharm.* **1997**, 146, 233–238.

ensuite évaporé sous vide (évaporateur rotatif) et le volume final est ajusté à 2 mL par ajout d'eau, si nécessaire. La solution contenant les nanoparticules est ensuite analysée par diffusion dynamique de la lumière (DLS, Dynamic Light Scattering) et zétabilité.

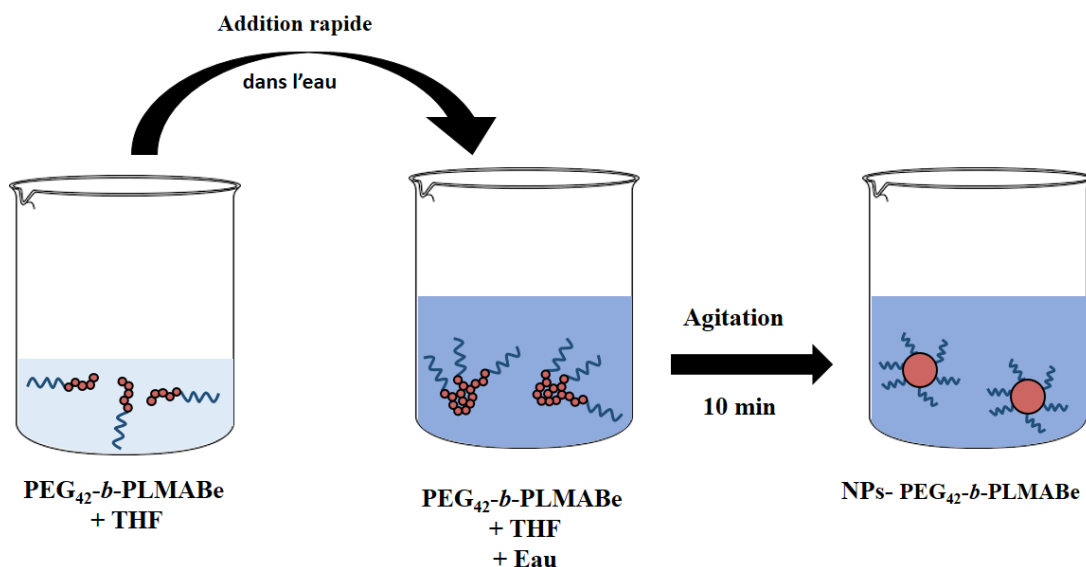


Figure 30 : Illustration de la préparation des nanoparticules PEG₄₂-b-PMLABe par nanoprecipitation.

4.1.2. Méthodes de caractérisation des nanoparticules

La DLS, est une technique d'analyse spectroscopique, permettant d'accéder à la taille des particules en suspension dans un liquide. Ce procédé repose sur la diffusion d'un faisceau laser incident par les nanoparticules.

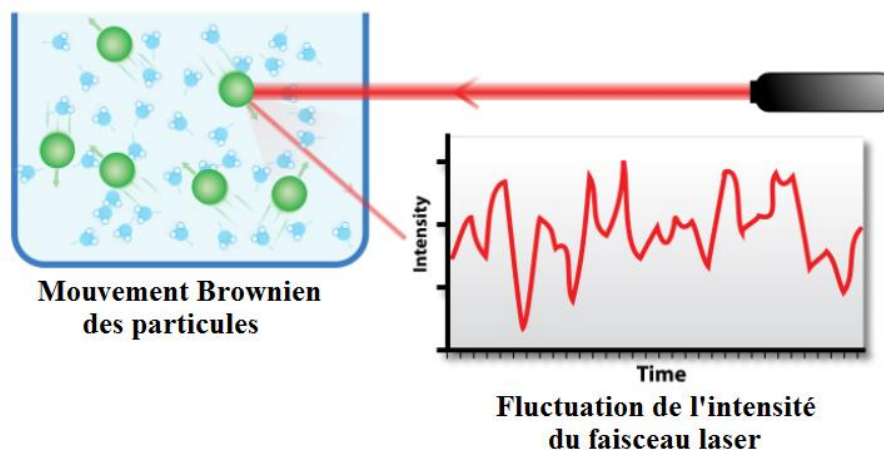


Figure 31 : Schéma de la diffusion du faisceau laser incident sur les nanoparticules en mouvement, entraînant une variation de l'intensité du faisceau diffusé.

En effet, le mouvement brownien des particules ou molécules en suspension engendre des variations d'intensité de la lumière laser diffusée (Figure 31). L'analyse de ces fluctuations

d'intensité permet de mesurer le coefficient de diffusion transversal des nanoparticules et d'en déduire le diamètre hydrodynamique à l'aide de la relation de Stokes-Einstein (Equation 1).

$$D_h = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_t} \quad (1)$$

- D_h représente le diamètre hydrodynamique, c'est-à-dire la particule avec sa couche de diffusion
- D_t est le coefficient de diffusion transversal, il est mesuré lors de la diffusion dynamique de la lumière par les nanoparticules en mouvement.
- k_B est la constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ m}^2.\text{kg}.\text{s}^{-2}.\text{K}^{-1}$)
- T est la température thermodynamique, qui est paramétrée avant de lancer la mesure
- η est la viscosité dynamique, qui est connue selon le solvant utilisé.

La particule va interagir avec le milieu et crée une couche de diffusion entre elle et le solvant. La taille mesurée, appelé diamètre hydrodynamique, correspond alors à la nanoparticule entourée de sa couche de diffusion (Figure 32), ce qui entraîne une surestimation par rapport à une mesure de taille par microscopie électronique en transmission (TEM).

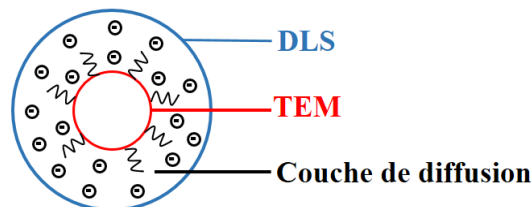


Figure 32 : Illustration du diamètre mesuré par DLS et par TEM.

Pour déterminer si les nanoparticules sont chargées, des mesures de potentiel zêta peuvent être réalisées. Le principe de cette méthode est de mesurer par diffusion de la lumière, la vitesse de déplacement des particules en suspension, sous l'action d'un champ électrique. Le faisceau laser est diffusé lorsqu'il rentre en contact avec les particules. La fréquence du faisceau laser diffusé dépend alors de la vitesse des particules sous le champ électrique. Un second faisceau lumineux, le faisceau de référence, est mélangé au faisceau diffusé pour extraire avec une grande sensibilité le décalage de fréquence de la lumière dispersée. La figure ci-après illustre le mélange du faisceau diffusé au faisceau de référence au niveau du détecteur de potentiel zêta, en bas à droite (Figure 33). Le décalage de fréquence mesuré, permet alors de déterminer la vitesse des particules qui est directement corrélée au potentiel zêta. Les calculs sont mis en œuvre par le logiciel de l'instrument. Un potentiel zêta négatif est un signe de

stabilité des nanoparticules en milieu biologique. En effet, la répulsion électrostatique entre elles permet d'éviter une possible agglomération et une reconnaissance prématurée des nanoparticules par le système réticulo-endothélial.

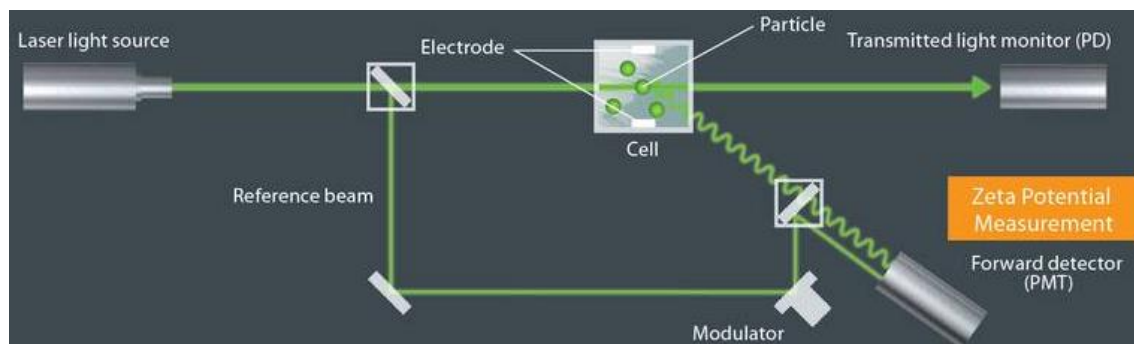


Figure 33 : Illustration du montage permettant les mesures de potentiel zêta.

Les mesures réalisées par DLS sur nos échantillons révèlent que nos nanoparticules de PEG₄₂-*b*-PMLABe possèdent un diamètre hydrodynamique moyen de 93 nm avec un indice de polydispersité (*I_p*) de 0,14 (Figure 34). Un *I_p* inférieur à 0,3 indique que les nanoparticules en suspension ont une répartition en taille homogène. De plus, ces résultats montrent que nos nanoparticules polymériques de PEG₄₂-*b*-PMLABe ont un diamètre favorisant l'accumulation par EPR (< 150 nm). La zétamétrie confirme quant à elle la stabilité des nanoparticules en solution, car elles possèdent un potentiel zêta négatif de -25 mV.

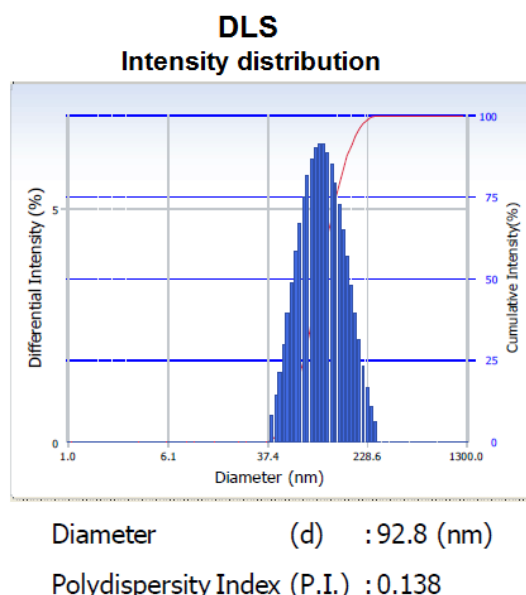


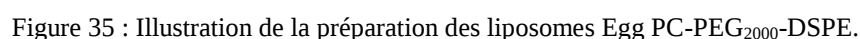
Figure 34 : Mesure de la distribution de taille des nanoparticules de PEG₄₂-*b*-PMLABe par diffusion dynamique de la lumière (DLS).

4.1.3. Les liposomes à base d'Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE.

L'autre système choisi dans notre étude pour encapsuler les complexes de Ni-bis(dithiolène) est le liposome. Comme décrit dans l'introduction, ces nanoparticules lipidiques thermosensibles sont particulièrement intéressantes pour la libération photothermique contrôlée de principes actifs. En s'inspirant des différents travaux décrits précédemment et du savoir-faire de nos coll., des liposomes à base de Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE ont été synthétisés. L'Egg PC, connu aussi sous le nom de lécithine, est un lipide provenant du jaune d'œuf et peut être utilisé sous sa forme naturelle ou synthétique. La forme synthétique a un coût plus élevé mais une pureté supérieure, c'est celle-ci qui sera utilisée. Le PEG₂₀₀₀-DSPE protège les nanovecteurs lipidiques d'une clairance rapide par le système réticulo-endothélial. De plus, il permet de réduire fortement les forces de van der Waals et d'augmenter les interactions répulsives (stérique et électrostatique) entre liposomes.⁴⁰ Cela permet de les désagréger et de les stabiliser en solution. Contrairement aux nanoparticules de PEG₄₂-b-PMLABe, les produits de départ Egg PC et PEG₂₀₀₀-DSPE sont commerciaux.

Les expérimentations de nos coll. ont révélé qu'une formulation d'Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE avec un rapport massique de 9:1 permettait d'obtenir des suspensions de nanovecteurs lipidiques stables. Pour cela, il faut au préalable préparer deux solutions distinctes d'Egg PC et de PEG₂₀₀₀-DSPE dans du chloroforme à des concentrations de 10 mg/mL. Dans un ballon, 1.8 mL de la solution d'Egg PC (soit 18 mg) sont ajoutés puis 0,2 mL de la solution de PEG₂₀₀₀-DSPE (soit 2 mg) est additionné (Figure 35). Le mélange Egg PC plus PEG₂₀₀₀-DSPE (9:1 massique) est agité pendant 30 min à température ambiante. Le chloroforme est ensuite éliminé sous pression réduite, pour former un film lipidique sur la paroi du ballon. Ce film est séché à l'aide d'une rampe à vide pendant 3 heures dans le but d'éliminer toute trace résiduelle de chloroforme. Il est ensuite hydraté par addition de 2 mL d'eau puis conservé 48 h au frigo, le film se décolle au fur et à mesure de la paroi. Après les 48 h d'hydratation, le film en suspension dans l'eau est exposé à cinq cycles de sonication (5 min d'ultra-sons suivies de 5 min de pause, fréquence 35 kHz). Les liposomes en suspension sont filtrés par centrifugation afin d'éliminer les lipides libres en solution qui n'auraient pas formés de liposomes. Pour cela, des filtres (Amicon Ultra 2 mL 50K) retenant les liposomes et laissant passer les lipides libres sont utilisés. Les liposomes sont ensuite redispersés dans de l'eau pour atteindre un volume final de 2 mL.

⁴⁰ Garbuzenko, O.; Barenholz, Y.; Prievo, A. *Chem. Phys. Lip.* **2005**, 135, 117-129.



DLS
Intensity Distribution

Differential Intensity (%)

Cumulative Intensity (%)

Diameter (nm)

Diameter (d) : 87.3 (nm)

Polydispersity Index (P.I.) : 0.294

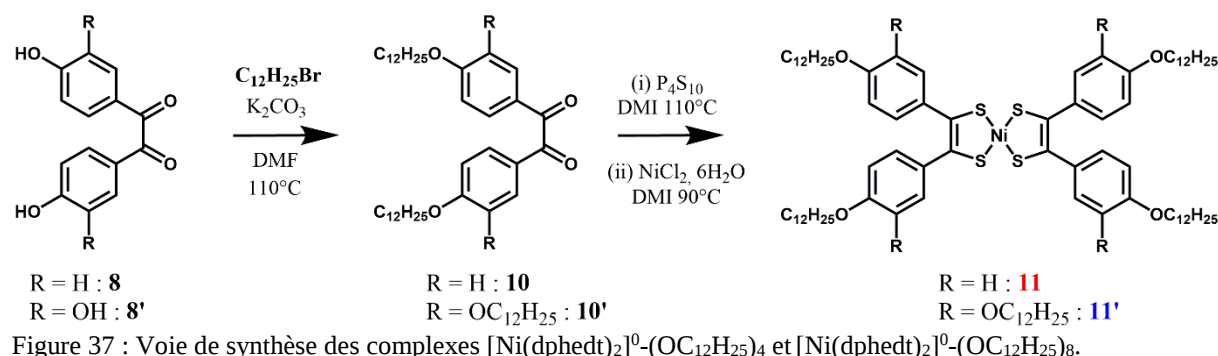
103

Ces modes opératoires permettent d'obtenir des nanovecteurs polymériques et lipidiques stables avec une taille convenable, afin de privilégier l'accumulation par effet EPR. En s'appuyant sur ces protocoles, des essais d'encapsulation de nos complexes de Ni-bis(dithiolène) ont été réalisés dans le but de faire de la PTCR.

4.2. Encapsulation des complexes Ni-bis(dithiolène)

4.2.1. *Nature des complexes Ni-bis(dithiolène) encapsulés*

Selon le type de nanovecteur utilisé, des complexes de Ni-bis(dithiolène) hydrophiles comme hydrophobes peuvent être encapsulés. Les NPs-PEG₄₂-b-PMLABe sont constituées d'un coeur hydrophobe de PMLABe, entouré par une couronne hydrophile de PEG. Par conséquent des tentatives d'encapsulation de Ni-bis(dithiolène) lipophile tel que le complexe **11** [Ni(dphedt)₂]⁰-(OC₁₂H₂₅)₄ (**Ni4C12**) ont été menées. Les nanovecteurs lipidiques ont quant à eux la capacité d'encapsuler les deux types de molécules. En effet, les complexes dithiolène hydrophobes seraient encapsulés dans la bicouche lipidique tandis que ceux hydrophiles se retrouveraient dans le cœur du liposome. De ce fait, le complexe hydrophile [Ni(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈ **3** (**Ni8PEG**), présenté dans le chapitre 2 (Paragraphe 5.1.2), et son analogue hydrophobe **11'** [Ni(dphedt)₂]⁰-(OC₁₂H₂₅)₈ (**Ni8C12**) ont été choisis pour l'encapsulation dans les liposomes Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE. Ces complexes sont synthétisés de la même manière que le [Ni(dphedt)₂]⁰-(PEG)₈ (Figure 22, Chapitre 2) à la seule différence que le PEG-Ts est remplacé par du bromododécane (C₁₂H₂₅Br) lors de l'étape d'alkylation de la dicétone di-hydroxy **8** ou tétra-hydroxy **8'** (Figure 37).



Notre premier objectif a été de mettre au point l'élaboration des nanoparticules ou liposomes encapsulant nos complexes de Ni-bis(dithiolène). Pour cela, les modes opératoires détaillés précédemment ont été suivis.

4.2.2. Préparation et caractérisation des NPs-PEG₄₂-b-PMLABe-Ni4C₁₂

Dans le cas des nanoparticules polymériques, 5 mg de PEG₄₂-b-PMLABe sont solubilisés dans 944 μ L de THF et 56 μ L d'une solution de **11** dans du THF à une concentration de 9 mg/mL sont ensuite additionnés, afin que la quantité de complexe représente 10 % de la masse de polymère (10 % / polymère), soit 0,5 mg. Cette solution (polymère + complexe dans le THF) est ensuite additionnée rapidement dans 2 mL d'eau sous forte agitation. Le mélange est agité à température ambiante pendant 10 min, puis le THF est évaporé sous vide (évaporateur rotatif). Le volume final est ajusté à 2 mL par ajout d'eau, afin d'obtenir une solution verte de NPs-PEG₄₂-b-PMLABe-Ni4C₁₂ ($[C]_{\text{polymère}} = 2,5 \text{ mg/mL}$, $[C]_{\text{complexe}} = 250 \text{ }\mu\text{g/mL}$). La suspension est ensuite centrifugée puis le filtrat et le concentré, sont analysés par spectroscopie UV-Vis-NIR. L'absence de bande NIR dans le filtrat démontre que la totalité du complexe de Ni-bis(dithiolène) est encapsulée (Figure 38a). Le complexe **11 Ni4C₁₂** encapsulé dans les NPs-PEG₄₂-b-PMLABe (NPs-Ni4C₁₂) et mis en suspension dans l'eau, a un maximum d'absorption à 914 nm et un coefficient d'absorption molaire d'environ $10\,200 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. Il faut noter que ces valeurs sont inférieures à celle du complexe **11 Ni4C₁₂** libre en solution dans le dichlorométhane ($\lambda_{\text{max}} = 933 \text{ nm}$ et $\epsilon = 31\,300 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Les mesures par DLS ont révélé la présence de nanoobjets avec une taille moyenne de 114 nm et un I_p de 0,18 (Figure 38b). Du fait de l'encapsulation de complexe de Ni-bis(dithiolène), le diamètre des NPs-Ni4C₁₂ est supérieur à celui des nanoparticules polymériques vides (93 nm) précédemment préparées. L'indice de polydispersité (0,18) et le potentiel zêta négatif (-27 mV) indiquent que les nanoparticules sont homogènes et qu'elles ne forment pas d'agrégat en solution. Des tentatives, pour que la quantité de complexe encapsulé représente 50 % de la masse de polymère (50 % / polymère), ont été réalisées. Cependant seulement 13 % / polymère de Ni4C₁₂ initialement introduit a été encapsulé. Du fait de l'insolubilité du complexe dans l'eau, l'excès de produit reste collé aux parois du ballon, lors de la préparation, d'où l'absence de bande NIR dans le surnageant (Figure 38a). De plus, les mesures DLS révèlent que les nanoparticules ont alors une taille (240 nm) qui ne favorisent pas forcément l'effet EPR. Cette augmentation de taille est probablement due à la présence de nano agrégats de Ni4C₁₂ non encapsulé dans la suspension de NPs-Ni4C₁₂. Par conséquent, les nanovecteurs polymériques contenant 10 % / polymère Ni4C₁₂ est un bon compromis pour des applications en PTCR.

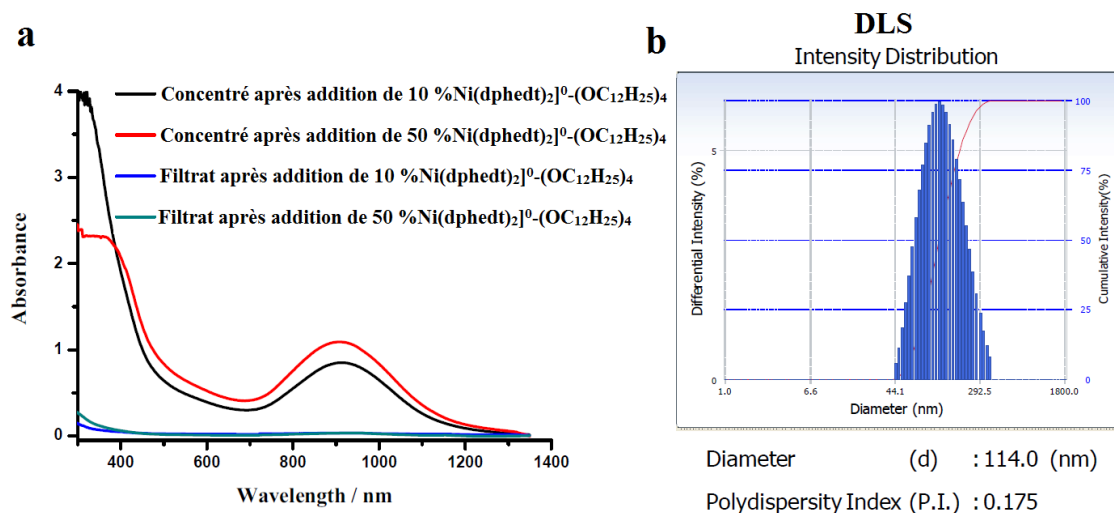


Figure 38 : (a) Spectroscopie UV-Vis-NIR des concentrés et des filtrats de différentes suspensions de NPs-**Ni4C₁₂**. (b); Mesure du diamètre hydrodynamique des NPs-**Ni4C₁₂** préparés par addition de 10 % de [Ni(dphedt)₂]⁰-(OC₁₂H₂₅)₄ par rapport à la masse de polymère.

L'imagerie par microscopie électronique en transmission (TEM) a également été mise en œuvre afin de déterminer visuellement la forme des nanoparticules et de comparer leur taille à celle obtenue par DLS. Pour cela, une goutte de la suspension de nos NPs-**Ni4C₁₂** a été déposée sur une grille en cuivre recouverte d'une membrane de carbone. Après 10 min d'adsorption sur la grille, l'excès de solution est éliminé à l'aide de papier absorbant. Ensuite, une goutte d'agent de contraste (acide phosphotungstique, 0,1 v% dans l'eau) est ajoutée sur la grille et après 30 s d'adsorption, l'excès est à nouveau éliminé. Une fois la grille bien sèche, l'échantillon est placé sous le faisceau d'électron. Le microscope utilisé est un JEOL 2010 LaB₆ fonctionnant à 80 kV. La caméra, sur laquelle les images ont été enregistrées, est une caméra CCD (Charge Coupled Device) GATAN Orius 200D.

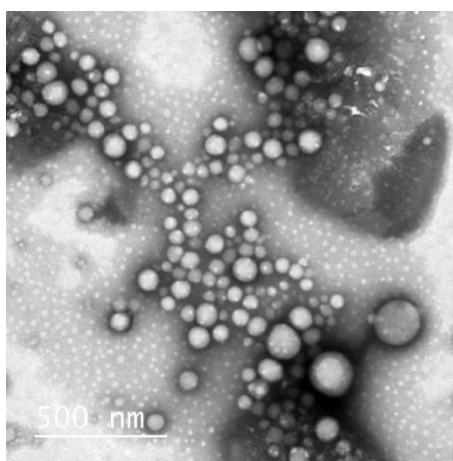


Figure 39 : Image de NPs-**Ni4C₁₂** obtenue par TEM.

Les images obtenues montrent des nanoparticules sphériques ayant un diamètre moyen de $63,4 \pm 22,1$ nm (Figure 39). Cette valeur est inférieure à celle mesurée par DLS (114 nm) car du fait de l'absence de solvant, il n'y a pas de couche de diffusion autour des nanoparticules lors des mesures par TEM. Les mesures par spectroscopie UV-Vis-NIR, par DLS et par TEM démontrent bien la formation de NPs-**Ni4C₁₂**. Un autre facteur, à étudier, est la stabilité de nos nouvelles nanoparticules dans le temps. Pour cela, une suspension de NPs-**Ni4C₁₂** a été étudiée par DLS (Figure 40a). Après 2 mois de suivi, la taille des nanoparticules est constante avec un diamètre hydrodynamique autour de 110 nm. Cette régularité dans les résultats est un signe de la bonne stabilité des nanoparticules en suspension dans l'eau.

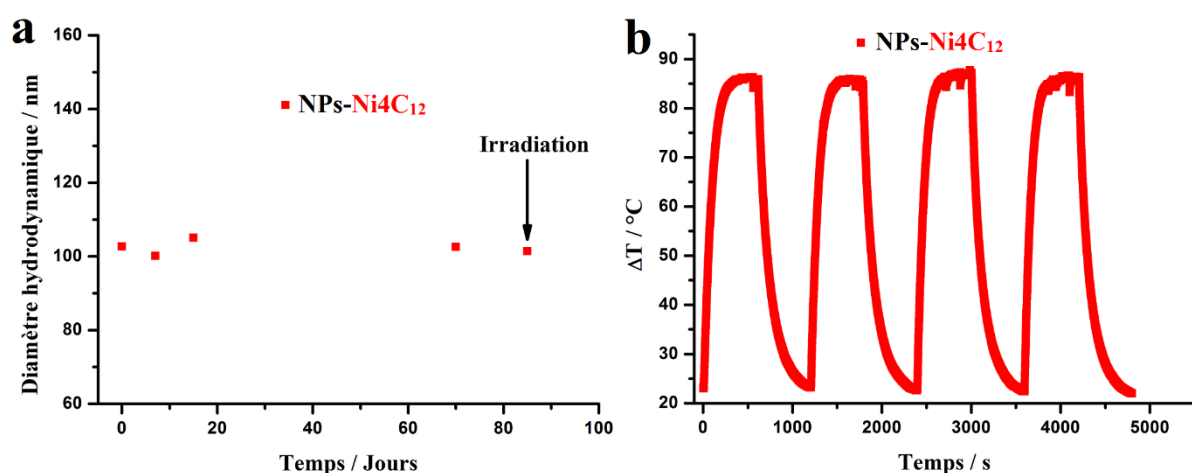


Figure 40 : (a) Évolution de la taille, en fonction du temps, des NPs-**Ni4C₁₂** (10 % / polymère, soit 0,25 mg/mL en **Ni4C₁₂**) en suspension dans l'eau; (b) Mesure de l'élévation de température d'une suspension de NPs-**Ni4C₁₂** (10 % / polymère, soit 0,25 mg/mL en **Ni4C₁₂**) dans l'eau, en fonction du temps et sous irradiation laser (940 nm, 5 W/cm², 10 min ON / 10 min OFF, 4 cycles).

L'objectif principal étant d'utiliser nos NPs-**Ni4C₁₂** pour faire de la libération photothermique contrôlée (PTCR), il faut maintenant étudier la stabilité des nanoparticules sous irradiation laser. Dans ce but, une suspension de ces nanoparticules a été irradiée par intermittence (Figure 40b). Cette étude met tout d'abord en évidence l'effet photothermique des NPs-**Ni4C₁₂**, avec une élévation de température supérieure à 85 °C, correspondant au point d'ébullition du solvant. Il faut aussi noter la constance de l'effet photothermique même après plusieurs cycles d'irradiation. En s'appuyant sur ces résultats, l'efficacité photothermique (η) des NPs-**Ni4C₁₂** a été déterminée de la même façon que dans le chapitre 2 (5.2.2), en utilisant l'équation décrite par Roper et coll. (Equation 1 et Annexe C-1).

$$\eta = \frac{(hS\Delta T_{max} - Q_{eau})}{I(1 - 10^{-A_{940}})} \quad (\text{Eq 2})$$

hS ($m_{eau}C_{p_{eau}}/\tau_s$)	0,025 J.s ⁻¹
ΔT_{max}	67,1 °C
ΔT_{max} NPs-vide	32,2 °C
I	3,93 W
A_{940}	0,828

De cette façon, le η calculé est de 26 %, ce qui est un peu plus élevé que le complexe **Ni8PEG** étudié dans le chapitre précédent pour la PTT ($\eta \sim 16$ %). Cette augmentation de l'efficacité photothermique est probablement due à l'effet de concentration du complexe dans la nanoparticule contrairement au complexe **Ni8PEG** dispersé en solution. De plus, la taille des nanoparticules après exposition laser reste la même (Figure 40a). Tous ces résultats mettent en avant que nos NPs-**Ni4C12** sont stables à la fois dans le temps et sous irradiation laser, tout en possédant une bonne efficacité photothermique. Par conséquent, nos nouvelles nanoparticules polymériques pourraient être des candidats à la PTCR.

4.2.3. Préparation et caractérisation des Lp-**Ni8C12** et des Lp-**Ni8PEG**

Les nanovecteurs lipidiques peuvent encapsuler soit un complexe hydrophobe tel que le $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(OC}_{12}\text{H}_{25})_8$ **11'**, dans leur bicouche lipidique (Lp-**Ni8C12**), soit un complexe hydrophile tel que le $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ **3**, dans leur cœur aqueux (Lp-**Ni8PEG**). Selon le type de nanoparticule lipidique désirée, la préparation est légèrement différente. Dans le cas des Lp-**Ni8C12**, l'objectif a été d'encapsuler, dans un premier temps, 5 % du complexe par rapport à la masse en lipide (5 % / lipide), soit 1 mg de **Ni8C12**. Pour cela, 1 mL d'une solution à 1 mg/mL du complexe **11'** dans le chloroforme (soit 1 mg), est ajouté au milieu contenant 1.8 mL d'une solution de Egg PC à 10 mg/mL (soit 18 mg) et 0,2 mL d'une solution de PEG₂₀₀₀-DSPE à 10 mg/mL (soit 2 mg), toutes deux préparées dans du chloroforme. Le mélange est agité pendant 30 min puis le chloroforme est éliminé sous pression réduite. Le film lipidique Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE-**Ni8C12** obtenu, est séché à la rampe à vide pendant 3 heures puis hydraté avec 2 mL d'eau. Après 48h d'hydratation, la suspension est passée aux ultrasons 5 fois pendant 5 min (fréquence 35 kHz). La solution est ensuite centrifugée à travers un filtre (Amicon Ultra 2 mL 50K) afin d'éliminer l'excès de produit non encapsulé. Le concentré est redissous dans 2 mL d'eau pour offrir une suspension de Lp-**Ni8C12** de couleur verte.

La préparation de nos nanovecteurs Lp-**Ni8PEG** se différencie quant à elle, par le fait que le film lipidique est cette fois-ci constitué uniquement de Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE, puis

hydraté avec 2 mL d'une solution à 4 mg/mL en **Ni8PEG** dans l'eau, soit 40 % par rapport à la masse de lipide. Après 48h d'hydratation, la suite de la procédure est identique à celle des Lp-**Ni8C₁₂**. Ainsi une suspension de Lp-**Ni8PEG** de couleur verte a été obtenue.

Dans les deux cas, le filtrat et le concentré ont été dosés par spectroscopie UV-Vis-NIR, afin de déterminer le taux d'encapsulation des complexes **11'** et **3** dans les nanovecteurs lipidiques. En ce qui concerne les Lp-**Ni8C₁₂**, le spectre d'absorption UV-Vis-NIR du filtrat ne montre aucune bande d'absorption dans le NIR, contrairement à celui du concentré après dilution par 10 (Figure 41a). Par conséquent, la totalité du complexe **11'** a été encapsulé, soit 5 % / lipide ($[C]_{\text{Lipide}} = 10 \text{ mg/mL}$ et $[C]_{\text{complexe}} = 500 \text{ }\mu\text{g/mL}$). Ces mesures UV-Vis-NIR du concentré contenant les Lp-**Ni8C₁₂** en suspension dans l'eau montrent que le complexe **Ni8C₁₂** encapsulé a un maximum d'absorption à 986 nm ($A_{\text{max}} = 0,384$, dilution par 10) et un ϵ de 14 200 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (Figure 41a). En revanche, lors de la détermination de l'encapsulation du complexe **Ni8PEG 3**, les mesures UV-Vis-NIR, après une dilution par 20, montrent une bande d'absorption dans le NIR, à la fois dans le filtrat et dans le concentré (Figure 41b). En effet, le complexe libre en solution se retrouve dans le filtrat tandis que celui encapsulé est dans le concentré. Ces résultats indiquent que la totalité du complexe **3** n'a pas été encapsulée. En utilisant, le ϵ déterminé dans le chapitre 2 pour le **Ni8PEG** libre en solution ($\epsilon \sim 14200 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, Figure 23) et le spectre d'absorption du filtrat ($A_{\text{max}} = 0,737$, dilution par 20, Figure 41b), il est déterminé que 27 % / lipide de **Ni8PEG** initialement introduit n'est pas encapsulé. Par conséquent, 13 % / lipide du complexe **Ni8PEG** est encapsulé ($[C]_{\text{Lipide}} = 10 \text{ mg/mL}$ et $[C]_{\text{complexe}} = 1.3 \text{ mg/mL}$).

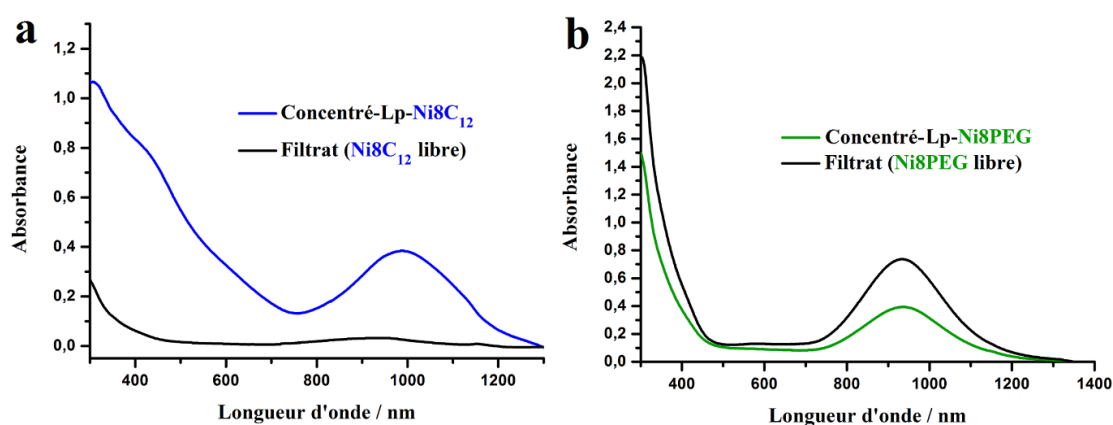


Figure 41 : (a) Spectroscopie UV-Vis-NIR du filtrat et du concentré dans l'eau lors de la préparation des Lp-**Ni8C₁₂** (concentration de 10mg/mL en lipide); (b) Spectroscopie UV-Vis-NIR du filtrat et du concentré dans l'eau lors de la préparation des Lp-**Ni8PEG** (concentration de 500 $\mu\text{g/mL}$ en lipide).

Des essais pour introduire une plus grande quantité de complexe **Ni8C12 11'** ont été réalisés. En utilisant la même technique de préparation que celle décrite ci-dessus, des Lp-**Ni8C12** ont été préparés en introduisant initialement différentes quantités de complexe allant de 5% à 30 % par rapport à la masse de lipide. L'exploitation des résultats obtenus, par spectroscopie UV-Vis-NIR, indique que la quantité maximum de complexe **Ni8C12** encapsulée est de 5% par rapport à la masse de lipide (Figure 42). Par conséquent, nos futurs lots de Lp-**Ni8C12** seront préparés en ajoutant initialement 5% du complexe **11'** par rapport à la masse de lipide. En ce qui concerne les Lp-**Ni8PEG**, 13 % par rapport à la masse de lipide, sur les 40 % initialement introduit ont été encapsulé. Cette valeur a été jugée suffisante pour avoir un effet photothermique. Cependant d'autres essais, en augmentant la quantité de **Ni8PEG** initialement introduite pourraient être menés afin de déterminer la quantité maximale pouvant être encapsulée.

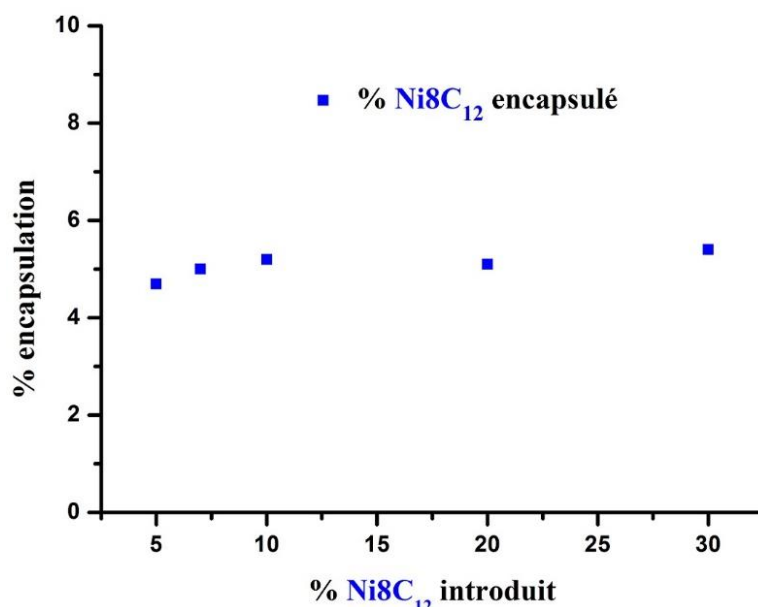


Figure 42 : Pourcentage en masse de **Ni8C12** encapsulé en fonction de la quantité de complexe introduit initialement.

Des mesures DLS des deux suspensions ont été réalisées afin de déterminer le diamètre hydrodynamique des Lp-**Ni8C12** (Figure 43a) et des Lp-**Ni8PEG** (Figure 43b). Les liposomes contenant dans leur bicouche lipidique les complexes **Ni8C12** ont une taille de 180 nm avec un Ip de 0,29 tandis que les nanoparticules lipidiques encapsulant dans leur cœur hydrophile le complexe **Ni8PEG** ont une taille de 90 nm et un Ip de 0,30. La localisation du complexe dans le liposome est à l'origine de la différence de taille entre nos Lp-**Ni8C12** et Lp-**Ni8PEG**. En effet, les complexes **Ni8PEG**, qui sont à l'intérieur du liposome n'ont pas d'influence sur la paroi, par conséquent les Lp-**Ni8PEG** ont une taille proche de celle des Lp vides (87 nm). En

revanche, les complexes **Ni8C₁₂** s'insèrent dans la paroi lipidique du liposome lors de sa formation, entraînant l'augmentation de taille du liposome.

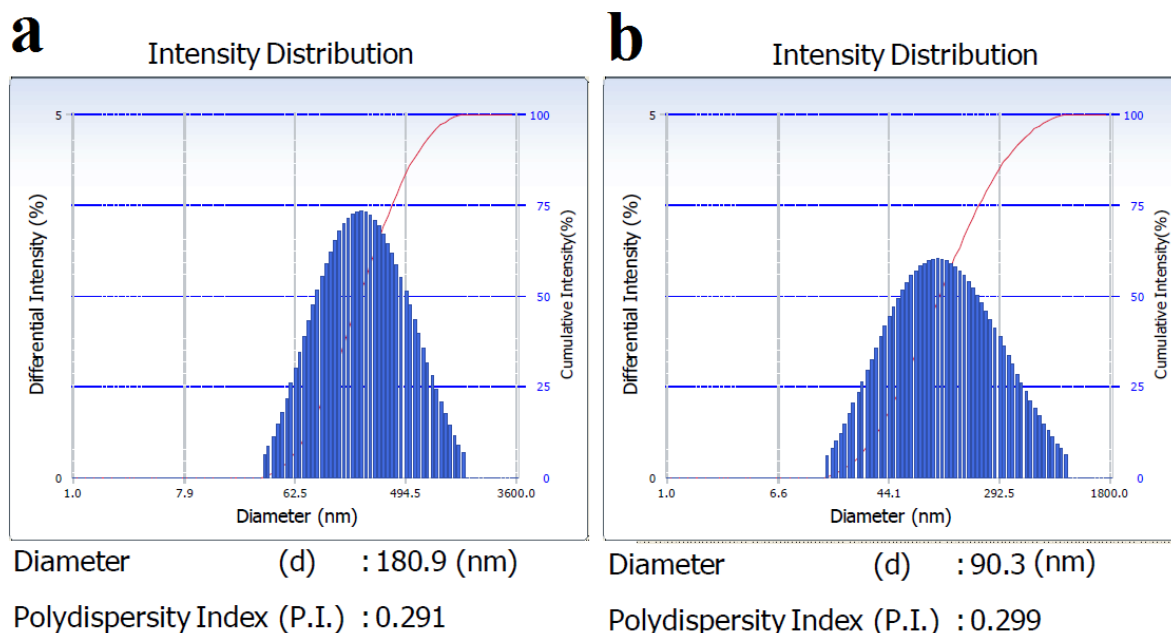


Figure 43 : (a) Mesure par DLS du diamètre hydrodynamique des Lp-**Ni8C₁₂** à 5 % en masse de complexe; (b) Mesure par DLS du diamètre hydrodynamique des Lp-**Ni8PEG** à 13 % en masse de complexe.

Des images par TEM des Lp-**Ni8C₁₂** ont été obtenues (Figure 44). Les observations révèlent que les liposomes déposés sur la grille ont une taille de 37 ± 6.3 nm. Ce diamètre, plus faible que celui mesuré par DLS, est dû au fait que les Lp-**Ni8C₁₂** sont sous forme sèche. En effet, en l'absence de solvant, le « gonflement » de la bicouche lipidique est faible. De plus, sous cette forme, les Lp-**Ni8C₁₂** ont tendance à s'agréger et à perdre leur forme sphérique, du fait de la flexibilité de leur structure.⁴¹ Par conséquent, dans le cas des liposomes, les mesures par DLS du diamètre hydrodynamique donnent une taille plus proche de la réalité car elles prennent en compte l'interaction de la bicouche lipidique avec le milieu.

⁴¹ Zhang, L.; Song, J.; Cavigliolo, G.; Ishida, B. Y.; Zhang, S.; Kane, J. P.; Weisgraber, K. H.; Oda, M. N.; Rye, K.; Pownall, H. J. *J. Lipid Res.* **2010**, 52, 175-184.

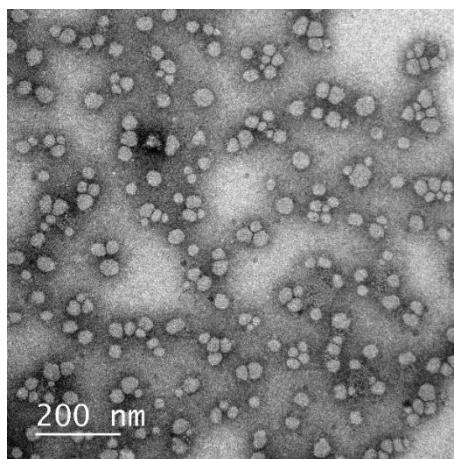


Figure 44 : Image de Lp-Ni8C₁₂ obtenue par TEM.

Suite à la caractérisation des Lp-Ni8C₁₂ et les Lp-Ni8PEG par spectroscopie UV-Vis-NIR, DLS et TEM, des analyses de stabilité dans le temps ont été réalisées. Pour cela, deux nouveaux lots de Lp-Ni8C₁₂ et Lp-Ni8PEG ont été préparés, et l'évolution du diamètre hydrodynamique a été suivie pendant 75 jours (Figure 45). Dans les deux cas, la taille des liposomes varie peu. Ces résultats signifient qu'ils sont stables au cours du temps.

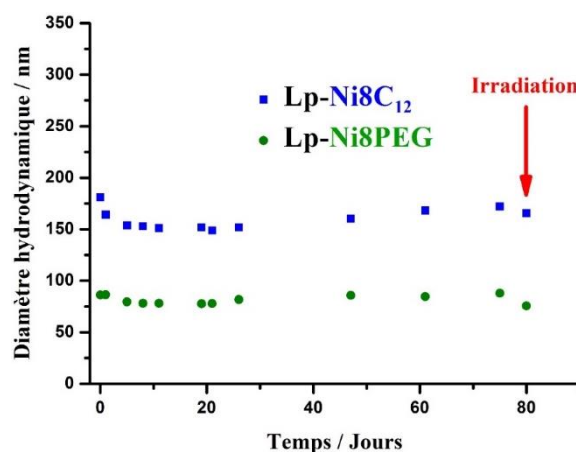


Figure 45 : Évolution du diamètre hydrodynamique, des Lp-Ni8C₁₂ et des Lp-Ni8PEG, au cours du temps.

L'effet photothermique a été mesuré sur des solutions stockées pendant 80 jours au réfrigérateur, par irradiation par intermittence (Figure 46a et 46b). Les deux solutions possèdent un effet photothermique stable après 4 cycles d'irradiation et les mesures DLS n'indiquent aucune modification de taille après l'exposition laser (Figure 45). Tous ces résultats mettent en avant la stabilité dans le temps et sous irradiation de ces liposomes photoactifs. Nos mesures d'efficacité photothermique (η) (Annexe C-2 et C-3), révèlent que 25 % de l'énergie laser est convertie en chaleur dans le cas de nos Lp-Ni8C₁₂.

$$\eta = \frac{(hS\Delta T_{max} - Q_{eau})}{I(1 - 10^{-A_{940}})} \quad (\text{Eq 1})$$

	Lp-Ni8C ₁₂	Lp-Ni8PEG
hS ($m_{eau}C_{p_{eau}}/\tau_s$)	0,025 J.s ⁻¹	0,022 J.s ⁻¹
ΔT_{max}	66,6 °C	55,6 °C
$\Delta T_{max \text{ Lp-vide}}$	30,0 °C	30,0 °C
I	3,93 W	3,93 W
A_{940}	1,056	4,58

Cette valeur est comparable à celle de nos NPs-Ni4C₁₂ (26 %). En ce qui concerne les Lp-Ni8PEG, le η est de 14 %. Cette valeur est plus faible que les autres systèmes et correspond à celle du complexe Ni8PEG libre (16 %), calculée dans le chapitre 2 (5.2.2). L'hypothèse de cette baisse d'efficacité est que lors de la montée en température, la perméabilité du liposome augmente, entraînant la libération du complexe hydrophile Ni8PEG dans la solution. Or il est possible que sous forme libre la perte de chaleur soit plus importante qu'en milieu confiné, c'est-à-dire dans le cœur du liposome.

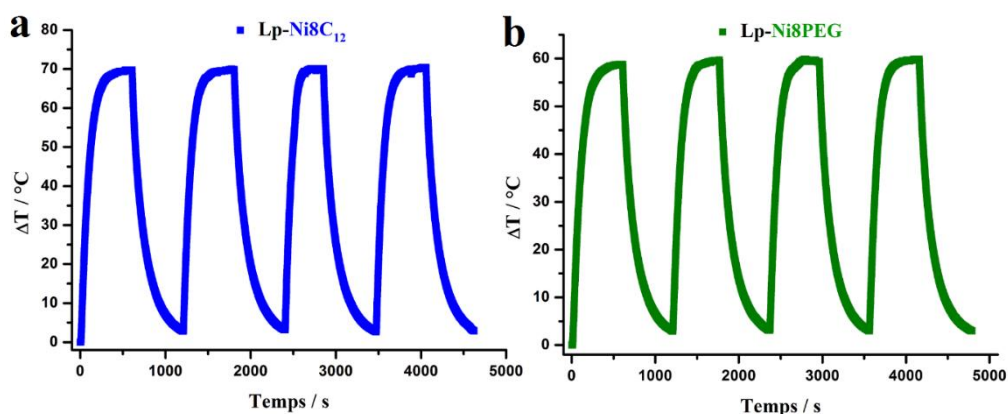


Figure 46 : Mesure de l'élévation de température d'une suspension de (a) Lp-Ni8C₁₂ et (b) de Lp-Ni8PEG en fonction du temps et sous irradiation laser (940 nm, 5 W/cm², 10 min ON / 10 min OFF, 4 cycles).

En conclusion des nanovecteurs lipidiques et polymériques possédants des propriétés photoactives intéressantes ont été isolés. De plus, la simplicité de leur préparation et leur petite taille, privilégiant une accumulation par effet EPR, en font des candidats potentiels à la libération photothermique contrôlée de médicament (PTCR). Dans ce but, nous allons tout d'abord nous intéresser à l'encapsulation d'agents fluorescents et de médicaments par nos nouveaux systèmes, puis dans un second temps, à leur libération sous irradiation laser. Ces différentes études sont décrites dans la partie qui suit.

4.3. Libération photothermique contrôlée de carboxyfluorescéine ou de Doxorubicine

4.3.1. Les complexes Ni-bis(dithiolène) et l'oxygène singulet

Avant de lancer des essais d'encapsulation avec nos nouveaux nanovecteurs photoactifs, il faut s'intéresser à la capacité des complexes Ni-bis(dithiolène) à faire du dioxygène singulet. En effet, comme expliqué précédemment avec les colorants organiques (paragraphe 3.2), le dioxygène singulet est un réactif suffisamment agressif pour détériorer les molécules présentes dans son environnement. Par conséquent, ce type de phénomène est à éviter pour des applications en PTCR, puisque le médicament encapsulé risque d'être endommagé et donc de perdre de son activité. Pour mettre en évidence la formation de dioxygène singulet lors de l'irradiation du complexe Ni-bis(dithiolène), une molécule sensible à la production de $^1\text{O}_2$ va être employée. Le composé qui a été choisi est le 1,3-diphénylisobenzofurane (DPBF). Cette molécule fluorescente réagit rapidement avec le dioxygène singulet pour donner, après réarrangement, le *o*-dibenzoylbenzène (Figure 47). Lors de cette réaction, une perte de fluorescence est observée, du fait de la faible émission du produit d'arrivée.

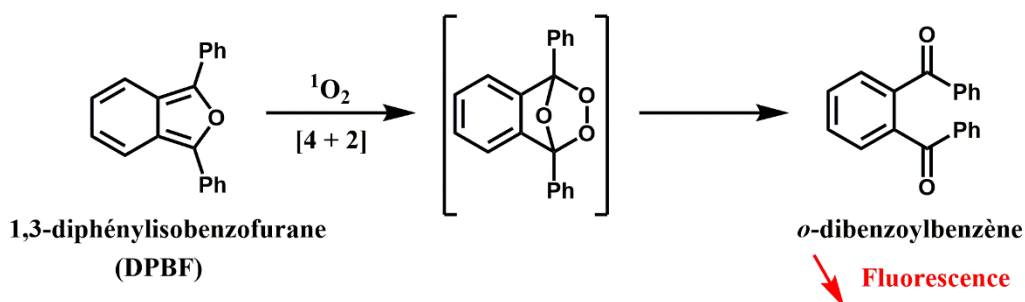


Figure 47 : Illustration de la réaction du DPBF avec du dioxygène singulet ($^1\text{O}_2$).

Dans le but de déterminer la formation ou non d'oxygène singulet par les complexes Ni-bis(dithiolène), l'expérience suivante a été réalisée : 1 mL d'une solution à 1.6×10^{-4} M de **Ni8C₁₂** dans le toluène a été ajoutée dans une cuve de fluorescence contenant 1 mL d'une solution à 2×10^{-5} M de DPBF dans le toluène. Le mélange est agité et une mesure avant irradiation est effectuée. La cuve est ensuite irradiée (940 nm, 5 W/cm²) pendant 15 min puis une nouvelle mesure est faite.

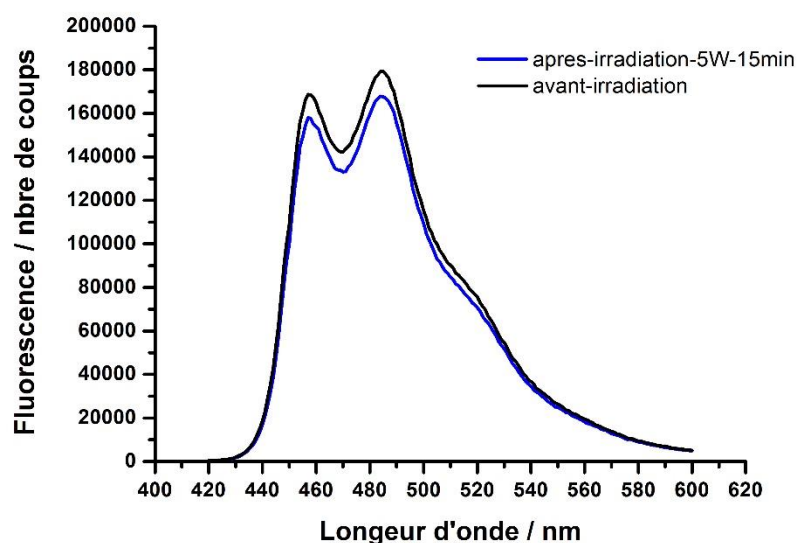


Figure 48 : Mesure de la fluorescence avant et après irradiation laser (940 nm, 5 W/cm², 15 min), d'un mélange **Ni8C₁₂**/DPBF.

Aucune perte significative de la fluorescence n'est observée (Figure 48), signe de la stabilité du DPBF. Par conséquent, les complexes Ni-bis(dithiolène) ne produisent pas ou peu de dioxygène singulet lors de leur irradiation. Des études d'encapsulation vont donc maintenant pouvoir être menées, sans risquer de détériorer le médicament lors d'applications en PTCR.

4.3.2. Préparation et étude du relargage des NPs-PEG₄₂-b-PMLABe-**Ni4C₁₂**-Dox

Le principe actif ou le fluorophore devant être encapsulé dans les nanoparticules polymériques doit être amphiphile. En effet, il faut qu'il soit à la fois hydrophobe pour permettre l'encapsulation dans le polymère lipophile et hydrophile pour permettre sa libération dans l'eau. Si une de ces règles n'est pas respectée, alors soit la molécule a un taux d'encapsulation faible, soit elle ne sera pas libérée. La Doxorubicine, qui est un anticancéreux, est très utilisé pour ce type de tests. Afin d'obtenir les NPs-PEG₄₂-b-PMLABe-**Ni4C₁₂**-Dox (NPs-**Ni4C₁₂**-Dox) désirées, une solution mère de Dox,HCl est tout d'abord préparée dans un mélange THF/NEt₃ (6 mL THF + 23 µL NEt₃) : Dox : 10 mg + 4 mL de THF/NEt₃. [Dox]_{solution mère} = 2,5 mg/mL. Ensuite, 5 mg de MeOPEG₄₂-b-PMLABe₇₃ sont solubilisés dans 744 µL de THF, 56 µL de la solution mère de complexe à une concentration de 9 mg/mL dans le THF(10 % / polymère, soit 0,5 mg de **Ni4C₁₂**) et 200 µL de la solution de Dox (10 % / polymère, soit 0,5 mg, [Dox]_{initialement introduite} = 0,25 mg/mL) sont additionnés.

Cette solution (polymère + Complexe + Dox dans le THF) est ensuite additionnée rapidement dans 2 mL d'eau ultra-pure sous forte agitation. Le mélange est agité à température ambiante pendant 10 min puis le THF est évaporé sous vide (évaporateur rotatif). Le volume final est ajusté à 2 mL par ajout d'eau ultra-pure, si nécessaire. La solution est orange/verte. La solution est centrifugée dans un MicroCon pour éliminer la Dox libre : 15 000 g pendant 5 min puis 1 000 g pendant 1 min. Le surnageant est éliminé et le concentré est dilué avec de l'eau ultra-pure pour obtenir 2 mL de solution finale.

Le taux d'encapsulation de nos NPs-**Ni4C12**-Dox est déterminé en mesurant l'absorbance de la Dox à 485 nm par spectroscopie UV-Vis. En premier lieu, une courbe d'étalonnage de la Dox libre dans un mélange eau/DMF (20/80) est réalisée comme suit : 500 µL de la solution mère de Dox dans le THF/NEt₃ est évaporée sous vide. Puis 1 mL de la préparation eau/DMF (20/80) y est ajouté. A partir de cette solution concentrée ([Dox] = 1,25 mg/mL), plusieurs dilutions sont préparées par ajout du mélange eau/DMF (20/80) et l'absorbance à 485 nm des différents échantillons de Dox libre (V = 400 µL) est ensuite mesurée par spectroscopie UV-Vis à l'aide d'une plaque multi-puits. Une fois la courbe d'étalonnage réalisée (Figure 49a), 80 µL de la suspension de Nps-**Ni4C12**-Dox sont dilués avec 320 µL de DMF afin de détruire les nanoparticules, libérant ainsi la totalité de la Dox encapsulée. L'absorbance mesurée est de 0,22. En extrapolant sur la courbe d'étalonnage, la concentration déterminée en Dox encapsulée est donc de 73,4 µg/mL soit 29 % de la Dox initialement introduite a été encapsulée, c'est-à-dire 3 % par rapport à la masse de polymère. De plus, les résultats DLS (Figure 49b) montrent que l'encapsulation de la Dox a peu d'influence sur la taille finale des nanoparticules (Tableau 1).

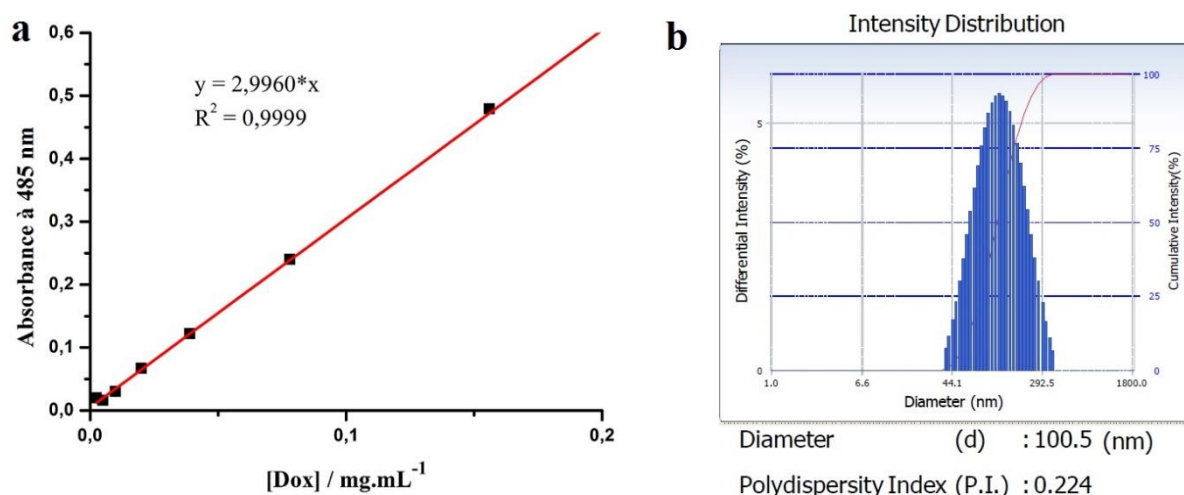


Figure 49 : (a) Courbe d'étalonnage de la Dox déterminée à partir de son absorbance à 485 nm en fonction de sa concentration; (b) Mesure DLS des NPs-**Ni4C12**-Dox.

$$[Dox]_{encapsulé} = \frac{\text{Absorbance à } 485 \text{ nm}_{\text{mesuré}}}{2,9960} = \frac{0,22}{2,9960} = 0,0734 \text{ mg/mL}$$

$$\% Dox_{encapsulé} = \frac{[Dox]_{encapsulé}}{[Dox]_{initialement \text{ introduit}}} = \frac{0,0734}{0,25} = 29 \%$$

	NPs- Ni4C₁₂	NPs- Ni4C₁₂ -Dox
Diamètre (nm)	110	100
Ip	0,20	0,22
Aspect Sol.	Verte	Orange/Verte
% massique de Dox encapsulé	--	29

Tableau 1 : Comparaison des résultats obtenus par DLS à partir des NPs-**Ni4C₁₂** et des NPs- **Ni4C₁₂**-Dox.

Le relargage de la Dox a ensuite été étudié à l'aide d'un boudin de dialyse de seuil de coupure de 3500 Daltons, c'est à dire laissant passer les molécules ayant une masse moléculaire en dessous de 3500 g/mol et retenant les autres. Pour cela, un tube de dialyse est plongé dans un bécher d'eau pendant 30 min puis rincé avec de l'eau propre. Il est ensuite découpé à la taille désiré puis mis en place sur un cône Eppendorf de 100 μ L qui a été découpé à 2,9 cm de la base. La membrane de dialyse est maintenue sur le cône à l'aide de Parafilm. Le système est ensuite introduit dans une cuve UV ou de fluorescence possédant une ouverture circulaire et contenant 2,7 mL d'eau (Figure 50).

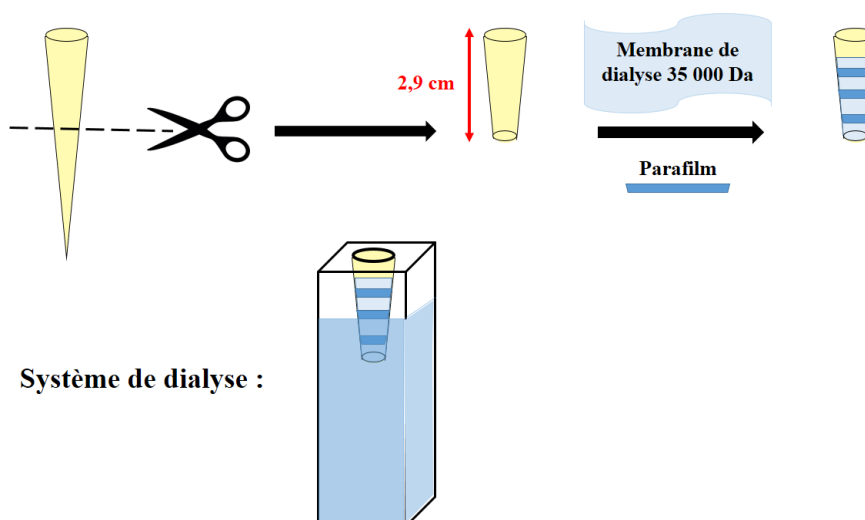


Figure 50 : Préparation du système de dialyse, permettant de mesurer la libération de Dox au cours du temps.

En amont, des NPs-PEG₄₂-b-PMLABe-**Ni4C₁₂**-Dox sont préparées mais ne sont pas centrifugées de suite. En effet, 500 μ L de la solution sont prélevés puis centrifugés tandis que

le reste de la suspension, en présence de Dox libre, est congelé afin d'éviter la possible libération à température ambiante. Cette manipulation permet de pouvoir réutiliser plusieurs fois la suspension, en la décongelant, puis en prélevant la quantité souhaitée de nos NPs-PEG₄₂-b-PMLABe-Ni₄C₁₂-Dox, qui est ensuite centrifugée. Après filtration des 500 µL, le concentré est réhydraté avec 150 µL d'eau ultra-pure, puis déposé dans le système de dialyse. Dès l'ajout, une mesure correspondant au t₀ est réalisée. Il y a un échange qui se fait entre l'eau de la cuve UV et le système de dialyse. Ainsi la Dox libérée passe à travers la membrane, puisqu'elle a une masse molaire inférieure à 3500 g/mol, tandis que les nanoparticules sont retenues (Figure 51). Du fait de sa bande d'absorption caractéristique à 485 nm, le pourcentage de Dox relarguée est mesuré par spectroscopie UV-Vis-NIR.

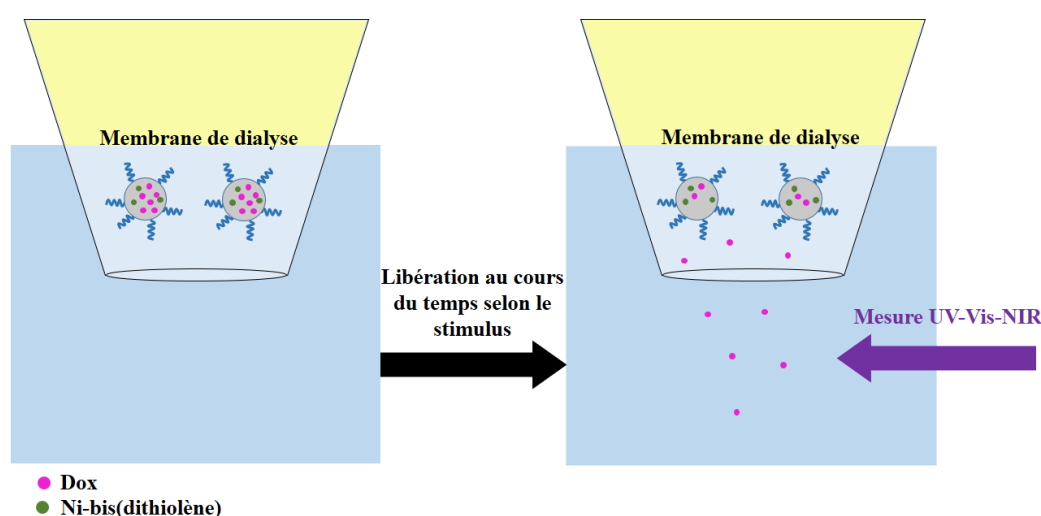


Figure 51 : Illustration du système de mesure, par spectroscopie UV-Vis-NIR de la Dox libérée au cours du temps.

Le pourcentage de Dox libérée est mesuré selon cette équation :

$$\% \text{ Dox Libéré} = \frac{A_{\text{mesuré}} - A_{t0}}{A_{\text{final}}} \times 100$$

A_{final} est obtenue par ajout d'une goutte de DMF dans le système de dialyse, permettant de détruire les nanoparticules et de libérer la Dox restante.

En utilisant cette technique, le relargage de la Dox au cours du temps a été étudié de différentes façons. La première a été de mesurer la libération de Dox sans irradiation, la seconde a fait appel à une irradiation prolongée de 15 min à t₀ et la dernière a consisté à exposer notre échantillon à des paliers d'irradiation de 2 min toutes les 30 min.

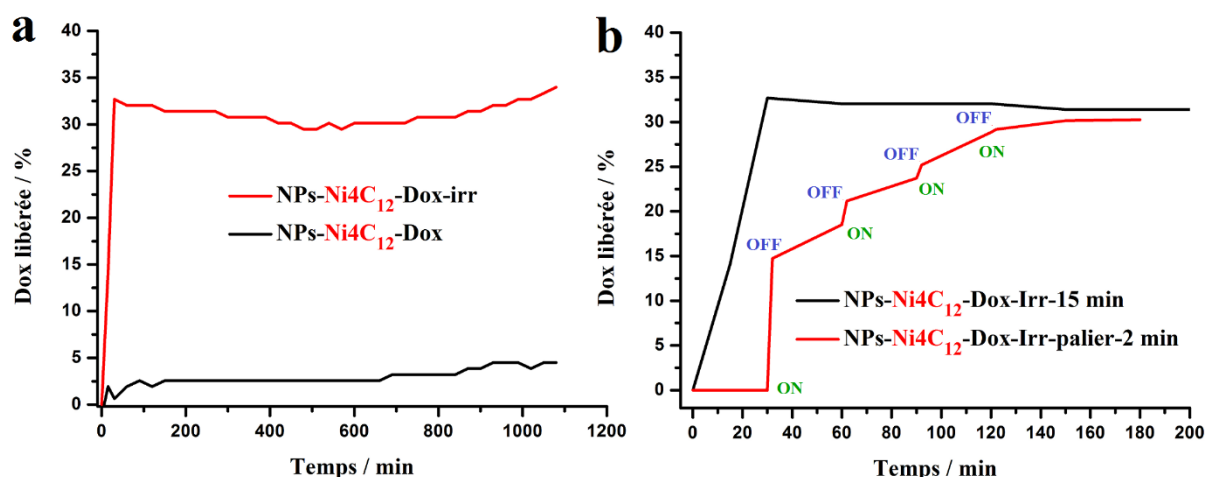


Figure 52 : Pourcentage de Dox libérée par une suspension de NPs-PEG₄₂-*b*-PMLABe-Ni4C₁₂-Dox (NPs-Ni4C₁₂-Dox) (a) sans et avec irradiation (940 nm, 5 W/cm², 15min) (b) sous irradiation laser prolongée (940 nm, 5 W/cm², 15min) ou sous exposition laser par intermittence (940 nm, 5 W/cm², 2 min ON, 30 min OFF).

Au bout de 18 heures, sans irradiation, la quantité de Dox libérée est inférieure à 5 % (Figure 52a). Les NPs-PEG₄₂-*b*-PMLABe-Ni4C₁₂-Dox libèrent donc peu d'anticancéreux sans stimulus externe. A l'inverse, l'irradiation d'une suspension de NPs-Ni4C₁₂-Dox pendant 15 min, entraîne la libération de plus de 30 % de la Dox encapsulée (Figure 52a). Il faut noter qu'après 18h, la quantité de Dox libérée n'augmente pas. Cela confirme la difficulté de la Dox à être libérée malgré son caractère amphiphile. Cela peut aussi venir du fait que le volume d'eau extérieur n'est pas suffisant pour être largement supérieur à la solubilité de la Dox en milieu aqueux. Ce type de système est intéressant dans le cas où le principe actif doit être libéré rapidement et dans une région précise. Un troisième test a été réalisé. Cette fois-ci la suspension est irradiée par intermittence pendant 2 min toutes les 30 min (Figure 52b). De cette façon, les 30% d'anticancéreux libérés sont atteints au bout de 3 h au lieu de 30 min. Par conséquent, ce système permet une libération de la Dox plus lente. Il faut noter tout de même que la moitié du produit (15 %) est libérée dès les deux premières minutes d'irradiation, puis ensuite la quantité relâchée est moindre. L'exposition laser augmente, probablement de façon irréversible, la perméabilité des nanoparticules polymériques. En effet, lors des périodes de non-irradiation, la libération de la Dox continue à se faire avec une cinétique plus rapide que le lot de NPs-Ni4C₁₂-Dox n'ayant pas été irradié.

En conclusion, les NPs-Ni4C₁₂ pourraient être utilisées pour faire de la libération photothermique contrôlée de médicament (PTCR). De plus, selon la durée et le nombre d'irradiations, le médicament peut être libéré plus ou moins vite, permettant ainsi d'avoir accès à deux systèmes différents selon la thérapie souhaitée. Cependant, des études afin d'optimiser le système sont encore à envisager. En effet la vitesse de libération peut probablement être

encore diminuée, en utilisant des puissances d'irradiation plus faibles. Des essais sur d'autres types de nanoparticules polymériques ou d'autres médicaments devraient aussi être menés, afin d'essayer d'augmenter la quantité de principe actif libéré. Nos prochaines expérimentations vont porter ci-dessous sur la capacité des nanovecteurs lipidiques à faire de la PTCR avec des complexes Ni-bis(dithiolène).

4.3.3. Préparation et étude du relargage des Lp-Ni8C₁₂-CF

Pour ces recherches, les Lp-Ni8C₁₂ ont été préférés au Lp-Ni8PEG pour différentes raisons. Premièrement, le complexe Ni8C₁₂ est hydrophobe et ne risque pas de passer en solution avec la molécule libérée, permettant ainsi de concentrer l'effet photothermique sur le liposome. Deuxièmement, il est situé dans les parois, laissant ainsi le cœur hydrophile du liposome libre pour les molécules à encapsuler. Le dernier point avantageux est leur plus grande efficacité photothermique. Dans le cas de nos Lp-Ni8C₁₂, la molécule à encapsuler est la 6-carboxyfluorescéine (CF). Cette molécule présentée précédemment est un agent fluorescent hydrophile qui sera encapsulé dans le cœur du liposome afin d'obtenir nos Lp-Ni8C₁₂-CF. Pour cela, une solution saturée de carboxyfluorescéine (50 mM) dans l'eau est tout d'abord préparée puis filtrée sur célite. Le filtrat est récupéré et stocké. En parallèle, un film lipidique-Ni8C₁₂ est préparé de la même manière que précédemment (4.2.3) puis une fois bien sec, il est hydraté avec la solution saturée de carboxyfluorescéine récupérée. Après 48 h d'hydratation, la suspension est passée cinq fois aux ultrasons puis congelée. Le taux d'encapsulation de CF n'a pas été mesuré ici.

La libération sera suivie cette fois-ci par émission de fluorescence, en utilisant exactement le même système de dialyse. Ainsi, notre suspension de Lp-Ni8C₁₂-CF est décongelée et 100 µL sont prélevés pour être centrifugée dans des MicroCon. Cette étape permet d'éliminer la 6-carboxyfluorescéine non-encapsulée et de récupérer notre concentré de Lp-Ni8C₁₂-CF. Ce dernier est repris avec 150 µL d'eau puis ajouté dans le cône de dialyse. Le pourcentage de CF libéré est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ CF libéré} = \frac{\text{nombre de coups}_{\text{mesuré}} - \text{nombre de coups}_{t_0}}{\text{nombre de coups}_{\text{total}}} \times 100$$

Le nombre de coups est représentatif de la fluorescence émise par la solution. Plus il est élevé plus le milieu est émissif. Le nombre de coups_{total} est lui obtenu en ajoutant, lors de la dernière mesure, du Triton-X. C'est un détergent permettant de détruire les liposomes et de libérer le reste de CF encapsulée.

Trois expériences de délivrance de carboxyfluorescéine ont été menées sur nos suspensions de Lp-**Ni8C₁₂**-CF. La première est réalisée sans irradiation laser, la seconde avec une irradiation initiale de 15 min à t_0 et la dernière est mise en œuvre par exposition laser pendant 1, 3 ou 5 min toute les 10 min. Les résultats mettent en évidence que sans irradiation 80 % de la 6-carboxyfluorescéine est libérée au bout de 16 h tandis qu'après exposition laser pendant 15 min la même quantité de CF est libérée en 1 h (Figure 53). Le stimulus laser permet donc de libérer rapidement et en grande quantité la molécule désirée.

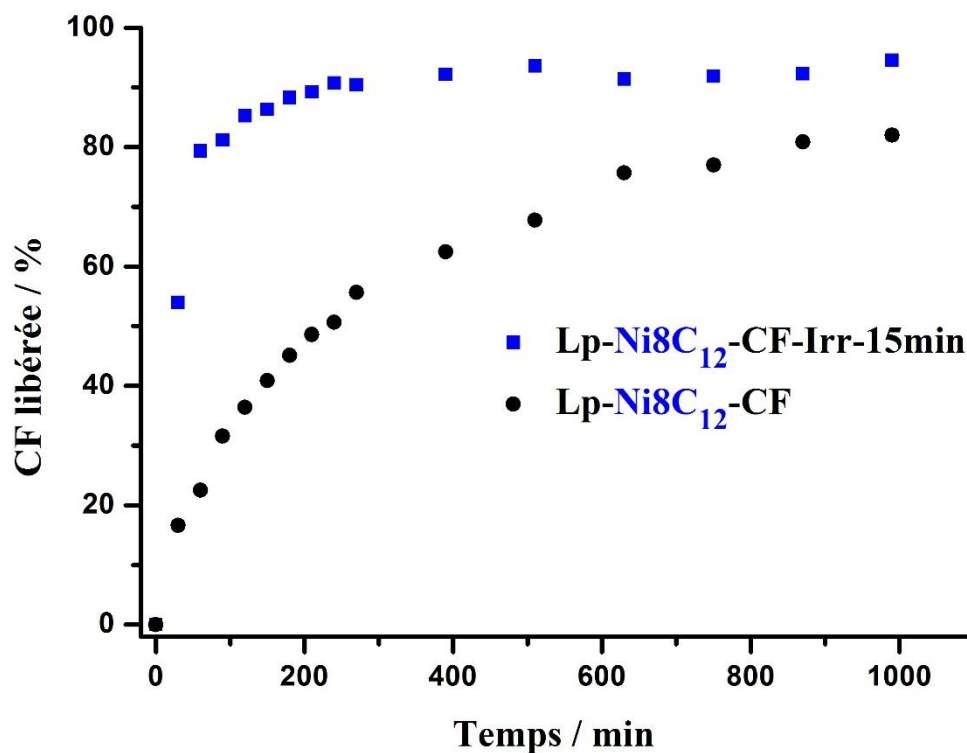


Figure 53 : Pourcentage de CF libérée par une suspension de Lp-**Ni8C₁₂**-CF sans et avec irradiation (940 nm, 5 W/cm², 15 min)

En s'appuyant sur ces premiers résultats, une expérience de libération fractionnée a été réalisée (Figure 54). Lors des 30 premières minutes de non-irradiation, la cinétique de libération est en adéquation avec celle de nos Lp-**Ni8C₁₂**-CF non-irradiés. Ensuite, la suspension est irradiée pendant différents intervalles de temps. Les résultats nous indiquent que la libération de CF est proportionnelle au temps d'irradiation. Effectivement, plus le temps d'irradiation est long, plus le pourcentage libéré est important. De plus, contrairement à notre système NPs-**Ni4C₁₂**, nos Lp-**Ni8C₁₂** ont une perméabilité réversible. En effet, lors de l'irradiation, la

porosité du liposome augmente, entraînant la libération de CF qui se traduit par une montée subite de la fluorescence. Puis dès que le laser est éteint, la température du milieu diminue et le liposome retrouve sa perméabilité de départ et donc sa cinétique de libération d'origine.

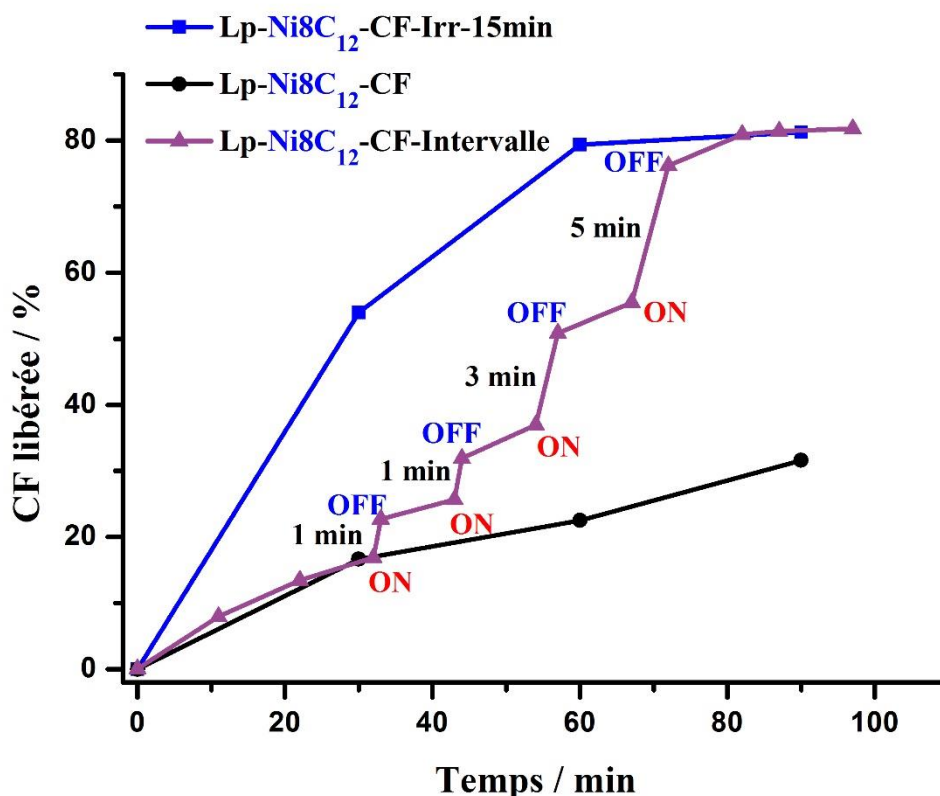


Figure 54 : Pourcentage de CF libérée par une suspension de Lp-Ni8C₁₂-CF sous exposition laser (940 nm, 5 W/cm²) pendant différents intervalles de temps.

En conclusion, Les Lp-Ni8C₁₂ peuvent être utilisés pour libérer de façon contrôlée les molécules désirées. Ce relargage peut se faire selon deux cinétiques bien différentes, qui sont dépendantes de la durée d'irradiation. Le principal avantage des Lp-Ni8C₁₂ est leur perméabilité réversible. De tels systèmes sont très intéressants pour des thérapies contre le cancer. En effet, une haute dose d'anticancéreux, encapsulés dans nos Lp-Ni8C₁₂, pourrait être injectée tout en évitant les effets secondaires indésirables. Puis sous irradiation par intermittence, l'anticancéreux pourrait être libéré, dans une zone précise et en plusieurs petites fractions dans le temps, évitant ainsi au patient de multiples injections à faible dose. L'ensemble de ce travail a démontré que nos Lp-Ni8C₁₂ comme nos NPs-Ni4C₁₂ pouvaient être de bons candidats pour la libération photothermique contrôlée de médicament. Ces systèmes ont été ensuite étudiés *in vitro* afin de déterminer leur cytotoxicité et les résultats obtenus sont décrits ci-après.

4.4. Etudes de cytotoxicité *in vitro* des nouveaux systèmes photoactifs

Dans cette partie la cytotoxicité des NPs-**Ni4C₁₂**, des Lp-**Ni8C₁₂** et des Lp-**Ni8PEG** va être déterminée *in-vitro* à l'aide de tests MTT, sur deux types de lignées cellulaires (HeLa et MDA). Dans cet objectif, les suspensions de nanoparticules ont été incubées pendant 24h. Les premiers résultats indiquent que nos nanovecteurs lipidiques, avec ou sans complexe, sont cytotoxiques à une concentration supérieure à 50 µg/mL en lipide (Egg PC + PEG₂₀₀₀-DSPE). Ces liposomes ont une cytotoxicité comparable pour les deux lignées cellulaires. **Dans le cas de nos Lp-**Ni8C₁₂**, la cytotoxicité est due au liposome et non au complexe encapsulé, car elle est comparable que le complexe soit présent ou pas (Figure 55a et 55b).** En revanche, nos Lp-**Ni8PEG** sont plus toxiques que les liposomes seuls. L'hypothèse est que le complexe **Ni8PEG** est libéré du liposome et passe dans le milieu de culture, du fait de ses propriétés hydrophiles, induisant ainsi une cytotoxicité supplémentaire. Dans tous les cas, la cytotoxicité des nanovecteurs lipidique est relativement importante d'autant plus que la concentration des Lp-**Ni8C₁₂**-CF (6,7 mg/mL en lipide), utilisée lors des études de PTCR, est bien supérieure à la limite de toxicité déterminée (50 µg/mL).

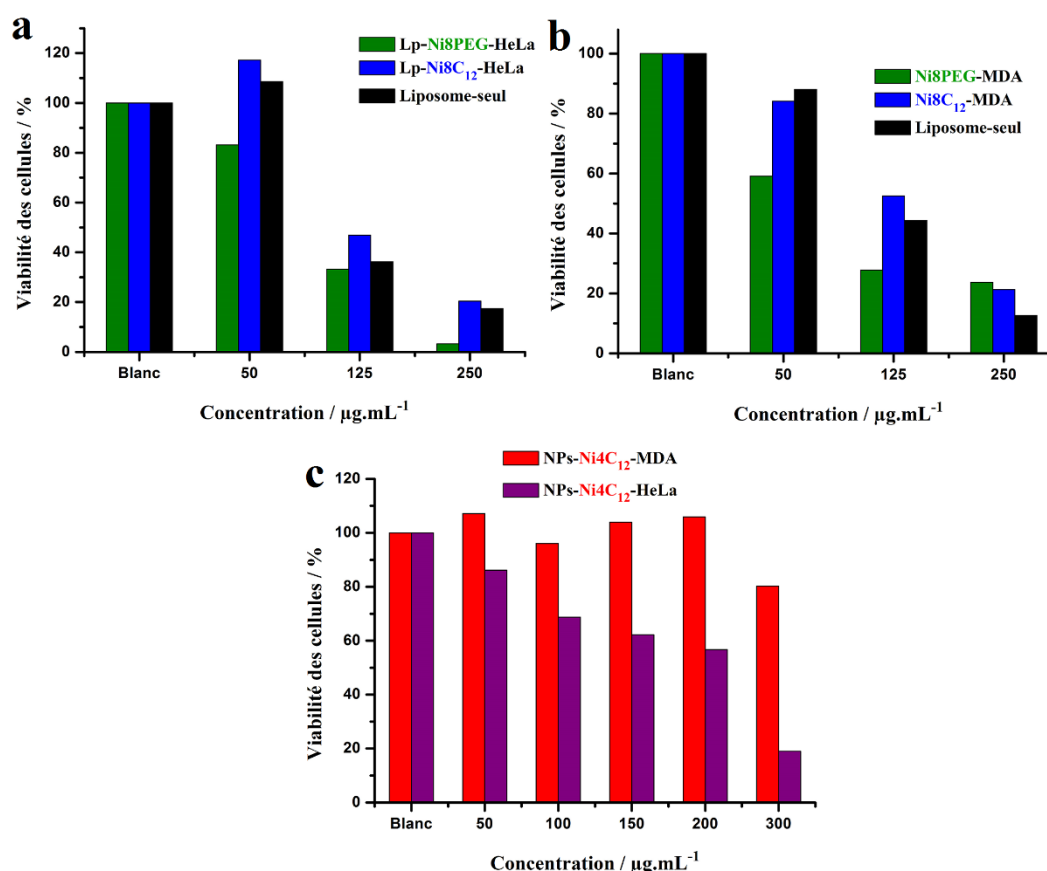


Figure 55 : (a) Viabilité des cellules HeLa en fonction de la concentration en lipide des Lp-**Ni8C₁₂** et des Lp-**Ni8PEG**; (b) Viabilité des cellules MDA en fonction de la concentration en lipide des Lp-**Ni8C₁₂** et des Lp-**Ni8PEG**; (c) Viabilité des cellules HeLa et MDA en fonction de la concentration en polymère des NPs-**Ni4C₁₂**.

En ce qui concerne les nanoparticules polymériques NPs-**Ni4C₁₂**, les premiers résultats indiquent qu'elles ont une cytotoxicité plus importante envers les cellules HeLa (Figure 55c). En effet, la limite de cytotoxicité est de 300 µg/mL en polymère, en présence des cellules MDA, alors qu'elle est de 50 µg/mL avec les cellules HeLa. De plus, la limite de cytotoxicité n'est pas encore assez élevée, pour que les NPs-**Ni4C₁₂**-Dox puissent être utilisés en PTCR *in vivo*, à la même concentration que lors des tests précédents (8,3 mg/mL en polymère). Par conséquent, ces systèmes polymériques et lipidiques doivent encore être optimisés afin de pouvoir être utilisés en PTCR *in vivo*. Différentes solutions sont à envisager :

- fonctionnaliser la surface de ces nanovecteurs afin de les rendre moins cytotoxiques et pour tirer avantage de l'effet EPR.
- utiliser d'autres types de polymère ou de lipide, avec une biocompatibilité plus élevée, pour constituer les nanoparticules.

4.5. Conclusion et perspectives

Ce travail a permis de mettre au point des nanoparticules polymériques et des liposomes contenant des complexes de Ni-bis(dithiolène) hydrophobes et hydrophiles. Ces nouveaux nanovecteurs photoactifs possèdent l'avantage d'être facilement élaborés et de ne pas produire d'oxygène singulet sous irradiation laser, contrairement aux nanoparticules d'or et à de nombreux colorants organiques. De ce fait, des principes actifs tels que la Dox et des agents fluorescents comme la 6-carboxyfluorescéine ont pu être encapsulés puis libérés sous irradiation laser, tout en conservant leur intégrité. Par conséquent, la libération photothermique contrôlée (PTCR) de médicaments est possible avec ces nouveaux systèmes. De plus, en fonction du type de nanovecteur utilisé, les molécules désirées peuvent être libérées, soit rapidement sous irradiation prolongée ou de façon fractionnée sous exposition laser par intermittence. Malgré leur bonne efficacité photothermique, leur grande stabilité et leur petite taille qui en font des candidats très intéressants pour des applications *in vivo*, des recherches pour diminuer la cytotoxicité des nanovecteurs sont encore nécessaires. En parallèle, d'autres systèmes de délivrance ont aussi été développés et étudiés, notamment les organogels photoactifs. Cette fois-ci, nos complexes Ni-bis(dithiolène) jouent le rôle à la fois de l'organogélifiant et de l'agent photothermique responsable de la désagrégation de l'organogel. Les résultats obtenus sont décrits dans le chapitre suivant.

- ¹ Peer, D.; Karp, J. M.; Hong, S.; Farokhzad, O. C.; Margalit, R.; Langer, R. *Nat. nanotechnol.* **2007**, *2*, 751–760.
- ² Jiang, T.; Olson, E. S.; Nguyen, Q. T.; Roy, M.; Jennings, P. A.; Tsien, R. Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 17867–17872.
- ³ Cui, J. W.; Wang, Y. J.; Caruso, F. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 4718–4723.
- ⁴ Wu, G. H.; Mikhailovsky, A.; Khant, H. A.; Fu, C.; Chiu, W.; Zasadzinski, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8175–8177.
- ⁵ Timko, B. P.; Dvir, T.; Kohane, D. S. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 4925–4943.
- ⁶ Wood, K. C.; Zacharia, N. S.; Schmidt, D. J.; Wrightman, S. N.; Andaya, B. J.; Hammond, P. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2008**, *105*, 2280–2285.
- ⁷ Liu, H. Y.; Chen, D.; Li, L. L.; Liu, T. L.; Tan, L. F.; Wu, X. L.; Tang, F. Q. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 891–895.
- ⁸ Huang, Z. W.; Laurent, V.; Chetouani, G.; Ljubimova, J. Y.; Holler, E.; Benvegna, T.; Loyer, P.; Cammas-Marion, S. *Int. J. Pharm.* **2012**, *423*, 84–92.
- ⁹ Zhang, X. Q.; Xu, X.; Bertrand, N.; Pridgen, E.; Swami, A.; Farokhzad, O. C. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *64*, 1363–1384.
- ¹⁰ Bangham, A. D.; Standish, M. M.; Watkins, J. C. *J. Mol. Biol.* **1965**, *13*, 238–252.
- ¹¹ Gregoriadis, G. *N. Engl. J. Med.* **1976**, *295*, 704–710.
- ¹² Betz, G.; Aeppli, A.; Menshutina, N.; Leuenberger, H. *Int. J. Pharm.* **2005**, *296*, 44–54.
- ¹³ Mozafari, M. R.; Johnson, C.; Hatziantoniou, S.; Demetzos, C. *J. Liposome Res.* **2008**, *18*, 309–327.
- ¹⁴ Israelachvili, J. N.; Marcelja, S.; Horn, R. G. *Q. Rev. Biophys.* **1980**, *13*, 121–200.
- ¹⁵ Pattni, B. S.; Chupin, V. V.; Torchilin, V. P. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 10938–10966.
- ¹⁶ Al-Jamal, W. T.; Kostarelos, K. *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1094–1104.
- ¹⁷ Takahashi, H.; Niidome, Y.; Yamada, S. *Chem. Commun.* **2005**, *17*, 2247–2249.
- ¹⁸ Dreaden, E. C.; Alkilany, A. M.; Huang, X.; Murphy, C. J.; El-Sayed, M. A. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2740–2779.
- ¹⁹ Elhissi A. M. A.; Ahmed W.; Hassan I. U.; Dhanak V. R.; D'Emanuele A. *Journal of drug delivery* **2012**, 1–10.
- ²⁰ Tang S.H.; Chen M.; Zheng N.F. *nano Res.* **2015**, *8*, 165–174.
- ²¹ Guo, L.; Yan, D. D.; Yang, D.; Li, Y.; Wang, X.; Zalewski, O.; Yan, B.; Lu, W. *ACS nano* **2014**, *8*, 5670–5681.
- ²² He, D.; Li, X.; He, X.; Wang, K.; Tang, J.; Yang, X.; He, X.; Yang, X.; Zou, Z. *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3*, 5588–5594.
- ²³ Wu, L.; Wu, M.; Zeng, Y.; Zhang, D.; Zheng, A.; Liu, X.; Liu, J. *nanotechnology* **2015**, *26*, 25102–25111.
- ²⁴ Yang, J.; Shen, D.; Zhou, L.; Li, W.; Li, X.; Yao, C.; Wang, R.; El-Toni, A. M.; Zhang, F.; Zhao, D. *Chem. Mater.* **2013**, *25*, 3030–3037.
- ²⁵ Zhang, Z.; Wang, L.; Wang, J.; Jiang, X.; Li, X.; Hu, Z.; Ji, Y.; Wu, X.; Chen, C. *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 1418–1423.
- ²⁶ Wu, G.; Mikhailovsky, A.; Khant, H. A.; Fu, C.; Chiu, W.; Zasadzinski, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8175–8177.
- ²⁷ You, J.; Shao, R.; Wei, X.; Gupta, S.; Li, C. *Small* **2010**, *6*, 1022–1031.
- ²⁸ Zhang, R.; Su, S.; Hu, K.; Shao, L.; Deng, X.; Sheng, W.; Wu, Y. *nanoscale* **2015**, *7*, 19722–19731.
- ²⁹ Wang, J.; Lin, F.; Chen, J.; Wang, M.; Ge, X. *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3*, 9186–9193.
- ³⁰ Gong, H.; Cheng, L.; Xiang, J.; Xu, H.; Feng, L.; Shi, X.; Liu, Z. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 6059–6067.
- ³¹ Carter, K. A.; Shao, S.; Hoopes, M. I.; Luo, D.; Ahsan, B.; Grigoryants, V. M.; Song, W.; Huang, H.; Zhang, G.; Pandey, R. K.; Lovell J. F. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4546/1–4546/11.
- ³² Mathew, S.; Murakami, T.; Nakatsuji, H.; Okamoto, H.; Morone, N.; Heuser, J. E.; Hashida, M.; Imahori, H. *ACS nano* **2013**, *7*, 8908–8916.
- ³³ Cheng, L.; He, W.; Gong, H.; Wang, C.; Chen, Q.; Cheng, Z.; Liu, Z. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 5893–5902.
- ³⁴ Sheng, Z.; Hu, D.; Zheng, M.; Zhao, P.; Liu, H.; Gao, D.; Gong, P.; Gao, G.; Zhang, P.; Ma, Y.; Cai, L. *ACS nano* **2014**, *8*, 12310–12322.
- ³⁵ Guha, S.; Shaw, S. K.; Spence, G. T.; Roland, F. M.; Smith, B. D. *Langmuir* **2015**, *31*, 7826–7834.
- ³⁶ Ramu, A.; Mehta, M. M.; Liu, J.; Turyan, I.; Aleksic, A. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2000**, *46*, 449–458.
- ³⁷ Huang Z. W.; Laurent V.; Chetouani G.; Ljubimova J. Y.; Holler E.; Benvegna T.; Loyer P.; Cammas-Marion S. *Int. J. Pharm.* **2012**, *423*, 84–92.
- ³⁸ Cammas, S.; Renard, I.; Langlois, V.; Guérin, Ph., *polymer* **1996**, *37*, 4215–4220.
- ³⁹ Thioune, O.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, F. *Int. J. Pharm.* **1997**, *146*, 233–238.
- ⁴⁰ Garbuzenko, O.; Barenholz, Y.; Prie, A. *Chem. Phys. Lip.* **2005**, *135*, 117–129.

Chapitre 4 : Les complexes Ni-bis(dithiolène) comme métallogélifiants photoactifs

Chapitre 4 : Les complexes Ni-bis(dithiolène) comme métallogélifiants photoactifs

Ce chapitre est consacré aux métallogels photosensibles sous irradiation laser NIR. La première partie introduira quelques généralités sur les organogels, puis des exemples de métallogélifiants permettant d'apporter de nouvelles propriétés aux gels seront décrits. La seconde partie commencera par donner quelques exemples de gels photosensibles sous irradiation laser avant de détailler les travaux réalisés, dans le cadre de cette thèse, sur les métallogels à base de complexes de Ni-bis(dithiolène) stimulables sous irradiation laser NIR.

1. Généralités sur les gels

Un gel est un liquide dispersé dans un solide (le gélifiant) et ayant un comportement non fluide. Ce sont des objets communs qui sont facilement identifiables par le test d'inversion.¹ En effet, le retournement d'un tube à essai ou d'un pilulier contenant un gel ne provoque pas l'écoulement de celui-ci qui peut supporter son propre poids. D'un point de vue physique, la formation d'un gel peut être confirmée par une étude rhéologique. Pour cela, la constante élastique G' et la constante de viscosité G'' du système sont mesurées. Dans le cas d'un liquide $G' = 0$ et pour un solide $G'' = 0$. Pour un corps viscoélastique tel que les gels, la valeur de G' doit être supérieure à celle de G'' . Ainsi, le gélifiant forme une matrice solide tridimensionnelle emprisonnant un liquide, généralement par effet de tension de surface. Le fluide piégé peut être de l'eau (hydrogel) ou un solvant organique (organogel). Ces réseaux tridimensionnels sont le plus souvent des polymères, néanmoins, une nouvelle classe de gélifiants de faible masse moléculaire est apparue il y a quelques dizaines d'années.

1.1. Les gélifiants de faible masse moléculaire

Les gélifiants de faible masse moléculaire (LMWGs, Low Molecular Weight Gelators) sont de petites molécules pouvant s'auto-assembler à de faibles concentrations (0,1 à 5 % en masse par rapport à la masse de liquide introduit) de manière non covalente en agrégat. Ces agglomérats généralement fibreux et unidirectionnels s'enchevêtrent pour former l'architecture tridimensionnelle responsable de la gélification.² Bien que cela puisse varier avec le type de

¹ Piepenbrock, M. O. M.; Lloyd, G. O.; Clarke, N.; Steed, J. W. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1960-2004.

² Zinic, M.; Vogtle, F.; Fages, F. *Top. Curr. Chem.* **2005**, *256*, 39-76.

gélifiant, la formation des gels peut être généralement décrite comme un processus d'assemblage hiérarchique. La première étape est la dimérisation des molécules due à une ou plusieurs interactions intermoléculaires non covalentes comme les forces de van der Waals, les liaisons hydrogène, les recouvrements de type π - π ou la ségrégation hydrophile/hydrophobe.³ Ces dimères interagissent ensuite entre eux pour former des oligomères. L'extension de ceux-ci forme des fibrilles (petites fibres) polymériques ayant la même largeur que les unités moléculaires les constituant (quelques nanomètres généralement). Ces fibrilles finissent par se regrouper pour former des fibres de quelques dizaines de nanomètres d'épaisseur (20-50 nm). Les interactions entre fibres induisent la formation d'un réseau infini interconnecté occupant tout l'échantillon et immobilisant le solvant par des effets de tension de surface.¹ Cependant, les mécanismes de gélification ne sont pas aujourd'hui totalement élucidés.

Un grand nombre de motifs gélifiants, utilisés pour la synthèse de LMWGs, ont été identifiés tels que les bis(urées) et amides, les dérivés nucléiques, les acides gras, les stéroïdes, les dérivés anthryle, les dérivés acides aminés, les dendrimères, les phthalocyanines, les porphyrines ainsi que des combinaisons de ces motifs. Parmi les stéroïdes, les groupes cholestérol (Figure 1), dont les propriétés de gélification ont été découvertes par Weiss et coll. en 1987,⁴ ont été largement utilisés pour l'ingénierie de LMWGs. Le groupe cholestérol seul, qui a par ailleurs été au cœur de la découverte des cristaux liquides, n'est pas un gélifiant mais des dérivés simples de cette molécule, couplés notamment avec des groupes aromatiques permet de former des gels. En effet, le cholestérol qui possède un squelette rigide plat induit l'auto-association directionnelle entre les LMWGs par interactions de van der Waals entre groupements cholestériques.

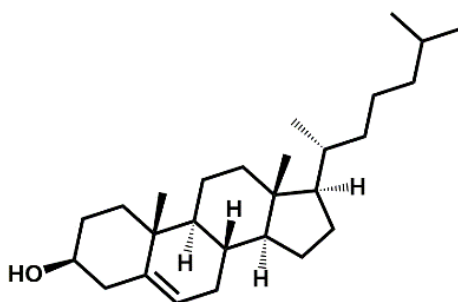


Figure 1 : Structure chimique du cholestérol

L'obtention de structures supramoléculaires auto-assemblées formées de gélifiants LMWGs est donc un moyen d'organiser, par agrégation spontanée, des petites molécules à

³ Yang, X.; Zhang, G.; Zhang, D. *J. Mater. Chem.* **2012**, 22, 38-50.

⁴ Terech, P.; Weiss, R. G. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 3133-3159.

diverses échelles (micro- et nanométrique). De plus, la gélification permet d'obtenir des matériaux mous répondant facilement et rapidement aux stimuli extérieurs (température, ultrasons, champs électriques ou magnétiques...).⁵ La découverte de nouveaux organogels sensibles à des stimuli externes est donc très attractive pour un grand nombre d'applications telles que l'électronique moléculaire,⁶ le biomédical,⁷ les capteurs ou pour des synthèses en milieux confinés.^{8,9} Parmi tous les systèmes possibles, les gels photosensibles sont des systèmes intéressants dans le cadre de notre travail sur la libération contrôlée de médicament. En effet certains gels se désagrègent sous irradiation UV puis se reforment après arrêt de l'irradiation UV. Par conséquent, un principe actif encapsulé dans le gel photosensible pourrait être libéré sous irradiation.

Il existe trois grands types de gélifiants permettant d'obtenir des gels photosensibles. Les premiers sont les métallogélifiants photoisomérisables tels que les dérivés azoïques (Figure 2a) ou stilbenes (Figure 2b).^{10,11} Ces composés sont capables de changer de conformation *trans-cis* sous irradiation UV-Vis (Figure 2a et 2b), entraînant une modification des interactions intermoléculaires à l'origine de la formation du gel, ce qui provoque la désagrégation des fibres et l'écoulement du gel. Sur le même principe, des gélifiants photodimérisables à base d'anthracène ont été mis au point.¹² Cette fois-ci, il y a une dimérisation des cycles anthracènes (Figure 2d) sous irradiation UV conduisant à l'écoulement du gel. Les derniers types de gélifiants utilisés pour ce type de technique sont les composés interconvertibles sous irradiation UV tel que les spiropyranes (SP).¹³ En effet, ces molécules peuvent exister sous une forme fermée (SP) ou ouverte (dérivé mérocyanine, MC) selon qu'elles sont exposées à une lumière UV ou visible (Figure 2c).

⁵ James, S. L. *Chem. Soc. Rev.* **2003**, 32, 276-288.

⁶ Babu, S. S.; Prasanthkumar, S.; Ajayaghosh, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 1766-1776.

⁷ Vemula, P. K.; Li, J.; John, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 8932-8938.

⁸ Koshi, Y.; Nakata, E.; Yamane, H.; Hamachi, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 10413-10422.

⁹ Guler, M. O.; Stupp, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 12082-12083.

¹⁰ Koumura, N.; Kudo, M.; Tamaoki, N. *Langmuir* **2004**, 20, 9897-9900.

¹¹ Eastoe J.; Sanchez-Dominguez M.; Wyatt P.; Heenan R. K. *Chem. Commun.* **2004**, 22, 2608-2609.

¹² Ayabe, M.; Kishida, T.; Fujita, N.; Sada, K.; Shinkai, S. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 2744-2747.

¹³ Qiu, Z.; Yu, H.; Li, J.; Wang, Y.; Zhang, Y. *Chem. Commun.* **2009**, 23, 3342-3344.

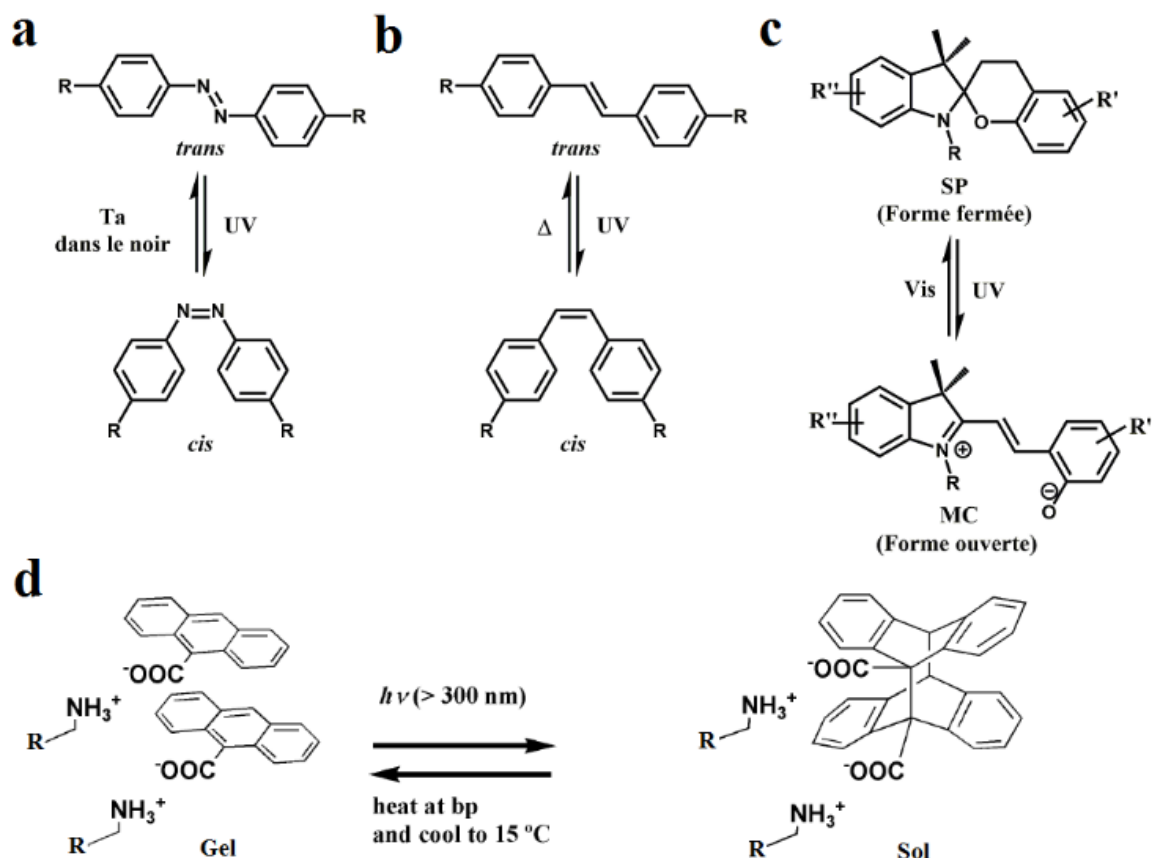


Figure 2 : Illustration de quelques composés utilisés pour élaborer des gels photosensibles (a) azobenzènes, (b) stilbens, (c) spiropyranes, (d) anthracène. Ref 12

Cependant, ces systèmes sont limités pour des applications en libération photo-contrôlée, du fait de l'irradiation UV qui ne pénètre pas les tissus et qui est dangereuse pour la peau. De ce fait, l'irradiation NIR sera préférable. Malgré les progrès réalisés dans ce domaine, il existe très peu de gélifiants LMWGs organiques capables de se désagréger sous rayonnements NIR. Par conséquent, nous nous sommes intéressés au développement de LMWGs à base de métaux avec nos complexes métal-bis(dithiolène). En effet, les métallogélifiants ont permis d'obtenir des gels répondant à des stimuli multiples, dans lesquels le métal joue un rôle central, ce qui a conduit à l'émergence de nouveaux systèmes fonctionnels.¹

1.2. Les métallogélifiants

Les métallogélifiants sont en général des polymères de coordination ou des complexes de coordination fonctionnalisés par des groupes gélifiants du type de ceux décrits ci-dessus. L'introduction de centres métalliques a permis de doter les gels de nouvelles propriétés magnétiques, catalytiques, luminescentes ou optiques.

1.2.1. Les métallogeles magnétiques

En 2004, Clérac et coll. ont mis au point un métallogel possédant des propriétés magnétiques.¹⁴ Le métallogéifiant est un polymère de coordination constitué d'atomes de Fe(II) coordonnés par des ligands triazoles (Figure 3b). Le métal apporte les propriétés magnétiques tandis que les ligands triazole substitués par une chaîne carbonée C₁₈ permettent de former le gel. La couleur rose du gel à température ambiante indique que les atomes de Fe(II) sont dans leur état bas-spin, c'est-à-dire que les spins sont appariés dans les trois orbitales moléculaires *t_{2g}*. Le gel est donc diamagnétique et le moment magnétique est nul (Figure 3a). Lors de la montée en température, le métal passe dans son état haut-spin (décoloration du gel) autour de 50 °C, les atomes de Fe(II) sont alors paramagnétiques ($S = 1/2 \times 4 = 2$) ce qui entraîne une augmentation du moment magnétique du métallogel (Figure 3c).

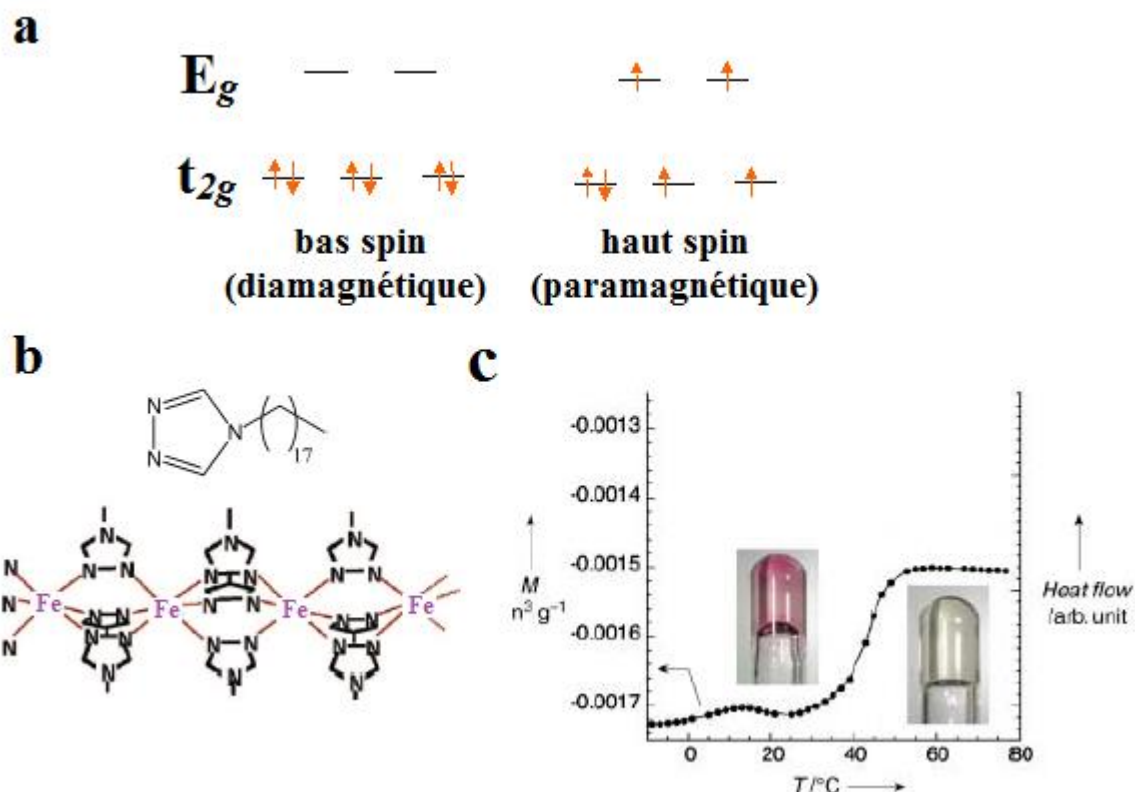


Figure 3 : (a) Illustration d'un état bas spin / haut spin d'un complexe d^6 de Fe (II); (b) Représentation de la structure du complexe polymérique de $[Fe(II)(C_{18}\text{-trz})_3]_n^{2n+}$; (c) Évolution du moment magnétique d'un métallogel de $[Fe(II)(Rtrz)_3]_n^{2n+}$ (5% en masse) dans le décane en fonction de la température. Ref 14

¹⁴ Roubeau, O.; Colin, A.; Schmitt, V.; Clérac, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 3283-3286.

1.2.2. Les métallogels catalytiques

En 2015, Zhang et coll. ont utilisé un métallogel polymérique possédant des propriétés catalytiques pour séparer deux énantiomères d'un mélange racémique par résolution cinétique.¹⁵ Le métallogélifiant est constitué de complexes de manganèse (III) avec un ligand de type de salen, qui permet de séparer des alcools secondaires énantiomères par oxydation sélective (Figure 4a). Pour cela, le mélange racémique est injecté, à l'aide d'une seringue dans un capillaire contenant le métallogel. Lorsque le mélange passe à travers le capillaire, l'alcool secondaire de configuration (*S*) est oxydé en la cétone correspondante tandis que l'autre énantiomère de configuration (*R*) est isolé avec un excès énantiomérique (ee) de 91% (Figure 4b).

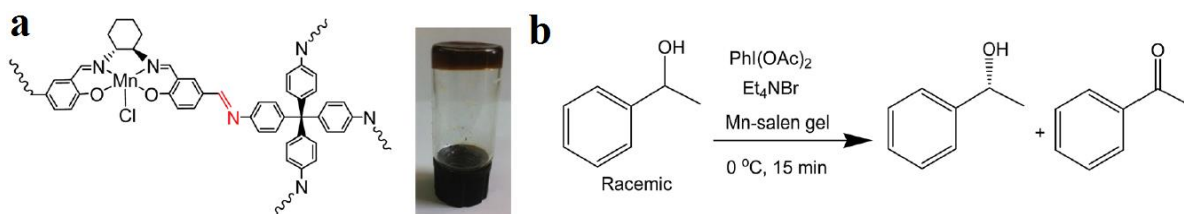


Figure 4 : (a) Illustration du métallogélifiant à base de Mn (III); (b) Résolution cinétique du (*RS*)-phényléthanol catalysé par le métallogel. Ref 15

1.2.3. Les métallogels luminescents

Les métallogels luminescents sont très répandus dans la littérature, comme illustré ci-dessous par quelques exemples.

En 2004, Aida et coll. ont reporté que le gélifiant pyrazolate d'or (I) présentant un cœur polymétallique triangulaire (Figure 5a) s'auto-assemble en colonnes dans la direction perpendiculaire au plan formé par les molécules pour donner un métallogel possédant des propriétés de luminescence.¹⁶ Alors que le complexe en solution est non luminescent, le métallogel présente quant à lui une forte émission rouge. L'ajout d'ion Ag⁺ induit la formation d'un métallogel luminescent bleu alors que la solution émet dans le vert. L'ajout d'ions Cl⁻ permet de revenir au métallogel de départ car les ions Ag⁺ précipitent en AgCl. Les différentes émissions sont attribuées à des variations d'interactions métalliques intermoléculaires engendrées par des changements d'empilements des molécules (Figure 5b). Ainsi, ce système présente une commutation réversible RGB (rouge, vert, bleu) induite par l'auto-assemblage et contrôlée par la température ou l'ajout d'ions.

¹⁵ Liu, Y.; He, L.; Zhang, J.; Wang, X.; Su, C. *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 557-563.

¹⁶ Kishimura, A.; Yamashita, T.; Aida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 179-183.

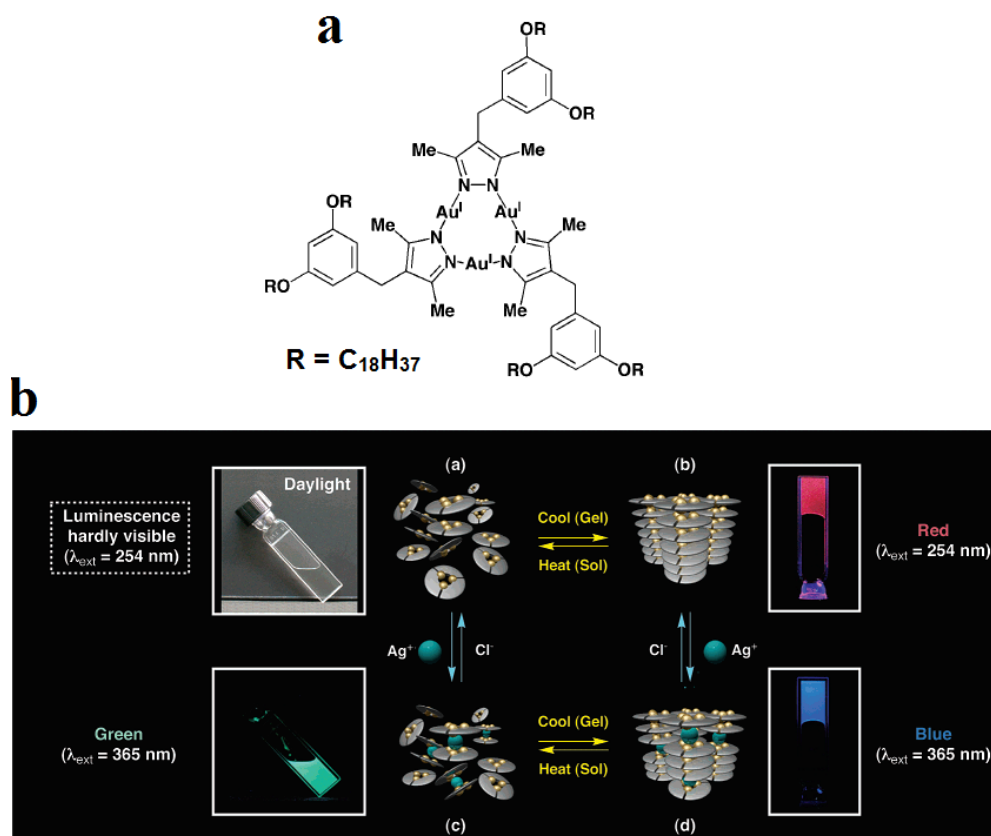


Figure 5 : (a) Illustration du métallogéifiant à base de pyrazolate d'or (I); (b) Luminescence du complexe pyrazolate d'or (I) sous forme de gel ou de solution et en fonction de l'ajout d'ions Ag^+ ou Cl^- . Ref 16

En 2009, Camerel et coll. ont mis en évidence qu'un complexe de lanthanide fonctionnalisé permettait également d'obtenir des gels luminescents.¹⁷ Les fonctions amides et la partie hydrophobe, constituée de groupements phényle et de chaînes hexadécane, permettent la formation du métallogel tandis que le complexe d'euprium, apporte les propriétés de luminescence (Figure 6).

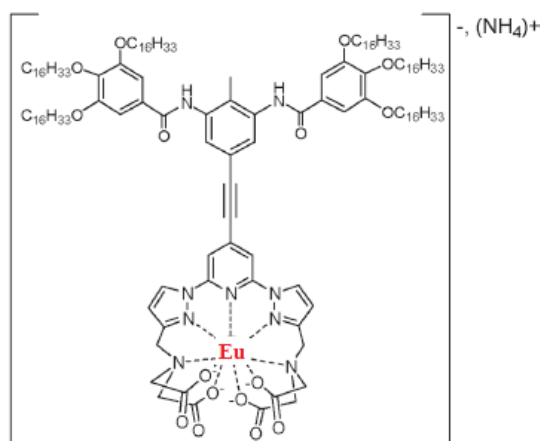


Figure 6 : Illustration du complexe d'euprium. Ref 17

¹⁷ Kadjane, P.; Starck, M.; Camerel, F.; Hill, D.; Hildebrandt, N.; Ziessel, R.; Charbonnière, L. J. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 4601-4603.

L'irradiation du métallogel sous une lampe UV a mis clairement en évidence les propriétés de luminescence du gel qui émet fortement dans le rouge (Figure 7a). De plus, il faut noter que les spectres d'émission du complexe sous forme de gel ou en solution dans le dichlorométhane sont différents (Figure 7b). Ceci est probablement dû aux interactions supramoléculaires à l'intérieur du métallogel luminescent.

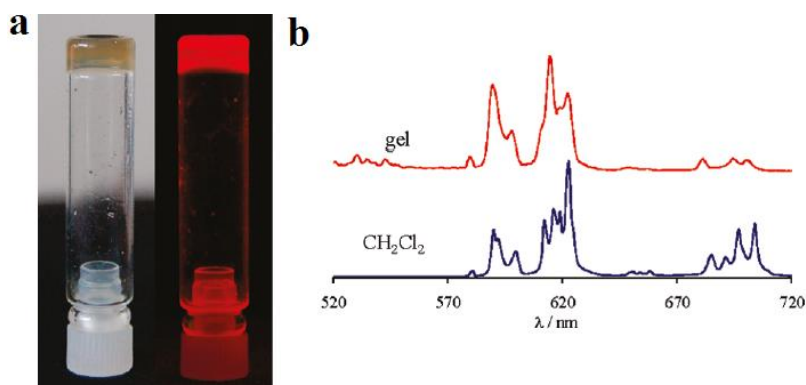


Figure 7 : (a) Images du métallogel à base de complexes europium, à la lumière blanche (à gauche) et sous irradiation UV (à droite); (b) Spectres d'émission ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm) du complexe d'euprium sous forme de gel et en solution dans le dichlorométhane. Ref 17

Récemment, un autre type de métallogélifiant luminescent a été mis en évidence dans le groupe. En effet, Camerel et coll. ont utilisé des cubanes [Cu₄I₄],¹⁸ connus pour leurs propriétés de photoluminescence, auxquels ils ont ajouté des groupements phosphine-cholestérol dans le but de former des métallogels luminescents (Figure 8).

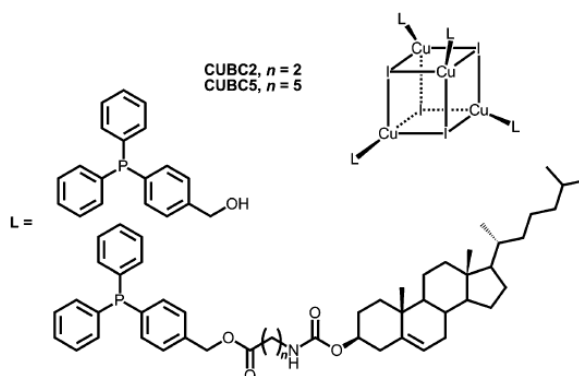


Figure 8 : Illustration du cubane [Cu₄I₄] portant des groupements phosphine-cholestérol. Ref 18

Les cubanes portant les fonctions phosphine-cholestérol avec une chaîne alcane à deux carbones ($n = 2$, CUBC2) se sont révélés être de bons métallogélifiants dans le cyclohexane. Le gel thermochromique de CUBC2 apparaît légèrement transparent à température ambiante et à la lumière blanche. Lorsqu'il est irradié sous UV, il émet dans le vert à température ambiante et dans le bleu lorsqu'il est refroidi à l'azote liquide (Figure 9).

¹⁸ Benito, Q.; Fargues, A.; Garcia, A.; Maron, S.; Gacoin, T.; Boilot, J.; Perruchas, S.; Camerel, F. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 15831-15835.

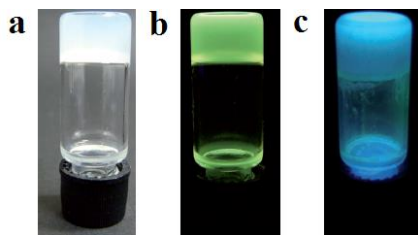


Figure 9 : Image du métallogel de CUBC2 (a) à température ambiante et sous lumière blanche, (b) à température ambiante et sous irradiation UV, (c) refroidi dans l'azote liquide et sous irradiation UV. Ref 18

Cette variation d'émission en température (fluorochromisme) du gel est caractéristique des cubanes [Cu₄I₄L₄]. En effet l'émission verte est due à des transitions énergétiques centrées sur le cluster Cu₄I₄ tandis que l'émission bleue est la conséquence de transitions énergétiques entre le cluster et le ligand. Ces clusters possèdent également des propriétés de rigidochromisme. En effet, la longueur d'onde et l'intensité d'émission dépend de la rigidité du milieu environnant. Dans cet exemple, le gel est formé en solubilisant le cubane CUBC2 à chaud dans le cyclohexane puis en refroidissant la solution à température ambiante. Lors du refroidissement, de la solution un spectre d'émission de l'échantillon est enregistré toutes les minutes (Figure 10). Dans un premier temps, l'émission augmente doucement. Cette observation est attribuée à l'agrégation des clusters en solution. Après 11 min de refroidissement l'intensité augmente brutalement. Ce phénomène est dû au confinement du cubane dans un réseau dense et rigide du fait de la formation du gel. Au bout de 25 min, l'intensité d'émission ne varie plus puisqu'un gel stable a été formé. La longueur d'onde d'émission varie aussi en fonction de la rigidité du milieu (courbe gris clair). En effet, le confinement du cubane dans le gel entraîne un déplacement de sa longueur d'onde d'émission vers le bleu.

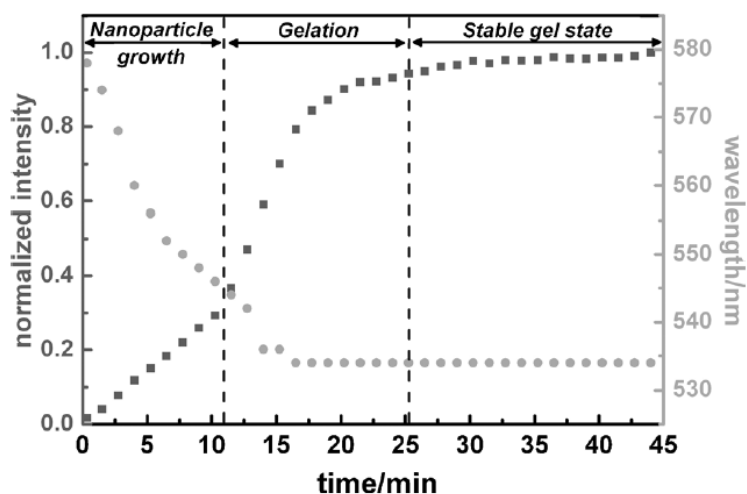


Figure 10 : Variation de l'intensité et de la longueur d'onde d'émission ($\lambda_{\text{ex}} = 300 \text{ nm}$), lors du refroidissement à température ambiante, d'une solution de CUBC2 (20 g/L) dans le cyclohexane. Ref 18

1.2.4. Les métallogélifiants à cœur métal-bis(dithiolène)

Cette dernière partie bibliographique est consacrée aux rares exemples utilisant les complexes de métal-bis(dithiolène) comme métallogélifiant. Tous ces travaux ont été réalisés antérieurement au sein du laboratoire et ont été une source d'inspiration pour ces travaux de thèse sur les métallogels photoréactifs.

Ainsi, en 2010, Camerel et coll. ont mis au point les premiers métallogels à base de métal-bis(dithiolène).¹⁹ Le métallogélifiant utilisé est un complexe d'or radicalaire paramagnétique $[\text{Au}(\text{dpdht})_2]^\bullet$, substitué par 8 chaînes dodécane ($[\text{Au}(\text{dpdht})_2]^\bullet\text{-C}_{12}$) (Figure 11). Les complexes s'auto-assemblent en colonnes pour former un réseau tridimensionnel de fibres entrelacées, immobilisant le solvant et formant ainsi le métallogel.

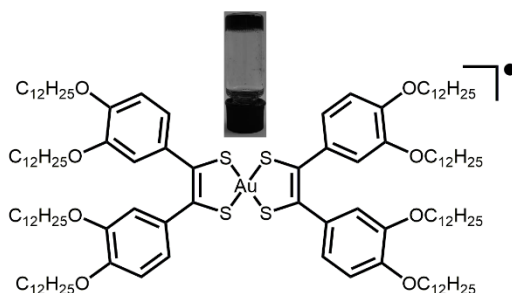


Figure 11 : Illustration du complexe $[\text{Au}(\text{dpdht})_2]^\bullet\text{-C}_{12}$ et du métallogel formé dans le dodécane. Ref 19

Les mesures par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) du métallogel montrent, qu'au-dessous de 54°C , le complexe $[\text{Au}(\text{dpdht})_2]^\bullet\text{-C}_{12}$ dans le dodécane est sous forme de métallogel tandis qu'au-dessus de cette température il passe sous sa forme liquide (Figure 12 insert). Ce phénomène est appelé transition sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$). Le moment magnétique du métallogel en fonction de la température a ensuite été mesuré (Figure 12). Au-dessous de la transition sol-gel, l'agrégation des complexes paramagnétiques $[\text{Au}(\text{dpdht})_2]^\bullet\text{-C}_{12}$ est favorisée dans le métallogel, entraînant ainsi des interactions antiferromagnétiques importantes. Par conséquent, le moment magnétique dû aux complexes paramagnétique s'annule et les mesures obtenues sont donc proches de celle du solvant pur. Au-dessus de la transition $T_{\text{sol-gel}}$, le métallogel passe sous forme liquide, le réseau est alors dissocié ce qui diminue l'interaction des complexes et donc les effets de couplage antiferromagnétique, entraînant ainsi l'augmentation du moment magnétique.

¹⁹ Perochon, R.; Davidson, P.; Rouzière, S.; Camerel, F.; Piekara-Sady, L.; Guizouarn, T.; Fourmigué, M. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 1416-1422.

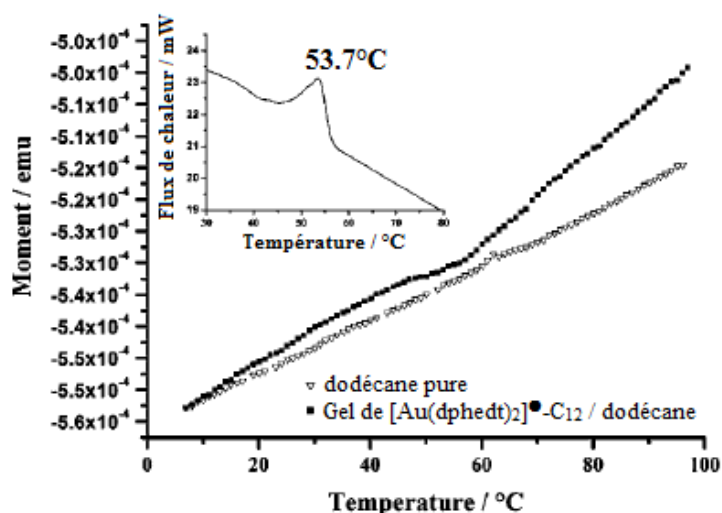


Figure 12 : Évolution du moment magnétique en fonction de la température, d'une solution de dodécane pure et d'un métallogel de $[\text{Au}(\text{dphedt})_2]^+\bullet\text{-C}_{12}$ dans le dodécane. (Insert : courbe de chauffe obtenue par DSC montrant la $T_{\text{sol-gel}}$). Ref 19

Suite à ces résultats encourageant, de nouveaux métallogels à base de métal-bis(dithiolène) ont fait leur apparition dans l'équipe. En 2012, Camerel et coll. ont synthétisé des complexes de Ni-bis(dithiolène) métallogélifiants possédant un effet chiro-optique dans le NIR.²⁰ De tels matériaux peuvent trouver des applications potentielles dans les capteurs biologiques,²¹ les communications optiques ou le stockage de données.^{22,23} Ces complexes de Ni-bis(dithiolène) dérivés du $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0$ portent 4 groupements cholestérol. Les complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(cholestérol)}_4$ se différencient par la longueur de la chaîne carbonée reliant le benzile au cholestérol. Cette chaîne peut être constituée de deux, six ou onze atomes de carbone (Figure 13).

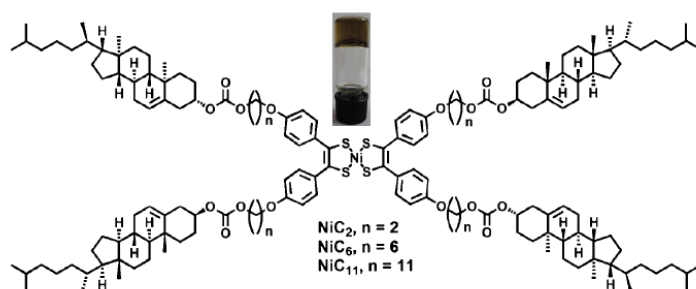


Figure 13 : Illustration des métallogélifiants de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(cholestérol)}_4$. Ref 20

²⁰ Debnath, S.; Bergamini, J.-F.; Artzner, F.; Meriadec, C.; Camerel, F.; Fourmigué, M. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 2283-2285.

²¹ Petrova, R. I.; Swift, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1168-1173.

²² Ono, Y.; Nakashima, K.; Sano, M.; Kanekiyo, Y.; Inoue, K.; Shinkai, S.; Sano, M.; Hojo, J. *Chem. Commun.* **1998**, 14, 1477-1478.

²³ Ajayaghosh, A.; George, S. J.; Praveen, V. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 332-335.

Comparé aux complexes NiC_6 et NiC_{11} , une concentration plus faible de NiC_2 est nécessaire pour former le métallogel. Par conséquent, c'est un meilleur métallogélifiant. Ce complexe s'auto-assemble en hélices pour former des fibres torsadées qui immobilisent le solvant (Figure 14).

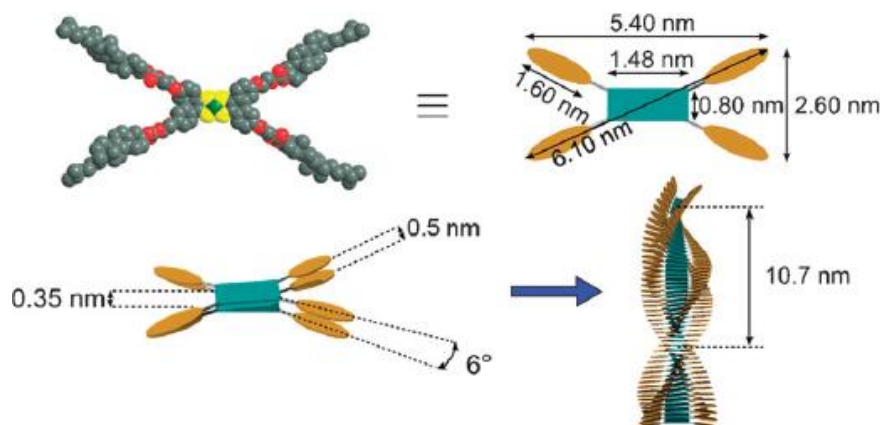


Figure 14 : Schéma de l'auto-assemblage des NiC_2 dans le cyclohexane, les dimensions ont été déterminées par AFM. Ref 20

Les mesures de dichroïsme circulaire (CD) ont démontré que le métallogel de NiC_2 possède un effet chiro-optique marqué dans le NIR entre 700 nm et 1100 nm. En effet, les fibres chirales formées absorbent fortement dans le NIR et présentent un fort effet dichroïque (Figure 15). Il faut noter que le CD du complexe NiC_2 en solution dans le chloroforme est inactif. C'est donc bien l'auto-assemblage qui induit les propriétés chiro-optiques et non la simple introduction des groupes cholestérol sur le complexe métal-bis(dithiolène).

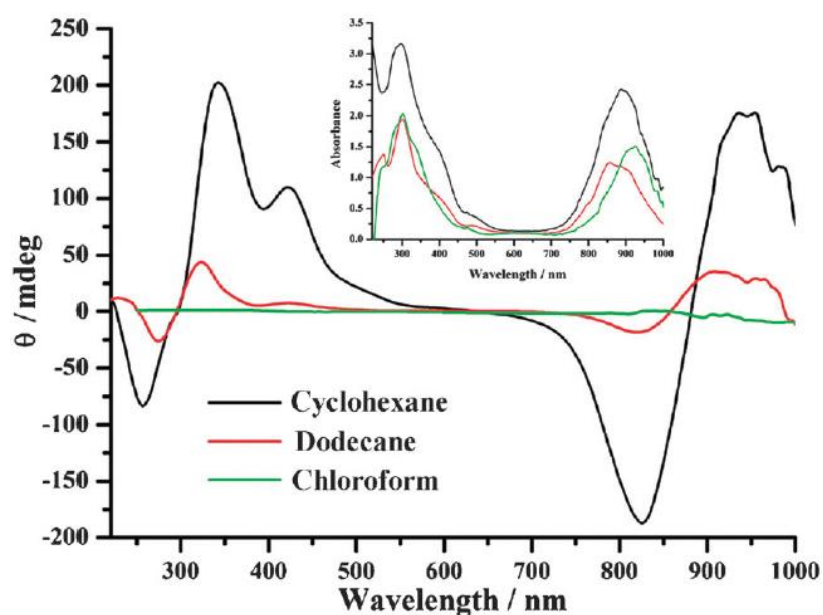


Figure 15 : Spectres de dichroïsme circulaire de NiC_2 en solution dans le chloroforme ($[\text{C}] = 0,6 \text{ mg/mL}$), sous forme de gel dans le cyclohexane ($[\text{C}] = 1 \text{ mg/mL}$) et le dodécane ($[\text{C}] = 0,5 \text{ mg/mL}$). Ref 20

En conclusion, les métallogélifiants permettent de conférer de nouvelles propriétés aux gels selon la nature du complexe utilisé. En s'appuyant sur les travaux décrits précédemment dans l'équipe avec les complexes de Ni-bis(dithiolène), nous allons mettre au point des métallogélifiants photosensibles capable de se désagréger sous irradiation laser NIR. Un tel système permettrait notamment de libérer un médicament, encapsulé dans un métallogel, par irradiation laser NIR.

2. Contrôle photothermique des propriétés de gélification de métallogels à base de Ni-bis(dithiolène).

L'objectif a été de mettre au point des métallogels à base de Ni-bis(dithiolène) pouvant se désagréger sous exposition laser NIR, grâce aux propriétés photothermiques de ces complexes. Nous commencerons tout d'abord à nous intéresser aux systèmes déjà décrits dans la littérature, puis les résultats obtenus sur la photoactivation de nos gels à cœur nickel-bis(dithiolène) seront détaillés.

2.1. Contrôle des propriétés de gélification d'organogels à l'aide de nanoparticules d'or.

Les organogels photoréactifs sont des matériaux d'un grand intérêt pour des applications biotechnologiques. En effet, de tels matériaux peuvent être utilisés pour la libération de principes actifs. Le procédé est semblable à celui des nanovecteurs, le médicament est piégé dans un gel avec un agent photothermique. Sous irradiation laser, l'effet photothermique provoque alors la désagrégation du gel qui libère le principe actif. Malgré, les progrès réalisés dans ce domaine, les organogels photoréactifs dans le NIR sont toujours rares et le développement d'un tel procédé est fortement souhaité.

Pour répondre à ces attentes, Yavuz et coll. ont récemment élaboré un organogel LMWGs à base de di(phénylalanine) (Phe-Phe) intégrant des nanoparticules d'or (20 nm de diamètre).²⁴ Cet organogel est synthétisé en mélangeant la Phe-Phe en solution dans le 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) avec des nanoparticules d'or en suspension dans du chloroforme (Figure 16a). Le mélange HFIP/chloroforme a été choisi car la di(phénylalanine) peut facilement gélifier ce milieu. La di(phénylalanine) s'organise en un réseau de fibres sur lequel les nanoparticules d'or vont s'adsorber (Figure 16b). La bande plasmon de résonance des nanoparticules se décale vers le rouge avec l'augmentation de la quantité de NPs d'or ajoutée (Figure 16c).

²⁴ Erdogan, H.; Sakalak, H.; Yavuz, M. S.; Demirel, G. *Langmuir* **2013**, 29, 6975-6982.

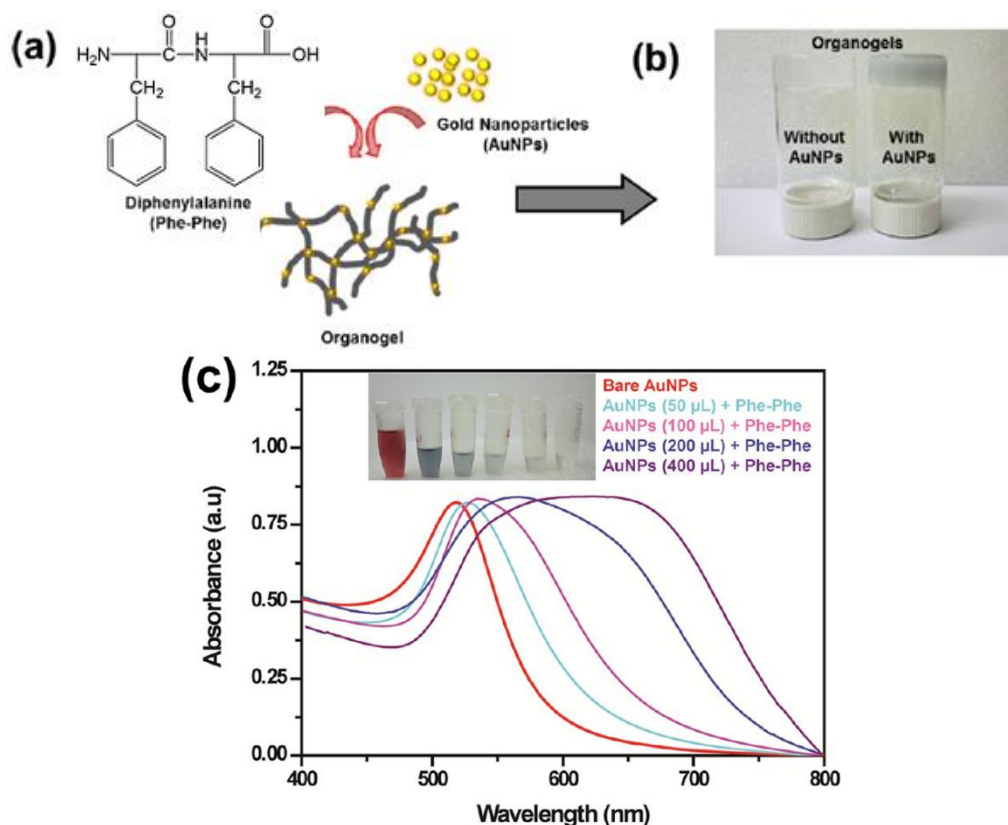


Figure 16 : (a) Illustration du processus de fabrication et de l'auto-assemblage des organogels Phe-Phe/NPsAu (b) Images d'organogels de Phe-Phe avec et sans NPs d'or (c) Spectres UV-Vis de NPs d'or en présence de Phe-Phe. Ref 24

Ces organogels de dipeptide ont ensuite été irradiés avec un laser (10 min, 532 nm, 50 mW). En l'absence de nanoparticules d'or, aucune modification de structure de l'organogel n'est observée (Figure 17c et 16d). En présence de NPs d'or, un écoulement du gel est observé sous exposition laser. L'organogel de Phe-Phe/NPsAu commence à se désagréger à partir de 10 s d'irradiation et son écoulement est total après 10 min d'exposition laser (Figure 17b). En fait, l'effet photothermique des nanoparticules d'or provoque la désagrégation des fibres de Phe-Phe entraînant ainsi la déstructuration de l'organogel. La solution en résultant reforme l'organogel lorsque l'irradiation laser est stoppée.

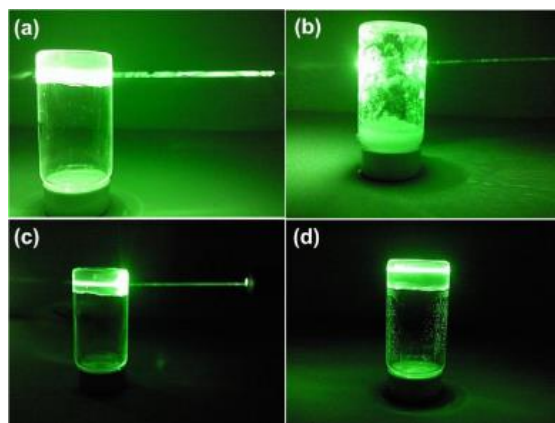


Figure 17 : Images d'organogels avant et après irradiation laser (532 nm, 50 mW, 10 min) (a-b) Phe-Phe/NPsAu; (c-d) Phe-Phe. Ref 24

En conclusion, un organogel photoréactif combinant l'effet photothermique des nanoparticules d'or et les propriétés gélifiantes de di(phénylalanine) a été préparé. Cet exemple, exploitant la propriété photothermique d'un matériau pour désagréger un organogel est le seul exemple décrit, à notre connaissance. Cependant, utiliser un tel système pour des applications biomédicales n'est pas encore envisageable. En effet la longueur d'onde d'irradiation (532 nm) risque d'endommager fortement les tissus sains qui absorbent dans le visible. Une des solutions face à ce type de complication est d'utiliser des agents photothermiques absorbants dans le NIR tels que les complexes Ni-bis(dithiolène).

2.2. Les métallogels photoréactifs à base de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(cholestérol)}_8$

En s'appuyant sur les travaux précédemment réalisés sur les complexes de Ni-bis(dithiolène) au sein du laboratoire (Figure 13), nous avons élaboré des complexes de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(cholestérol)}_8$. Ce complexe se distingue de ceux décrits précédemment dans l'équipe par l'introduction de 8 au lieu de 4 groupements cholestérol. L'idée est d'étudier l'influence d'un plus grand nombre de groupements cholestérol sur les propriétés des gels obtenus (concentration minimum de gélification (CMG), nanostructure...) et d'exploiter l'effet photothermique des complexes Ni-bis(dithiolène) afin de déstructurer les métallogels de $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(cholestérol)}_8$ obtenus sous irradiation laser NIR. Les travaux de thèse présentés ci-dessous commenceront par décrire la méthode de synthèse utilisée afin d'isoler les complexes, la seconde partie s'intéressera aux propriétés photothermiques et gélifiantes de ces complexes et la dernière partie portera sur le contrôle photothermique des propriétés de gélifications des métallogels sous irradiation laser NIR.

2.2.1. Synthèse des complexes $[\text{Ni}(\text{dphtd})_2]^0\text{-(cholestérol)}_8$

Quatre complexes $[\text{Ni}(\text{dphtd})_2]^0\text{-(cholestérol)}_8$ différents ont été synthétisés. Ces molécules portant 8 groupements cholestérol se différencient par la longueur de la chaîne carbonée ($\text{Ni}8\text{C}_n$ $n = 3, 4, 6$ ou 11 atomes de carbone) entre le cœur dithiolène et les fragments cholestérol. Tous ces complexes ont été obtenus en trois étapes selon le même schéma réactionnel (Figure 18).

La première étape est une réaction d'estérification du chloroformate de cholestérol **12** par le bromoalcool désiré. L'utilisation de pyridine est nécessaire à la réaction pour accéder aux dérivés bromo-cholestérol **13a**, **13b**, **13c** et **13d**. Dans la deuxième étape, l' α -cétone tétra-hydroxy **8'**, obtenue selon le schéma réactionnel décrit précédemment (Chapitre 2, Figure 22), est d'abord déprotonée en présence de carbonate de potassium (K_2CO_3). Les fonctions phénolates résultantes réagissent avec les dérivés bromés **13a-d** par substitution nucléophile, afin de donner, après purification, les précurseurs **14a**, **14b**, **14c** ou **14d**. La dernière étape est la formation du complexe de nickel. Pour cela, l' α -cétone tétra-cholestérol **14a-d** choisie est tout d'abord engagée dans une réaction de sulfuration, en présence de P_4S_{10} . L'intermédiaire thiophosphoré est ensuite hydrolysé en présence de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, afin de donner après réaction de coordination les complexes neutres $\text{Ni}8\text{C}_3$, $\text{Ni}8\text{C}_4$, $\text{Ni}8\text{C}_6$ ou $\text{Ni}8\text{C}_{11}$ avec de bons rendements.

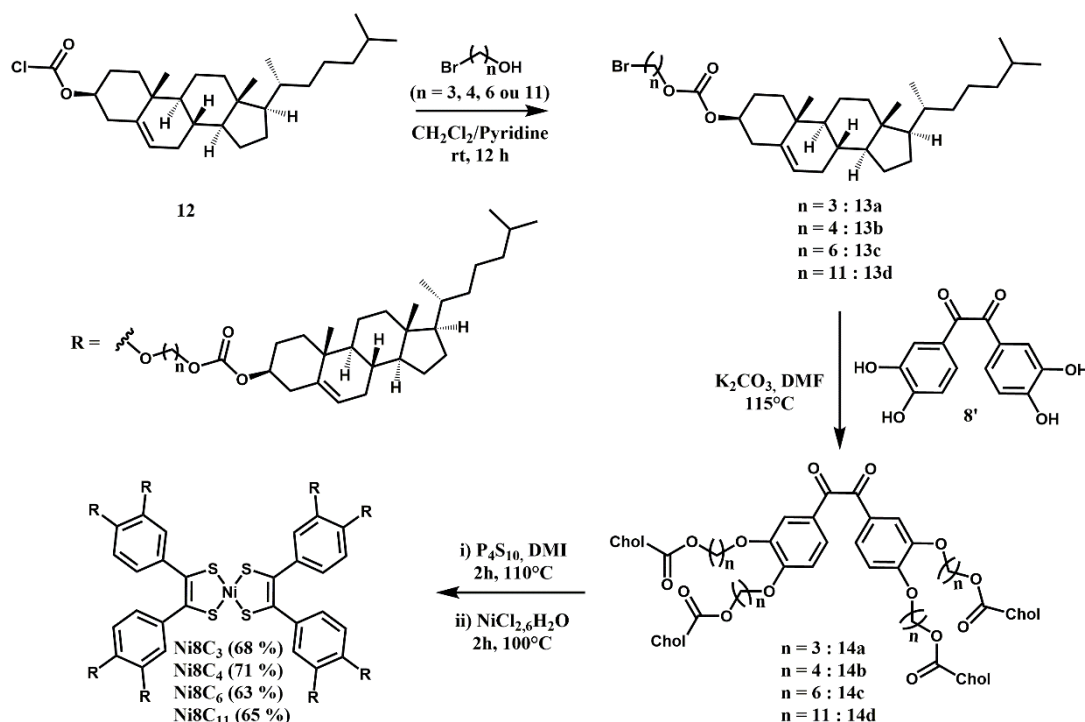


Figure 18 : Voies de synthèse des complexes $[\text{Ni}(\text{dphtd})_2]^0\text{-(cholestérol)}_8$ $\text{Ni}8\text{C}_3$, $\text{Ni}8\text{C}_4$, $\text{Ni}8\text{C}_6$ et $\text{Ni}8\text{C}_{11}$.

Une fois nos complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{cholestérol})_8$ synthétisés, des caractérisations par UV-Vis-NIR, voltampérométrie cyclique et des tests de formation de métallogels à l'aide de la méthode du « tube inversé » ont été menées. Ces études vont être maintenant décrites ci-dessous.

2.2.2. Caractérisation et tests de gélification des complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{cholestérol})_8$

Ces nouveaux complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^{0-}(\text{cholestérol})_8$ ont tout d'abord été analysés par spectroscopie UV-Vis-NIR afin de déterminer la longueur d'onde du maximum d'absorption dans le NIR (Figure 19). Dans ce but, différentes solutions de complexes $\text{Ni}8\text{C}_n$ ($n = 3, 4, 6, 11$) dans le chloroforme ont été préparées puis analysées ($[\text{C}] = 10^{-5}$ mol/L, Figure 19).

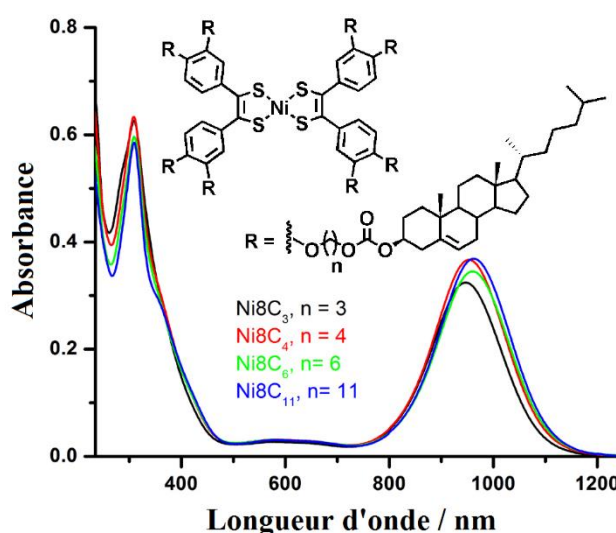


Figure 19 : Spectroscopie UV-Vis-NIR de différentes solutions de complexes $\text{Ni}8\text{C}_n$ dans le dichlorométhane à une concentration de 10^{-5} mol/mL

Les résultats montrent des maxima d'absorption entre 950-960 nm qui sont caractéristiques de ce cœur métal-bis(dithiolène). Il faut noter que la longueur de la chaîne carbonée des $\text{Ni}8\text{C}_n$ ($n = 3, 4, 6, 11$) a peu d'influence sur la valeur du maximum d'absorption. Les complexes ont également été caractérisés par voltampérométrie cyclique (Figure 20), en solution dans le dichlorométhane. Ces mesures mettent en évidence deux systèmes réversibles ($E_{1/2}$) centrés à -0,07 V et à -0,85 V ainsi qu'une oxydation irréversible autour de +0,9 V. Ces valeurs correspondent respectivement à la réduction du complexe neutre en espèces monoanionique et dianionique. Il faut noter que la longueur de la chaîne carbonée a ici encore peu d'influence sur les potentiels rédox. Les propriétés de gélification des différents $\text{Ni}8\text{C}_n$ ont également été étudiées à l'aide de la méthode du « tube inversé ».

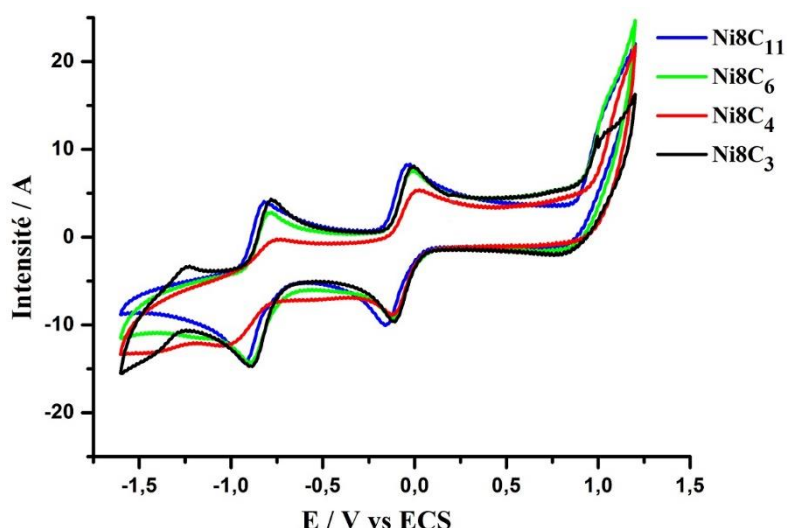


Figure 20 : Voltammogramme cyclique à 0,1 V/s des complexes Ni8C₁₁, Ni8C₆, Ni8C₄, Ni8C₃ en solution dans le CH₂Cl₂/[NBu₄][PF₆] à une concentration de 0,2 mol/L et à température ambiante.

Cette expérience consiste à solubiliser à chaud le gélifiant dans le solvant désiré puis à laisser la solution refroidir à température ambiante (Ta). Une fois que l'échantillon est à Ta, il est retourné. Le métallogel est formé s'il ne désagrège pas sous l'effet de son propre poids. De cette façon, plusieurs essais ont été réalisés dans différents solvants, polaire, apolaire, protique et aprotique (Tableau 1). Dans un premier temps, le complexe et le solvant sont additionnés dans un tube et le mélange hétérogène est chauffé afin de solubiliser le complexe. Une fois que la solution est devenue homogène, l'échantillon est refroidi à température ambiante pendant une nuit puis retourné. Il peut alors y avoir quatre possibilités, soit le complexe reste insoluble dans le solvant même à chaud, soit il reprécipite à température ambiante, soit le mélange reste sous forme de solution (sol) après refroidissement, soit le mélange a formé un métallogel et le solvant est piégé dans le réseau tridimensionnel. Dans ce dernier cas, la concentration minimum de gélification (CMG, mg/mL) a été déterminée en diminuant au fur et à mesure la quantité de gélifiant jusqu'à ce qu'elle soit insuffisante pour former un métallogel stable. La CMG est alors la concentration la plus faible en gélifiant permettant d'obtenir le métallogel. La température de transition sol-gel ($T_{\text{sol-gel}}$, °C) a quant à elle été mesurée par calorimétrie différentielle à balayage (Differential Scanning Calorimetry, DSC, Annexe D-1, D-2 et D-3).

solvent	Ni8C ₃	Ni8C ₄ (CMG; T _{sol-gel})	Ni8C ₆ (CMG; T _{sol-gel})	Ni8C ₁₁
Hexane	Soluble	Gel (16; -) ^a	Gel (20; -) ^a	Soluble
Heptane	Soluble	Gel (18; 34,5)	Gel (24; 47,3)	Soluble
Décane	Soluble	Gel (23; 35,7)	Gel (28; 51,1)	Soluble
Dodécane	Soluble	Gel (27; 30,6)	Gel (36; 54,5)	Soluble
Cyclohexane	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Dichlorométhane	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Chloroforme	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
THF	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Toluène	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Dioxane	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Acétate d'éthyle	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble
DMF	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble

Tableau 1 : Tests de gélification des différents complexes dans plusieurs solvants. La concentration minimum de gélification (CMG en mg/mL) et la température de transition sol-gel (T_{sol-gel}, °C) a été déterminée pour chaque métallogel. ^aT_{sol-gel} n'a pas pu être mesurée dans l'hexane du fait de son évaporation rapide lors de la préparation des échantillons par DSC.

Alors que les complexes Ni8C₃ et Ni8C₁₁ sont inefficaces pour former des métallogels, les Ni8C₄ et Ni8C₆ sont de bons métallogélifiants des alcanes linéaires tels que l'hexane, l'heptane, le décane et le dodécane. En effet, lorsqu'ils sont solubilisés à chaud puis refroidis à température ambiante, ils forment des métallogels robustes et stables pendant des mois. Les mesures DSC révèlent qu'un métallogel à base de Ni8C₄ passe sous forme de solution à une température d'environ 35°C, alors que la T_{sol-gel} d'un métallogel à base de Ni8C₆ est d'environ 50°C. Cette différence dépend principalement de la nature du complexe et non du solvant.

Il faut noter que ces métallogélifiants *octa*-substitués par des cholestérols sont moins efficaces que les *tétra*-substitués décrits dans la partie 1.2.4. En effet, la concentration minimum pour former le métallogel est d'environ 27 mg/mL en Ni8C₄ dans le dodécane contre 0,7 mg/mL en Ni4C₂. Cette différence est attribuée à des interactions moins fortes entre les complexes

Ni8C_n dues à des contraintes stériques plus importantes entre les molécules. L'absence du caractère métallogélifiant des Ni8C₃ et Ni8C₁₁ peut être due à un déséquilibre entre les interactions π - π et les interactions hydrophobes ou hydrophiles. De plus, les mesures de dichroïsme circulaire ont révélé que les fibres des Ni8C_n (n = 4 ou 6) ne sont pas chirales, contrairement à celles obtenues avec Ni4C₂.

Les observations par Microscopie à Force Atomique (AFM, Atomic Force Microscopy) des métallogels de Ni8C₄ et Ni8C₆ dilués dans l'hexane ont mis en évidence la présence d'assemblages fibrillaires (Figure 21). La formation de ce réseau tridimensionnel de fibres enchevêtrées est à l'origine de l'immobilisation du solvant. Le diamètre moyen de ces fibres est d'environ 50 nm pour Ni8C₄ et approximativement de 60 nm pour Ni8C₆ ce qui est supérieur à celui des complexes seuls. Par conséquent, le diamètre mesuré correspond en fait à celui de plusieurs fibres minces entrelacées.

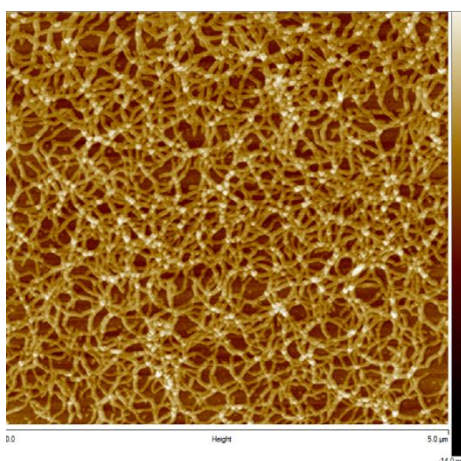


Figure 21 : Image AFM d'un métallogel de Ni8C₄ dans l'hexane ([C] = 2 mg/mL) déposé sur une surface de mica. Le gel a été dilué 5 fois avec de l'hexane afin de disperser les fibres.

La bande d'absorption des complexes Ni8C_n sous forme de métallogel a ensuite été mesurée puis comparée à celle des Ni8C_n en solution (Figure 22). Un léger élargissement de la bande et un faible effet hypsochrome du maximum d'absorption sont observés entre la solution de Ni8C₆ dans le dichlorométhane (959 nm) et le métallogel de Ni8C₆ dans le dodécane (945 nm). Cette observation est probablement due à l'agrégation des complexes Ni8C₆ au sein des fibres ou à un effet de solvant.

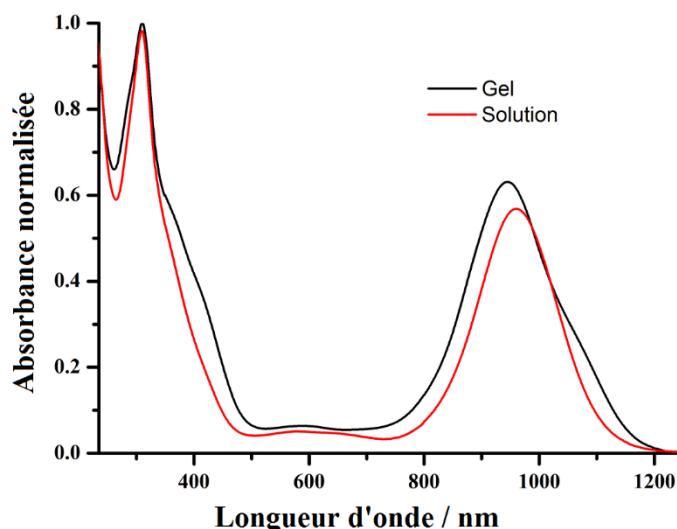


Figure 22 : Comparaison des spectres UV-Vis-NIR du complexe Ni8C₆ en solution dans le dichlorométhane et sous forme de métallogel dans le dodécane.

La forte absorption des complexes Ni8C₄ et Ni8C₆ sous forme de métallogel nous a amenés dans un premier temps à déterminer leur activité photothermique en solution puis à étudier cet effet sur des métallogels de Ni8C_n (n = 4 ou 6).

2.2.3. Étude de l'activité photothermique des métallogélifiants [Ni(dphedt)₂]⁰⁻(cholestérol)₈

En utilisant le même montage d'irradiation que dans le chapitre 2 (Figure 24), les premières études ont consisté à mesurer l'élévation de température (ΔT), sous irradiation laser NIR (1.3 W/cm², 10 min), de solutions de Ni8C₄ dans le décane à différentes concentrations (0-40 mg/mL). Les premiers résultats montrent que dans le décane pur (0 mg/mL), une légère augmentation de 4°C est observée après 10 min d'irradiation, alors que l'ajout de Ni8C₄ entraîne une hausse de température plus importante et dépendant de la concentration en complexe. En effet, à partir de 0,05 mg/mL, un effet photothermique est détecté, et il augmente de façon importante avec la concentration pour atteindre une élévation de température (ΔT) de 48 °C à une concentration de 10 mg/mL en Ni8C₄. Au-dessus de cette concentration, l'élévation de température diminue légèrement (Figure 23a et 23b). Ce phénomène est probablement dû à une pénétration moins efficace du laser dans la solution. En effet, il est possible que pour les échantillons trop concentrés, le faisceau laser soit totalement absorbé à l'entrée de la cuve. La chaleur émise met alors plus de temps à atteindre le thermocouple entraînant ainsi plus de perte de chaleur lors de sa diffusion. De plus, il faut noter que l'élévation de la température augmente avec la puissance d'irradiation laser.

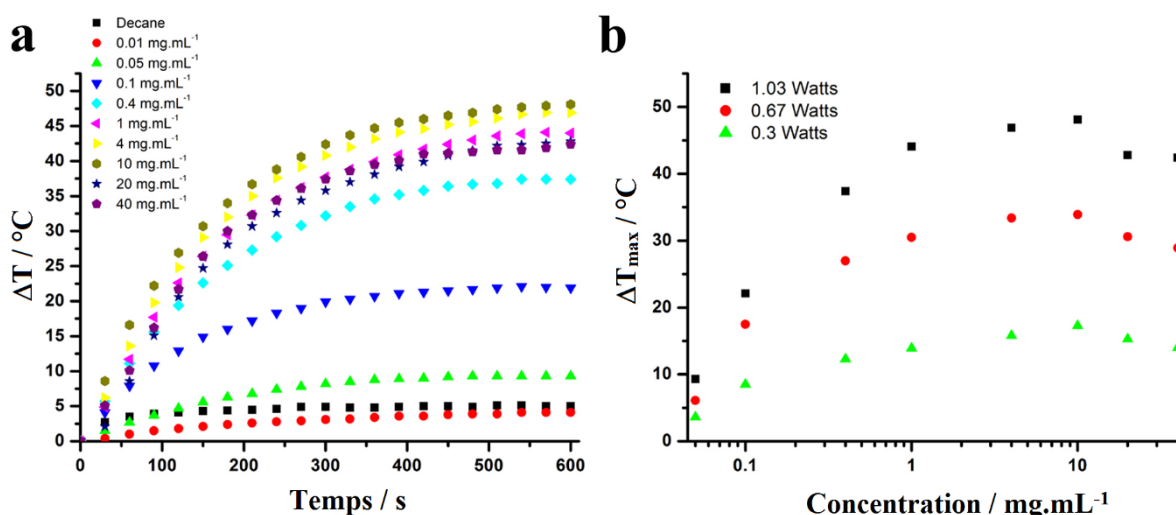


Figure 23 : (a) Mesures de l'élévation de température (ΔT) de solutions de Ni8C_4 dans le décane à différentes concentrations et sous irradiation laser (980 nm, 1,3 W/cm², 10 min); (b) Élévation de la température maximum atteinte (ΔT_{max}) en fonction de la concentration en Ni8C_4 et de la puissance d'irradiation.

La comparaison de l'activité photothermique de solutions équimolaires de Ni8C_4 et Ni8C_6 indique que l'élévation de température est plus importante avec les complexes Ni8C_4 (Figure 24). Cette observation est attribuée au fait que le Ni8C_4 a un coefficient d'absorption légèrement plus élevée à 980 nm que le complexe Ni8C_6 (Figure 19). Par conséquent, Ni8C_4 absorbe un peu plus l'énergie du laser, ce qui se traduit par une émission de chaleur un peu plus importante.

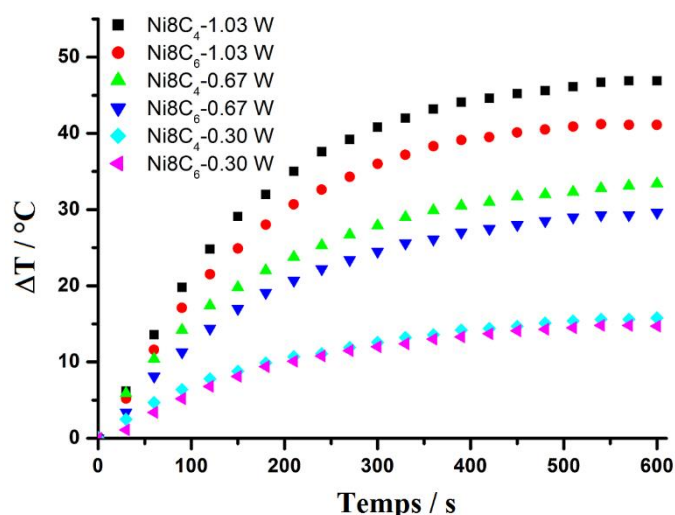


Figure 24 : Comparaison des élévations de température de solutions équimolaires de Ni8C_4 et Ni8C_6 dans le décane ($[C] = 0,9$ mmol/L) à différentes puissances d'irradiation laser (980 nm, 10 min).

En mesurant l'élévation de température d'une solution de Ni8C_4 dans le décane (0,1 mg/mL, Figure 25) et en utilisant l'équation de Roper et coll. présentée dans le chapitre 2 (5.2.2), l'efficacité photothermique (η) des complexes Ni8C_4 a pu être évaluée.

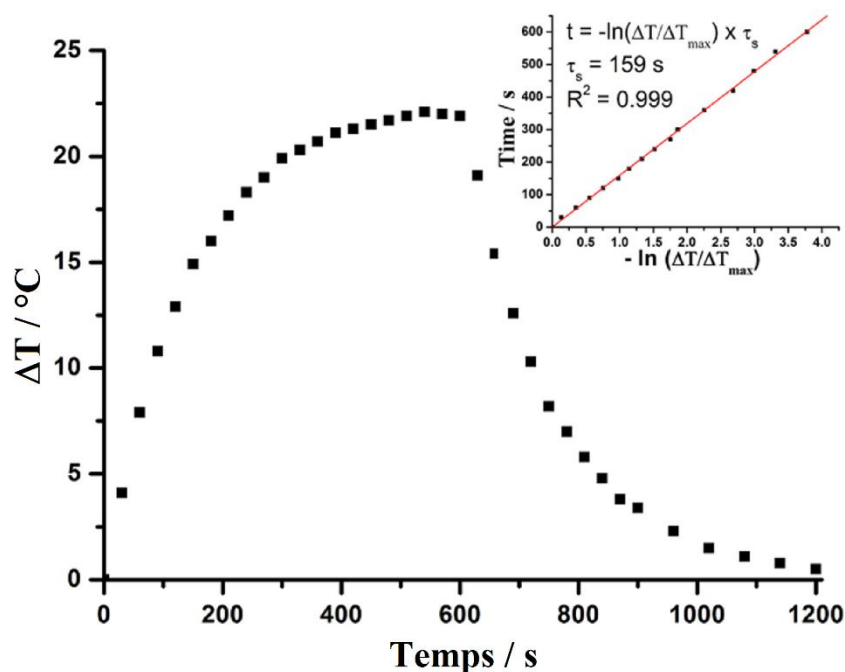


Figure 25 : Élévation de la température d'une solution de Ni8C₄ dans le décane à 0,1 mg/mL sous irradiation laser (980 nm, 1,03 W (1,3 W/cm²), 10 min ON / 10 min OFF). (Insert) Droite Temps = f(-ln(ΔT/ΔT_{max})) permettant d'obtenir la constante de temps du transfert de chaleur (τ_s) qui correspond au coefficient directeur.

$$\eta = \frac{(hS\Delta T_{max} - Q_{decane})}{I(1 - 10^{-A_{980}})} \quad (\text{Eq 1})$$

$hS = (m_{\text{decane}}C_{p\text{decane}})/\tau_s$	
$m_{\text{decane}} = 0,73 \text{ g}$	$0,010 \text{ J.s}^{-1}$
$C_{p\text{decane}} = 2,21 \text{ J.g}^{-1}$	
ΔT_{max}	$22,1^\circ\text{C}$
$\Delta T_{\text{max decane}}$	$5,0^\circ\text{C}$
I	$1,03 \text{ W}$
A_{980}	$0,747$

Les calculs permettent de déduire une efficacité photothermique d'environ 20 % pour les complexes Ni8C_n dans le décane. Comme précédemment ces résultats sont comparables à ceux des nanoparticules d'or (13-22%). De plus les analyses RMN et CCM ne montrent aucune dégradation du complexe, confirmant ainsi leur remarquable photostabilité. Par conséquent, nous allons maintenant nous intéresser aux propriétés photothermiques de nos complexes Ni8C₄ et Ni8C₆ sous forme de métallogel.

L'idée est ici d'utiliser les propriétés photothermiques des métallogélifiants Ni8C_n (n = 4 ou 6) sous irradiation laser NIR, afin de provoquer l'écoulement du métallogel en atteignant la température de transition sol-gel. Dans cet objectif, un métallogel de Ni8C₆ dans le dodécane a été préparé. Avant exposition laser, le gel peut supporter son propre poids sans s'écouler. Cependant après 1-2 min d'irradiation, il commence à se désagréger au niveau de l'impact du

faisceau laser sur la paroi (Figure 26 droite). Lorsque l'exposition laser est prolongée, le faisceau passe au fur et à mesure à travers le métallogel provoquant ainsi un écoulement de plus en plus important. Le gel est presque complètement décomposé après 5 min d'irradiation du fait des propriétés photothermiques du métallogélifiant Ni8C₆. La cinétique de déstructuration dépend à la fois de la concentration en métallogélifiants photoréactifs et de la puissance d'irradiation. Après désagrégation, le mélange liquide résultant reforme lentement le métallogel lorsque l'exposition laser est stoppée et que l'échantillon revient à température ambiante. Ces expériences démontrent que les propriétés photothermiques des métallogélifiants de Ni-bis(dithiolène) peuvent être utilisées pour contrôler leurs propriétés de gélification.

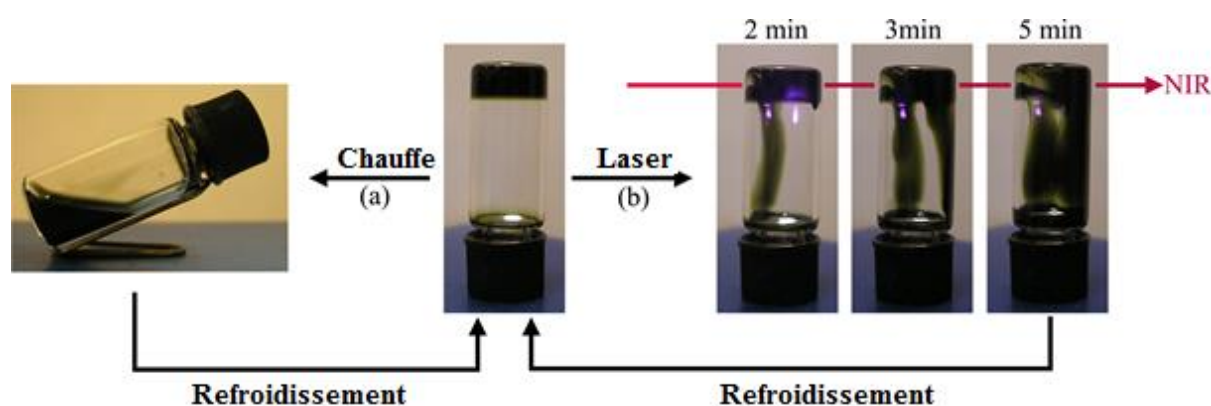


Figure 26 : Contrôle photothermique sous irradiation laser (980 nm, 0,96 W/cm², 5 min) de la transition réversible sol-gel d'un métallogel de Ni8C₆ dans l'heptane (48 mg/mL).

Il faut noter qu'à la puissance d'irradiation utilisée pour désagréger le métallogel (0,37 W soit 0,96 W/cm² pour un spot de 7 mm), l'élévation de température mesurée en solution ($\Delta T \sim 14^\circ\text{C}$ soit $T \sim 35^\circ\text{C}$) n'est pas suffisante pour atteindre la température de transition sol-gel ($\sim 50^\circ\text{C}$; Tableau 1). Néanmoins la désagrégation du gel a quand même lieu. Ceci est probablement dû au fait que sous forme de métallogel il y a moins de diffusion due au solvant et donc moins de perte de chaleur. Par conséquent la température atteinte dans le métallogel est supérieure à celle mesurée en solution, provoquant ainsi la désagrégation des fibres et l'écoulement du métallogel. Il est également possible que la température atteinte dans les fibres soit beaucoup plus élevée que celle mesurée par le thermocouple.

3. Conclusion

En conclusion, ces travaux ont démontré que les complexes de Ni-bis(dithiolène) peuvent être utilisés simultanément comme métallogélifiant et agent photoactif, contrairement aux organogels de dipeptides qui requièrent l'introduction de nanoparticules d'or pour pouvoir posséder des propriétés photothermiques (partie 2.1). Dans notre système, les groupements cholestérol permettent d'apporter les propriétés de gélification tandis que le cœur Ni-bis(dithiolène) fournit les propriétés photothermiques. De plus, ces complexes ont l'avantage d'avoir une bonne efficacité photothermique dans le NIR et d'être stables sous irradiation laser, permettant ainsi de faire plusieurs cycles de transition sol-gel sans altérer le métallogélifiant. De tels métallogels photoréactifs sous exposition laser NIR pourraient être très intéressants pour des applications biomédicales. En effet ces systèmes absorbent dans la fenêtre thérapeutique et pourraient être utilisés pour faire de la délivrance de principes actifs. Cependant, des hydrogels biocompatibles à base de Ni-bis(dithiolène) sont maintenant nécessaires pour que ces systèmes puissent trouver de réelles applications dans le domaine thérapeutique.

Il faut noter enfin que les complexes de $\text{Ni}8\text{C}_n$ libre en solution et utilisés lors de ces travaux de thèse possèdent une efficacité photothermique ($\eta \sim 20 \%$) légèrement supérieure au **Ni8PEG** précédemment étudiés pour la PTT ($\eta \sim 16 \%$). Ces résultats sont intéressants pour de futures applications biomédicales car plus le η est important, plus la puissance d'irradiation et les quantités de complexes utilisées pour atteindre l'hyperthermie seront faibles, minimisant ainsi les effets secondaires (altération des tissus sains, cytotoxicité de l'agent photoactifs...). Dans l'objectif d'obtenir des molécules toujours plus performantes, nous nous sommes intéressés à de nouveaux complexes de nickel N,N'-dialkylimidazolidine-2,4,5-trithione ($[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$) qui absorbent fortement dans le NIR. Les travaux réalisés sur ces nouveaux complexes vont être présentés dans le chapitre suivant.

- ¹ Piepenbrock, M. O. M.; Lloyd, G. O.; Clarke, N.; Steed, J. W. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1960-2004.
- ² Zinic, M.; Vogtle, F.; Fages, F. *Top. Curr. Chem.* **2005**, *256*, 39-76.
- ³ Yang, X.; Zhang, G.; Zhang, D. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 38-50.
- ⁴ Terech, P.; Weiss, R. G. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 3133-3159.
- ⁵ James, S. L. *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*, 276-288.
- ⁶ Babu, S. S.; Prasanthkumar, S.; Ajayaghosh, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1766-1776.
- ⁷ Vemula, P. K.; Li, J.; John, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8932-8938.
- ⁸ Koshi, Y.; Nakata, E.; Yamane, H.; Hamachi, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10413-10422.
- ⁹ Guler, M. O.; Stupp, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12082-12083.
- ¹⁰ Koumura, N.; Kudo, M.; Tamaoki, N. *Langmuir* **2004**, *20*, 9897-9900.
- ¹¹ Eastoe J.; Sanchez-Dominguez M.; Wyatt P.; Heenan R. K. *Chem. Commun.* **2004**, *22*, 2608-2609.
- ¹² Ayabe, M.; Kishida, T.; Fujita, N.; Sada, K.; Shinkai, S. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2744-2747.
- ¹³ Qiu, Z.; Yu, H.; Li, J.; Wang, Y.; Zhang, Y. *Chem. Commun.* **2009**, *23*, 3342-3344.
- ¹⁴ Roubeau, O.; Colin, A.; Schmitt, V.; Clérac, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3283-3286.
- ¹⁵ Liu, Y.; He, L.; Zhang, J.; Wang, X.; Su, C. *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 557-563.
- ¹⁶ Kishimura, A.; Yamashita, T.; Aida, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 179-183.
- ¹⁷ Kadjane, P.; Starck, M.; Camerel, F.; Hill, D.; Hildebrandt, N.; Ziessel, R.; Charbonnière, L. *J. Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 4601-4603.
- ¹⁸ Benito, Q.; Fargues, A.; Garcia, A.; Maron, S.; Gacoin, T.; Boilot, J.; Perruchas, S.; Camerel, F. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 15831-15835.
- ¹⁹ Perochon, R.; Davidson, P.; Rouzière, S.; Camerel, F.; Piekara-Sady, L.; Guizouarn, T.; Fourmigué, M. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 1416-1422.
- ²⁰ Debnath, S.; Bergamini, J.-F.; Artzner, F.; Meriadec, C.; Camerel, F.; Fourmigué, M. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 2283-2285.
- ²¹ Petrova, R. I.; Swift, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1168-1173.
- ²² Ono, Y.; Nakashima, K.; Sano, M.; Kanekiyo, Y.; Inoue, K.; Shinkai, S.; Sano, M.; Hojo, J. *Chem. Commun.* **1998**, *14*, 1477-1478.
- ²³ Ajayaghosh, A.; George, S. J.; Praveen, V. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 332-335.
- ²⁴ Erdogan, H.; Sakalak, H.; Yavuz, M. S.; Demirel, G. *Langmuir* **2013**, *29*, 6975-6982.

Chapitre 5 : Ni-bis(timdt) : des complexes à fort potentiel

Chapitre 5 : Ni-bis(timdt) : des complexes à fort potentiel

L'objectif de cette partie est de synthétiser des complexes Ni-bis(dithiolène) possédant une efficacité photothermique (η) plus élevée que ceux décrits précédemment. Dans ce but, des composés non-luminescents ayant une forte absorption dans le NIR ont été étudiés, en supposant qu'une plus forte absorption sera associée à une quantité de chaleur émise plus importante. La première partie bibliographique présentera les complexes de nickel de N,N'-dialkylimidazolidine-2,4,5-trithione ($[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$, timdt : «thione-imidazolidine-dithiolate»), qui sont connus pour leur absorption élevée dans le NIR. La seconde partie portera quant à elle sur les travaux effectués durant cette thèse sur ce type de complexes afin d'obtenir des agents photoactifs très efficaces.

1. Introduction

Les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ ont été décrits pour la première fois en 1995 par Deplano et coll. (Figure 1).¹ Ils ont été obtenus par sulfuration de la 1,3-dialkylimidazolidine-2-thione-4,5-dione **15a-c** en présence du réactif de Lawesson, puis complexation par ajout de chlorure de nickel (II) hexahydrate ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Trois complexes neutres différents portant des groupes éthyle (Et) **16a**, isopropyle (iPr) **16b** ou butyle (Bu) **16c** ont été isolés.

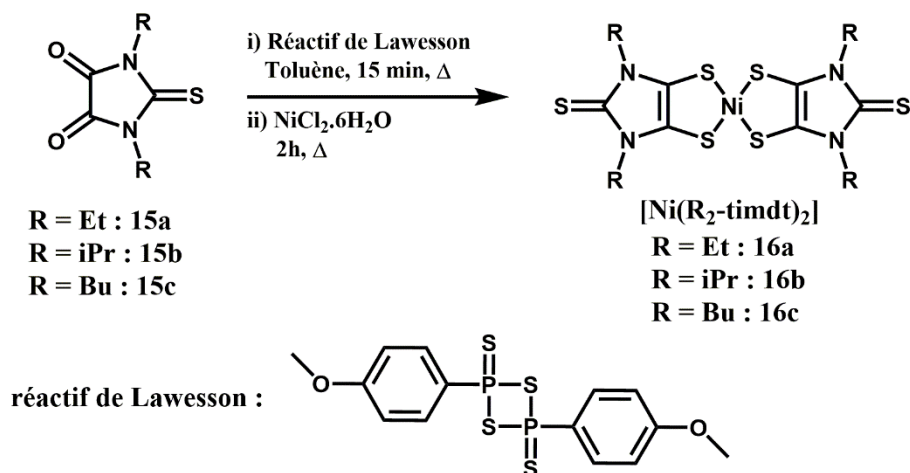


Figure 1 : Voie de synthèse décrite par Deplano et coll. afin d'obtenir les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **16a**, **16b** et **16c**. Ref 1

Les mesures de potentiels rédox indiquent que les formes anioniques $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^{-1}$ s'oxydent facilement ($E^{1/2} (-1/0) \sim 0,10 \text{ V}$, Figure 2), c'est pourquoi ces complexes sont isolés

¹ Bigoli, F.; Deplano, P.; Devillanova, F. A.; Lippolis, V.; Lukes, P. J.; M., Maria L.; Pellinghelli, M. A.; Trogu, E. F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 3, 371-372.

sous leur forme neutre lorsqu'ils sont manipulés à l'air. De plus, l'analyse UV-Vis-NIR, par exemple de $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]$ montre qu'il absorbe à 1000 nm avec un coefficient d'absorption molaire d'environ $80\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. Cette valeur est largement supérieure à celles des autres complexes Ni-bis(dithiolène) reportées jusqu'à maintenant ($\epsilon \sim 15\,000\text{--}40\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Par conséquent, il a été envisagé d'utiliser ces composés comme colorants dans des lasers pulsés de néodymium (Chapitre 1, 3.2.).² Cependant le rendement de la synthèse de tels complexes est faible ($\sim 10\%$), limitant ainsi leur utilisation.

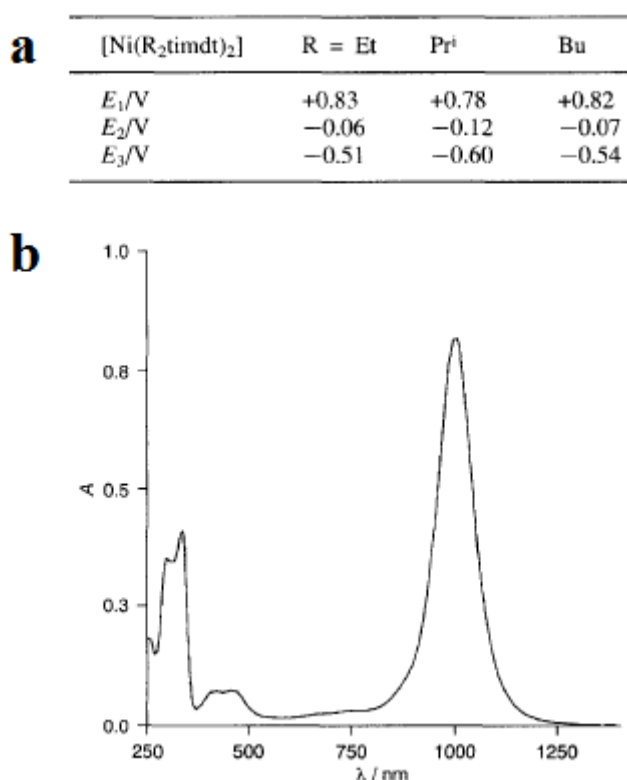


Figure 2 : (a) Potentiels de demie vague des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ mesurés vs ECS à une concentration de 1.10^{-3} M dans le dichlorométhane et en présence de NBu_4BF_4 ; (b) Spectre UV du complexe $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]$ en solution dans le chloroforme ($[\text{C}] = 1.10^{-4}\text{ M}$). Ref 1

Au vu des propriétés optiques très intéressantes de ces complexes, Deplano et coll. ont continué à travailler avec les $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ afin d'optimiser le rendement de la réaction.³ En 1997, ils démontrent qu'en remplaçant le $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ par de la poudre métallique de Ni^0 , le complexe $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]$ est cette fois-ci isolé avec un rendement de 40 % contre 10 % lors de l'étude précédente. Cependant, le rendement de synthèse des complexes portant des groupes linéaires (Me, Et, Bu) n'est pas amélioré (10 %). En fait, ils supposent que l'encombrement

² Mueller-Westerhoff, U. T.; Vance, B.; Yoon, D. I. *Tetrahedron* **1991**, 47, 909-932.

³ Pellinghelli, M. A.; Williams, J. M.; Trogu, E. F.; Bigoli, F.; Deplano, P.; Devillanova, F. A.; Ferraro, J. R.; Lippolis, V.; Lukes, P. J.; Mercuri, M. L. *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1218-1226.

stérique du groupe isopropyle évite probablement la formation de sous-produits soufrés, qui sont isolés en grande quantité avec des groupes moins volumineux.

En s'appuyant sur ces résultats, Arca et coll. synthétisent en 1999 un grand nombre de complexes symétriques $[M(R_2\text{-timdt})_2]$ et dissymétriques $[M(R,R'\text{-timdt})_2]$, selon la méthode de synthèse décrite précédemment (réactif de Lawesson + Ni^0 ou Ni^{II}).⁴ Leur objectif est alors d'obtenir un complexe métal-bis(dithiolène) ayant une absorption très proche de la longueur d'onde d'excitation des lasers Nd/YAG (1060 nm), afin de les utiliser comme commutateur optique dans le dispositif décrit précédemment (Chapitre 1, Figure 18). Par conséquent, le centre métallique (nickel (Ni^0), palladium ($PdCl_2$) ou platine ($PtCl_2$)) et les substituants (donneurs ou attracteurs) ont été modifiés. Les différents complexes isolés confirment la forte absorbance de ces complexes métal-bis(dithiolène) avec un coefficient d'absorption molaire d'environ $80\,000\,M^{-1}.cm^{-1}$. Cependant les rendements de réaction restent toujours faibles pour les complexes symétriques ou portant des groupements attracteurs (5-10 %) et peuvent aller jusqu'à 55 % dans le cas des complexes dissymétriques possédant des substituants encombrants.

En conclusion, les complexes $[M(R,R'\text{-timdt})_2]$ ($R = R'$ ou $R \neq R'$) possèdent une très forte absorption dans le NIR, ce qui en fait des candidats très prometteurs pour des applications mettant en jeu des propriétés photothermiques (PTT, PTCR...). Néanmoins la difficulté pour les obtenir est un frein important à leur développement. Par conséquent, nos travaux vont d'abord porter sur la mise au point d'une nouvelle voie de synthèse permettant d'obtenir des complexes neutres $[Ni(R_2\text{-timdt})_2]$ symétriques avec un rendement intéressant.

⁴ Aragoni, M. C.; Arca, M.; Demartin, F.; Devillanova, F. A.; Garau, A.; Isaia, F.; Lelj, F.; Lippolis, V.; Verani, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7098-7107.

2. Synthèse et propriétés des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$

Cette partie est dédiée aux travaux de thèse réalisés sur les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$. Nous commencerons par présenter la nouvelle voie de synthèse mis au point pour obtenir ces complexes avec de bons rendements. Nous déterminerons ensuite les propriétés électroniques, optiques et thermiques de ces complexes. Le dernier paragraphe sera quant à lui consacré à l'étude de l'activité photothermique de nos nouveaux complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$.

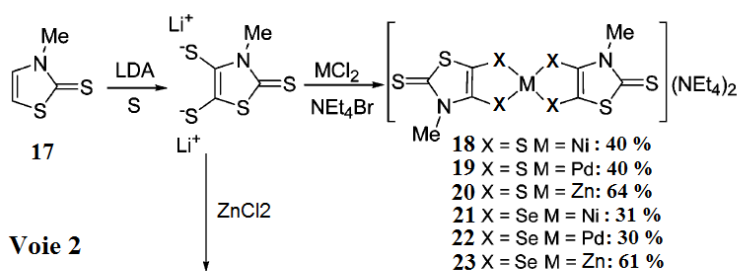
2.1. Nouvelle voie de synthèse des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$

Dans le but d'obtenir des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ avec un rendement supérieur à celui obtenu par la voie de synthèse originale, nous nous sommes inspirés des travaux réalisés antérieurement au sein du laboratoire sur les complexes métal-N-méthyl-1,3-thiazoline-2-thione-4,5-dithiolate $[\text{M}(\text{Me-thiazdt})_2]$ (Figure 3). En effet, en 2006, Lorcy et coll. montrent que l'utilisation successive de lithium diisopropylamine (LDA) et de soufre (S_8) ou de sélénium (Se) sur le ligand 1,3-thiazoline-2-thione **17** permet d'obtenir l'intermédiaire dithiolate ou diselonnate,^{5,6} qui réagit ensuite avec le centre métallique, introduit dans un deuxième temps, pour donner les complexes dianioniques désirés avec des rendements intéressants (Figure 3). De plus, une deuxième voie de synthèse a été mise au point. Cette fois-ci, le complexe de Zn isolé dans un premier temps est alkylé en dérivé cyanoéthyle **24** ou **25**, qui, par réaction de déprotection/métallation, donne les complexes dianioniques désirés. Cependant, seul le rendement global de la réaction permettant d'isoler le complexe **18** est amélioré. Notre choix s'est donc porté sur la voie 1, pour tenter d'isoler nos complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$, car elle met en jeu moins d'étapes tout en ayant des rendements comparables.

⁵ Eid, S.; Guerro, M.; Lorcy, D. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 8333-8336.

⁶ Eid, S.; Fourmigué, M.; Roisnel, T.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 10647-10654.

Voie 1



Voie 2

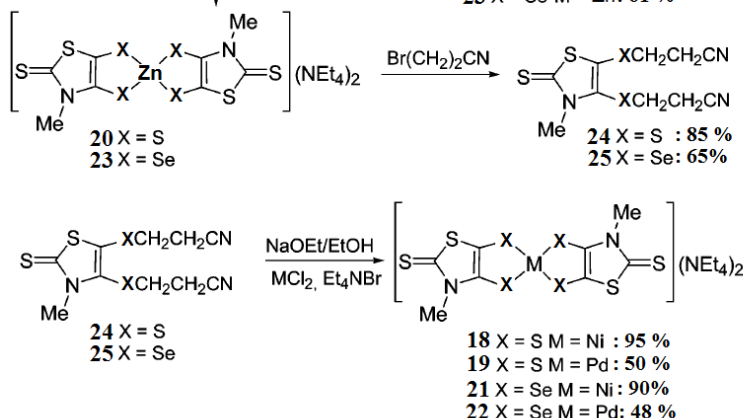


Figure 3 : Illustration des différents voies de synthèse mis au point par Lorcy et coll. afin d'isoler des complexes de nickel, de zinc et de palladium N-méthyl-1,3-thiazoline-2-thione-4,5-dithiolate [M(Me-thiazdt)₂]. Ref 6

L'adaptation de cette procédure à la préparation des complexes [Ni(R₂-timdt)₂] requiert par conséquent les dérivés N,N'-dialkylimidazole-2-thione **28a-g** correspondants (Figure 4). Ces précurseurs sont obtenus en deux étapes. La première consiste à préparer les sels d'imidazolium **27a-g** par double alkylation de l'imidazole **26** avec des groupes bromo-alcane R-Br (R = *n*-C₄H₉, *n*-C₈H₁₇, *n*-C₁₂H₂₅, *n*-C₁₆H₃₃, 2-éthylhexyle, 2-butyloctyle, phytanyle). Cette réaction se fait dans un premier temps en présence d'hydroxyde de potassium (KOH, 2 éq) qui déprotone l'azote de l'imidazole, ce dernier réagit alors par substitution nucléophile (S_N2) sur le bromoalcane (1éq). Après traitement de la réaction, l'imidazole monoalkylé brut, en solution dans le toluène, réagit à nouveau par S_N2 sur un deuxième équivalent de bromoalcane (1 éq) pour donner, sans purification, les sels de bromure d'imidazolium correspondants **27a-g** sous forme de liquide ionique. La deuxième étape consiste à oxyder en thione l'atome de carbone en position 2, situé entre les deux atomes d'azote. Le carbonate de potassium (K₂CO₃, 1 éq) permet de déprotomer l'atome de carbone, qui est oxydé par S₈ pour donner, après réarrangement, la fonction thione souhaitée. Les analyses, après purification sur colonne, confirment la formation des précurseurs **28a-g** avec des rendements de réaction allant de 40 % à 75 %.

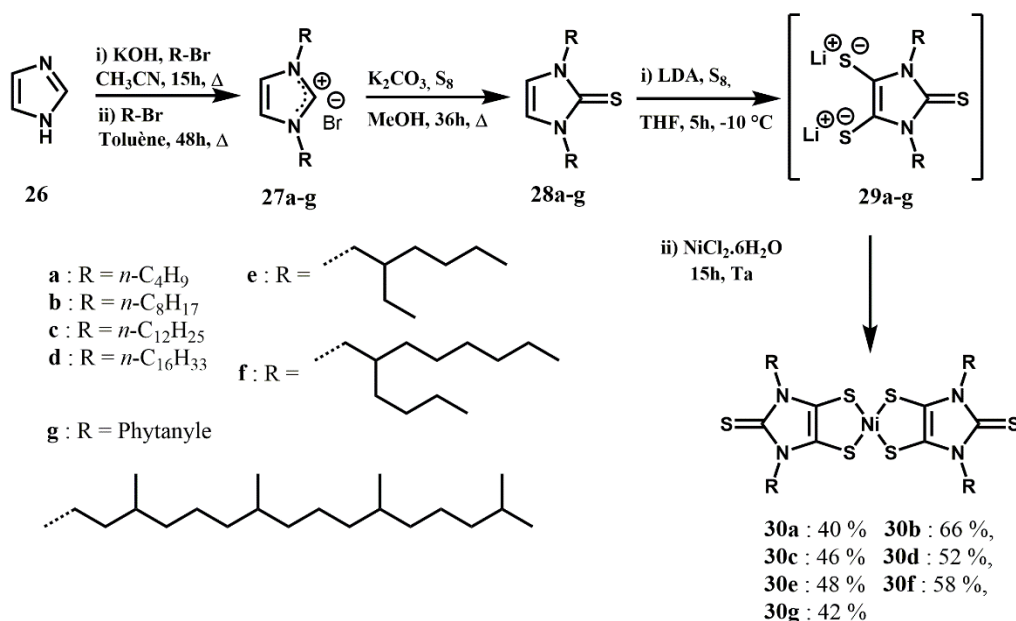


Figure 4 : Schéma de synthèse des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ (R = R = *n*-C₄H₉, *n*-C₈H₁₇, *n*-C₁₂H₂₅, *n*-C₁₆H₃₃, 2-éthylhexyle, 2-butyloctyle, phytanyle)

La procédure lithiation/sulfuration/méallation a ensuite été appliquée à ces précurseurs **28a-g** dans le but d'obtenir les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **30a-g**. Dans ce but, les N,N'-dialkylimidazole-2-thiones **28a-g** sont déprotonées dans un premier temps en présence de LDA (3,5 éq), puis réagissent dans un second temps avec le S₈ (3,5 éq) afin de former les dérivés dithiolate correspondants **29a-g**. Ces intermédiaires réactionnels soufrés **29a-g** réagissent ensuite avec NiCl₂·6H₂O (0,5 éq) ajouté à la solution, pour donner après 15h d'agitation à l'air et à température ambiante, les complexes désirés directement sous forme neutre. Les $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **30a-g** purifiés par colonne chromatographique sont obtenus sous forme de solides vert foncé ou marron foncé, excepté celui portant des groupements phytanyle qui est isolé sous forme d'une huile marron. Les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **30a-g** ont été isolés, en partant des précurseurs **28a-g**, avec de bons rendements allant de 40 % à 66 %. En comparaison avec la voie de synthèse originale, ce schéma synthétique permet d'obtenir les complexes symétriques avec un bien meilleur rendement. En effet, auparavant le complexe $[\text{Ni}(\text{Bu}_2\text{-timdt})_2]$ **30a** était isolé, en partant du dérivé dione **15c** (Figure 1), avec un rendement de 10 % alors qu'il est de 40 % avec la nouvelle voie de synthèse. La structure moléculaire et la pureté des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ ont été confirmées par analyse élémentaire, Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et spectrométrie de masse.

De plus, des cristaux de bonne qualité du composé $[\text{Ni}(\text{Bu}_2\text{-timdt})_2]$ **30a** ont pu être isolés afin d'obtenir une structure cristalline. Cette étude indique que la molécule **30a** cristallise

dans le groupe d'espace $P2_1/c$ du système monoclinique (Annexe E-15). Elle est localisée sur un centre d'inversion (Figure 5a).

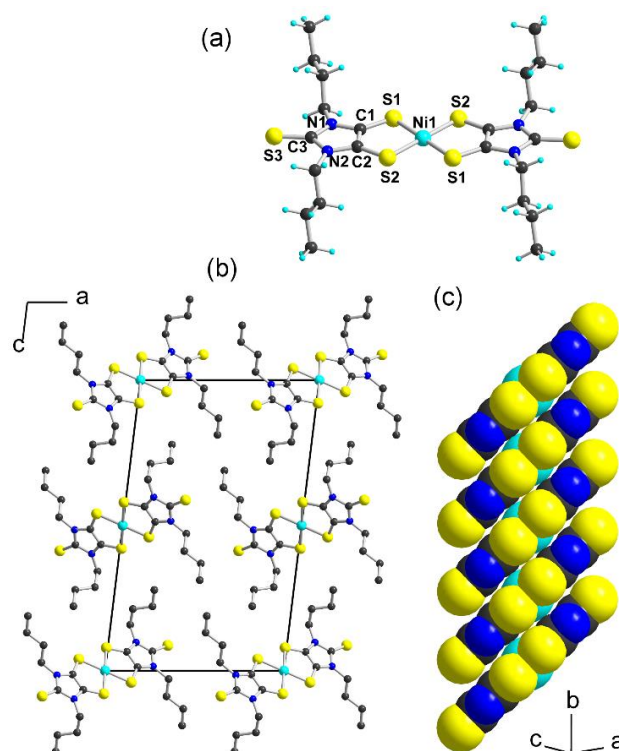


Figure 5 : (a) Structure moléculaire du complexe $[\text{Ni}(\text{Bu}_2\text{-timdt})_2]$ **30a**; (b) Projection de la maille du complexe $[\text{Ni}(\text{Bu}_2\text{-timdt})_2]$ **30a** selon l'axe b ; (c) Détail de l'empilement des complexes $[\text{Ni}(\text{Bu}_2\text{-timdt})_2]$ **30a** le long de l'axe b (les atomes d'hydrogènes ont été supprimés sur l'image (b) et (c) pour plus de clarté).

Les longueurs de liaisons mesurées et reportées dans le Tableau 1 sont comparables à celles des complexes neutres de $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]$ et de $[\text{Ni}(\text{iPrMe-timdt})_2]$ décrites par Deplano et Arca.^{1,4} Cependant il faut noter qu'il y a une différence entre les distances mesurées pour les complexes neutres et celles décrites pour les complexes monoanioniques $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]^{-1}$. En effet, la liaison $\text{C}=\text{C}$ des complexes neutres est plus longue et leurs liaisons $\text{C}-\text{S}$ et $\text{C}-\text{N}$ plus courtes. Ce résultat indique que sous forme oxydée (neutre), les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ ont une délocalisation des électrons π sur l'ensemble de la moitié dithiolène. De plus, à l'état solide, les complexes **30a** s'empilent les uns sur les autres le long de l'axe b (Figure 5c), avec des distances $\text{S}\cdots\text{S}$ intermoléculaires dépassant 3,79 Å. Il n'y a donc pas de contacts $\text{S}\cdots\text{S}$ intermoléculaires puisque le rayon de van der Waals des atomes de soufre est de 1,80 Å. De plus, ces empilements colonnaires sont séparés les uns des autres dans le plan ac , du fait de l'encombrement stérique des chaînes butyles ordonnées (Figure 5b).

[Ni(RR'-timdt) ₂]	R = R' = iPr	R = R' = iPr	R = iPr, R' = Me	30a , R = R' = nBu
Référence	⁷	1	4	Ce travail
Etat d'oxydation	monoanion	neutre	neutre	neutre
a (Ni-S)	2,1674(7)	2,158(4)	2,163(30)	2,172(3)
b (S-C)	1,702(15)	1,695(14)	1,681(26)	1,684(5)
c (C=C)	1,353(14)	1,385(15)	1,396(8)	1,402(6)
d (C-N)	1,391(15)	1,374(17)	1,365(20)	1,379(5)
e (N-C(=S))	1,368(14)	1,385(16)	1,383(17)	1,377(5)
f (C=S)	1,660(16)	1,649(14)	1,377(5)	1,664(4)

Tableau 1 : Caractéristiques structurales du complexe [Ni(Bu₂-timdt)₂] **30a** et des complexes de référence.

En conclusion, cette nouvelle approche synthétique permet d'isoler, avec de bons rendements, une nouvelle série de complexes neutres symétriques [Ni(R₂-timdt)₂] portant des groupes alkyles linéaires ou ramifiés. Les analyses et la structure RX obtenues confirment l'obtention de ces nouveaux complexes. Les travaux qui vont être décrits ci-dessous vont maintenant porter sur les propriétés optiques, électrochimiques et thermiques de ces complexes. Une troisième partie sera ensuite consacrée à leurs propriétés photothermiques.

2.2. Propriétés optiques, électrochimiques et thermiques des [Ni(R₂-timdt)₂]

2.2.1. Propriétés optiques des complexes [Ni(R₂-timdt)₂]

Les propriétés optiques des complexes symétriques [Ni(R₂-timdt)₂] (R = *n*-C₄H₉ **30a**, *n*-C₈H₁₇ **30b**, *n*-C₁₂H₂₅ **30c**, *n*-C₁₆H₃₃ **30d**, 2-éthylhexyle **30e**, 2-butyloctyle **30f**, phytanyle **30g**), ont été étudiées, dans un premier temps par spectroscopie UV-Vis-NIR, en solution dans le dichlorométhane (Figure 6a). Les spectres d'absorption de ces complexes présentent trois bandes d'absorption dans la région UV à 300 nm, 340 nm et 450 nm qui sont dues à des transitions π - π^* localisées sur le ligand dithiolène. La bande d'absorption la plus forte est quant à elle située dans la région NIR entre 800 nm et 1200 nm avec un maximum d'absorption autour de 1000 nm et un coefficient d'absorption molaire élevé ($\epsilon \sim 40\,000$ - $80\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Les

⁷ Bigoli, F.; Deplano, P.; Mercuri, M. L.; Pellinghelli, M. A.; Pintus, G.; Trogu, E. F.; Zonnedda, G.; Wang, H. H.; Williams, J. M. *Inorg. Chim. Acta.* **1998**, 273, 175–183.

résultats obtenus avec nos complexes de $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ sont similaires à ceux des $[\text{M}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ déjà rapportés dans la littérature et décrits en introduction. Cependant, il faut noter que l'intensité de la bande d'absorption de nos complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ dans le NIR varie en fonction des substituants. En effet des ϵ de $80\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ sont observés pour des complexes avec des chaînes alcane ramifiées (**30e**, **30f** et **30g**), tandis que des ϵ entre $40\,000$ et $60\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ont été trouvés pour les complexes portant des chaînes linéaires (**30a-d**).

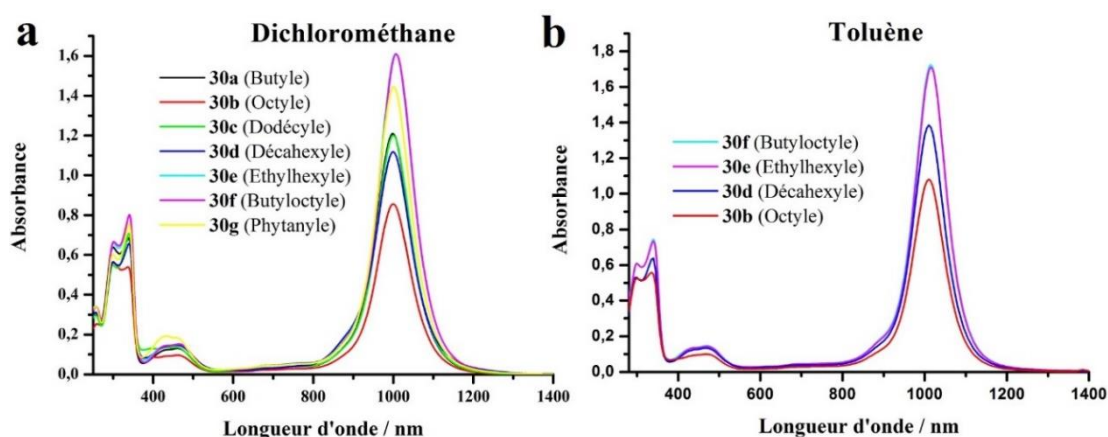


Figure 6 : Spectres UV-Vis-NIR de nos complexes de $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ (a) dans le dichlorométhane ($[\text{C}] = 1 \times 10^{-2}\text{ M}$), (b) dans le toluène ($[\text{C}] = 9.6 \times 10^{-6}\text{ M}$).

Pour déterminer si cette variation d'intensité est due à une agrégation spécifique de certains complexes dans le dichlorométhane, d'autres mesures ont été réalisées cette fois-ci en solution dans du toluène (Figure 6b). Les résultats obtenus sont similaires à ceux mesurés dans le dichlorométhane. Il serait intéressant de réaliser de nouvelles mesures dans un plus grand nombre de solvants, afin de déterminer si ces différences de ϵ sont dues aux solvants ou aux complexes. De plus, il faut noter qu'avec nos complexes en solution dans le toluène, il y a un léger déplacement du maximum d'absorption vers le rouge (8 nm) et que leur coefficient d'absorption molaire augmente aussi pour atteindre une valeur allant jusqu'à $85\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ pour les complexes ramifiés (Figure 7).

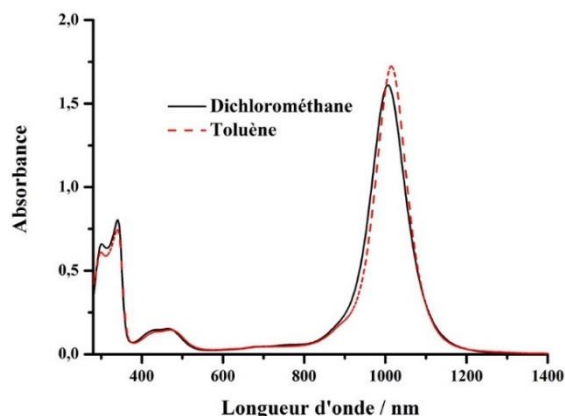


Figure 7 : Spectres UV-Vis-NIR du complexe **30e** (éthylhexyle) en solution dans le dichlorométhane ($[\text{C}] = 1 \times 10^{-2}\text{ M}$) et dans le toluène ($[\text{C}] = 9.6 \times 10^{-6}\text{ M}$).

L'ensemble de ces résultats confirme que nos complexes obtenus avec de bons rendements absorbent fortement dans le NIR. Notamment, les complexes ramifiés qui présentent un coefficient d'absorption molaire entre $80\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ et $85\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ selon le solvant utilisé. Nous allons maintenant étudier les propriétés électrochimiques de ces complexes.

2.2.2. Propriétés électrochimiques des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$

Les complexes neutres $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ ont été étudiés par voltampérométrie cyclique dans le dichlorométhane. Le voltamogramme cyclique du composé **30e** (éthylhexyle) est donné en exemple (Figure 8a) tandis que les autres sont fournis en annexes (Annexe E-1). Pour tous les complexes, le balayage cathodique met en évidence deux vagues de réduction réversibles à des potentiels de demi-vague ($E^{1/2}$) de $-0,15\text{ V}$ et de $-0,59\text{ V}$ (vs électrode au calomel saturée, ECS), correspondant respectivement à la formation des espèces monoanioniques et dianioniques, tandis que le balayage anodique révèle une vague d'oxydation partiellement réversible à $0,69\text{ V}$ et correspondant quant à elle à l'oxydation du complexe neutre en espèce cationique (Tableau 2). Ce dernier système irréversible a déjà été observé précédemment avec le complexe de $[\text{Ni}(\text{iPr}_2\text{-timdt})_2]$ et a été attribué à une oxydation centrée sur les ligands coordonnés. Il faut noter que les potentiels sont peu affectés par la longueur des chaînes et qu'ils sont similaires à ceux déjà reportés dans la littérature avec d'autres substituants alkyle (Tableau 2). Ces complexes, qui sont plus riches en électrons du fait de la présence des quatre atomes d'azote, s'oxydent donc à des potentiels moins cathodiques que leurs analogues $[\text{Ni}(\text{dmit})_2]$ (dmit = 2-thione-1,3-dithiole-4,5-dithiolate) et $[\text{Ni}(\text{Et-thiazdt})_2]$ (Et-thiazdt = N-éthylthiazolidine-2,4,5-trithione) (Figure 8b) possédant respectivement zéro et deux atomes d'azote (Tableau 2).

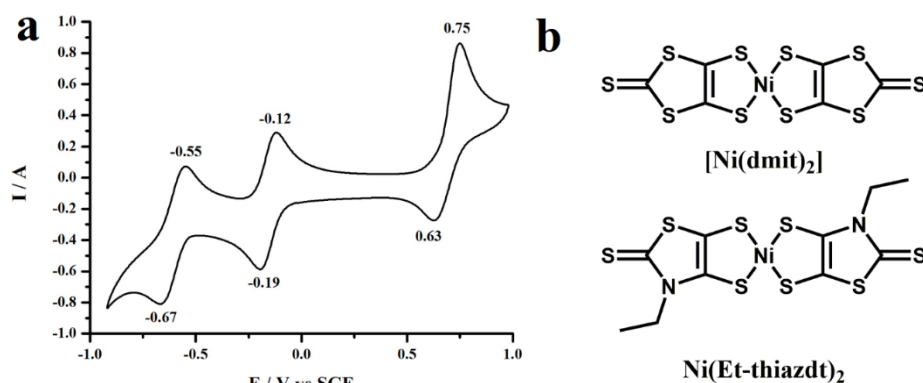


Figure 8 : (a) Voltamogramme cyclique du complexe **30e** (Éthylhexyle) en solution dans le dichlorométhane en présence de $[\text{NBu}_4][\text{PF}_6]$ ($[\text{C}] = 0,1\text{ M}$) avec un balayage de $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$; (b) Illustration des complexes $[\text{Ni}(\text{dmit})_2]$ et $[\text{Ni}(\text{Et-thiazdt})_2]$.

[Ni(R₂-timdt)₂]	E^{1/2}(-1/-2)	E^{1/2}(0/-1)	E^{1/2}(+1/0)
30a (Butyle)	-0,59	-0,14	0,69
30b (Octyle)	-0,59	-0,13	0,71
30c (Dodécyle)	-0,60	-0,15	0,69
30d (Décahexyle)	-0,59	-0,15	0,69
30e (Éthylhexyle)	-0,61	-0,15	0,69
30f (Butyloctyle)	-0,59	-0,13	0,70
30g (Phytanyle)	-0,56	-0,12	0,71
[Ni(iPr ₂ -timdt) ₂]	-0,60	-0,12	0,78
[Ni(Me ₂ -timdt) ₂]	-0,61	-0,17	0,67
[Ni(Et ₂ -timdt) ₂]	-0,63	-0,19	0,69
Analogues			
[Ni(dmit) ₂]	-0,19	0,34	-
[Ni(Et-thiazdt) ₂]	-0,37	0,18	1,12

Tableau 2 : Potentiels de demi-vague E^{1/2} des complexes [Ni(R₂-timdt)₂] en solution dans le dichlorométhane en présence de nBu₄NPF₆ 0,1 M avec une vitesse de balayage de 100 mV.s⁻¹. E^{1/2} = (E_{pa} + E_{pc})/2; E_{pa} et E_{pc} sont respectivement les pics de potentiels anodiques et cathodiques.

Du fait de leur oxydation facile à l'air, ces complexes [Ni(R₂-timdt)₂] sont isolés sous forme neutre, contrairement à leurs analogues [Ni(dmit)₂] ou [Ni(Et-thiazdt)₂] qui sont obtenus sous forme de sels monoanioniques. De plus, il faut noter que certains de ces complexes portent de longues chaînes alcane, or Ohta ou Camerel⁸ ont montré que des complexes Ni-bis(dithiolène) portant de tels substituants pouvaient conduire à l'obtention de composés thermotropes, c'est-à-dire des phases cristal-liquide dont la formation dépend de la température. Par conséquent nous avons réalisé des études en température sur nos complexes [Ni(R₂-timdt)₂] à l'état solide afin de déterminer si'ils possèdent des propriétés cristal-liquide.

⁸ (a) Perochon, R.; Davidson, P.; Rouzière, S.; Camerel, F.; Piekara-Sady, L.; Guizouarn, T.; Fourmigué, M. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 1416–142; (b) Horie, H.; Takagi, A.; Hasebe, H.; Ozawa, T.; Ohta, K. *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 1063–1071; (c) Debnath, S.; Srouf, H. F.; Donnio, B.; Fourmigué, M.; Camerel, F. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 4453–4462.

2.2.3. Propriétés thermiques des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$

Les propriétés thermiques de nos complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **30b-g** ont été étudiées par microscope optique à lumière polarisée (POM), par DSC (Annexe E-2 à E-7) et par diffraction des rayons X aux petits angles (SAXS, Small Angle X-ray Scattering, Annexe E-8 à E-13), afin de révéler la formation ou non de phases cristal-liquide. Dans cet objectif, les échantillons de $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **30b-g** ont été chauffés jusqu'à ce qu'ils soient sous forme d'un liquide isotrope, puis ensuite refroidis. Plusieurs cycles de chauffe et de refroidissement ont été réalisés pour chaque échantillon. Ces expériences ont permis de déterminer les différentes phases observées (Cristalline (Cr) ou isotrope (Iso)), les températures de transition et les valeurs d'enthalpies (Tableau 3).

$[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$	Températures (°C) des transitions de phase observées (Enthalpie ΔH in kJ.mol^{-1})
30b (octyle)	$\text{Cr} \xrightarrow{3,8 (8,7)} \text{Cr}' \xrightarrow{133,9 (25,6)} \text{Iso} \xrightarrow{113,7 (-22,6)} \text{Cr}' \xrightarrow{-18,3 (-10,6)} \text{Cr}$
30c (dodécyle)	$\text{Cr} \xrightarrow{45,7 (3,7)} \text{Cr}' \xrightarrow{75,7 (5,1)} \text{Cr}'' \xrightarrow{111,2 (24,6)} \text{Iso} \xrightarrow{98,8 (-26,0)} \text{Cr}'' \xrightarrow{71,3 (-5,7)} \text{Cr}'$ $\xrightarrow{29,3 (-5,5)} \text{Cr}$
30d (décahexyle)	$\text{Cr} \xrightarrow{46,9 (42,9)} \text{Cr}' \xrightarrow{72,7 (2,6)} \text{Cr}'' \xrightarrow{98,1 (-)} \text{Cr}''' \xrightarrow{107,2 (-)} \text{Iso} \xrightarrow{96,1 (-)} \text{Cr}'''$ $\xrightarrow{88,8 (-)} \text{Cr}'' \xrightarrow{60,6 (-3,6)} \text{Cr}' \xrightarrow{34,8 (-121)} \text{Cr}$
30e (éthylhexyle)	$\text{Cr} \xrightarrow{176,6 (33,0)} \text{Iso} \xrightarrow{165,0 (-31,3)} \text{Cr}$
30f (butyloctyle)	$\text{Cr} \xrightarrow{41,1 (11,5)} \text{Cr}' \xrightarrow{179,2 (46,0)} \text{Iso} \xrightarrow{172,7 (-47,7)} \text{Cr}' \xrightarrow{-13,8 (-8,7)} \text{Cr}$
30g (phytanyle)	Amorphe

Tableau 3 : Mesures des températures de transitions phases des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ (phase cristalline (Cr, Cr', Cr'', Cr''') ou phase isotrope (Iso)) et détermination de leurs enthalpies de formation (ΔH in kJ.mol^{-1}).

Les résultats montrent que pour tous les complexes étudiés, excepté **30g** (R = phytanyle), le refroidissement du liquide isotrope entraîne la formation de phases cristallines sans aucun signe de formation d'une phase cristal-liquide (Figure 9). Le composé **30g** reste quant à lui amorphe sur toute la gamme de température explorée. Par conséquent, nos

complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ **30b-g** ne possèdent pas de propriétés thermotropes. En effet, malgré la présence de longues chaînes carbonées, ces composés ont une forte tendance à cristalliser.

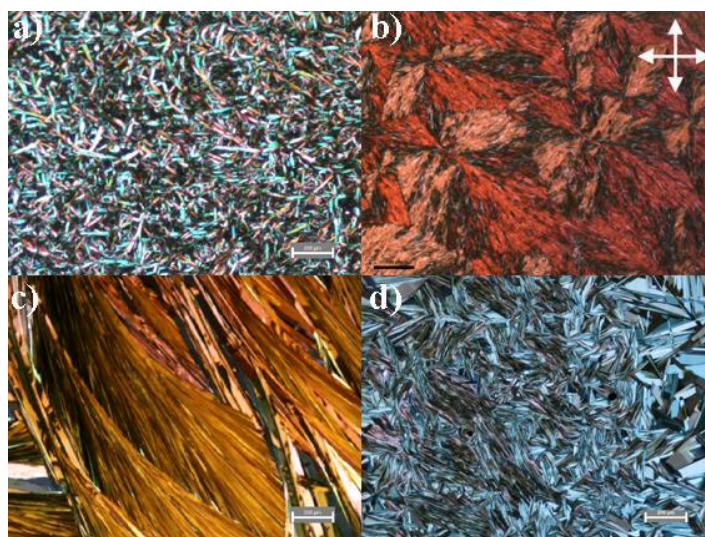


Figure 9 : Images observées par POM des phases cristallines de (a) **30b** (octyle) à 50°C, (b) **30c** (dodécyle) à 90 °C, (c) **30e** (éthylhexyle) à 130 °C, (d) **30f** (butyloctyle) à 50°C. Elles ont été obtenues par refroidissement à partir de la phase isotrope (échelle 200 μm).

En conclusion, toutes ces études nous ont permis de déterminer que nos complexes ne sont pas des composés thermotropes malgré la présence de longues chaînes alcane, qu'ils sont riches en électrons d'où leur obtention sous forme neutre et qu'ils absorbent fortement dans le NIR. Cette bande d'absorption intense, centrée autour de 1000 nm, nous a amenés à étudier l'activité photothermique de nos complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ sous irradiation dans le NIR.

2.3. Étude de l'activité photothermique des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$

Du fait de leur haut coefficient d'absorption molaire ($\sim 80\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) dans le NIR, les complexes **30d** (décahexyle), **30e** (éthylhexyle) et **30f** (butyloctyle) ont été sélectionnés pour explorer leurs propriétés photothermiques. Les mesures ont été réalisées dans le toluène, afin de limiter l'évaporation du solvant, puisqu'une température importante peut être atteinte lors de l'irradiation laser. De plus, une diode laser d'une longueur d'onde de 1000 nm serait à privilégier. Cependant pour des raisons matérielles, ces composés seront irradiés avec la diode laser à 940 nm. Même si ces conditions ne sont pas idéales, elles vont permettre d'étudier l'effet photothermique de ces complexes qui absorbent aussi à 940 nm (Figure 6).

Dans un premier temps, les élévations de température (ΔT) des solutions de **30e** à différentes concentrations ont été mesurées sous irradiation laser avec une puissance de 5 W/cm^2 pendant 10 min (Figure 10). En l'absence de complexe, une légère augmentation de 4.5°C est observée. À partir de $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ en **30e**, un effet photothermique est détecté, et il

augmente de façon importante avec la concentration pour atteindre une élévation de température (ΔT) de 90 °C à une concentration de 50 $\mu\text{g/mL}$, comme décrit dans le chapitre 4 (2.2.3), une concentration trop élevée induit une mauvaise pénétration du laser dans l'échantillon, entraînant une perte de chaleur plus importante due à des problèmes de transfert de chaleur jusqu'au thermocouple. Dans un second temps, des solutions équimolaires de **30d**, **30e** et **30f** ont été irradiées (940 nm, 5W/cm², 10 min). Les mesures montrent que l'élévation de température est plus haute avec les complexes **30e** et **30f**. Cette différence avec le composé **30d** est attribuée aux variations d'absorption à 940 nm, observées sur les courbes UV-Vis-NIR (Figure 6b). En effet, alors que les complexes ramifiés **30e** et **30f** ont une absorbance respectivement de 0,42 et 0,40 à 940 nm ($[C] = 9,6 \times 10^{-6}$ M), celle du complexe **30d** (décahexyle) n'est que de 0,33 ($[C] = 9,6 \times 10^{-6}$ M).

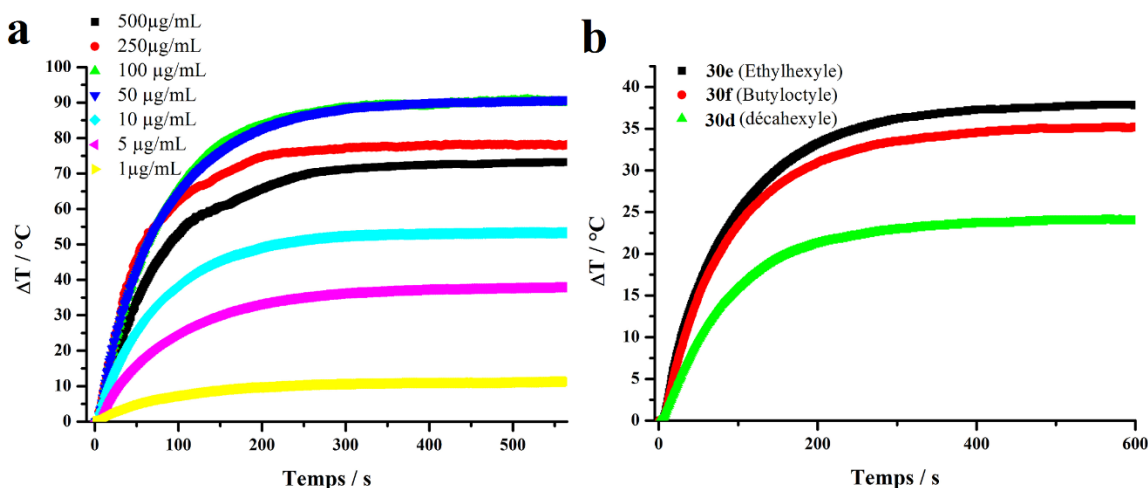


Figure 10 : Mesures de l'élévation de la température, en fonction du temps (a) de solutions de **30e** à différentes concentrations, (b) de solutions équimolaires ($[C] = 6 \times 10^{-6}$ M) de **30d**, **30e** et **30f** sous irradiation laser NIR (940 nm, 5 W/cm², 10 min).

En utilisant ces résultats, les efficacités photothermiques de ces complexes ont été calculées, comme décrit dans le chapitre 2 (5.2.2), à l'aide de l'équation de Roper et des régressions linéaires $t = f(\ln(\Delta T/\Delta T_{\text{max}}))$ (Annexe E-14).

$$\eta = \frac{(hS\Delta T_{max} - Q_{Toluène})}{I(1 - 10^{-A_{940}})}$$

	30d	30e	30f
$hS = (m_{\text{toluène}}C_{p\text{toluène}})/\tau_s \text{ (J.s}^{-1}\text{)}$ $m_{\text{toluène}} = 0,87 \text{ g}$ $C_{p\text{toluène}} = 1,69 \text{ J.g}^{-1}$	0,0112	0,0115	0,0111
$\Delta T_{\text{max}} \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	23,9	37,9	35,2
$\Delta T_{\text{max toluène}} \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	4,5	4,5	4,5
$I \text{ (W)}$	3,93	3,93	3,93
A_{940}	0,104	0,125	0,119

Ainsi les complexes **30d**, **30e** et **30f** possèdent respectivement une efficacité photothermique de 26 %, 39 % et 36 %. Ces résultats mettent en évidence que les complexes ramifiés (**30e** et **30f**) convertissent plus d'énergie en chaleur que les nanoparticules d'or (13-22%) pourtant réputées dans ce domaine. De plus, ces composés sont stables sous exposition laser car après plusieurs cycles d'irradiation et de refroidissement, l'élévation de température reste constante (Figure 11).

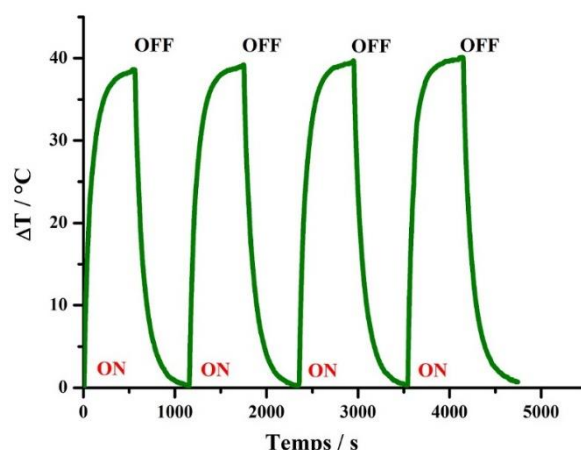


Figure 11 : Évaluation de la stabilité du complexe **30e** (éthylhexyle) après quatre cycles d'irradiation laser (940 nm, 5 W/cm², 10 min ON / 10 min OFF).

Par conséquent ces complexes possèdent une des plus hautes efficacités photothermiques (η) rencontrées jusqu'à maintenant pour une molécule libre en solution (Tableau 4). En combinant cette efficacité (η) élevée à leur grande photostabilité, ces composés sont prometteurs pour des applications photothermiques en sciences des matériaux ou en biotechnologie.

Agents photoactifs	Ni8PEG	Ni8Cn	NPs d'or	[Ni(R ₂ -timdt) ₂]
η	~ 16 %	~ 20 %	13-22 %	~ 38 %
Stabilité	Stable	Stable	Instable	Stable

Tableau 4 : Efficacité photothermique et stabilité des agents photoactifs rencontrés lors de ces travaux de thèse.

3. Conclusion

En conclusion, ces travaux de thèse ont permis de mettre au point une nouvelle voie de synthèse efficace et fiable, afin d'accéder aux complexes Ni-bis(dithiolène) *tétra*-substitués $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ avec de bons rendements. Cette stratégie pourrait être maintenant appliquée à une large famille de sels d'imidazolium fonctionnalisés par différents groupements hydrophobes, hydrophiles, chiraux ou biocompatibles. De plus, en se basant sur leur forte efficacité photothermique (η), l'élaboration de complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ hydrosolubles et biocompatibles serait très intéressante pour des applications en thérapie photothermique (PTT). En effet, leur efficacité photothermique élevée permettrait d'utiliser une quantité de complexe plus faible et/ou une puissance d'irradiation moins importante, afin de restreindre les effets secondaires indésirables. De plus, ces complexes hydrophobes, décrits dans ces travaux, pourraient être aussi utiles pour des applications en libération photothermique contrôlée de principes actifs (PTCR). En effet, leur masse moléculaire étant inférieure à celle des complexes $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]$ précédemment utilisés (Chapitre 3, 4.2), la quantité de matière de $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ encapsulée devrait donc être plus importante puisqu'on raisonne en pourcentage massique. En couplant cela à leur grande efficacité photothermique, des nanovecteurs photoactifs très efficaces pour la PTCR pourraient être obtenus.

- ¹ Bigoli, F.; Deplano, P.; Devillanova, F. A.; Lippolis, V.; Lukes, P. J.; M., Maria L.; Pellinghelli, M. A.; Trogu, E. F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 3, 371-372.
- ² Mueller-Westerhoff, U. T.; Vance, B.; Yoon, D. I. *Tetrahedron* **1991**, 47, 909-932.
- ³ Pellinghelli, M. A.; Williams, J. M.; Trogu, E. F.; Bigoli, F.; Deplano, P.; Devillanova, F. A.; Ferraro, J. R.; Lippolis, V.; Lukes, P. J.; Mercuri, M. L. *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1218-1226.
- ⁴ Aragoni, M. C.; Arca, M.; Demartin, F.; Devillanova, F. A.; Garau, A.; Isaia, F.; Lelj, F.; Lippolis, V.; Verani, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 7098-7107.
- ⁵ Eid, S.; Guerro, M.; Lorcy, D. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 8333-8336.
- ⁶ Eid, S.; Fourmigué, M.; Roisnel, T.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 10647-10654.
- ⁷ Bigoli, F.; Deplano, P.; Mercuri, M. L.; Pellinghelli, M. A.; Pintus, G.; Trogu, E. F.; Zonnedda, G.; Wang, H. H.; Williams, J. M. *Inorg. Chim. Acta.* **1998**, 273, 175-183.
- ⁸ (a) Perochon, R.; Davidson, P.; Rouzière, S.; Camerel, F.; Piekara-Sady, L.; Guizouarn, T.; Fourmigué, M. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 1416-1422; (b) Horie, H.; Takagi, A.; Hasebe, H.; Ozawa, T.; Ohta, K. *J. Mater. Chem.* **2001**, 11, 1063-1071; (c) Debnath, S.; Srour, H. F.; Donnio, B.; Fourmigué, M.; Camerel, F. *RSC Adv.* **2012**, 2, 4453-4462.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Ce travail a démontré que les propriétés photothermiques des complexes Ni-bis(dithiolène) pouvaient être exploitées efficacement pour des applications en biotechnologie et science des matériaux.

Dans un premier temps, nous avons montré que ces complexes étaient des candidats prometteurs pour la thérapie photothermique. En effet, après avoir élaboré et synthétisé un complexe Ni-bis(dithiolène) neutre hydrosoluble portant huit groupements polyéthylène glycol $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$, nous avons quantifié son efficacité photothermique en solution dans l'eau ($\eta = 16 \%$). Cette valeur, correspondant au pourcentage de photons absorbés convertis en chaleur dans le milieu, est comparable à celle des nanoparticules d'or, qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches en PTT. Les études de thérapie photothermique *in vitro* ont montré que sous irradiation ces complexes étaient capables de détruire 80 % des cellules cancéreuses. De plus, ce complexe $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8$ est stable sous irradiation contrairement aux NPs d'or inorganiques et à la majorité des colorants-NIR. Cependant sa cytotoxicité non négligeable (à partir de 150 $\mu\text{g/mL}$) est un frein à son utilisation *in vivo*. Par conséquent, d'autres perspectives sont à envisager. Par exemple, la densité des chaînes PEG autour du complexe pourrait être augmentée, en élaborant, par exemple, un dendrimère dont le cœur serait un complexe Ni-bis(dithiolène) et la périphérie des chaînes PEG. Cette technique permettrait peut-être d'augmenter la furtivité du complexe et donc de diminuer sa cytotoxicité. Un autre paramètre à faire varier, est la nature des ligands et/ou du métal. En effet des complexes hydrophiles à base de fer ou de cuivre seraient très intéressants du fait de la plus faible cytotoxicité de ces métaux. Enfin des complexes plus efficaces, tels que les $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$ présenté le dernier chapitre, permettraient d'utiliser des concentrations plus faibles, les rendant ainsi moins cytotoxiques, tout en conservant l'effet photothermique nécessaire à la destruction des cellules malignes. La difficulté rencontrée pour les fonctionnaliser avec d'autres groupes hydrophiles (sucres, sels...) nous ont amené à les encapsuler dans des nanovecteurs polymériques ou lipidiques

Effectivement, dans le chapitre 3, nous avons encapsulé des complexes hydrophiles (**Ni8PEG**) et hydrophobes (**Ni4C₁₂** et **Ni8C₁₂**) dans des nanoparticules polymériques de poly(éthylène glycol)-*b*-poly(benzyle malate) (PEG₄₂-*b*-PMLABe) ou dans des liposomes à base de Egg PC-PEG₂₀₀₀-DSPE. Après avoir démontré que ces complexes encapsulés avaient une efficacité photothermique plus importante ($\eta \sim 26 \%$) que sous forme libre, due probablement à leur confinement dans le nanovecteur, nous avons mis en évidence qu'il était possible de libérer un anticancéreux (Doxorubicine) ou un fluorophore (6-carboxyfluorescéine) en une seule fois par irradiation prolongée ou de façon fractionnée sous exposition laser par intermittence. De plus, nous avons prouvé l'absence de production d'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) lors de l'irradiation laser, indiquant que les principes actifs sont relargués sans être détériorés. Les tests de cytotoxicité ont révélé que les complexes Ni-bis(dithiolène) n'apportent aucune toxicité supplémentaire et que cette dernière est imposée par la concentration en polymère ou en lipide.

Ces résultats encourageants vont nous amener à réaliser de nouvelles expériences, afin de déterminer la puissance minimale d'irradiation ainsi que la concentration limite en complexe nécessaire, pour permettre la libération du médicament. Il faut noter que l'effet photothermique mesuré en solution est probablement inférieur à celui localisé dans la nanoparticule, du fait des pertes de chaleur par diffusion dans le solvant. Par conséquent, ces paramètres (puissance / concentration) devront être déterminés, en mesurant, à plusieurs puissances d'irradiation, la libération de principes actifs à partir de nanovecteur encapsulant différentes concentrations de complexes Ni-bis(dithiolène). De plus, il sera intéressant de réaliser des études de relargage avec un complexe hydrophile encapsulé au sein du liposome afin de déterminer si la libération du médicament est plus efficace lorsque le composé est situé dans le cœur ou dans la paroi du liposome. Ces complexes encapsulés seraient aussi à étudier en PTT *in vitro*. Enfin il sera judicieux de tirer avantage de l'efficacité photothermique des complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$, décrits dans le dernier chapitre, pour faire de la libération contrôlée de médicament.

Dans le chapitre 4, nous avons montré que les complexes Ni-bis(dithiolène) portant huit groupements cholestérol sont des métallogélifiants photoactifs, permettant d'élaborer des organogels capables de se désagréger sous irradiation laser NIR, puis de se reformer. Leur photostabilité permet de répéter ce processus plusieurs fois sans perdre en efficacité. De tels systèmes sont très intéressants pour faire de la libération photothermique contrôlée de médicament. Cependant il faudra utiliser des hydrogels pour pouvoir appliquer ce système *in vivo*. Dans cet objectif, les perspectives seraient d'utiliser des hydrogels, par exemple, à base

de chitosan ou d'acétate de cellulose et de les doper avec un complexe Ni-bis(dithiolène) hydrophile de type **Ni8PEG**. L'autre solution serait de concevoir un métallogélifiant Ni-bis(dithiolène) capable de former un hydrogel. Pour cela, un composé fonctionnalisé par exemple avec des groupements peptides à la place des cholestérols ou même greffé sur un polysaccharide tel que l'acétate de cellulose pourrait être élaboré.

Enfin, Le chapitre 5 a prouvé que les complexes neutres N,N'-dialkylimidazolidine-2,4,5-trithione $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$, possédant une forte absorption à environ 1000 nm ($\epsilon \sim 80000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) sont des candidats très prometteurs pour la PTT et pour développer des systèmes de libération photothermique contrôlée. En effet, ces composés obtenus avec un bon rendement, via la nouvelle voie de synthèse mise au point, sont les agents photoactifs qui possèdent aujourd'hui l'efficacité photothermique la plus élevée de tous les complexes métal-dithiolène décrits.

Ces composés, de poids moléculaire plus faible que celui des complexes précédemment encapsulés, pourraient être intéressants puisque la quantité de complexes encapsulés (% massique) serait plus importante. La synthèse de tels composés fonctionnalisés par des groupements PEG serait aussi judicieuse pour la thérapie photothermique. En conclusion, les expériences de PTT et de libération photothermique contrôlée, présentées dans ce manuscrit seraient à reproduire avec ces nouveaux complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$. En effet, leur haute efficacité, permettrait d'utiliser une concentration moins importante en complexe ou en nanovecteur permettant ainsi de diminuer la cytotoxicité tout en conservant l'effet photothermique.

Annexes

Annexe A : Partie expérimentale

4. Techniques d'analyses

Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN du proton (^1H) et du carbone 13 (^{13}C) ont été enregistrés au moyen de spectromètres BRUCKER AV III 300 MHz à une fréquence de 300 MHz pour le ^1H et de 75 MHz pour le ^{13}C . Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylesilane (TMS), utilisé comme référence. Les abréviations utilisées pour les multiplicités des signaux sont respectivement : s, d, dd, t, dt, q, qt et m pour singulet, doublet, doublet de doublet, triplet, doublet de triplet, quadruplet, quintuplet et multiplet.

Spectrométrie UV-Vis-Vis-NIR

Les spectres d'absorption UV-Vis-Vis-NIR des échantillons en solution ont été enregistrés au moyen d'un spectrophotomètre Shimadzu UV3600 Plus. Les coefficients d'extinction molaire ε ont été calculés selon la loi de Beer Lambert :

$$\varepsilon = \frac{A}{l \times c}$$

A : Absorbance

l : longueur de la cuve en quartz (1 cm)

c : concentration de la solution (mol.L^{-1})

ε : Coefficient d'extinction molaire ($\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Voltampérométrie cyclique

Milieu électrolytique : Le sel de fond utilisé est le tétrabutylammonium hexafluorophosphate $[\text{N}(\text{n-Bu})_4][\text{PF}_6]$ commercial (Fluka), utilisé sans purification, à une concentration de 0,2 M dans le CH_2Cl_2 anhydre.

Cellule électrochimique : L'analyse électrochimique des composés est effectuée dans une cellule trois doigts de 10 mL comprenant une électrode de référence (Électrode au Calomel Saturée, ECS), une électrode de travail (électrode de platine de 1 mm^2 de surface) et une contre électrode en carbone vitreux.

Mesures électrochimiques : Toutes les mesures ont été effectuées à température ambiante dans une cage de Faraday et sous atmosphère inerte, à l'aide d'un potentiostat BioLogic SP-50. Les enregistrements des voltamogrammes ont été réalisés par l'intermédiaire du logiciel GPES.

Chromatographies

Les réactions ont été suivies par chromatographie sur couche mince Kiesegel 60 F₂₅₄ (Merck). Les produits ont été purifiés par chromatographie sur gel de silice (40-60 µm, Acros) ou par Combiflash Rf à l'aide de cartouches de silice Redisep (4-400 g, 35-70 µm).

Spectrométrie de masse

Les spectres de masse de haute résolution ont été réalisés au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest (CRMPO, Rennes) à l'aide d'un Varian MAT 311.

Analyses élémentaires

Les analyses élémentaires ont été effectuées par le service de microanalyse du CNRS, à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) de Gif sur Yvette.

Microscope optique à lumière polarisée (Polarized Optical Microscopy, POM)

Une pointe de spatule est déposée sur une lame de verre, recouverte ensuite d'une lamelle de verre. L'échantillon est placé dans un microscope Nikon H600L équipé d'une platine chauffante Linkam, permettant de le soumettre à une montée en température. L'observation des changements de phase lors de la chauffe ou du refroidissement permet de déterminer les températures de transition de phase et la texture optique des phases.

La calorimétrie différentielle à balayage (Differential Scanning Calorimetry, DSC)

La Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) a été réalisée à l'aide de l'instrument DSC 200 NETZSCH F3, équipé d'un intracooler. Les résultats ont été obtenus en faisant des cycles de chauffe et de refroidissement à une vitesse de 10 ° C / min. La température minimum

a été fixée à -25 °C tandis que la température maximum correspond à la température à laquelle le composé est isotrope.

Études photothermiques en solution

1 mL de la solution désirée de complexe Ni-bis(dithiolène) a été irradiée à travers une cuve de quartz avec une diode laser (BWT Beijing LTD) d'une longueur d'onde de 940 nm ou de 980 nm. L'intensité du faisceau laser peut être ajustée manuellement (0-10 A) tandis que la puissance en sortie (W) est calibrée à l'aide d'un Wattmètre optique. L'élévation de la température est mesurée à l'aide d'un thermocouple plongé dans la cuve de quartz et connecté à un multimètre Agilent U1253B. Le thermocouple est placé dans la cuve de façon à ce qu'il ne soit pas directement irradié par le faisceau laser.

Analyse par fluorescence du relargage de la 6-carbocyfluorescéine (CF)

Les spectres de fluorescence de la CF libérée en solution dans l'eau ont été enregistrés à température ambiante au moyen d'un fluorimètre FL-920 Edimburg. La longueur d'onde d'excitation a été fixée à 495 nm et l'émission a été mesurée entre 500 et 650 nm. Les échantillons ont été irradiés à 5 W/cm² pendant une durée choisie en appliquant la diode laser au-dessus de la cuve de quartz.

Diffusion dynamique de la lumière (DLS) et potentiel zêta.

Le diamètre moyen, la polydispersité et le potentiel zêta des nanoparticules polymériques et des liposomes, en suspension dans l'eau à 25 °C, ont été mesurés par diffusion dynamique de la lumière en utilisant un appareil DelsaTM Nano Beckman Coulter.

Études de cytotoxicité

Culture des cellules : Les cellules ont été mises en culture à 37 ° C sous atmosphère humidifiée de CO₂ à 5% dans du milieu de culture RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium) auquel il a été additionné 10% de sérum fœtal bovin (FBS), 100 Unités.mL⁻¹ de pénicilline et 100 µg.mL⁻¹ de streptomycine.

Évaluation de la cytotoxicité *in vitro* : L'effet des composés sur la croissance des cellules a été analysé à l'aide de plaques stériles 96 puits (Micortest™ -96- Becton Dickinson). 2500 cellules ont étéensemencées par puits (100 µl / puits). 24 heures après l'ensemencement, les complexes sous forme libre ou encapsulés dans les nanoparticules ont été ajoutés à la concentration désirée, puis incubés pendant 24 heures supplémentaires. L'évaluation de la croissance cellulaire, en présence et en l'absence de complexe, a été déterminée à l'aide de MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium, Sigma) en mesurant la quantité de formazan formé.¹⁵⁰ Les cristaux de formazan de couleur bleue sont solubilisés avec du DMSO. L'absorbance de formazan a été mesurée à la longueur d'onde de 570 nm en utilisant un lecteur de plaques BMG Labtech FLUOstar Optima. Chaque mesure a été effectuée en triplicat.

Études photothermiques *in vitro*

Après 24h d'incubation en présence du complexe Ni-bis(dithiolène) (Voir ci-dessus), les puits ont été irradiés à une puissance de 2 W/cm² ou 5 W/cm², pendant 10 min à 25 ° C, avec un laser à 940 nm. La mort cellulaire induite a été déterminée par le test standard de viabilité cellulaire (MTT), après 4 heures d'incubation à 37 ° C sous 5 % de CO₂. Des expériences de contrôle ont également été effectuées sans complexes et avec ou sans irradiation. Chaque expérience a été réalisée en triplicat et des photos des cellules ont été réalisées à l'aide d'un microscope Olympus (CKX41) à différentes périodes de l'expérience.

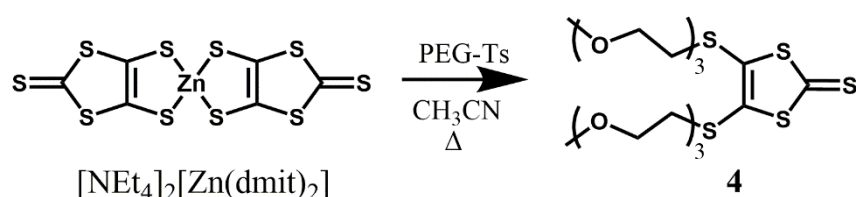
¹⁵⁰ Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55-63.

5. Syntheses of pegylated metal-bis(dithiolene) complexes

Triethyleneglycol Monomethyl Ether Tosylate,¹⁵¹ 4,4'-Dihydroxybenzil **8**,¹⁵² 3,3',4,4'-tetra-hydroxybenzil **8'**,¹⁵³ [NEt₄]₂[Zn(dmit)₂] (ZnDMIT) were synthesized following reported procedures.¹⁵⁴

5.1. Synthesis of [Ni(dtetd)₂]⁰-(PEG)₄ **1**

5.1.1. Compound **4** :



[NEt₄]₂[Zn(dmit)₂] (569 mg, 0.79 mmol) and Triethyleneglycol Monomethyl Ether Tosylate (PEG-Ts) were dissolved in 25 mL of acetonitrile. The resulting solution was stirred 18 h under reflux. Acetonitrile was evaporated and the residue was purified by silica gel column chromatography using DCM/ethyl acetate 1:1 as eluent to afford the product **4** as red oil (184 mg, 24 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3.70 (t, 4H, J = 6.5 Hz, CH₂), 3.64–3.61 (m, 12H, CH₂), 3.55–3.52 (m, 4H, CH₂), 3.36 (s, 6H, CH₃), 3.06 (t, 4H, J = 6.36 Hz, CH₂).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 210.95 (CS), 136.49 (C4), 71.86 (CH₂), 70.55 (CH₂), 70.51 (CH₂), 69.79 (CH₂), 58.98 (CH₃), 36.05 (CH₂).

Anal. Calcd for C₁₇H₃₀O₆S₅: C, 41.61; H, 6.16; O, 19.56; S, 32.67; Found C, 41.93; H, 6.28; O, 19.99; S, 31.92.

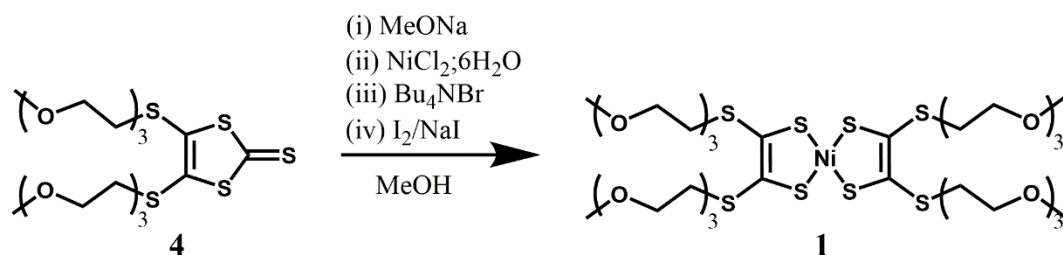
¹⁵¹ Tanaka, M.; Yoshiaka, K.; Hiraka, Y.; Fujimaki, M.; Kawahara M.; Niwa, O. *Langmuir*, **2013**, 29, 13111-13120.

¹⁵² Horie, H.; Takagi, A.; Hasebe, H.; Ozawa, T.; Ohta, K. *J. Mater. Chem.* **2001**, 11, 1063-1071.

¹⁵³ Ichihara, M.; Miida, M.; Mohr, B. Ohta, K. *J. Porphyrins and phthalocyanines* **2006**, 10, 1145-1155.

¹⁵⁴ Steirnecke, G.; Sieler, H.J.; Kirmse, R.; Hoyer, E. *Phosphorus Sulfur* **1979**, 7, 49-55.

5.1.2. Compound 1 :



Pentane-washed sodium (17 mg, 0.734 mmol) dissolved in dry methanol (1 mL) was added to the solution of dithiole-thione **4** (150 mg, 0.306 mmol) in dry methanol (5 mL). The resulting mixture was stirred 1 h. NiCl₂·6H₂O (36 mg, 0.153 mmol) dissolved in methanol (1 mL) was added to the yellow solution and the mixture was stirred 2 h. Bu₄NBr (99 mg, 0.306 mmol) dissolved in methanol was added and the solution was stirred 1 h. The solution was filtered and the filtrate was concentrated. The residue was dissolved in acetone (10 mL) then I₂ (39 mg, 0.153 mmol) and NaI (69 mg, 0.459 mmol) were added to the mixture which was stirred 30 min. The solution was concentrated and the residue was purified by silica gel column chromatography with DCM/MeOH 97:3 to afford the product **1** as a dark green waxy solid (70 mg, 48 % yield).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3.70 (t, 8H, J = 6.5 Hz), 3.73–3.61 (m, 32H, CH₂), 3.57–3.54 (m, 8H, CH₂), 3.38 (s, 12H, CH₃).

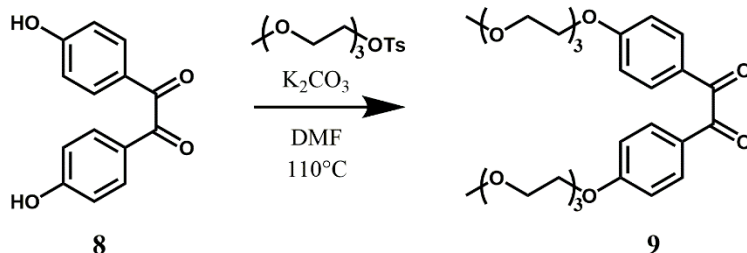
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 214.6 (CS), 175.9 (C4), 72.0 (CH₂), 70.7 (CH₂), 68.9 (CH₂), 59.2 (CH₃), 55.0 (CH₂), 36.1 (CH₂).

Anal. Calcd for C₃₂H₆₀NiO₁₂S₈, H₂O: C, 39.62; H, 6.44; S, 26.44; Found C, 40.90; H, 7.06; S, 25.635.

m/z + Na expected:	UV-Vis-Vis-NIR (DCM): 1001 nm (ε = 35000 L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
973.10962	359 nm (ε = 30700 L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
m/z + Na found:	299 nm (ε = 88500 L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
973.1106	259 nm (ε = 73550 L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)

5.2. Synthesis of $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$ **2**

5.2.1. Compound **9**:



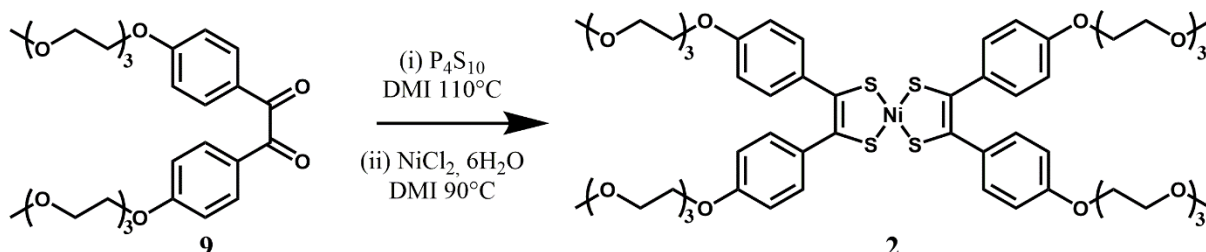
K_2CO_3 (790 mg, 5.72 mmol) was added to a solution of 4,4'-Dihydroxybenzil **8** (346 mg, 1.43 mmol) dissolved in DMF (5 mL) and the resulting mixture was stirred 10 min. Triethyleneglycol Monomethyl Ether Tosylate (1.00 g, 3.14 mmol) was added slowly and the mixture was stirred for 20 h at 100 °C. After cooling to room temperature, the white solid was filtered off and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in DCM and filtered again. The filtrate was concentrated and purified by silica gel column chromatography with DCM/acetone 9:1 as eluent to afford the product **9** as a pale yellow solid. (560 mg, 56% yield)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.92 (d, 4H, $J = 9$ Hz, CH_{Ar}), 6.97 (d, 4H, $J = 9$ Hz, CH_{Ar}), 4.20 (t, 4H, $J = 4.7$ Hz, CH_2), 3.87 (t, 4H, $J = 4.9$ Hz, CH_2), 3.73–3.70 (m, 8H, CH_2), 3.69–3.63 (m, 4H, CH_2), 3.56–3.53 (m, 4H, CH_2), 3.37 (s, 6H, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 193.41 (2 C=O), 164.06 (2 C_{Ar}), 132.28 (4 CH_{Ar}), 126.32 (2 C_{Ar}), 114.80 (4 CH_{Ar}), 71.87 (2 CH_2), 70.86 (2 CH_2), 70.60 (2 CH_2), 70.54 (2 CH_2), 69.37 (2 CH_2), 67.75 (2 CH_2), 59.00 (2 CH_3).

Anal. Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{10}$: C, 62.91; H, 7.16; O, 29.93; Found C, 62.53; H, 7.275; O, 29.91.

5.2.2. Compound **2** $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_4$:



P_4S_{10} (349 mg, 0.780 mmol) was added to precursor **9** (190 mg, 0.355 mmol) dissolved in 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI) (5 mL) and the resulting mixture was stirred for 4h under N_2 atmosphere at 110°C. $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (42 mg, 0.178 mmol) dissolved in water (1 mL) was added and the mixture was heated at 90 °C for 3 hours. A large amount of EtOH was added

to precipitate the product (20 mL). The brown solid was filtered and purified by silica gel column chromatography with a gradient from DCM/acetone 4:1 to DCM/acetone 3:2 to give the product **2** as a dark green waxy solid. (124 mg, 58 % yield)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.31 (d, 8H, $J = 8.7$ Hz, CH_{Ar}), 6.82 (d, 8H, $J = 8.7$ Hz, CH_{Ar}), 4.15–4.12 (m, 8H, CH_2), 3.88–3.85 (m, 8H, CH_2), 3.77–3.73 (m, 8H, CH_2), 3.70–3.64 (m, 16H, CH_2), 3.57–3.54 (m, 8H, CH_2), 3.38 (s, 12H, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 180.46 (4 CS), 159.47 (4 C_{Ar}), 134.44 (4 C_{Ar}), 130.31 (8 CH_{Ar}), 114.45 (8 CH_{Ar}), 71.91 (4 CH_2), 70.83 (4 CH_2), 70.64 (4 CH_2), 70.56 (4 CH_2), 69.63 (4 CH_2), 67.45 (4 CH_2), 59.04 (4 CH_3).

Anal. Calcd for $\text{C}_{56}\text{H}_{76}\text{NiO}_{16}\text{S}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 55.58; H, 6.50; S, 10.60; Found C, 55.66; H, 6.64; S, 10.42.

$m/z + \text{Na}$ expected: UV-Vis-Vis-NIR (DCM): 927 nm ($\epsilon = 45000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

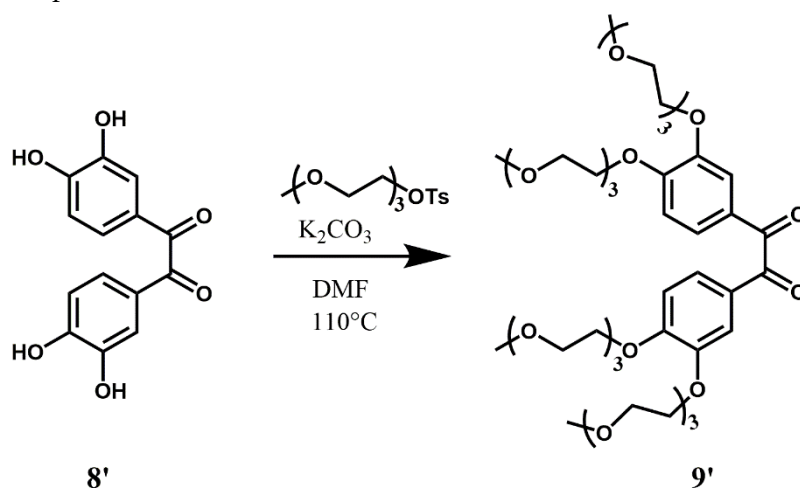
1213.32619 332 nm ($\epsilon = 88400 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

$m/z + \text{Na}$ found: 301 nm ($\epsilon = 113900 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

1213.3257 281 nm ($\epsilon = 73550 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

5.3. Synthesis of $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(PEG)}_8 \textbf{3}$

5.3.1. Compound **9'** :



K_2CO_3 (1.68 g, 12.2 mmol) was added to a solution of compound 3,3',4,4'-tetrahydroxybenzil **8'** (0.417 g, 1.52 mmol) dissolved in DMF (5 mL) and the resulting mixture was stirred 10 min. Triethyleneglycol Monomethyl Ether Tosylate (2.32 g, 3.14 mmol) was added slowly and the mixture was stirred for 50 h at 100 °C. After cooling to room temperature, DMF was evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in 0.5 M HCl aqueous

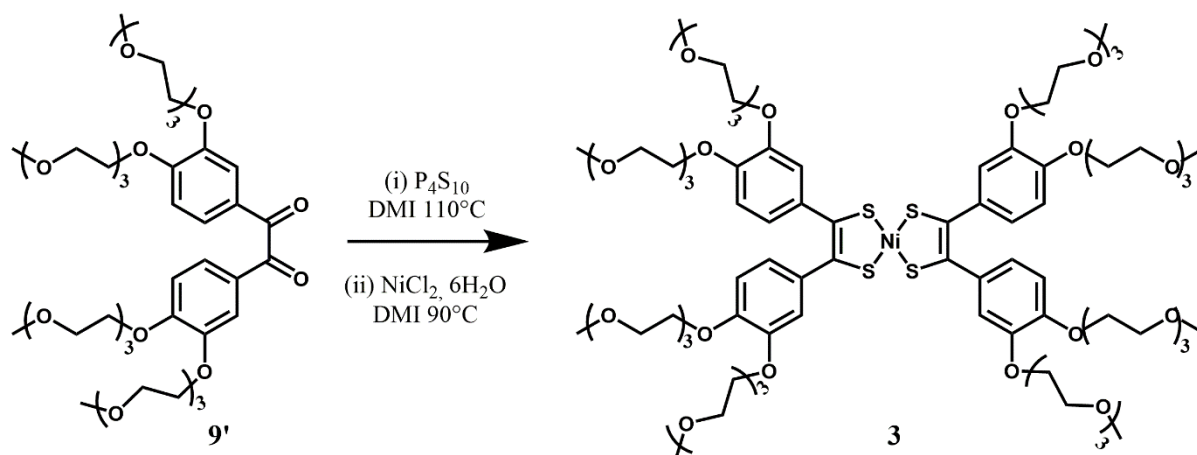
solution (50 mL) and extracted with DCM (3 x 50 mL). The combined organic extracts were washed with 0.5 M HCl aqueous solution (2 x 50 mL) and brine (2 x 50 mL) dried with Na₂SO₄ and concentrated to give the crude as an orange/brown oil. The crude product was purified by silica gel column chromatography with DCM/MeOH 95:5 as eluent to afford the product **9'** as orange oil (975 mg, 75% yield).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.57 (d, 2H, *J* = 2.0 Hz, CH_{Ar}), 7.43 (dd, 2H, *J* = 8.5, 2.0 Hz, CH_{Ar}), 6.89 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, CH_{Ar}), 4.19–4.23 (m, 8H, CH₂), 3.90–3.86 (m, 8H, CH₂), 3.71–3.75 (m, 8H, CH₂), 3.67–3.60 (m, 16H, CH₂), 3.55–3.50 (m, 8H, CH₂), 3.36 (s, 6H, CH₃), 3.35 (s, 6H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 193.39 (C=O), 154.59 (C_{Ar}), 148.94 (C_{Ar}), 126.46 (C_{Ar}), 126.25 (CH_{Ar}), 112.98 (CH_{Ar}), 112.26 (CH_{Ar}), 71.85 (CH₂), 71.84 (CH₂), 70.87, (CH₂), 70.82 (CH₂), 70.60 (CH₂), 70.48 (CH₂), 69.44 (CH₂), 69.27 (CH₂), 68.71 (CH₂), 68.56 (CH₂), 58.96 (CH).

Anal. Calcd for C₄₂H₆₆O₁₈, H₂O: C, 57.52; H, 7.82; O, 34.66; Found C, 56.91; H, 7.85; O, 34.52.

5.3.2. Compound 3 :



P₄S₁₀ (907 mg, 2.04 mmol) was added to compound **9'** (798 mg, 0.928 mmol) dissolved in 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI) (10 mL) and the resulting mixture was stirred for 2h at 110 °C under N₂ atmosphere. NiCl₂·6H₂O (110 mg, 0.464 mmol) dissolved in water (1 mL) was added and the mixture was heated at 90 °C for 2 hours. The DMI was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography with DCM/EtOH 94:6 as eluent to afford the product **3** as dark green waxy solid (320 mg, 37 % yield).

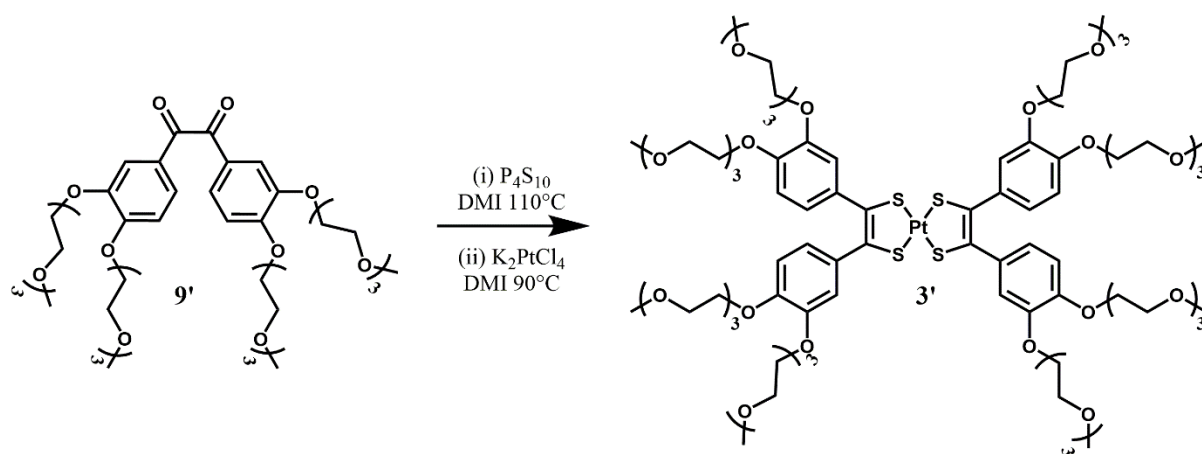
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.98 (d, 4H, $J = 2.0$ Hz, CH_{Ar}), 6.92 (dd, 4H, $J = 8.5, 2.0$ Hz, CH_{Ar}), 6.79 (d, 4H, $J = 8.5$ Hz, CH_{Ar}), 4.18–4.15 (m, 8H, CH_2), 4.04–4.00 (m, 8H, CH_2), 3.90–3.86 (m, 8H, CH_2), 3.81–3.64 (m, 56H, CH_2), 3.57–3.51 (m, 16H, CH_2), 3.38 (s, 12H, CH_3), 3.36 (s, 12H, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 180.37 (CS), 149.66 (C_{Ar}), 148.41 (C_{Ar}), 134.77 (C_{Ar}), 122.32 (CH_{Ar}), 114.90 (CH_{Ar}), 113.45 (CH_{Ar}), 71.87 (CH_2), 70.80 (CH_2), 70.75 (CH_2), 70.61 (CH_2), 70.49 (CH_2), 69.54 (CH_2), 69.49 (CH_2), 68.65 (CH_2), 68.54 (CH_2), 58.96 (CH).

Anal. Calcd for $\text{C}_{84}\text{H}_{132}\text{NiO}_{32}\text{S}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 53.75; H, 7.30; S, 6.83; Found C, 53.94; H, 7.32; S, 6.73.

m/z + Na expected:	UV-Vis-NIR (H_2O): 940 nm ($\epsilon = 36650 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)
1861.68303	220 nm ($\epsilon = 132300 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)
m/z + Na found:	UV-Vis-NIR (DCM): 948 nm ($\epsilon = 36000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)
1861.6848	308 nm ($\epsilon = 130800 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

5.3.3. Compound 3'



P_4S_{10} (310 mg, 0.70 mmol) was added to compound **9'** (300 mg, 0.35 mmol) dissolved in 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI) (4 mL) and the resulting mixture was stirred for 2 h at 110°C under N_2 atmosphere. K_2PtCl_4 (145 mg, 0.35 mmol) dissolved in water (0.5 mL) was added and the mixture was heated at 90°C for 2 hours. The DMI was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography with DCM/EtOH 90:10 as eluent to afford the product **3'** as dark purple waxy solid (320 mg, 37 % yield).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 6.97 (d, 4H, $J = 2.0$ Hz, CH_{Ar}), 6.84 (dd, 4H, $J = 8.5, 2.0$ Hz, CH_{Ar}), 6.79 (d, 4H, $J = 8.5$ Hz, CH_{Ar}), 4.21–4.17 (m, 8H, CH_2), 4.04–3.99 (m, 8H, CH_2),

3.90–3.80 (m, 8H, CH₂), 3.79–3.55 (m, 56H, CH₂), 3.54–3.48 (m, 16H, CH₂), 3.35 (s, 12H, CH₃), 3.33 (s, 12H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 176.88 (CS), 149.72 (C_{Ar}), 148.44 (C_{Ar}), 134.75 (C_{Ar}), 122.49 (CH), 115.13 (CH_{Ar}), 113.56 (CH_{Ar}), 72.03 (CH₂), 70.94 (CH₂), 70.86 (CH₂), 70.76 (CH₂), 70.64 (CH₂), 69.70 (CH₂), 69.63 (CH₂), 68.79 (CH₂), 68.71 (CH₂), 59.11 (CH).

UV-Vis-NIR (DCM):

882 nm (ε = 42790 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

229 nm (ε = 70000 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

UV-Vis-NIR (H₂O):

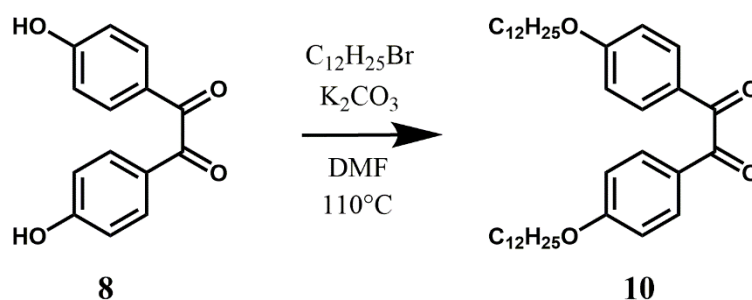
878 nm (ε = 19700 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

227 nm (ε = 63000 L. mol⁻¹.cm⁻¹)

6. Syntheses of Ni₄C₁₂ and Ni₈C₁₂ complexes

6.1. Synthesis of [Ni(dphedt)₂]⁰-(OC₁₂H₂₅)₄ **11** (Ni₄C₁₂)

6.1.1. Compound **10**:

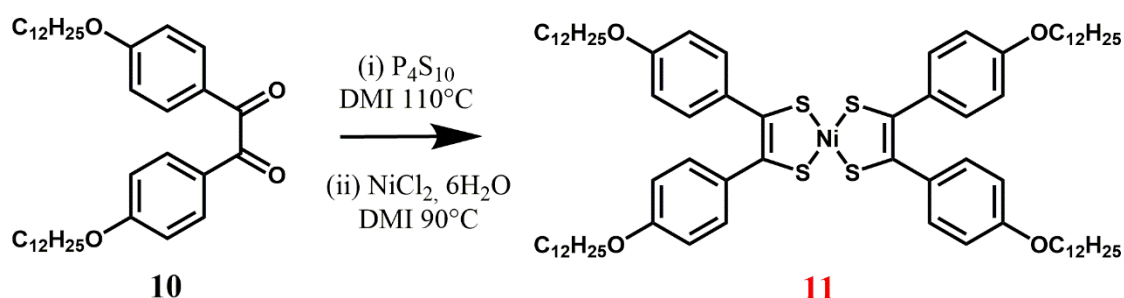


A mixture of 4,4'-dihydroxybenzil **8** (3.26 g, 13.5 mmol), 1-bromododecane (10.0 g, 40.5 mmol) and powdered potassium carbonate (7.46 g, 54 mmol) was stirred in DMF (80 mL) for 50 h at 110 °C. After cooling to room temperature, the DMF was evaporated under reduced pressure. The resulting mixture was extracted with CH₂Cl₂. The organic phases were combined, rinsed several times with water, dried over anhydrous magnesium sulfate and concentrated under reduced pressure resulting in a crude product which was purified by silica gel column chromatography (Petroleum ether /CH₂Cl₂ 50/50). Yellowish solid (5.57 g, 70 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.96 (m, 4H, CH_{Ar}), 7.03 (m, 4H, CH_{Ar}), 4.11 (t, 4H, J = 6.5 Hz, OCH₂), 1.87–1.32 (m, 40H, CH₂), 0.95 (t, 6 H, J = 6.3 Hz, CH₃).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 193.57 (C=O), 164.59 (C_{Ar}), 132.17 (2 CH_{Ar}), 126.00 (C_{Ar}), 114.68 (2 CH_{Ar}), 68.60 (CH_2), 45.33 (CH_2), 31.93 (CH_2), 29.64 (CH_2), 29.59 (CH_2), 29.56 (CH_2), 29.36 (CH_2), 29.33 (CH_2), 29.02 (CH_2), 25.90 (CH_2), 22.70 (CH_2), 13.89 (CH_3).

6.1.2. Compound **11** (Ni_4C_{12}):



A mixture of 4,4'-bis(dodecyloxy)benzil **10** (2.90 g, 5 mmol) and phosphorus pentasulfide (4.44 g, 10 mmol) in 5 mL of 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI) was heated at 110 °C for 2 h. The reaction mixture was cooled to 60 °C. A solution of nickel chloride hexahydrate (594 mg, 2.5 mmol) in water (3 mL) was added to the reaction mixture and reacted to 90 °C for 2 h in air. To the resulting mixture was added ethanol and the precipitate was filtered, washed with ethanol and dried under vacuum. The purification of the product was carried out by chromatography on silica gel, eluting with petroleum ether/ CH_2Cl_2 (7:3). Needle brown crystals (58 %) were obtained by slow diffusion of MeOH on a solution of the product in CH_2Cl_2 .

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 7.32 (d, 8H, $J = 9$ Hz, CH_{Ar}), 6.79 (d, 8H, $J = 9$ Hz, CH_{Ar}), 3.96 (t, 8H, $J = 6$ Hz, CH_2), 1.79 (qt, 8H, $J = 6$ Hz, CH_2), d 1.27–1.47 (m, 72H, CH_2), 0.89 (t, 12H, $J = 6$ Hz, CH_3).

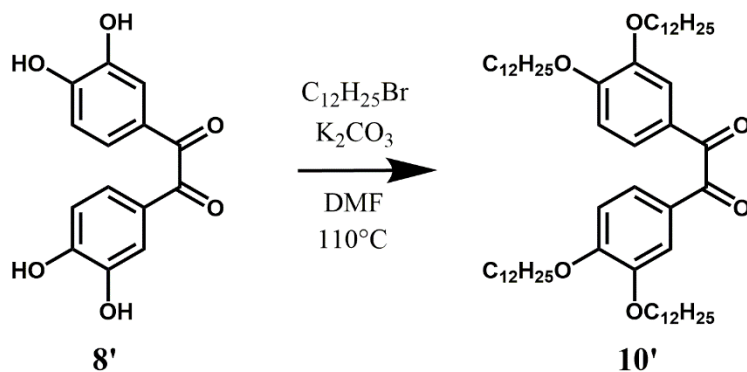
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 180.43 (4 CS), 159.85 (4 C_{Ar}), 134.19 (2 CH_{Ar}), 130.34 (C_{Ar}), 114.31 (2 CH_{Ar}), 68.10 (CH_2), 31.91 (CH_2), 29.65 (CH_2), 29.63 (CH_2), 29.59 (CH_2), 29.56 (CH), 29.39 (CH_2), 29.34 (CH_2), 29.21 (CH_2), 26.03 (CH_2), 22.68 (CH_2), 14.11 (CH_3).

Anal. calcd for $\text{C}_{76}\text{H}_{116}\text{NiO}_4\text{S}_4$: C 71.28, H 9.13. Found: C 70.84, H 9.12.

UV-Vis-NIR (DCM): 933 nm ($\epsilon = 31300 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)

6.2. Synthesis of [Ni(dphedt)₂]⁰-(OC₁₂H₂₅)₈ **11'** (Ni8C₁₂)

6.2.1. Compound 10' :

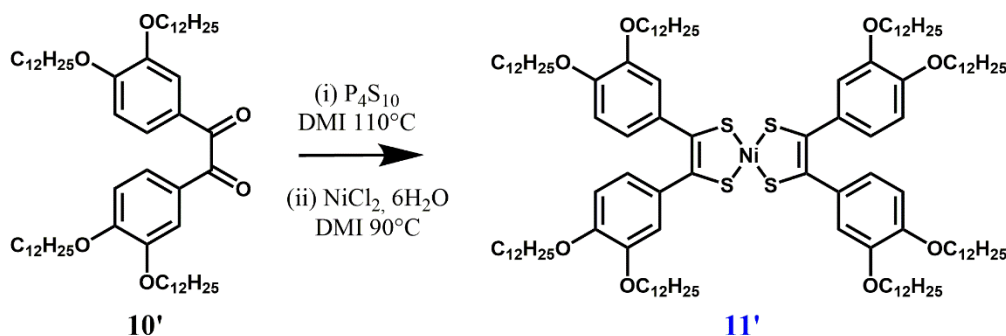


A mixture of 3,3',4,4'-tétrahydroxybenzil **8'** (3.04 g, 11 mmol), 1-bromododecane (11.0 g, 44 mmol) and powdered potassium carbonate (5.68 g, 44 mmol) was stirred in DMF (75 mL) for 50 h at 110 °C. Upon cooling to room temperature, the DMF was evaporated under reduced pressure. The resulting mixture was extracted with CH₂Cl₂. The organic phases were combined, rinsed several times with water, dried over anhydrous magnesium sulfate and concentrated under reduced pressure resulting in a crude product which was purified by silica gel column chromatography (Petroleum ether/CH₂Cl₂ 70/30) to afford a white solid (7.04 g, 67 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.55 (d2H, , *J* = 8.4 Hz, CH_{Ar}), 7.42 (dd, 2H, *J* = 8.4 Hz, 2.1 Hz, CH_{Ar}), 6.84 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz, CH_{Ar}), 4.05 (t, 8H, *J* = 6 Hz, OCH₂), 1.84 (qt, 8 H, *J* = 6 Hz, CH₂), 1.46 (m, 8H, CH₂), 1.26 (m, 64H, CH₂), 0.88 (t, 12H, *J* = 6 Hz, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 193.81 (C=O), 154.90 (C_{Ar}), 140.22 (C_{Ar}), 126.14 (CH_{Ar}), 126.10 (C_{Ar}), 112.05 (CH_{Ar}), 111.44 (CH_{Ar}), 69.15 (CH₂), 69.12 (CH₂), 69.06 (CH₂), 31.91 (CH₂), 29.69 (CH₂), 29.66 (CH₂), 29.64 (CH₂), 29.61 (CH₂), 29.57 (CH₂), 29.37 (CH₂), 29.35 (CH₂), 29.32 (CH₂), 29.02 (CH₂), 28.87 (CH₂), 25.96 (CH₂), 25.89 (CH₂), 22.68 (CH₂), 14.12 (CH₃).

6.2.2. Compound 11' (Ni8C₁₂) :



A mixture of 3,3',4,4'-tetra(dodecyloxy)benzyl **10'** (500 mg, 0.5 mmol) and phosphorus pentasulfide (352 mg, 1.6 mmol) in 5 mL of 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone (DMI) was heated at 110 °C for 2 h. The reaction mixture was cooled to 60 °C. A solution of nickel chloride hexahydrate (70 mg, 0.25 mmol) in water (1 mL) was added to the reaction mixture and reacted to 90 °C for 2 h in air. To the resulting mixture was added ethanol and the precipitate was filtered, washed with ethanol and dried under vacuum. The purification of product was carried out by chromatography on silica gel, eluting with petroleum ether/CH₂Cl₂ (8:2) to afford a dark green solid (282 mg, 56 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.02 (dd, 4H, *J* = 8.4 Hz, 2.1 Hz, CH_{Ar}), 6.86 (d, 4H, *J* = 2.1 Hz, CH_{Ar}), 6.77 (d, 4H, *J* = 8.4 Hz, CH_{Ar}), 3.98 (t, 8H, *J* = 6 Hz, OCH₂), 3.77 (t, 8H, *J* = 6.6 Hz, CH₂), 1.82 (qt, 8H, *J* = 5.55 Hz, CH₂), 1.69 (qt, 8H, *J* = 5.55 Hz, CH₂), 1.37 (m, 144H, CH₂), 0.88 (td, 24H, *J* = 6.9 Hz, 1.8 Hz, CH₃).

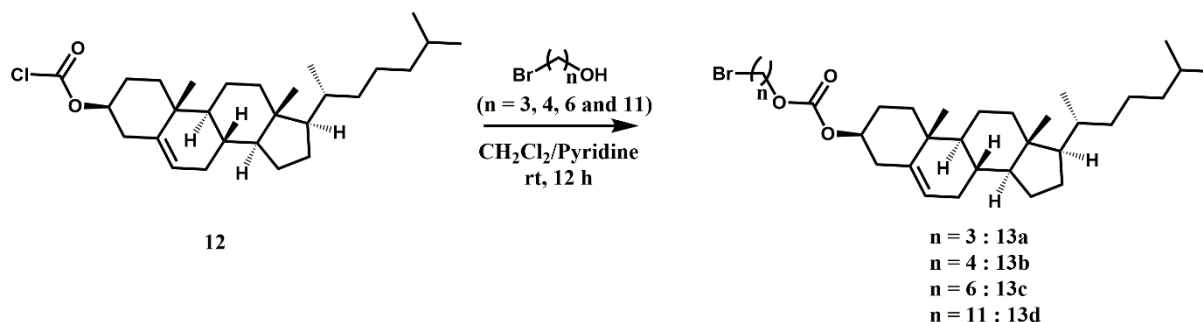
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 180.58 (CS), 149.98 (C_{Ar}), 148.55 (C_{Ar}), 134.47 (C_{Ar}), 121.95 (CH_{Ar}), 114.31 (CH_{Ar}), 112.81 (CH_{Ar}), 69.12 (CH₂), 31.93 (CH₂), 29.76 (CH₂), 29.67 (CH₂), 29.45 (CH₂), 29.41 (CH₂), 29.39 (CH₂), 29.31 (CH₂), 29.06 (CH₂), 26.00 (CH₂), 22.69 (CH₂), 14.11 (CH₃).

Anal. calcd for C₁₂₄H₂₁₂NiO₈S₄: C 73.80, H 10.59. Found: C 73.54, H 10.07

UV-Vis-NIR (DCM): 933 nm (ε = 47 100 L.mol⁻¹.cm⁻¹).

7. Synthesis of $[\text{Ni}(\text{dphedt})_2]^0\text{-(Cholesterol)}_8\text{Ni}_8\text{C}_n$ ($n = 3, 4, 6$ and 11)

7.1. General procedure for the synthesis of Cholesteryl alkyl bromide (13B-13d):



Cholesteryl chloroformate (2.00 g, 4.45 mmol) and bromoalcohol (4.9 mmol) were dissolved in 20 mL dry dichloromethane. 0.72 mL (8.9 mmol) of pyridine was added to this solution and the reaction mixture was stirred overnight. After reaction, the solution was washed successively with 1 N hydrochloric acid (2×30 mL) and water (2×30 mL) and then dried over MgSO_4 . After evaporation of the solvent, the compound was purified by precipitation using dichloromethane and methanol solvents and used for the next reaction without further purification. Yield : **13a** : 86 %, **13b** : 83 %, **13c** : 79 %, **13d** : 87 %).

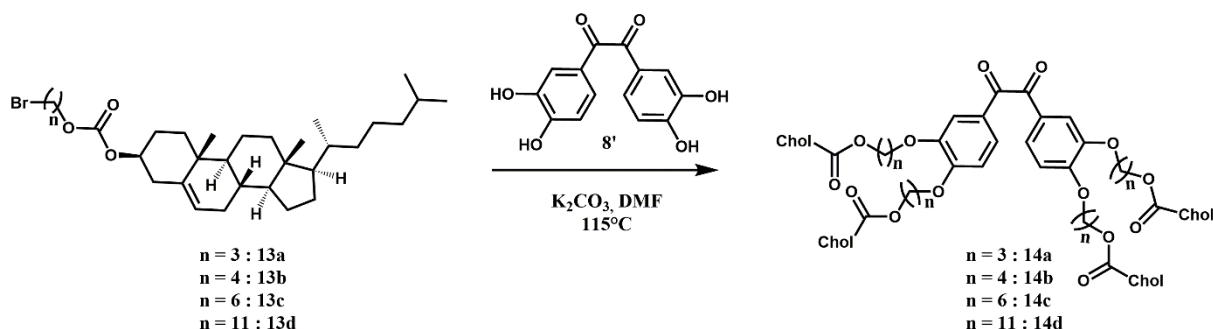
Compound 13a: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0.67-2.03 (m, 49H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety), 2.16-2.25 (m, 2H, CH_2), 2.36-2.42 (m, 2H, CH_2), 3.48 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.26 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.42-4.52 (m, 1H, CH), 5.38-5.4 (m, 1H, =CH).

Compound 13b: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0.67-2.03 (m, 53H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety and CH_2 of the linker), δ 2.36-2.4 (m, 2H, CH_2), 3.43 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.15 (t, 2H, $^3J = 6.4$ Hz, CH_2), 4.41-4.52 (m, 1H, CH), 5.38-5.4 (m, 1H, =CH).

Compound 13c: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0.67-2.03 (m, 49H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety and CH_2 of the C_6 chain), δ 2.36-2.42 (m, 2H, CH_2), 3.4 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.1 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.41-4.51 (m, 1H, CH), 5.37-5.39 (m, 1H, =CH).

Compound 13d: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0.67-2.03 (m, 59H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety and CH_2 of the C_{11} chain), δ 2.36-2.42 (m, 2H, CH_2), 3.4 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.1 (t, 2H, $^3J = 6.6$ Hz, CH_2), 4.41-4.51 (m, 1H, CH), 5.37-5.39 (m, 1H, =CH).

7.2. General procedure for the synthesis of 3,3',4,4'-t  tra(cholesteryl)-*n*-benzil (14B-14d):



Cholesteryl alkyl bromide (**13a-13d**) compound (3.3 mmol) and 3,3',4,4'-dihydroxybenzil **8'** (0.155 g, 0.56 mmol) were mixed together in 30 mL of *N,N* dimethylformamide (DMF). K_2CO_3 (0.31 g, 2.24 mmol) was added to this solution and the solution was heated at 110°C for 48 hours. After the reaction, the DMF was evaporated and the crude solid was dissolved in DCM and washed with water. After drying over MgSO_4 and evaporation of the solvent, the compound was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane as eluent. Yields : **14a** : 68 %, **14b** : 71 %, **14c** : 63 %, **14d** : 65%).

Compound 14a: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0.66-2.02 (m, 164H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety and CH_2 of the linker), δ 2.18-2.21 (m, 8H, CH_2), δ 2.36-2.38 (m, 8H, CH_2), 4.15 (t, 8H, $^3J = 6.6$ Hz), 4.3-4.35 (m, 8H, OCH_2), 4.42-4.49 (m, 4H, CH), 5.36-5.38 (m, 4H, =CH), 6.86 (d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz), 7.42 (dd, 2H, $^3J = 8.7$ Hz, $^3J = 2.1$ Hz), 7.55 (d, 2H, $^3J = 2.1$ Hz).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DEPT NMR (75.5 MHz, CDCl_3) 11.95 (CH_3), 18.82 (CH_3), 19.35 (CH_3), 21.13 (CH_2), 22.66 (CH_3), 22.92 (CH_3), 23.96 (CH_2), 24.37 (CH_2), 27.76 (CH_2), 28.1 (CH), 28.33 (CH_2), 28.6 (CH_2), 28.61 (CH_2), 28.73 (CH_2), 31.92 (CH), 31.94 (CH_2), 35.9 (CH), 36.28 (CH_2), 36.6 (CAr), 36.95 (CH_2), 38.1 (CH_2), 39.6 (CH_2), 39.81 (CH_2), 42.4 (CAr), 50.08 (CH), 56.25 (CH),

56.78 (CH), 64.11 (OCH₂), 64.30 (OCH₂), 65.26 (OCH₂), 65.35 (OCH₂), 77.91 (CH), 111.95 (CH), 112.69 (CH), 122.98 (CH), 123.06 (CH), 126.56 (CH), 126.58 (CH), 139.43 (C_{Ar}), 139.45 (C_{Ar}), 149.04 (C_{Ar}), 154.45 (C_{Ar}), 154.51 (C_{Ar}), 193.43 (C=O).

UV-vis (CH₂Cl₂, 23 °C): λ_{max} (ϵ , M⁻¹cm⁻¹) = 285 (23200), 324 (23200).

Anal. Calcd for C₁₃₈H₂₁₀O₁₈: C, 76.84; H, 9.81; Found C, 76.37; H, 9.70.

Compound 14b: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.66-2.02 (m, 180H, CH, CH₂ and CH₃ in cholesteryl moiety and CH₂ of the linker), δ 2.36-2.39 (m, 8H, CH₂), 4.07 (t, 8H, ³J = 6.6 Hz), 4.19-4.21 (m, 8H, OCH₂), 4.42-4.49 (m, 4H, CH), 5.37-5.38 (m, 4H, =CH), 6.83 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz), 7.42 (dd, 2H, ³J = 8.7 Hz, ³J = 2.1 Hz), 7.54 (d, 2H, ³J = 2.1 Hz).

¹³C{¹H} DEPT NMR (75.5 MHz, CDCl₃) 11.95 (CH₃), 18.81 (CH₃), 19.35 (CH₃), 21.13 (CH₂), 22.67 (CH₃), 22.92 (CH₃), 23.95 (CH₂), 24.37 (CH₂), 25.53 (CH₂), 25.61 (CH₂), 27.79 (CH₂), 28.1 (CH), 28.33 (CH₂), 31.92 (CH), 32.0 (CH₂), 35.89 (CH), 36.28 (CH₂), 36.62 (C_{Ar}), 36.96 (CH₂), 38.13 (CH₂), 39.6 (CH₂), 39.82 (CH₂), 42.4 (C_{Ar}), 50.03 (CH), 56.25 (CH), 56.78 (CH), 67.28 (OCH₂), 67.41 (OCH₂), 68.45 (OCH₂), 68.54 (OCH₂), 77.85 (CH), 111.71 (CH), 112.19 (CH), 122.97 (CH), 123.01 (CH), 126.29 (CH), 126.41 (CH), 139.41 (C_{Ar}), 139.46 (C_{Ar}), 149.15 (C_{Ar}), 154.62 (C_{Ar}), 154.7 (C_{Ar}), 193.59 (C=O).

UV-vis (CH₂Cl₂, 23 °C): λ_{max} (ϵ , M⁻¹cm⁻¹) = 285 (25600), 324 (25500).

Anal. Calcd for C₁₄₂H₂₁₈O₁₈: C, 77.06; H, 9.93; Found C, 76.42; H, 9.77

Compound 14c: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.66-2.02 (m, 196H, CH, CH₂ and CH₃ in cholesteryl moiety and CH₂ of the linker), δ 2.35-2.39 (m, 8H, CH₂), 4.03 (t, 8H, ³J = 6.6 Hz), 4.08-4.13 (m, 8H, OCH₂), 4.4-4.5 (m, 4H, CH), 5.36-5.39 (m, 4H, =CH), 6.83 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz), 7.42 (dd, 2H, ³J = 8.7 Hz, ³J = 2.1 Hz), 7.54 (d, 2H, ³J = 2.1 Hz).

¹³C{¹H} DEPT NMR (75.5 MHz, CDCl₃) 11.95 (CH₃), 18.8 (CH₃), 19.35 (CH₃), 21.12 (CH₂), 22.66 (CH₃), 22.92 (CH₃), 23.93 (CH₂), 24.36 (CH₂), 25.59 (CH₂), 25.62 (CH₂), 25.69 (CH₂), 25.77 (CH₂), 27.78 (CH₂), 28.1 (CH), 28.31 (CH₂), 28.71 (CH₂), 28.74 (CH₂), 28.87 (CH₂), 29.01 (CH₂), 31.92 (CH), 31.98 (CH₂), 35.88 (CH), 36.27 (CH₂), 36.6 (C_{Ar}), 36.95 (CH₂), 38.13 (CH₂), 39.59 (CH₂), 39.79 (CH₂), 42.37 (C_{Ar}), 50.07 (CH), 56.22 (CH), 56.76 (CH), 67.66 (OCH₂), 67.72 (OCH₂), 68.91 (OCH₂), 68.99 (OCH₂), 77.72 (CH), 111.62 (CH), 112.22 (CH), 122.98 (CH), 126.23 (CH), 126.31 (CH), 139.43 (C_{Ar}), 139.46 (C_{Ar}), 149.25 (C_{Ar}), 154.70 (C_{Ar}), 154.87 (C_{Ar}), 193.72 (C=O).

UV-vis (CH₂Cl₂, 23 °C): λ_{max} (ϵ , M⁻¹cm⁻¹) = 285 (19800), 324 (19800).

Anal. Calcd for C₁₅₀H₂₃₄O₁₈: C, 77.47; H, 10.14; Found C, 76.73; H, 10.00.

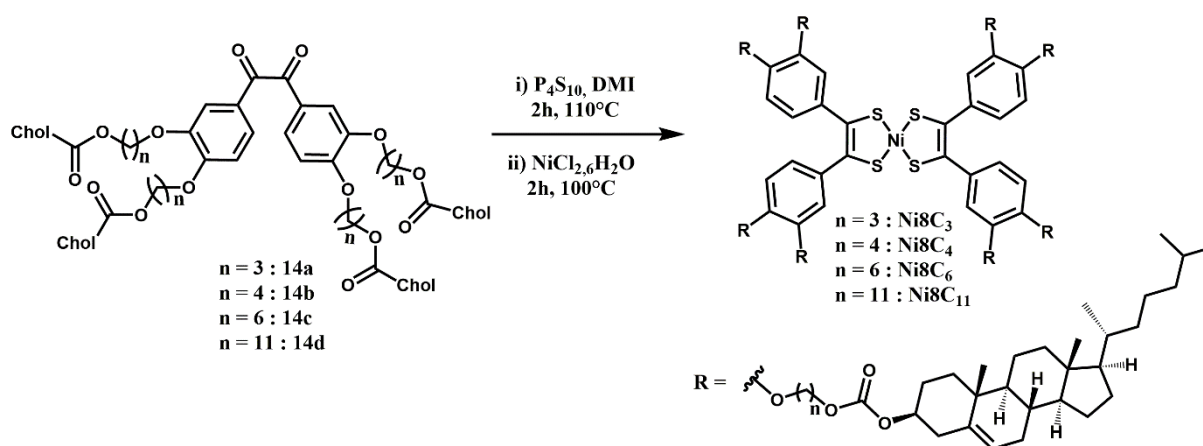
Compound 14d: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.67-2.02 (m, 236H, CH, CH₂ and CH₃ in cholesteryl moiety and CH₂ of the linker), δ 2.36-2.39 (m, 8H, CH₂), 4.02-4.12 (m, 16H OCH₂), 4.41-4.51 (m, 4H, CH), 5.37-5.39 (m, 4H, =CH), 6.83 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz), 7.42 (dd, 2H, ³J = 8.7 Hz, ³J = 2.1 Hz), 7.56 (d, 2H, ³J = 2.1 Hz).

¹³C{¹H} DEPT NMR (75.5 MHz, CDCl₃) 11.97 (CH₃), 18.8 (CH₃), 19.38 (CH₃), 21.14 (CH₂), 22.68 (CH₃), 22.94 (CH₃), 23.94 (CH₂), 24.39 (CH₂), 25.86 (CH₂), 26.02 (CH₂), 26.89 (CH₂), 27.81 (CH₂), 28.12 (CH), 28.34 (CH₂), 28.79 (CH₂), 29.03 (CH₂), 29.17 (CH₂), 29.36 (CH₂), 29.44 (CH₂), 29.49 (CH₂), 29.61 (CH₂), 29.63 (CH₂), 29.69 (CH₂), 31.94 (CH), 32.08 (CH₂), 35.90 (CH), 36.29 (CH₂), 36.59 (CAr), 36.65 (CH₂), 36.97 (CH₂), 38.16 (CH₂), 39.62 (CH₂), 39.82 (CH₂), 42.42 (CAr), 50.09 (CH), 56.23 (CH), 56.80 (CH), 67.99 (OCH₂), 69.21 (OCH₂), 69.31 (OCH₂), 76.72 (CH), 111.64 (CH), 112.27 (CH), 122.99 (CH), 126.29 (CH), 139.50 (CAr), 149.39 (CAr), 154.79 (CAr), 155.05 (CAr), 193.88 (C=O).

UV-vis (CH₂Cl₂, 23 °C): λ_{max} (ε, M⁻¹cm⁻¹) = 285 (20600), 324 (21400).

Anal. Calcd for C₁₇₀H₂₇₄O₁₈: C, 78.35; H, 10.60; Found C, 78.10; H, 10.49.

7.3. General procedure for the synthesis of nickel complexes Ni8C_n (n = 3, 4, 6 and 11):



The benzil derivatives (**14a-14d**) (0.3 mmol) were refluxed with P₄S₁₀ (0.333 g, 0.75 mmol) in 5 mL of 1,3-dimethyl-2-imidazolidione (DMI) for two hours under an inert argon atmosphere at 110 °C. After that, the temperature of the reaction mixture was lowered down to 60 °C followed by 0.0355 g (0.15 mmol) NiCl₂·6H₂O in 1 mL of water was added. After refluxing for 2 hours at 90 °C, the reaction mixture was cooled and equal amount of water was

added. The black precipitate was collected by filtration. The pure dark green complexes were purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane as eluent and the products were recrystallized from CH₂Cl₂/MeOH mixtures by slow evaporation of the dichloromethane. The products were isolated in good yields (**Ni8C₃**: 65 %, **Ni8C₄**: 79 %, **Ni8C₆**: 34 %, **Ni8C₁₁**: 46 %.)

Ni8C₃: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.67-1.9 (m, 344H, CH, CH₂ and CH₃ in cholesteryl moiety and CH₂ of the linker), 2.35-2.38 (m, 16H, CH₂), 3.82 (m, 8H, CH₂), 4.02 (m, 8H, CH₂), 4.17-4.23 (m, 16H, CH₂), 4.4-4.52 (m, 8H, CH), 5.37-5.39 (m, 8H, =CH), 6.76 (d, 4H, ³J = 8.7 Hz), 6.88 (d, 4H, ³J = 1.8), 6.98 (dd, 4H, ³J = 1.8 Hz, ³J = 8.7 Hz).

¹³C{¹H} DEPT NMR (75.5 MHz, CDCl₃) 11.99 (CH₃), 18.85 (CH₃), 19.41 (CH₃), 21.18 (CH₂), 22.7 (CH₃), 22.95 (CH₃), 24.0 (CH₂), 24.42 (CH₂), 25.65 (CH₂), 25.77 (CH₂), 27.84 (CH₂), 28.14 (CH), 28.37 (CH₂), 31.96 (CH), 32.04 (CH₂), 35.94 (CH), 36.32 (CH₂), 36.63 (CAr), 37.05 (CH₂), 38.18 (CH₂), 39.64 (CH₂), 39.85 (CH₂), 42.43 (CAr), 50.1 (CH), 56.28 (CH), 56.81 (CH), 67.46 (OCH₂), 68.44 (OCH₂), 68.54 (OCH₂), 76.79 (CH), 123.03 (CH), 134.71 (CAr), 148.46 (CAr), 149.83 (CAr), 154.67 (CAr), 154.7 (CAr).

UV-vis (CH₂Cl₂, 23 °C): λ_{max} (ε, M⁻¹cm⁻¹) = 308 (62700), 946 (32400).

MALDI-TOF: *m/z* 4432.1 [M⁺].

Anal. Calcd for C₂₇₆H₄₂₀NiO₃₂S₄: C, 74.71; H, 9.54; S, 2.89; Found C, 74.77; H, 9.57; S, 2.30.

Ni8C₄: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.66-2.17 (m, 360H, CH, CH₂ and CH₃ in cholesteryl moiety and CH₂ of the linker), 2.36-2.38 (m, 16H, CH₂), 3.95 (t, 8H, ³J = 5.7 Hz), 4.1 (t, 8H, ³J = 5.7 Hz), 4.25-4.35 (m, 16H, CH₂), 4.41-4.52 (m, 8H, CH), 5.37-5.39 (m, 8H, =CH), 6.77 (d, 4H, ³J = 8.7 Hz), 6.93-6.96 (m, 8H).

¹³C{¹H} DEPT NMR (75.5 MHz, CDCl₃) 11.93 (CH₃), 18.85 (CH₃), 19.4 (CH₃), 21.16 (CH₂), 22.69 (CH₃), 22.95 (CH₃), 24.0 (CH₂), 24.41 (CH₂), 25.65 (CH₂), 27.81 (CH₂), 28.14 (CH), 28.36 (CH₂), 31.67 (CH), 31.95 (CH), 32.03 (CH₂), 35.94 (CH), 36.32 (CH₂), 36.66 (CAr), 37.0 (CH₂), 38.18 (CH₂), 39.64 (CH₂), 39.85 (CH₂), 42.43 (CAr), 45.2 (CAr), 50.1 (CH), 56.29 (CH), 56.81 (CH), 64.47 (OCH₂), 65.46 (OCH₂), 68.54 (OCH₂), 77.95 (CH), 123.09 (CH), 139.45 (CAr), 154.54 (CAr), 154.59 (CAr).

UV-vis (CH₂Cl₂, 23 °C): λ_{max} (ε, M⁻¹cm⁻¹) = 308 (63000), 952 (36800).

MALDI-TOF: *m/z* 4545.3 [M⁺].

Elemental analysis calcd for $C_{284}H_{436}NiO_{32}S_4$: C, 74.98; H, 9.66; S, 2.82; Found C, 74.75; H, 9.68; S, 2.88.

Ni8C6: 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.67-2.02 (m, 392H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety and CH_2 of the linker), 2.36-2.39 (m, 16H, CH_2), 3.78 (t, 8H, $^3J = 6.6$ Hz), 3.97 (t, 8H, $^3J = 6.6$ Hz), 4.09-4.315 (m, 16H, CH_2), 4.4-4.52 (m, 8H, CH), 5.37-5.39 (m, 8H, =CH), 6.76 (d, 4H, $^3J = 8.4$ Hz), 6.88 (d, 4H, $^3J = 1.8$), 6.98 (dd, 4H, $^3J = 1.8$ Hz, $^3J = 8.4$ Hz).

$^{13}C\{^1H\}$ DEPT NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) 11.98 (CH_3), 18.83 (CH_3), 19.4 (CH_3), 21.16 (CH_2), 22.68 (CH_3), 22.95 (CH_3), 23.97 (CH_2), 24.39 (CH_2), 25.64 (CH_2), 25.69 (CH_2), 25.69 (CH_2), 27.82 (CH_2), 28.1 (CH), 28.34 (CH_2), 28.79 (CH_2), 29.05 (CH_2), 31.94 (CH), 32.02 (CH_2), 35.92 (CH), 36.3 (CH_2), 36.64 (CAr), 36.98 (CH_2), 38.17 (CH_2), 39.63 (CH_2), 39.63 (CH_2), 39.83 (CH_2), 42.42 (CAr), 50.09 (CH), 56.25 (CH), 56.78 (CH), 67.79 (OCH_2), 68.93 (OCH_2), 77.76 (CH), 123.02 (CH), 134.61 (CAr), 139.50 (CAr), 148.56 (CAr), 149.43 (CAr), 154.62 (CAr), 156.64 (CAr).

UV-vis (CH_2Cl_2 , 23 °C): λ_{max} (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$) = 308 (59400), 959 (34500). MALDI-TOF: m/z 4767.8 [$M^+ - 2$].

Elemental analysis calcd for $C_{300}H_{468}NiO_{32}S_4$: C, 75.48; H, 9.88; S, 2.69; Found C, 75.66; H, 9.99; S, 2.32.

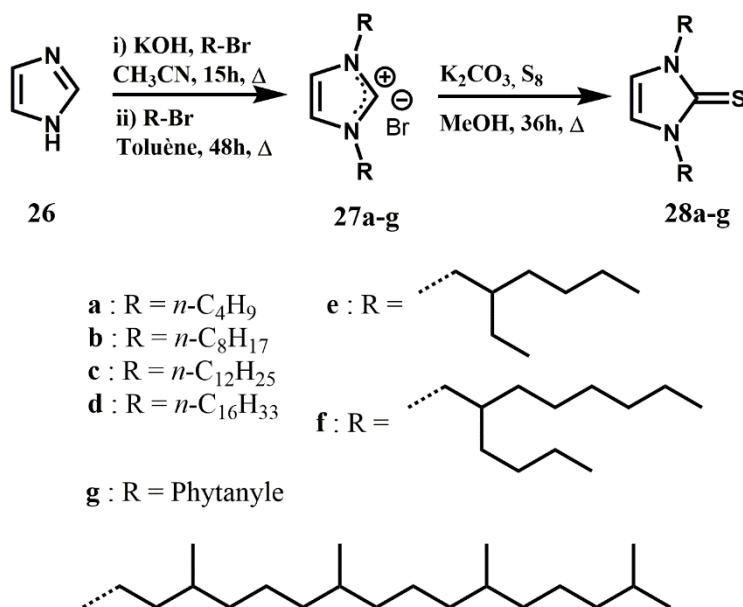
Ni8C11: 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.67-2.02 (m, 472H, CH, CH_2 and CH_3 in cholesteryl moiety and CH_2 of the linker), 2.36-2.4 (m, 16H, CH_2), 3.77 (t, 8H, $^3J = 6.6$ Hz), 3.97 (t, 8H, $^3J = 6.6$ Hz), 4.07-4.13 (m, 16H, CH_2), 4.41-4.5 (m, 8H, CH), 5.37-5.39 (m, 8H, =CH), 6.76 (d, 4H, $^3J = 8.7$ Hz), 6.87 (d, 4H, $^3J = 1.8$), 7.0 (dd, 4H, $^3J = 1.8$ Hz, $^3J = 8.7$ Hz). $^{13}C\{^1H\}$ DEPT NMR (75.5 MHz, $CDCl_3$) 11.98 (CH_3), 18.83 (CH_3), 19.4 (CH_3), 21.16 (CH_2), 22.68 (CH_3), 22.95 (CH_3), 23.97 (CH_2), 24.39 (CH_2), 25.64 (CH_2), 25.69 (CH_2), 25.69 (CH_2), 27.82 (CH_2), 28.1 (CH), 28.34 (CH_2), 28.79 (CH_2), 29.05 (CH_2), 31.94 (CH), 32.02 (CH_2), 35.92 (CH), 36.3 (CH_2), 36.64 (CAr), 36.98 (CH_2), 38.17 (CH_2), 39.63 (CH_2), 39.63 (CH_2), 39.83 (CH_2), 42.42 (CAr), 50.09 (CH), 56.25 (CH), 56.78 (CH), 67.79 (OCH_2), 68.93 (OCH_2), 77.76 (CH), 123.02 (CH), 134.61 (CAr), 139.50 (CAr), 148.56 (CAr), 149.43 (CAr), 154.62 (CAr), 156.64 (CAr). UV-vis (CH_2Cl_2 , 23 °C): λ_{max} (ϵ , $M^{-1}cm^{-1}$) = 308 (58700), 963 (37000).

MALDI-TOF: m/z 4321.1 [$M^+ - 8$].

Elemental analysis calcd for $C_{340}H_{548}NiO_{32}S_4$: C, 76.55; H, 10.35; S, 2.4; Found C, 76.73; H, 10.54; S, 2.21.

8. Synthesis of Ni-bis(1,3-Dialkylimidazolidine-2,4,5-trithione) complexes

8.1. General procedure for the preparation of 1,3-Dialkylimidazole-2-thione 28a-28g :



Imidazole (2.0 g, 29.4 mmol) was dissolved in dry CH_3CN (17 mL). Bromo-alkyl derivative (29.4 mmol) and KOH (3.3 g, 58.8 mmol) were added to the solution under nitrogen. The mixture was vigorously stirred and refluxed for 15 h. The reaction was stopped and CH_3CN evaporated. The organic compound was dissolved in CH_2Cl_2 , washed with water (2×100 mL), brine (1×100 mL), dried (MgSO_4) and concentrated to give an orange oil. Toluene (20 mL) and bromo-alkyl (29.4 mmol) were added to the oil under nitrogen. The mixture was stirred and refluxed for 48 h. The toluene was evaporated to give a brown oil, the further oil was dissolved in dry methanol (25 mL). S_8 (1.2 eq) and K_2CO_3 (1.2 eq) were added to the solution under nitrogen. The mixture was stirred and refluxed for 36 h. The precipitate obtained was filtered and the filtrate evaporated. The organic compounds were dissolved in CH_2Cl_2 , washed with water (2×100 mL), brine (1×100 mL), dried (MgSO_4) and concentrated to give brown oils. Chromatographic purification on silica gel by using petroleum ether-dichloromethane as eluent afforded 1,3-dialkylimidazole-2-thione **28a-g**.

1,3-Dibutylimidazole-2-thione 28a : Orange oil (Yield: 64 %).

^1H NMR (300 MHz, CHCl_3 -d) δ 0.87 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 1.39 – 1.15 (m, 4H), 1.82 – 1.51 (m, 4H), 3.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 4H), 6.68 (s, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 13.38 (CH_3), 19.38 (CH_2), 30.66 (CH_2), 47.05 (CH_2), 116.52 ($\text{C}=\text{C}$), 160.87 ($\text{C}=\text{S}$).

Anal calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{S}$: C, 62.22; H, 9.49; N, 13.19; S, 15.10. Found: C, 62.40; H, 9.76; N, 13.16; S, 15.09.

1,3-Dioctylimidazole-2-thione 28b : Yellow oil (Yield: 61%).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.76 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H), 1.35 – 1.05 (m, 20H), 1.77 – 1.58 (m, 4H), 3.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 6.62 (s, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 13.37 (CH_3), 21.90 (CH_2), 25.87 (CH_2), 28.24 (CH_2), 28.43 (CH_2), 28.46 (CH_2), 31.04 (CH_2), 47.09 (CH_2), 115.92 ($\text{C}=\text{C}$), 160.66 ($\text{C}=\text{S}$).

Anal calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{S}$: C, 70.31; H, 11.18; N, 8.63; S, 9.88. Found: C, 70.25; H, 11.27; N, 8.52; S, 9.80.

1,3-Didodecylimidazole-2-thione 28c : White solid (Yield: 66%).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 1.38 – 1.14 (m, 37H), 1.73 (m, 4H), 4.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 4H), 6.65 (s, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 14.13 (CH_3), 22.68 (CH_2), 26.60 (CH_2), 28.94 (CH_2), 29.22 (CH_2), 29.34 (CH_2), 29.49 (CH_2), 29.56 (CH_2), 29.61 (CH_2), 29.62 (CH_2), 31.91 (CH_2), 47.87 (CH_2), 116.49 ($\text{C}=\text{C}$), 161.39 ($\text{C}=\text{S}$).

Anal calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{S}$: C, 74.25; H, 12.00; N, 6.41; S, 7.34. Found: C, 74.11; H, 12.00; N, 6.32; S, 7.11

1,3-Didecahexylimidazole-2-thione 28d : White solid (Yield: 60 %).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.86 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H), 1.38 – 1.14 (m, 53H), 1.74 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H), 4.01 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 14.10 (CH_3), 22.68 (CH_2), 26.59 (CH_2), 28.93 (CH_2), 29.09 (CH_2), 29.21 (CH_2), 29.35 (CH_2), 29.48 (CH_2), 29.55 (CH_2), 29.62 (CH_2), 29.65 (CH_2), 29.68 (CH_2), 29.87 (CH_2), 30.90 (CH_2), 31.91 (CH_2), 47.86 (CH_2), 116.46 ($\text{C}=\text{C}$), 161.50 ($\text{C}=\text{S}$).

Anal calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{68}\text{N}_2\text{S}$: C, 76.57; H, 12.48; N, 5.10; S, 5.84. Found: C, 76.55; H, 12.50; N, 4.90; S, 5.73.

1,3-Di-2-ethylhexylimidazole-2-thione 28e : Pale yellow oil (Yield: 40%).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.86 – 0.64 (m, 12H), 1.26 – 1.02 (m, 16H), 1.87 – 1.72 (m, 2H), 3.79 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H), 6.55 (s, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 10.35 (CH_3), 13.87 (CH_3), 22.81 (CH_2), 23.42 (CH_2), 28.29 (CH_2), 30.06 (CH_2), 38.39 (CH), 51.24 (CH_2), 117.00 ($\text{C}=\text{C}$), 162.40 ($\text{C}=\text{S}$).

Anal calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{S}$: C, 70.31; H, 11.18; N, 8.63; S, 9.88. Found: C, 70.27; H, 11.17; N, 8.67; S, 9.81.

1,3-Di-2-butyl-octylimidazole-2-thione 28f : Yellow oil (Yield: 73%).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.82 – 0.71 (m, 12H), 1.26 – 1.11 (m, 32H), 1.96 – 1.86 (m, 2H), 3.84 (d, J = 7.4 Hz, 4H), 6.56 (s, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 13.87 (CH_2), 13.95 (CH_2), 22.50 (CH_2), 22.85 (CH_2), 26.12 (CH_2), 28.31 (CH_2), 29.52 (CH_2), 30.70 (CH_2), 31.08 (CH_2), 31.66 (CH_2), 37.09 (CH), 51.64 (CH_2), 116.91 ($\text{C}=\text{C}$), 162.67 ($\text{C}=\text{S}$).

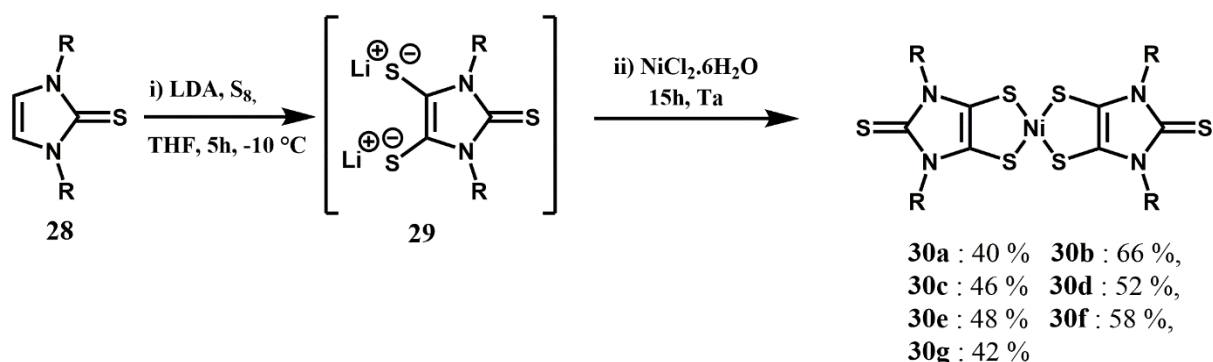
1,3-Diphytylimidazole-2-thione 28g : Yellow oil (Yield: 75%).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.81 (t, J = 6.4 Hz, 24H), 0.92 (d, J = 6.2 Hz, 6H), 1.41 – 0.98 (m, 41H), 1.60 – 1.39 (m, 6H), 1.83 – 1.63 (m, 2H), 4.01 (d, J = 6.7 Hz, 4H), 6.64 (s, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 19.43, 19.60, 19.65, 22.60, 24.22, 24.40, 24.74, 27.90, 30.46, 32.44, 32.68, 32.70, 35.94, 36.78, 37.08, 37.23, 37.29, 37.34, 39.32, 45.97, 116.21, 161.61.

Anal calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{84}\text{N}_2\text{S}$: C, 78.11; H, 12.80; N, 4.24; S, 4.85. Found: C, 77.90; H, 12.56; N, 4.06; S, 4.64.

8.2. General procedure for the preparation of the $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]$ 30a-g :



To a solution of 1,3-dialkylimidazole-2-thione **28a-g** (1.9 mmol) in dry THF (20 mL) was added a solution of LDA freshly prepared from BuLi (2.83 mmol, 1.8 mL, 1.6 M in hexane) and diisopropylamine (2.83 mmol, 0.4 mL) in 6 mL of dry THF. After the mixture has been stirred

for 30 min at -10 °C, S₈ (2.83 mmol, 91 mg) was added and the solution was stirred for an additional 30 min. To the medium a solution of LDA (3.76 mmol, 2.4 mL of nBuLi in hexane added to 3.76 mmol, 0.53 mL of diisopropylamine in 8 mL of dry THF) was added. The reaction mixture was stirred at -10 °C for 3h, then sulphur S₈ (3.76 mmol, 121 mg) was added. After 30 min, NiCl₂·6H₂O (0.94 mmol, 224 mg) was added to the medium and the reaction mixture was stirred for 15 h. The solvent was evaporated in vacuo and the residue was extracted with CH₂Cl₂. The concentrated solution was purified by flash chromatography on silica gel using petroleum ether/dichloromethane as eluent. After purification and evaporation the residue was washed with pentane and EtOH. The desired products were obtained in good yields (40 - 66 %).

Ni-bis(1,3-Dibutylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30a : Recrystallization from CH₂Cl₂/MeOH (1/1) afforded Black crystals (Yield: 40 %).

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 12H), 1.49 – 1.24 (m, 8H), 1.94 – 1.63 (m, 8H), 4.23 (t, J = 7.5 Hz, 8H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 14.18 (CH₃), 30.38 (CH₂), 41.96 (CH₂), 46.25 (CH₂), 163.52 (D-S), 171.27 (C=S).

Anal calcd for C₂₂H₃₆N₄NiS₆ + H₂O: C, 42.23; H, 6.12; N, 8.96; S, 30.75 Found: C, 42.53; H, 6.04; N, 8.85; S, 30.98.

M⁺(C₂₂H₃₆N₄S₆⁵⁸Ni) m/z theoretical: 606.06233; m/z Found: 606.0626

UV-Vis-NIR (DCM) :

299 nm (ε = 32150 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

339 nm (ε = 34300 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

460 nm (ε = 6600 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

999 nm (ε = 61000 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

Ni-bis(1,3-Dioctylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30b : Dark-brown solid (Yield: 66 %).

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 0.91 (t, J = 7.5 Hz, 12H), 1.22 – 1.51 (m, 40H), 1.89 (d, J = 7.5 Hz, 8H), 4.28 (t, J = 7.6 Hz, 8H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 14.12 (CH₃), 22.61 (CH₂), 26.79 (CH₂), 27.46 (CH₂), 29.16 (CH₂), 31.79 (CH₂), 42.07 (CH₂), 46.23 (CH₂), 163.37 (D-S), 171.23 (C=S).

Anal calcd for C₃₈H₆₈N₄NiS₆ + 2 × EtOH: C, 54.58; H, 8.72; N, 6.06; S, 20.82 Found: C, 54.26; H, 8.23; N, 6.37; S, 20.51.

$M^-(C_{38}H_{68}N_4S_6^{58}Ni)$ m/z theoretical: 830.31273; m/z Found: 830.3133

UV-Vis-NIR (DCM) :

UV-Vis-NIR (Toluene) :

301 nm ($\epsilon = 28000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) 299 nm ($\epsilon = 25500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

337 nm ($\epsilon = 27000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) 339 nm ($\epsilon = 27000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

462 nm ($\epsilon = 4800 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) 460 nm ($\epsilon = 4800 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1000 nm ($\epsilon = 43000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) 999 nm ($\epsilon = 49000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Ni-bis(1,3-Didodecylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30c : Dark-Green solid (Yield: 46 %). ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 0.90 (t, J = 6.5 Hz, 12H), 1.23 – 1.40 (m, 72H), 1.90 (t, J = 7.5 Hz, 8H), 4.30 (t, J = 7.6 Hz, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 14.26 (CH_3), 22.16 (CH_2), 22.66 (CH_2), 23.06 (CH_2), 26.25 (CH_2), 28.55 (CH_2), 29.67 (CH_2), 31.14 (CH_2), 31.36 (CH_2), 31.81 (CH_2), 36.03 (CH_2), 50.54 (CH_2), 163.66 (D-S), 171.75 (C=S).

Anal calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{100}\text{N}_4\text{NiS}_6$ + Pentane: C, 62.79; H, 10.00; N, 4.96; S, 17.05 Found: C, 62.98; H, 9.79; N, 5.12; S, 17.22.

$M^-(\text{C}_{54}\text{H}_{100}\text{N}_4\text{S}_6^{58}\text{Ni})$ m/z theoretical: 1054.56313; m/z Found: 1054.5632

UV-Vis-NIR (DCM) :

299 nm ($\epsilon = 28000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

339 nm ($\epsilon = 35000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

460 nm ($\epsilon = 6900 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1000 nm ($\epsilon = 60000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Ni-bis(1,3-Didecahexylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30d : Dark-green solid (Yield: 52 %).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 12H), 1.13 – 1.48 (m, 104H), 1.89 (t, J = 7.4 Hz, 8H), 4.31 (t, J = 7.5 Hz, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 14.26 (CH_3), 22.16 (CH_2), 22.66 (CH_2), 23.06 (CH_2), 26.25 (CH_2), 28.55 (CH_2), 29.67 (CH_2), 30.55 (CH_2), 31.14 (CH_2), 31.25 (CH_2), 31.36 (CH_2), 31.44 (CH_2), 31.55 (CH_2), 31.63 (CH_2), 31.75 (CH_2), 31.81 (CH_2), 36.03 (CH_2), 50.54 (CH_2), 163.66 (D-S), 171.75 (C=S).

Anal calcd for $\text{C}_{70}\text{H}_{132}\text{N}_4\text{NiS}_6$: C, 65.64; H, 10.39; N, 4.37; S, 15.02 Found: C, 65.69; H, 10.47; N, 4.30; S, 15.21.

$M^-(\text{C}_{70}\text{H}_{132}\text{N}_4\text{S}_6^{58}\text{Ni})$ m/z theoretical: 1278.81353; m/z Found: 1278.8129

UV-Vis-NIR (DCM) :

301 nm ($\epsilon = 28000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

339 nm ($\epsilon = 33000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

460 nm ($\epsilon = 7000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

999 nm ($\epsilon = 56000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

UV-Vis-NIR (Toluene) :

300 nm ($\epsilon = 25000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

340 nm ($\epsilon = 30000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

470 nm ($\epsilon = 6200 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1015 nm ($\epsilon = 50000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Ni-bis(1,3-Di-2-ethylhexylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30e : Dark-brown solid (Yield: 48 %).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 0.76 – 1.06 (m, 24H), 1.26 – 1.53 (m, 32H), 2.21 – 2.50 (m, 4H), 4.23 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 10.82 (CH_3), 14.06 (CH_3), 23.02 (CH_2), 24.03 (CH_2), 28.49 (CH_2), 30.54 (CH_2), 37.51 (CH), 50.41 (CH_2), 163.78 (D-S), 171.78 (C=S).

Anal calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{N}_4\text{NiS}_6$: C, 54.85; H, 8.24; N, 6.73; S, 23.12 Found: C, 54.85; H, 8.24; N, 6.67; S, 23.35.

$\text{M}^+(\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{N}_4\text{S}_6^{58}\text{Ni})$ m/z theoretical: 830.31273; m/z Found: 830.3132

UV-Vis-NIR (DCM) :

300 nm ($\epsilon = 33000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

340 nm ($\epsilon = 40000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

464 nm ($\epsilon = 7700 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1006 nm ($\epsilon = 81000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

UV-Vis-NIR (Toluene) :

298 nm ($\epsilon = 30500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

340 nm ($\epsilon = 35000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

467 nm ($\epsilon = 7050 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1014 nm ($\epsilon = 84000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Ni-bis(1,3-Di-2-butyloctylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30f : Dark-brown solid (Yield: 58 %).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-d) δ 0.72 – 0.99 (m, 24H), 1.08 – 1.53 (m, 64H), 2.28 – 2.55 (m, 4H), 4.23 (d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 14.06 (CH_3), 14.16 (CH_3), 22.68 (CH_2), 23.02 (CH_2), 26.29 (CH_2), 28.52 (CH_2), 29.63 (CH_2), 31.11 (CH_2), 31.39 (CH_2), 31.84 (CH_2), 36.09 (CH), 50.58 (CH_2), 163.80 (D-S), 171.78 (C=S).

Anal calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{100}\text{N}_4\text{NiS}_6$: C, 61.39; H, 9.54; N, 5.30; S, 18.21 Found: C, 61.73; H, 9.60; N, 5.31; S, 18.28.

$\text{M}^+(\text{C}_{54}\text{H}_{100}\text{N}_4\text{S}_6^{58}\text{Ni})$ m/z theoretical: 1054.56313; m/z Found: 1054.5635

UV-Vis-NIR (DCM) :

301 nm ($\epsilon = 33500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

341 nm ($\epsilon = 40000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

468 nm ($\epsilon = 7600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1007 nm ($\epsilon = 81000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

UV-Vis-NIR (Toluene) :

300 nm ($\epsilon = 28000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

340 nm ($\epsilon = 36000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

468 nm ($\epsilon = 6500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1016 nm ($\epsilon = 83500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Ni-bis(1,3-Diphytylimidazolidine-2,4,5-trithione) 30g : Dark-brown oil (Yield: 42 %).

^1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ 0.81 – 0.93 (m, 60H), 0.92 – 1.77 (m, 92H), 1.82 – 2.01 (m, 4H), 4.32 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 8H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 19.72, 19.81, 22.67, 22.77, 24.26, 24.35, 24.52, 24.83, 27.99, 30.89, 32.82, 34.14, 34.20, 37.02, 37.32, 37.41, 37.45, 37.50, 39.39, 44.57, 163.08, 170.21.

Anal calcd for $\text{C}_{86}\text{H}_{164}\text{N}_4\text{NiS}_6$: C, 68.62; H, 10.98; N, 3.72; S, 12.78 Found: C, 68.82; H, 11.20; N, 3.69; S, 12.51.

$\text{M}^+(\text{C}_{86}\text{H}_{164}\text{N}_4\text{S}_6^{58}\text{Ni})$ m/z theoretical: 1503.06393; m/z Found: 1503.0632

UV-Vis-NIR (DCM) :

30 nm ($\epsilon = 30000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

340 nm ($\epsilon = 37000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

457 nm ($\epsilon = 7600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

1001 nm ($\epsilon = 71500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

Annexe B du chapitre 1

Annexe C du chapitre 3

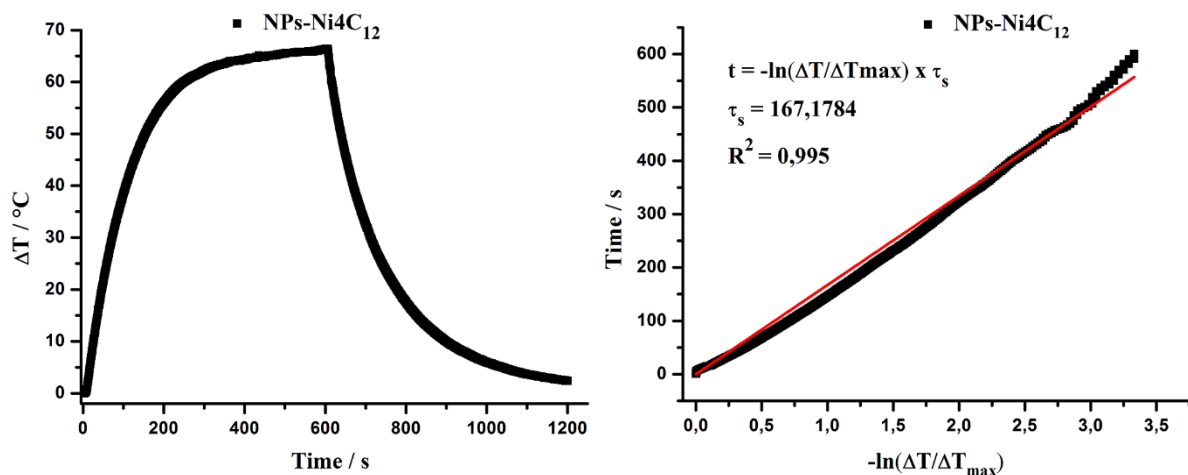


Figure C-1. (Left) Temperature profile of the suspension of NPs-Ni₄C₁₂ in water when illuminated with a 940 nm laser (5 W.cm⁻²) during 10 min and after turning off of the laser during 10 min; (Right) time constant for heat transfer is determined by applying the linear time from the cooling period (from 600 to 1200 s) versus negative natural logarithm of the driving force temperature.

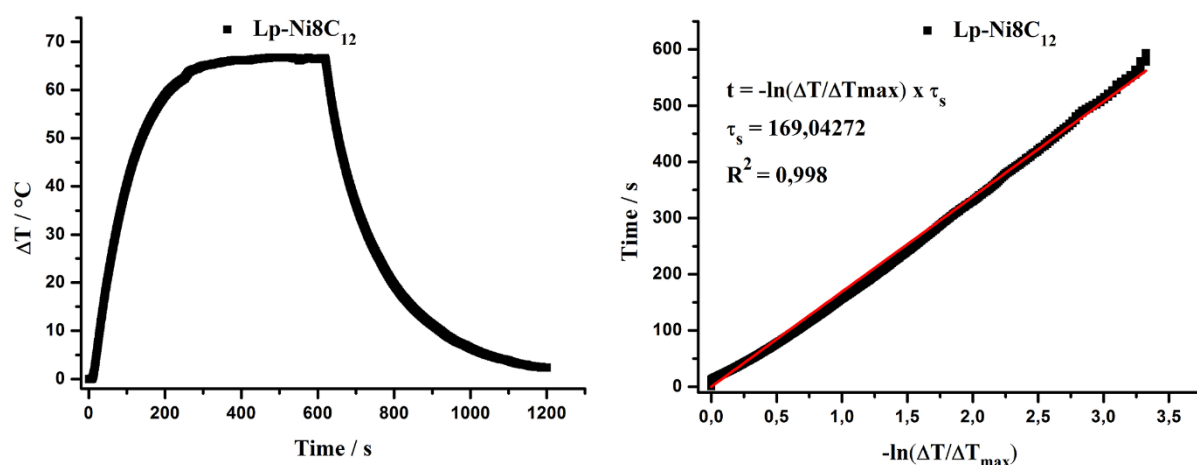


Figure C-2. (Left) Temperature profile of the suspension of Lp-Ni₈C₁₂ in water when illuminated with a 940 nm laser (5 W.cm⁻²) during 10 min and after turning off of the laser during 10 min; (Right) time constant for heat transfer is determined by applying the linear time from the cooling period (from 600 to 1200 s) versus negative natural logarithm of the driving force temperature.

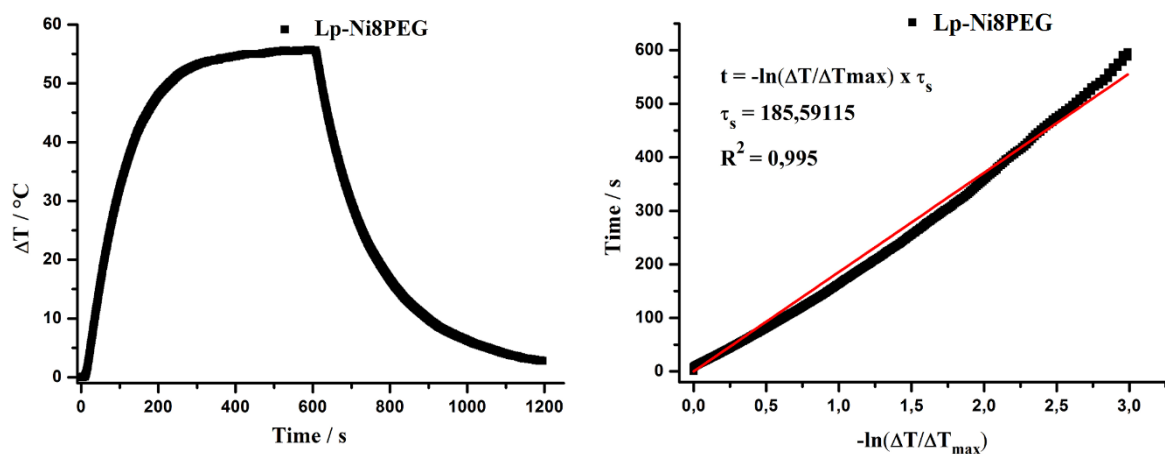


Figure C-3. (Left) Temperature profile of the suspension of Lp-Ni8PEG in water when illuminated with a 940 nm laser (5 W.cm^{-2}) during 10 min and after turning off of the laser during 10 min; (Right) time constant for heat transfer is determined by applying the linear time from the cooling period (from 600 to 1200 s) versus negative natural logarithm of the driving force temperature.

Annexe D du chapitre 4

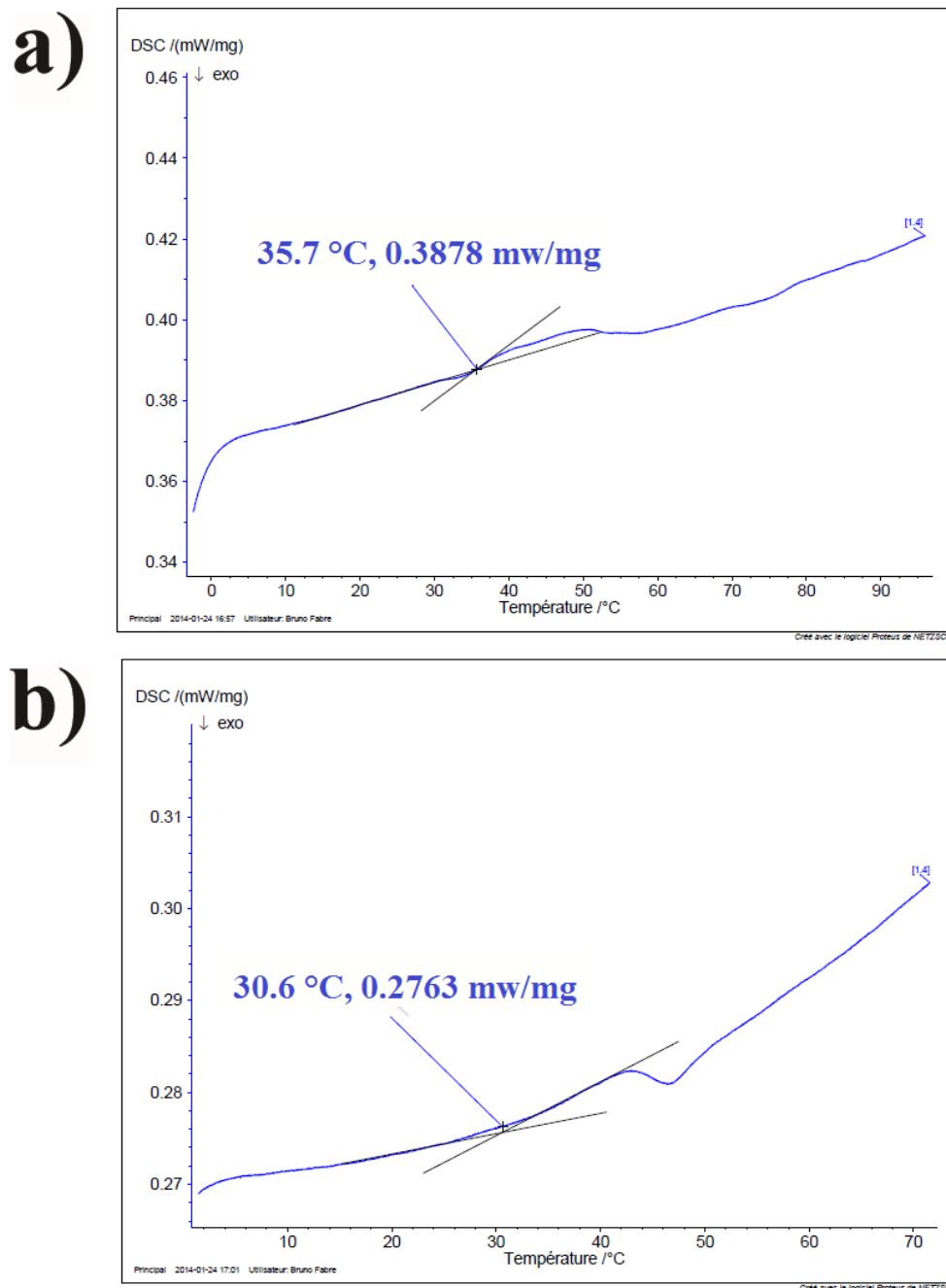


Figure D-1. DSC curves obtained on gels of (a) **Ni8C₄**/decane (46 mg.mL⁻¹); (b) **Ni8C₄**/dodecane (54 mg.mL⁻¹).

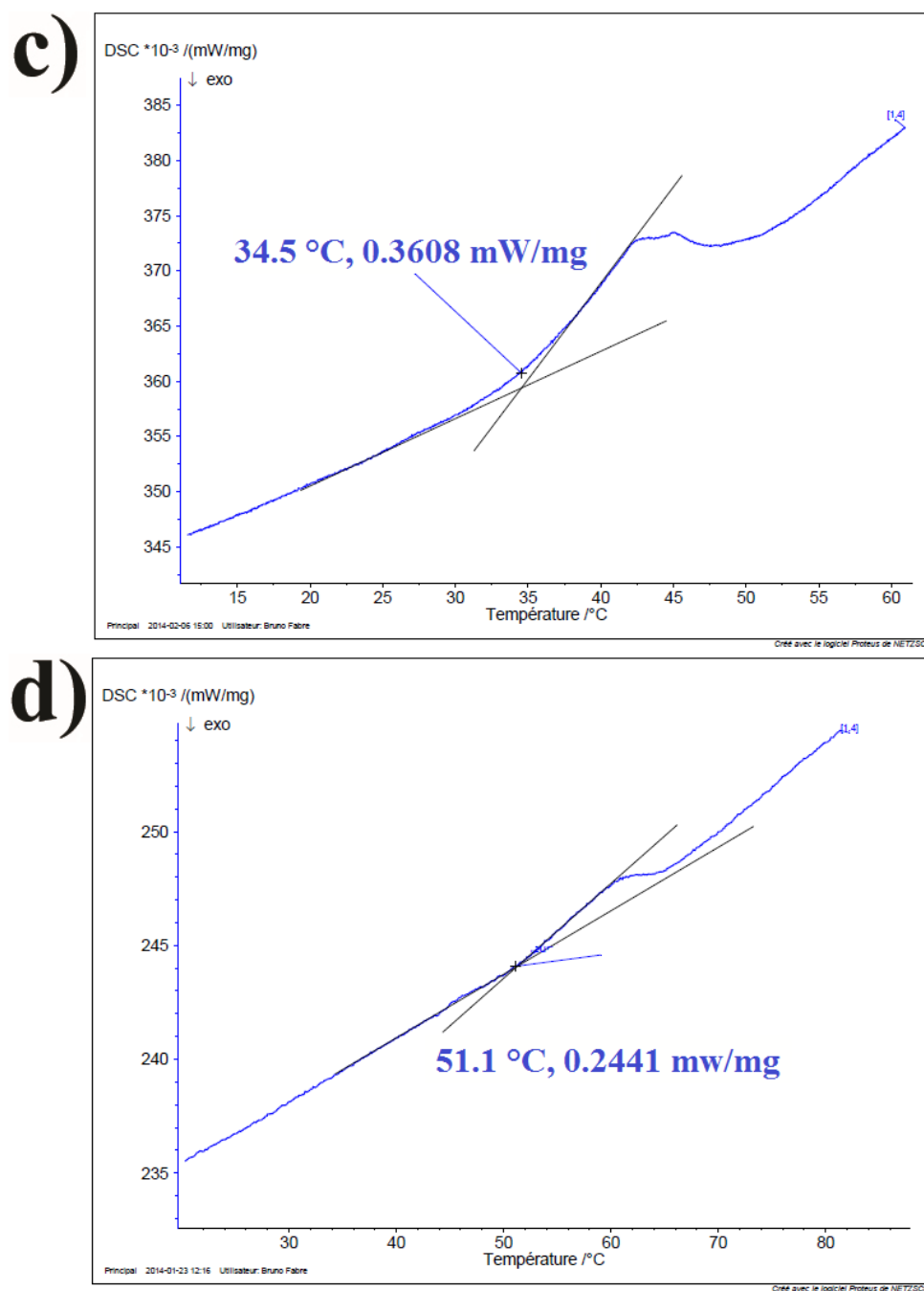


Figure D-2. DSC curves obtained on gels of (c) **Ni8C₄**/heptane (43 mg.mL⁻¹); (d) **Ni8C₆**/decane (56 mg.mL⁻¹).

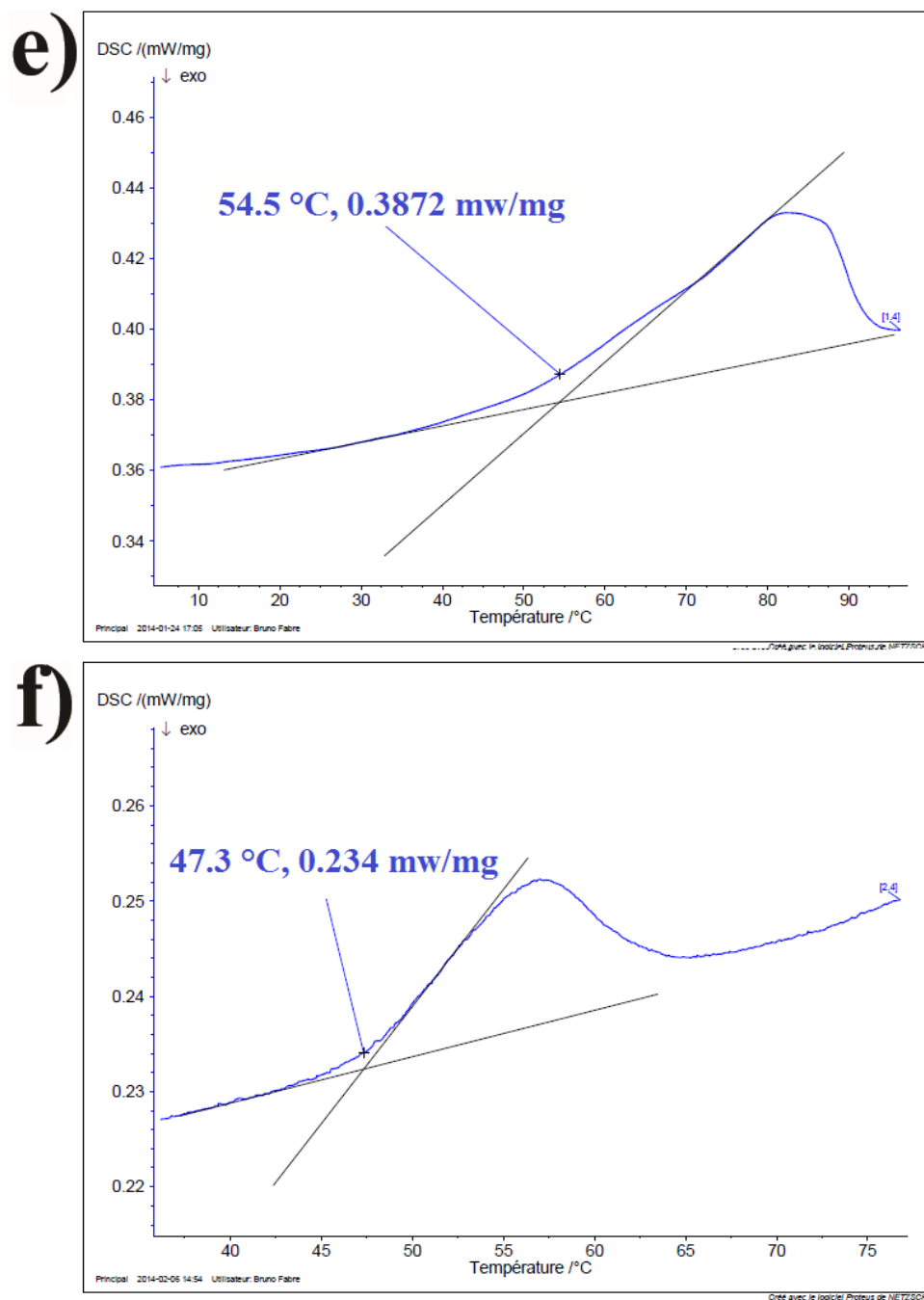


Figure D-3. (e) $\text{Ni}_8\text{C}_4/\text{dodecane}$ (72 mg.mL^{-1}); (f) $\text{Ni}_8\text{C}_6/\text{heptane}$ (48 mg.mL^{-1}).

Annexe E du chapitre 5

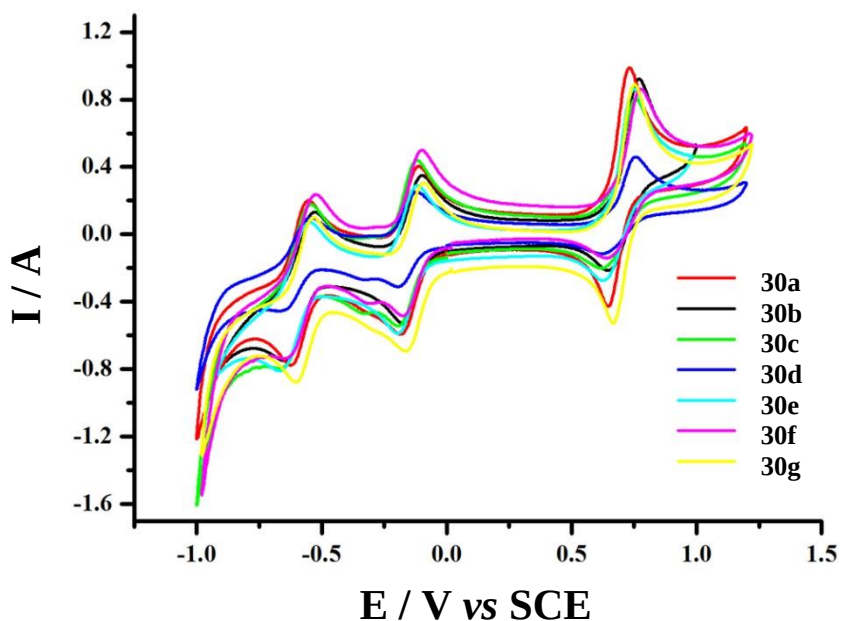


Figure E-1. Cyclic voltammograms at 0.1 V s^{-1} of all the complexes **30a-g** in CH_2Cl_2 - $[\text{NBu}_4][\text{PF}_6]$ 0.1 M at 298 K .

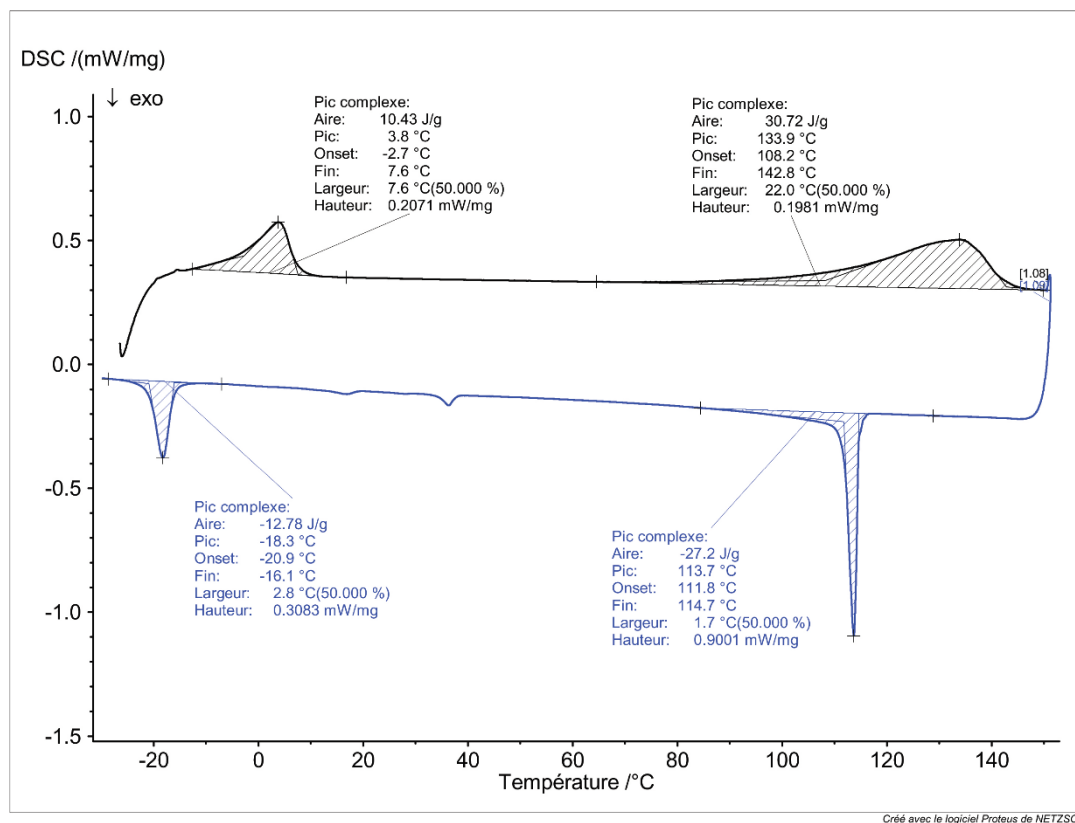


Figure E-2. DSC traces of complex **30b** (black curve = second heating, blue curve = first cooling).

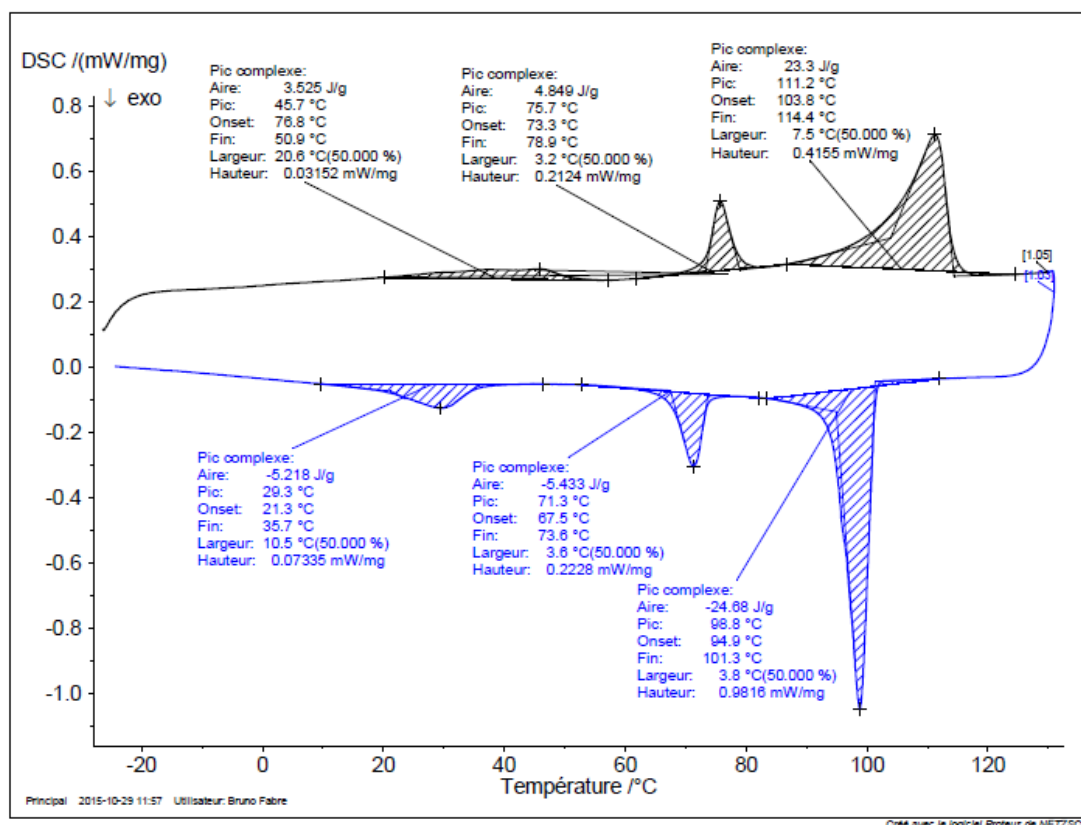


Figure E-3. DSC traces of complex **30c** (black curve = second heating, blue curve = first cooling).

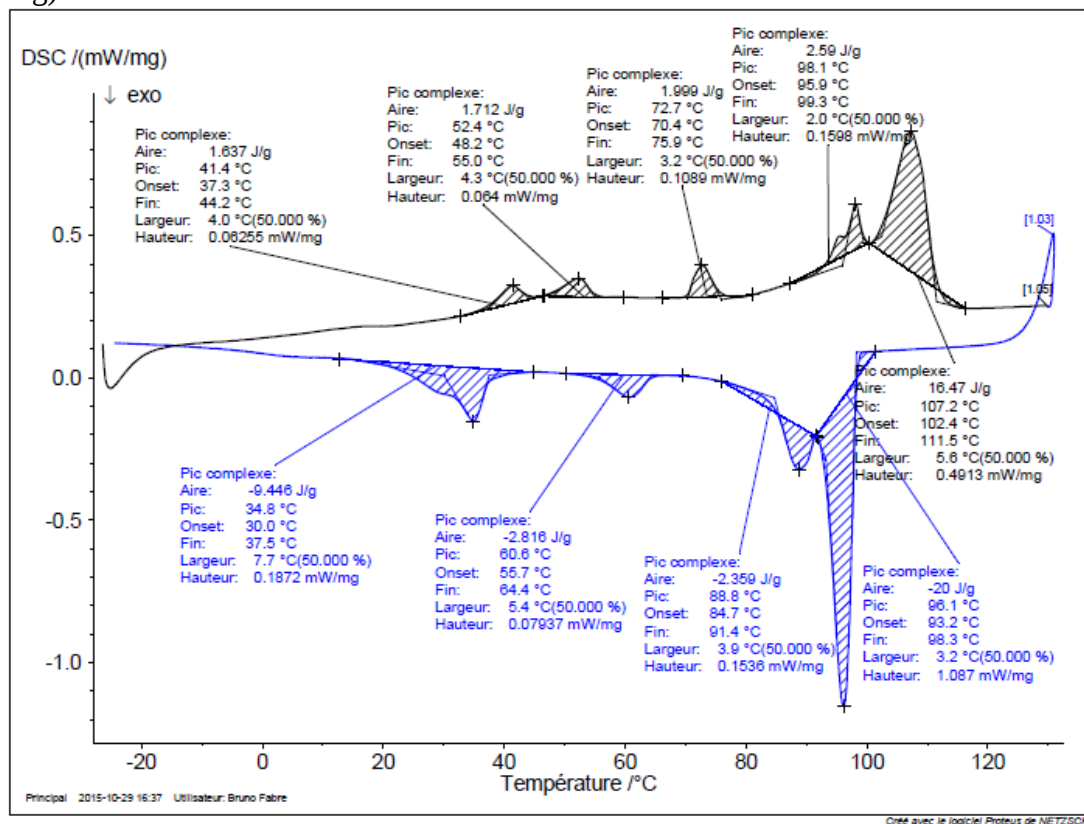


Figure E-4. DSC traces of complex **30d** (black curve = second heating, blue curve = first cooling).

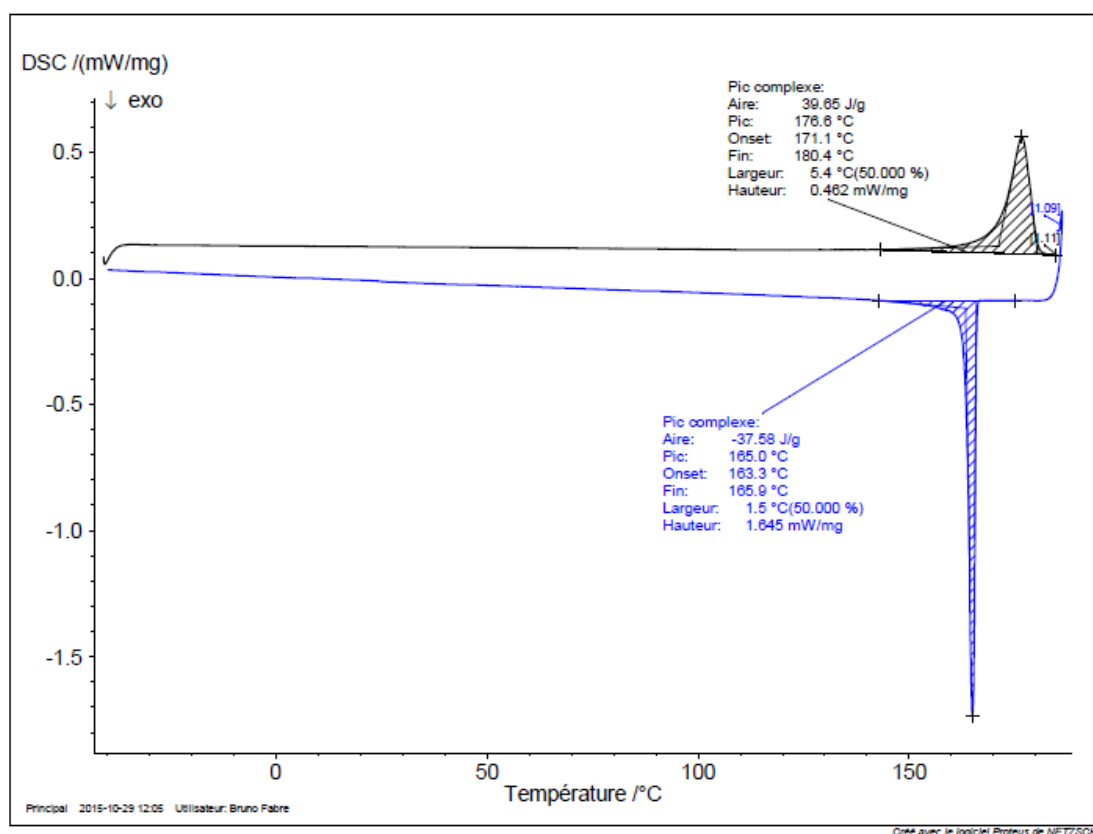


Figure E-5. DSC traces of complex **30e** (black curve = second heating, blue curve = first cooling).

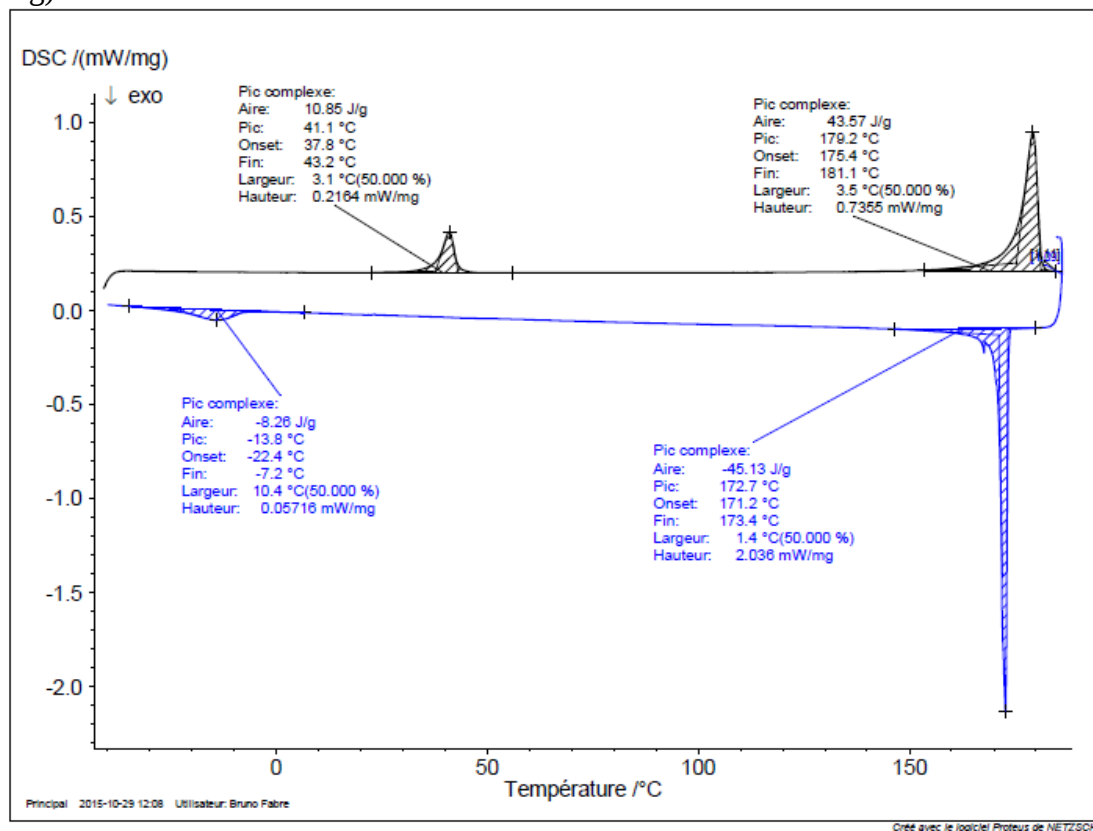


Figure E-6. DSC traces of complex **30f** (black curve = second heating, blue curve = first cooling).

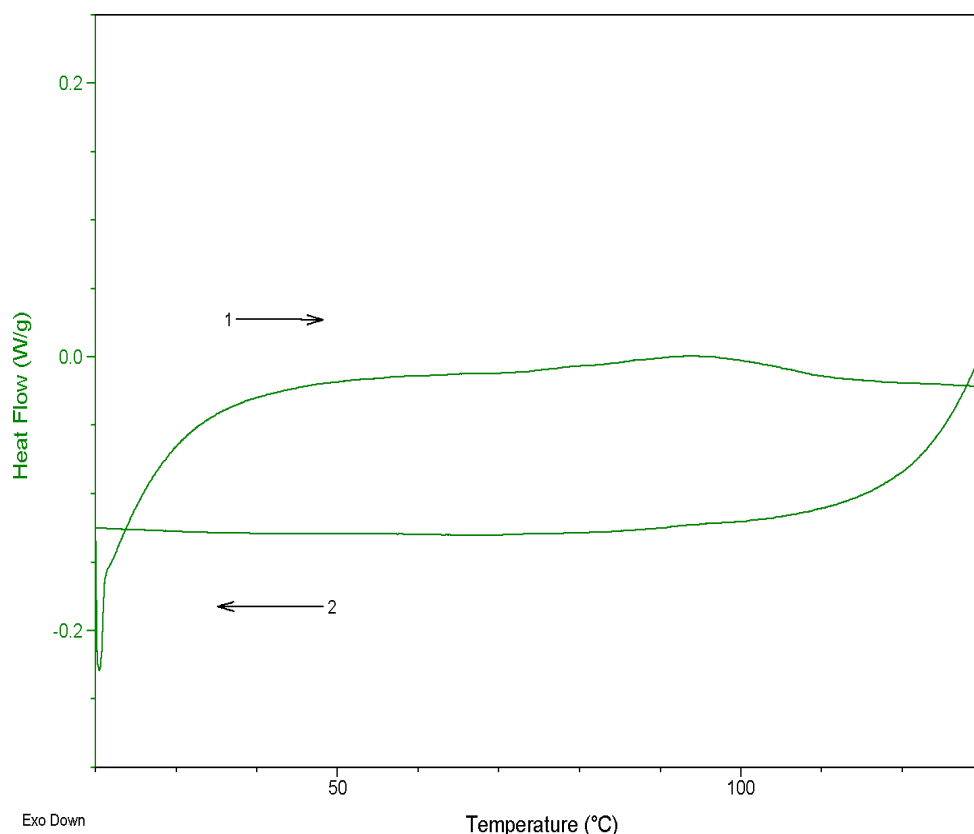


Figure E-7. DSC traces of complex **30g** (black curve = second heating, blue curve = first cooling).

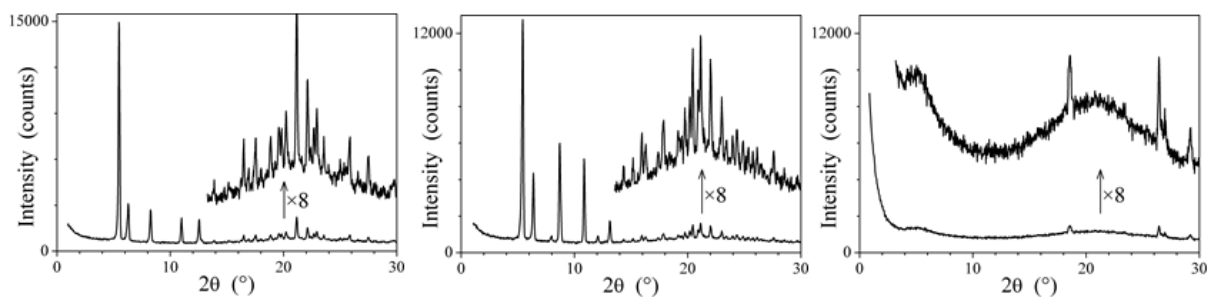


Figure E-8. SAXS pattern of compound **30b** in the pristine state at 20 °C (left), at 80 °C (middle) and at 150 °C on the first heating (right).

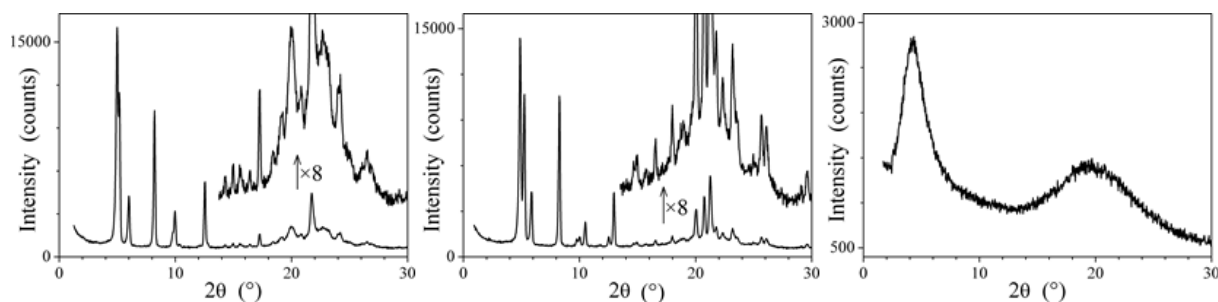


Figure E-9. SAXS patterns of compound **30c** in the pristine state at 20 °C (left), at 85 °C (middle) and at 130 °C on the first heating (right).

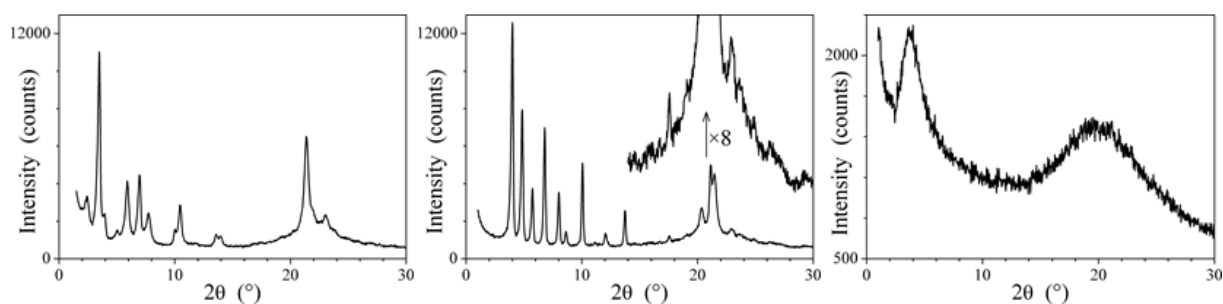


Figure E-10. SAXS patterns of compound **30d** in the pristine state at 20 °C (left), at 90 °C (middle) and at 130 °C on the first heating (right).

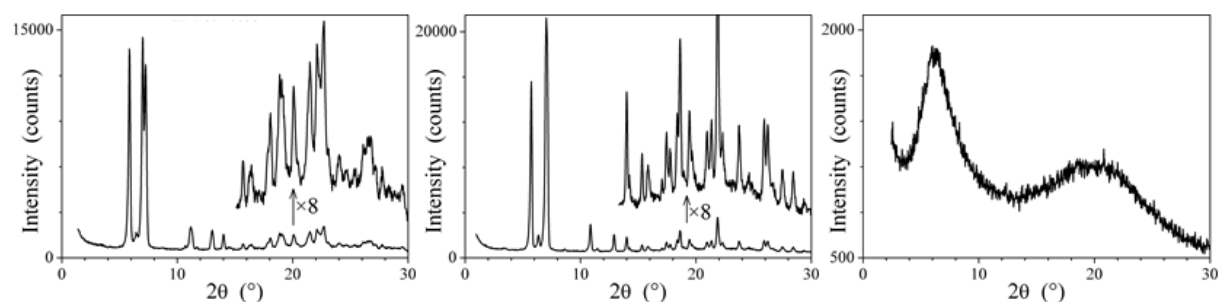


Figure E-11. SAXS patterns of compound **30e** in the pristine state at 20 °C (left), at 140 °C (middle) and at 190 °C on the first heating (right).

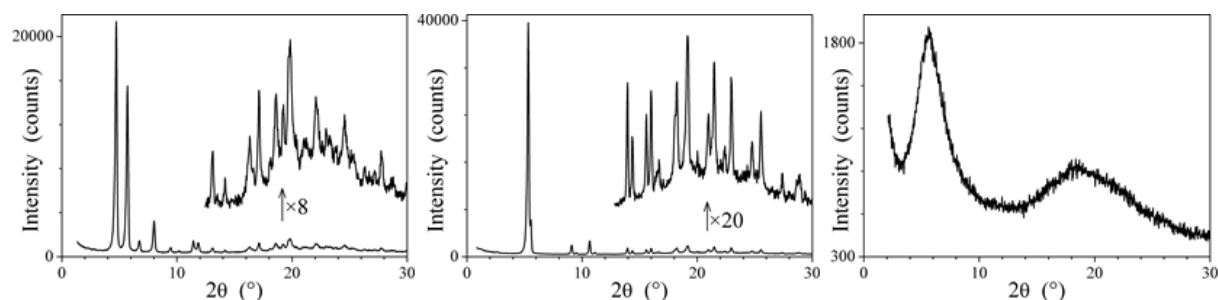


Figure E-12. SAXS patterns of compound **30f** in the pristine state at 20 °C (left), at 140 °C (middle) and at 190 °C on the first heating (right).

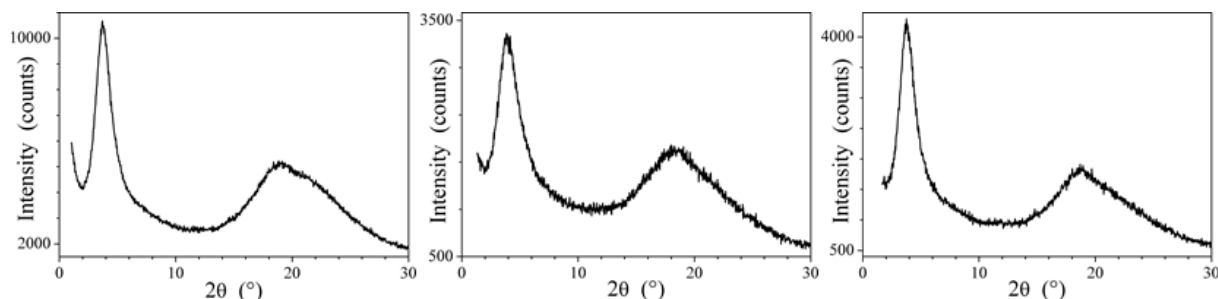


Figure E-13. SAXS patterns of compound **30g** in the pristine state at 20 °C (left), at 120 °C (first heating) (middle) and at 20 °C after heating (right).

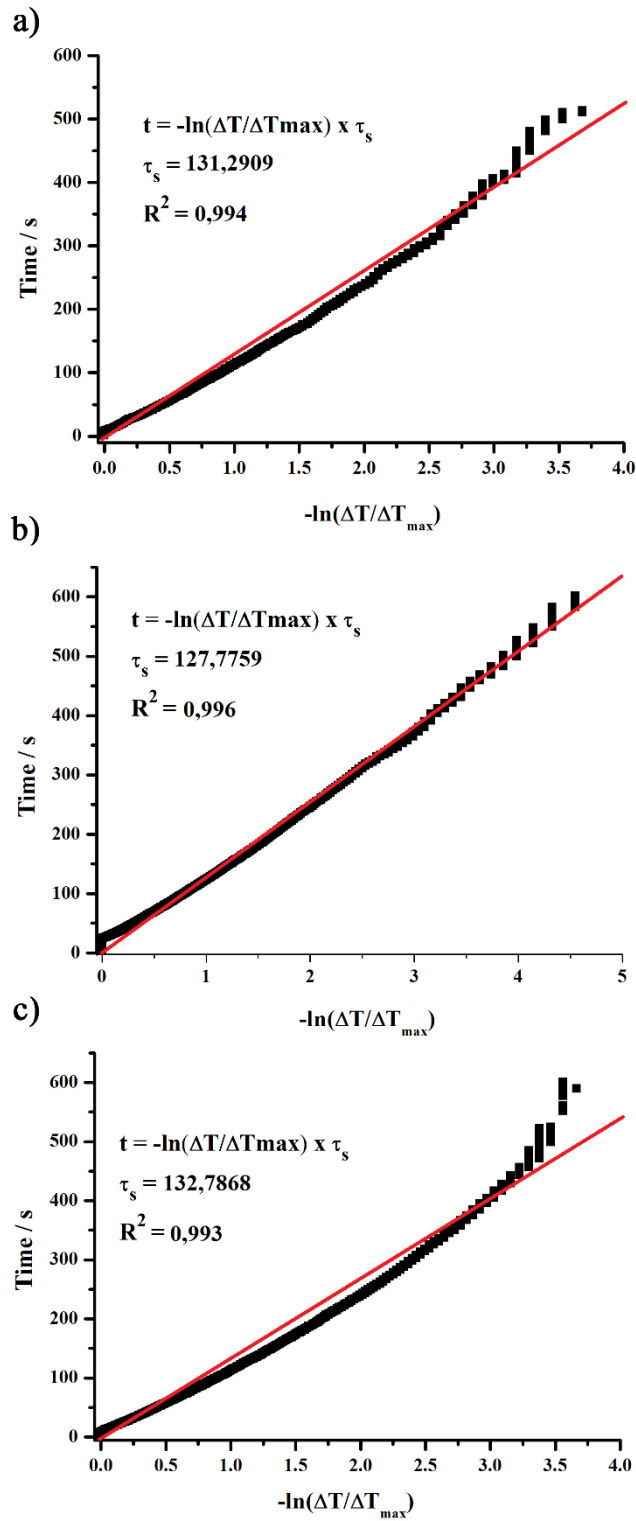
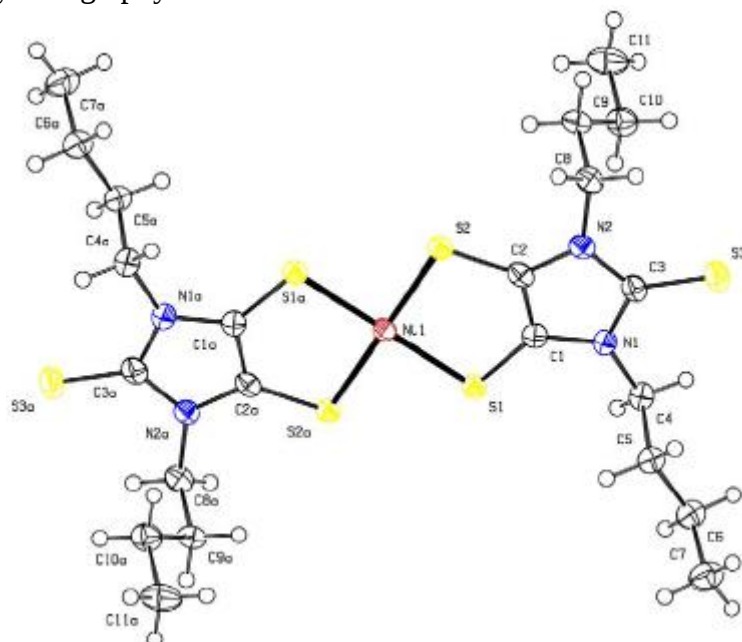


Figure E-14. Time constant for heat transfer is determined for **30e** (a), **30f** (b) and **30d** (c) by applying the linear time from the cooling period (from 600 to 1200 s) versus negative natural logarithm of the driving force temperature.

Figure E-15. Crystallography data of **30a**



Identification code	[Ni(Bu ₂ -tmidt) ₂]
Empirical formula	C ₂₂ -H ₃₆ -N ₄ -Ni S ₆
Formula weight	607.62
Temperature	150(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P 2 ₁ /c
Unit cell dimensions	a = 13.0192(10) Å α = 90.00, b = 5.1084(3) Å β = 96.936(4), c = 21.3364(16) Å γ = 90.00
Volume	1408.64(17) Å ³
Z, calculated density	1.433 g.cm ⁻³
Absorption coefficient	1.152 mm ⁻¹
F (000)	640.0
Crystal size	0.016 × 0.04 × 0.02 mm
Theta range for data collection	1.58 to 27.63 deg
Limiting indices	-16 ≤ h ≤ 16, -6 ≤ k ≤ 6, -27 ≤ l ≤ 27
Reflections collected / unique	11359 / 3249 [R(int) = 0.0674]
Completeness to theta = 27.63	98.8 %
Absorption correction	multi-scan
Max and min transmission	0.977 and 0.946
Refinement method	Full matrix least square on F ²
Data/restraints/parameters	3249 / 0 / 153
Goodness-of-fit on F ²	1.152
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0501, wR2 = 0.1350
R indices (all data)	R1 = 0.0800, wR2 = 0.1712
Largest diff peak and hole	1.061 to -1.514 e.Å ⁻²

Résumé

Ce travail démontre l'utilité des propriétés photothermiques dans le proche Infrarouge (NIR) des complexes de nickel-bis(dithiolène) neutres pour des applications en science des matériaux et biotechnologies. Des complexes Ni-bis(dithiolène) neutres hydrophiles et hydrophobes ont été élaborés et leur effet photothermique, sous irradiation laser NIR, a été quantifié pour la première fois. Grâce à cette propriété remarquable et à leur grande stabilité sous irradiation, il a été mis en évidence, que ces complexes pouvaient trouver des applications pour la thérapie photothermique, la libération contrôlée de médicament mais également pour le développement de nanomatériaux photosensibles à un stimulus externe. En effet, cet effet photothermique, sous irradiation laser NIR, permet de détruire des cellules cancéreuses, d'augmenter la perméabilité de nanoparticules polymériques ou de liposomes contenant des principes actifs et de désagréger des métallogels à base de complexes Ni-bis(dithiolène). Enfin, nous avons montré que les complexes $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$ ayant une haute efficacité photothermique sont de nouveaux candidats très prometteurs pour ce type d'applications

Mots clés

Complexes Ni-bis(dithiolène) neutres, thérapie photothermique, libération contrôlée, nanoparticules polymériques, liposomes, métallogels.

Abstract

The photothermal properties in the near Infrared (NIR) of neutral nickel-bis(dithiolene) complexes were used in materials science and for the first time in biotechnology. Hydrophilic and hydrophobic neutral Ni-bis(dithiolene) complexes were developed and for the first time, their photothermal effect under NIR laser irradiation was quantified. Thanks to this remarkable property and their high stability under irradiation, it has been demonstrated that these complexes could find applications to photothermal therapy, controlled drug delivery but also in the development of stimuli responsive nanomaterials. Indeed, this photothermal effect, under NIR laser irradiation, allow to destroy malignant cells, increase the permeability of polymeric nanoparticles or liposomes containing active ingredients and disintegrate metallogels based on Ni-bis(dithiolene) cores. Finally, we showed that the $[\text{Ni}(\text{R}_2\text{-timdt})_2]^0$ complexes having higher photothermal activity are very promising new candidates for these applications.

Key words

Neutral Ni-bis(dithiolene) complexes, photothermal therapy, controlled release, polymeric nanoparticles, liposomes, metallogels.

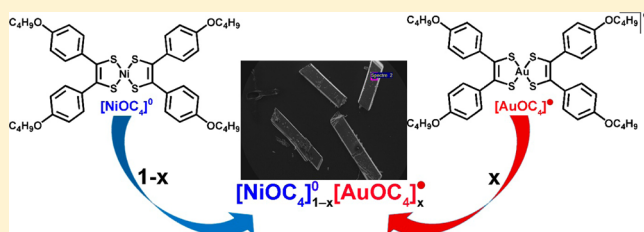
Molecular Alloys of Neutral Gold/Nickel Dithiolene Complexes in Single-Component Semiconductors

Kenny Mebrouk,[†] Wafa Kaddour,[‡] Pascale Auban-Senzier,[‡] Claude Pasquier,^{*,‡} Olivier Jeannin,[†] Franck Camerel,[†] and Marc Fourmigué^{*,†}[†]Institut des Sciences Chimiques de Rennes (ISCR), Université Rennes 1, UMR CNRS 6226, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes, France[‡]Laboratoire de Physique des Solides (LPS), Université Paris-Sud, UMR CNRS 8502, Bât. 510, 91405 Orsay, France

Supporting Information

ABSTRACT: Control of band filling or doping of molecular (semi)conductors can be performed by substitutional insertion of molecules with a similar shape but a different electron count, with one more or one less electron. This strategy has been explored here within the semiconducting, single-component, radical gold dithiolene complex $[\text{AuOC}_4]$ bearing *para*-butoxyphenyl substituents. Alloying with the corresponding neutral nickel dithiolene complex $[\text{NiOC}_4]$ lacking one electron afforded a complete isostructural series

$[\text{NiOC}_4]_{1-x}[\text{AuOC}_4]_x$ spanning the whole composition range from $x = 0$ to $x = 1$ by 0.1 increments, further characterized by X-ray diffraction and EDX analyses. Magnetic susceptibility data confirm the antiferromagnetic interactions between neighboring radical gold dithiolene complexes. The electrical conductivity increases exponentially with the x gold fraction, while the activation energy remains constant in the more conducting, gold-rich samples. This behavior is tentatively assigned to the tunneling barriers of variable width (with x) but of constant height, separating more conducting gold-rich segments. Comparison of redox potentials for the $1e^-$ oxidation and reduction of both $[\text{NiOC}_4]$ and $[\text{AuOC}_4]$ dithiolene complexes indicates that the $[\text{NiOC}_4]$ nickel complex does not act as a dopant for the radical $[\text{AuOC}_4]$ complex.



INTRODUCTION

Organic conductors developed since the 1970s are most often based on mixed-valence cation (or anion) radical salts,¹ formulated as $(\text{D})_2\text{X}$ or $\text{C}(\text{A})_2$, where D and A are the electron donor or acceptor molecules, respectively, and X and C are the counterions, with $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}_3^-, \text{ClO}_4^-, \text{PF}_6^-, \dots$ and $\text{C} = \text{K}^+, \text{Cu}^+, \text{NEt}_4^+, \dots$. Other stoichiometries,² eventually nonfractional,³ can be also found, but in most situations, the band filling is fixed by this stoichiometry and can be modified only in a few charge transfer salts such as TTF·TCNQ under pressure application.⁴ This is all the more unfortunate since the controlled modification of the band filling is a very important tool to change the physical properties, particularly useful, for example, in metallic oxides where the oxygen content can be often varied in an extensive range. In organic conductors, such modifications have been considered only in rare examples of solid solutions incorporating two counterions of different charges,⁵ as in cation radical salts with GaCl_4^- and CoCl_4^{2-} ,⁶ or with $[\text{Re}_6\text{S}_6\text{Cl}_8]^{2-}$ and $[\text{Re}_6\text{S}_7\text{Cl}_7]^{3-}$.⁷ Similarly, anion radical salts of DMDCNQI (DMDCQNI = dimethyldicyanoquinodimine) were also prepared with mixtures of Li^+ and Cu^+ cations, as the copper salt is known to incorporate a fraction of Cu^{2+} species.⁸ These few examples demonstrate that the modification of the stoichiometry in such salts is not easily tolerated by the crystal structures. In that respect, an alternative attractive solution would consist in using neutral conducting materials,

also known as single-component conductors. Such conductors are built out of neutral radical species and can be described in the frame of the Mott–Hubbard theory.⁹ They are intrinsically characterized by an intramolecular electronic delocalization (expressed by a Hubbard on-site Coulomb repulsion parameter U), and by large intermolecular interactions, i.e., large resonance integrals β between the radicals, leading to large band widths ($W = 4\beta$).¹⁰ The modulation of the band filling in such systems, as the modulation of the physical properties, can be envisioned if one is able to find nonradical, but neutral, analogues for the preparation of solid solutions.

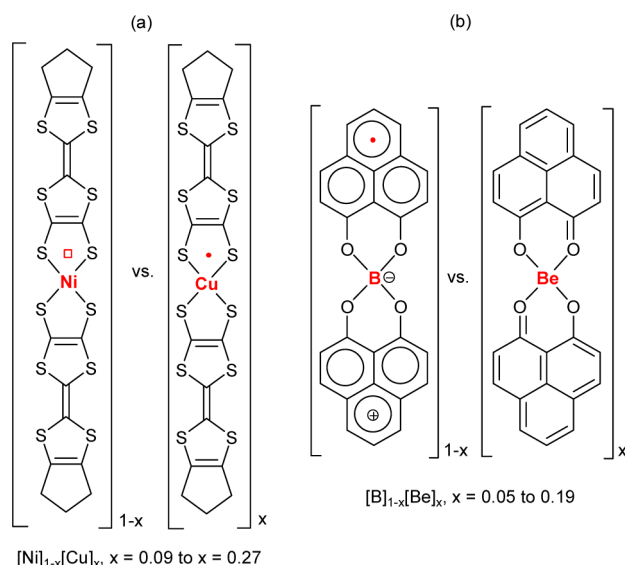
Related approaches have been reported for magnetic (but insulating) systems, as, for example, the dilution of galvinoxyl¹¹ or oxoverdazyl (TOV)¹² radicals with their diamagnetic precursors, hydrogalvinoxyl, or TOV-H. It is also described as “isostructural doping” by Vaid et al., who cocrystallized two slightly different radical species of complementary redox potentials.¹³ Among single-component conductors, the isostructural series of tetrathiafulvalenedithiolate metal complexes $[\text{M}(\text{tmdt})_2]$, $\text{M} = \text{Ni}, \text{Pd}, \text{Pt}, \text{Cu}, \text{Au}$ (Scheme 1a), discovered in 2001,¹⁴ also offers a variety of electronic behaviors depending on the nature of the central metal.¹⁵ While $[\text{Ni}(\text{tmdt})_2]$, with an even number of electrons, is a 3D

Received: May 12, 2015

Published: July 17, 2015



Scheme 1. Reported Solid Solutions of Conducting, Neutral Radical Species with Their Nonradical, Neutral Analogues, within (a) Single-Component Conductors Derived from Tetrathiafulvalene Dithiolates and (b) Spiro-bis(phenalenyl)boron Radicals

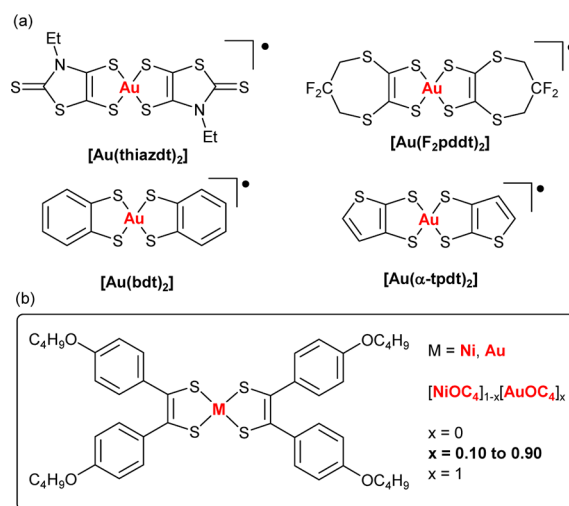


metal down to 0.6 K, the copper analogue $[\text{Cu}(\text{tmdt})_2]$ combines this high conductivity with localized spin ($S = 1/2$) on the central $\{\text{CuS}_2\}$ moiety, organized into 1D Heisenberg chains.¹⁶ Solid solutions $[\text{Ni}_{1-x}\text{Cu}_x(\text{tmdt})_2]$ were recently investigated by Kobayashi et al. with $0 < x < 0.27$, in the search for a Kondo effect associated with interactions between the π and d electrons.¹⁷ Only one composition ($x = 0.11$) was investigated for its transport properties. The only other example of alloying involving single-component conductors was reported by Haddon et al. and concerns spiro-bis-(phenalenyl)boron radicals (Scheme 1b), which organize into conducting chains with $\sigma_{\text{RT}} = 0.1 \text{ S cm}^{-1}$.¹⁸ The beryllium analogue is also neutral but possesses one valence electron less. Doping the boron derivative with the beryllium analogue in solid solutions formulated as $[\text{B}_{1-x}][\text{Be}]_x$ thus would correspond to a hole doping. They were prepared in a narrow composition range, for $0.05 < x < 0.19$, as the solubility and crystal structure of the two compounds differ to a large extent, but a 10-fold increase of conductivity was observed for $x = 0.08$, while the activation energy falls by a factor of 5.

Another series of single-component conductors recently highlighted by Lorcy et al. is based on neutral radical gold dithiolene complexes but without a TTF backbone (Scheme 2a).¹⁹ Such neutral radical complexes formulated as $[\text{Au}(\text{dt})_2]^\bullet$ are obtained from the $1e^-$ oxidation of the Au^{III} , d^8 $[\text{Au}(\text{dt})_2]^{1+}$ complexes,²⁰ at variance with the corresponding neutral nickel complexes, obtained by a $2e^-$ oxidation of the Ni^{II} , d^8 $[\text{Ni}(\text{dt})_2]^{2+}$ complexes.²¹ Complexes such as $[\text{Au}(\text{bdt})_2]^\bullet$ or $[\text{Au}(\text{F}_2\text{pddt})_2]^\bullet$ (Scheme 2a) form 1D stacks with semi-conducting behavior ($\sigma_{\text{RT}} = 10^{-2}$ – $10^{-3} \text{ S cm}^{-1}$),²² while $[\text{Au}(\text{Et-thiazdt})_2]^\bullet$ organize into layers with a high room-temperature conductivity and transition to a metallic state under pressure ($p > 1.3 \text{ GPa}$).²³

It follows that solid solutions formulated as $[\text{Ni}(\text{dt})_2]_{1-x}[\text{Au}(\text{dt})_2]_x$ associating a radical gold dithiolene complex $[\text{Au}(\text{dt})_2]^\bullet$ and its analogous nickel dithiolene complex $[\text{Ni}(\text{dt})_2]$ lacking one electron, could offer a very attractive playground to

Scheme 2. (a) Chemical Structures of Neutral Radical Gold Dithiolene Complexes Used for the Preparation of Single-Component Conductors. (b) Chemical Structure of the Gold and Nickel Dithiolene Complexes Investigated Here with the Composition of the Alloys



evaluate the effect of alloying on the conducting and magnetic properties of (single-component) molecular conductors. For that purpose, it can be important (but not a stringent requirement) that both gold and nickel complexes are isostructural. It is not always the case. Indeed, we have recently investigated different series of neutral gold and nickel dithiolene complexes and found that, in the absence of any steric hindrance, the gold complexes often associate into dimers favoring the best overlap of the Singly Occupied Molecular Orbital (SOMO), while the analogous nickel complexes with the same substituents can adopt different face-to-face organizations.²⁴ Accordingly, we looked for pairs of isomorphous nickel and gold complexes and concentrated our efforts on *para*-butoxyphenyl derivatives (Scheme 2b), originally investigated with longer alkyl chains for their ability to form discotic liquid crystalline phases^{25,26} or gels.²⁷ With the shorter *n*-butyl chains, both gold and nickel complexes, noted as $[\text{AuOC}_4]$ and $[\text{NiOC}_4]$ in the following, were found to recrystallize from organic solvents into isomorphous structures.²⁸ We, therefore, prepared a complete series of solid solutions noted as $[\text{NiOC}_4]_{1-x}[\text{AuOC}_4]_x$ spanning the whole composition range from $x = 0$ to $x = 1$ by 0.1 increments. The evolution of the structural, magnetic, and conducting properties will be analyzed within these series, demonstrating that the gold complexes alone actually control the magnetic and transport properties of the alloys, at variance with the anticipated doping process. A rationale for this behavior, of interest for any such doping strategy in molecular alloys, is given based on the relative redox potentials of the components of the solid solution.

RESULTS AND DISCUSSION

The solid solutions were prepared by recrystallization by slow evaporation of $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ solutions in the defined molar ratio. The alloys crystallize systematically as elongated black crystals. In order to evaluate the actual composition in the crystals, EDX analyses were conducted on the whole series (Figure 1) showing that the crystal composition is essentially the same than that in the starting mixture before crystallization,

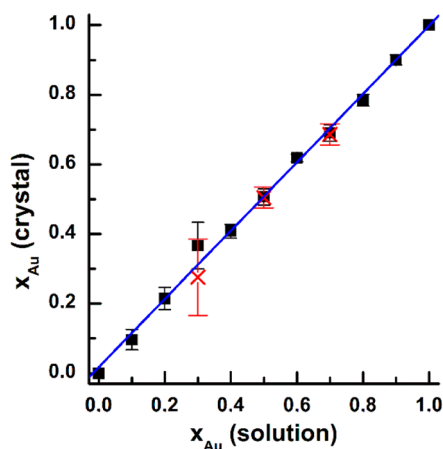


Figure 1. Crystal composition vs solution composition in the solid solutions, determined from EDX (■) and single-crystal X-ray diffraction (×).

thus indicating the absence of any preferential insertion. X-ray data have been already reported for the two pure compounds $[\text{NiOC}_4]$ and $[\text{AuOC}_4]$.²⁸

The two pure compounds are isostructural and crystallize in the triclinic system, space group $P\bar{1}$, with the metal complex in a general position and two out of the four butyl chains disordered on equally populated positions. The complexes organize into columns (Figure 2), with the central $\text{M}(\text{S}_2\text{C}_2)_2$

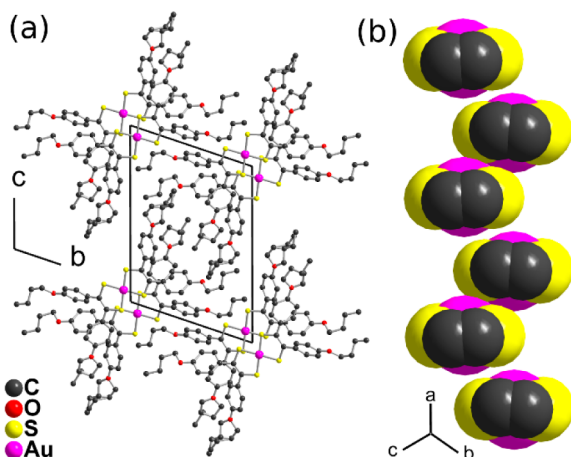


Figure 2. (a) Projection view of the structure of $[\text{AuOC}_4]$ along the a axis. (b) Detail of one dimerized chain running along a , viewed along the long molecular dimension. The p -butoxyphenyl groups have been removed for clarity.

cores ($\text{M} = \text{Au}, \text{Ni}$) well separated from each other in the (bc) plane by the p -butoxyphenyl groups. As shown in Figure 2b for $[\text{AuOC}_4]$, the complexes stack into dimerized columns along the a axis. Indeed, the intra- and interdimer plane-to-plane distances amount to 3.63 and 4.10 Å, respectively. This dimerization is at the origin of the singlet–triplet magnetic behavior observed for the pure, radical gold complex $[\text{AuOC}_4]$.²⁸

To complement the EDX analyses, full X-ray data collections were performed on three solid solutions, namely, for $x = 0.30$, 0.50, and 0.70. They proved to be also isostructural with the pure samples, with the central metal atom M refined as a mixture $(\text{Ni})_{1-p}(\text{Au})_p$. The occupation parameter p converges

toward the nominal composition of the solutions, with indeed p values of 0.276 (11), 0.505 (3), and 0.686 (3) for $x = 0.30$, 0.50, and 0.70, respectively (Figure 1). The evolution of the unit cell parameters within the series is given in Table S1 in the Supporting Information. It shows an increase of the stacking parameter (a) with the gold content x_{Au} , with a concomitant decrease of the b and c parameters, showing that the cell expansion along a allows for a higher compacity in the (b,c) plane. As a consequence, the unit cell volume is essentially constant. These combined results indicate that the alloys have kept the same composition as in solution and that the crystal structures are also identical. They do not allow us, at this stage, to evaluate the actual organization within the columns for each x value, and the possible deviations from a perfectly random stacking.

For this purpose, magnetic susceptibility data were collected on polycrystalline samples of each alloy, and representative examples are given in Figure 3. The paramagnetic susceptibility finds its origin in the specific amount of gold complexes in a given alloy and the intermolecular interactions between these radical species.

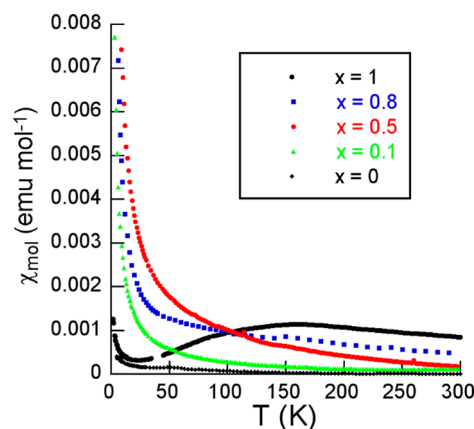


Figure 3. Temperature dependence of the magnetic susceptibility of $[\text{NiOC}_4]_{1-x}[\text{AuOC}_4]_x$ alloys for selected x values.

In the pure gold complex $[\text{AuOC}_4]$ ($x = 1$), the susceptibility had been well fitted with an alternated spin chain model with J and αJ , $J/k = -246(1)$ K ($J = -171$ cm^{−1}) and $\alpha = 0.3$,²⁸ in accordance with the strong dimerization within the chains running along a (see Figure 2b). If we consider the alloys series, one can assume that the gold complexes will be partitioned into segments having various numbers of radicals. For low gold content, the few paramagnetic species diluted in diamagnetic nickel complexes will give rise to a major Curie-type contribution, whereas, for much higher gold content, the dimerization observed in pure $[\text{AuOC}_4]$, with the associated singlet–triplet behavior, will dominate the magnetic response. As a consequence, the susceptibility for the nine alloys and the pure gold complex was fitted with one single simple model, resulting in the sum of two contributions, Curie-type behavior of isolated radical species and singlet–triplet contribution for dimerized radical species, which is written for a $S = 1/2$ species as

Table 1. Evolution of the Relative Singlet–Triplet (ST) and Curie Contributions to the Magnetic Susceptibility of the Alloys^a

x	compound	% ST: $100 \times (1 - y)$	% Curie: $100 \times y$	calcd % Curie
1	Pure $[\text{AuOC}_4]$	99.3	0.7	0
0.9	$[\text{NiOC}_4]_{0.1}[\text{AuOC}_4]_{0.9}$	95.0	5.0	5.2
0.8	$[\text{NiOC}_4]_{0.2}[\text{AuOC}_4]_{0.8}$	86.4	13.6	11.0
0.7	$[\text{NiOC}_4]_{0.3}[\text{AuOC}_4]_{0.7}$	80.3	19.7	17.6
0.6	$[\text{NiOC}_4]_{0.4}[\text{AuOC}_4]_{0.6}$	76.0	24.0	25.0
0.5	$[\text{NiOC}_4]_{0.5}[\text{AuOC}_4]_{0.5}$	67.4	32.6	33.3
0.4	$[\text{NiOC}_4]_{0.6}[\text{AuOC}_4]_{0.4}$	57.6	42.4	42.8
0.3	$[\text{NiOC}_4]_{0.7}[\text{AuOC}_4]_{0.3}$	52.7	47.3	53.8
0.2	$[\text{NiOC}_4]_{0.8}[\text{AuOC}_4]_{0.2}$	44.0	56.0	66.7
0.1	$[\text{NiOC}_4]_{0.9}[\text{AuOC}_4]_{0.1}$	31.0	69.0	81.8
0	Pure $[\text{NiOC}_4]$			

^aThe calculated Curie percentage corresponds to the $N_{\text{Curie}}/N_{\text{total}}$ value in eq 2.

$$\chi_{\text{mol}} = \chi_0 + x \left[y \frac{Ng^2\beta^2}{4kT} + (1 - y) \frac{Ng^2\beta^2}{kT} \right] \left[3 + \exp\left(-\frac{J}{kT}\right) \right]^{-1}$$

In the formula, x represents the gold fraction in the $[\text{NiOC}_4]_{1-x}[\text{AuOC}_4]_x$ alloy, while y describes the distribution of the radical spin in its two possible configurations (isolated or paired). Note that the fits were performed by fixing the J/k value at an approximate -250 K value, as determined on the pure gold complex. As shown in Table 1, the Curie contribution increases, as anticipated, with the dilution of the gold complexes within the diamagnetic nickel matrix, but the singlet–triplet contribution, predominant at high gold contents, is still important in the more diluted samples.

The evolution of the spin susceptibility of such magnetic alloys has been already evaluated by Awaga et al.¹¹ In the absence of any dimerization, the occurrence probability of a chain segment containing n radical gold complexes within an infinite chain partitioned into segments having various numbers of radicals is given by

$$f_n = \frac{x^n}{\sum x^n} = (1 - x)x^n \quad (1)$$

where x is the radical concentration and the summation runs from zero to infinity. Considering now that within gold-containing segments, the radicals are paired into dimers, a single radical should remain in the segments containing odd numbers of radicals.²⁹ This has been calculated using eq 1 as follows

$$\frac{N_{\text{Curie}}}{N_{\text{total}}} = \frac{\sum f_{2n+1}}{\sum n f_n} = \frac{1 - x}{1 + x} \quad (2)$$

where N_{Curie} is the number of remnant radicals and N_{total} is the total number of radical gold complexes in the alloys. Therefore, this ratio only depends on the composition of the solid solutions. We note in Table 2 a very good agreement between these calculated values and those deduced from the analysis of the magnetic susceptibility, demonstrating that (i) the distribution of the gold complexes does not deviate significantly from random mixing and (ii) they are indeed paired in ST systems when they are immediate neighbors. We note a deviation from the calculated Curie-type contribution for the lowest gold contents (small x values in Table 1), which can

indicate a bias to random mixing and an enhanced tendency for radical gold complexes to associate into pairs.

The evolution of the transport properties with the composition is the second important point to be addressed here. For that purpose, resistivity measurements were performed on single crystals on the nine alloys and the two-point DC technique was used for all samples and the resistance of the pure nickel complex $[\text{NiOC}_4]$ was even too high ($> 2 \times 10^{12} \Omega$) to be properly determined. For the same reason, the temperature evolution of the resistivity was only determined for the most conducting gold-rich alloys, that is, for $0.6 \leq x \leq 1$. As shown in Figure 4, the room-temperature conductivity evolves

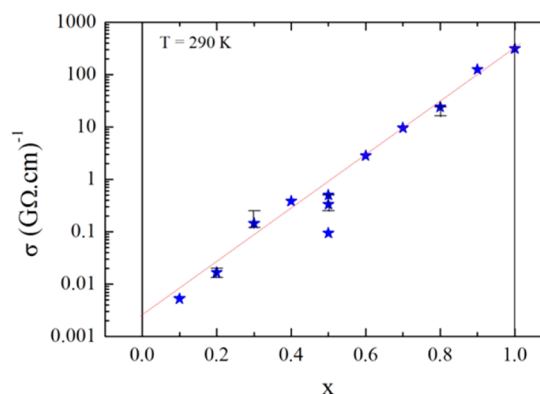


Figure 4. Evolution of the room-temperature conductivity of the $[\text{NiOC}_4]_{1-x}[\text{AuOC}_4]_x$ solid solutions with the gold content (x). Each symbol corresponds to one measured sample, and the indicated error bars are associated with one sample.

drastically (by 5 orders of magnitude) but regularly with the alloy composition and exhibits an exponential increase with the fraction of radical gold complexes.

On the other hand, the activation energy (Figure S1 in the Supporting Information) remains essentially constant in the different alloys, around $4200(\pm 100)$ K, i.e., $0.362(\pm 0.009)$ eV, corresponding to a common gap of 0.724 eV. These unexpected results (exponential σ evolution and constant activation energy as a function of x) call for several comments. First of all, the conductivity of the pure gold complex $[\text{AuOC}_4]$ is rather low, $330 (\text{G}\Omega \text{ cm})^{-1}$, indicating that the interaction between the dimerized radicals within the chains is strong, as already inferred from its magnetic behavior. The exponential decrease of the resistivity with the gold content indicates that

we are not in the presence of a simple doping of a band semiconductor, as initially anticipated. Indeed, if it was the case, the density of carriers would be linearly correlated with x , with a carrier mobility essentially independent of x . This would give rise to a linear relationship between x and ρ , as expected in standard doped semiconductors. Another possibility could be the observation of a percolation threshold associated with more conducting gold segments within insulating nickel complexes. Such a mechanism is found, for example, in composites made of carbon black particles³⁰ or conducting nanotubes³¹ embedded in an insulating polymer matrix. They are characterized by an essentially constant conductivity above the percolation threshold, not observed here. Therefore, a standard percolation mechanism must be excluded too. Thus, the exponential dependence of the conductivity in a broad range of x can suggest a tunneling process between gold complexes segments. Such a mechanism has been already considered in conductor/insulator composites for small D/ξ ratios, where D is the size of the conducting particles and ξ is the tunneling length.³² The conductivity then depends exponentially on the D/ξ ratio and on the inverse of the conducting fraction x of the sample. More specifically here, tunneling between the gold complexes segments may occur along the chains or perpendicular to them. Along the chains, the tunneling length is proportional to x . Since the chains are decoupled, the transverse tunneling length can be much smaller, which leads to a value of ξ of few transverse lattice parameters nearly independent of x . Such a simple model does not explain precisely the conductivity evolution with x but may capture the main ingredients of the conduction in the alloys. Besides, the almost temperature-independent activation energy can correspond either to the height of the tunnel barrier (half the gap) of the nickel segments or (half the gap) of the gold segments. The gap (≈ 0.72 eV) corresponding to an experimental value of the activation energy of 0.36 eV is too small to be associated here with the strongly insulating nickel complex alone. It follows that it is most probably inherent to the gold complexes. In other words, the evolution of the resistivity with the gold content is not related to a doping process but rather to the interactions within and between the gold segments, the nickel complexes playing only a role of stoppers within the crystals.

This behavior can be tentatively rationalized if one compares the actual redox potentials of the nickel and gold dithiolene complexes that would be associated with the potential doping/transport processes. As illustrated in Figure 5, the neutral nickel

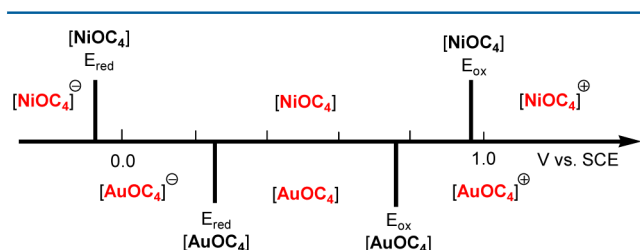


Figure 5. Compared redox potentials of $[\text{NiOC}_4]$ and $[\text{AuOC}_4]$.

complex can reversibly reduce to the radical anion below -0.1 V, whereas it can oxidize to the cation radical state above $+0.877$ V. Similarly, the same reduction and oxidation potentials for the gold complex were found at $+0.25$ and $+0.75$ V, respectively.²⁸

If the Ni complex is considered as a n-dopant for the gold complex matrix, this would be associated with the equilibrium shown in eq 3, with $[\text{NiOC}_4]$ giving one electron to the gold complex to form the $[\text{AuOC}_4]^-$ species, involving the redox processes at $E_{\text{ox}}[\text{NiOC}_4]$ and $E_{\text{red}}[\text{AuOC}_4]$. Similarly, if it acts as a p-dopant, this corresponds to eq 4, involving $E_{\text{red}}[\text{NiOC}_4]$ and $E_{\text{ox}}[\text{AuOC}_4]$. Besides, one should also consider the possible disproportionation processes which can affect either the nickel (eq 5) or the gold complex alone (eq 6) and provide routes for charge generation in the pure compounds.



Each of these equilibria is, in a first approach, controlled by the difference of redox potentials of the involved processes. As shown in Figure 4, it appears that the disproportionation process of the gold complex (eq 6, $E_{\text{ox}}[\text{AuOC}_4] - E_{\text{red}}[\text{AuOC}_4] = 0.75 - 0.25 = 0.5$ V) is associated with the smallest potential difference and is, therefore, the most favorable one to support a charge transfer. This observation reinforces the conclusions drawn from the analysis of the transport properties, which indeed indicate that the conductivity is only controlled by the tunneling barrier taking place between the gold segments.

CONCLUSION

Doping strategies on molecular conductors are most easily performed within neutral, single-component radical systems since one avoids the introduction of counterions in the structures. A complete set of solid solutions was accordingly obtained by recrystallization of the mixture of both open-shell (the gold complex) and closed-shell (the nickel complex) components. While the magnetic susceptibility of the alloys is well correlated with their composition, the resistivity exhibits an exponential evolution attributable to tunneling between more conducting gold segments. It appears that the introduction of closed-shell analogues as n- or p-dopants, as reported here with $[\text{NiOC}_4]$ or earlier in spiro-bis(phenalenyl)boron radicals with the beryllium analogue,¹⁸ should also consider the adequacy of redox potentials of both partners. For example, potential doping of the radical gold complex $[\text{AuOC}_4]$ with a neutral nickel complex should be possible if the oxidation potential of the latter can be moved in-between the two $E_{\text{red}}[\text{AuOC}_4]$ and $E_{\text{ox}}[\text{AuOC}_4]$ potential values. Investigations along these lines are ongoing.

EXPERIMENTAL SECTION

Syntheses. The neutral $[\text{AuOC}_4]$ and $[\text{NiOC}_4]$ complexes were prepared as previously described.²⁸ The $[\text{NiOC}_4]_{1-x}[\text{AuOC}_4]_x$ solid solutions (0.093 mmol) were prepared from the two pure compounds (see Table 2) by dissolution in dichloromethane (5 mL) with the help of an ultrasonic bath for 5 min. Addition of methanol (5 mL) induces a precipitation. Extra dichloromethane was added to the stirred suspension until total dissolution of the precipitate. Elongated black crystals were obtained by slow concentration of the solution by evaporation, and filtration. Chemical analyses were performed using a JEOL 6400-JSM scanning electron microscope equipped with an Oxford Link Isis energy-dispersive X-ray spectroscopic (SEM-EDX). For each molecular alloy, three crystals were fixed on the sample

holder and three EDX quantifications were performed on each crystal at different places. The composition of the solid solutions was deduced from the analysis of the Au-L α (9712 Kev) and Ni-K α (7471 keV) peaks, as detailed in Table 2. The Au-M (2120 keV) peak was not used as it overlaps with the S-K α (2307 keV) one.

Table 2. Quantities of Neutral [AuOC₄] and [NiOC₄] Complexes Used for the Co-crystallization Experiments of the [NiOC₄]_{1-x}[AuOC₄]_x Alloys, Corresponding Gold Complex Fraction in Solution (x_{sol}) and in the Crystals, As Determined by SEM-EDX (x_{EDX})

[AuOC ₄] (mg)	[NiOC ₄] (mg)	x_{sol}	x_{EDX}
0.0	77.2	0.0	0.0
9.0	69.5	0.10	0.10 (3)
18.0	61.7	0.20	0.21 (3)
27.0	54.0	0.30	0.29 (7)
36.0	46.3	0.40	0.41 (2)
45.0	38.6	0.50	0.51 (3)
54.0	30.9	0.60	0.62 (1)
63.0	23.1	0.70	0.69 (2)
72.0	15.4	0.80	0.79 (2)
81.0	7.7	0.90	0.90 (1)
90.0	0.0	1.0	1.0

X-ray Crystallography. Full X-ray data collections and refinements were performed on three [NiOC₄]_{1-x}[AuOC₄]_x solid solutions, namely, for $x = 0.30, 0.50$, and 0.70 . Details of the structural analyses are summarized in Table 3. X-ray crystal structure collections were performed on an APEXII Bruker-AXS diffractometer equipped with a CCD camera and a graphite-monochromated Mo-K α radiation source ($\lambda = 0.71073$ Å), from the CDIFX (Rennes, France). Absorption corrections were performed with SADABS. Structures were solved by direct methods using the SIR97 program³³ and then refined with full-matrix least-squares methods based on F^2 (SHELXL-97)³⁴ with the aid of the WINGX program.³⁵ All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic atomic displacement parameters. H atoms were finally included in their calculated positions. Note that, in

some crystals of the $x = 0.3$ alloy, a superstructure was identified with a doubling of a and c unit cell parameters, leading to the identification of four crystallographically independent Au/Ni complexes within the stacks. The only differences between them are the conformation of the butyl chains while the refined y occupation parameter (see text) is very close to 0.30 in all four crystallographically independent complexes, actually 0.2759(11), 0.2778(11), 0.2726(11), and 0.2761(11), indicating an absence of any Au/Ni ordering within or between the chains.

Magnetic Measurements. The magnetic susceptibility measurements were obtained with the use of a Quantum Design SQUID magnetometer MPMSXL on 10–30 mg of powdered [NiOC₄]_{1-x}[AuOC₄]_x alloys inserted inside a SQUID gelatin capsule (sample size: $5 \times 5 \times 7$ mm) in a 2–300 K temperature range at 5000 G. The magnetization data were corrected for the sample holder contributions. The susceptibility was calculated taking into account the molar weight of each alloy with $MW_x = (1-x)MW_{[\text{NiOC}_4]} + xMW_{[\text{AuOC}_4]}$, with $MW_{[\text{NiOC}_4]} = 831.81 \text{ g cm}^{-3} \text{ mol}^{-1}$ and $MW_{[\text{AuOC}_4]} = 970.11 \text{ g cm}^{-3} \text{ mol}^{-1}$.

Resistivity Measurements. The resistivity measurements were performed along the long axis of the needles (a crystallographic axis). Gold pads were first evaporated on the surface of the crystals in order to improve the quality of the contacts, and gold wires (17 μm in diameter) were attached to these pads with silver paint. Because of very high resistivity values, two-probe DC measurements were performed under vacuum, applying a constant voltage in the range of 1–50 V and measuring the current using a Keithley 6487 Picoammeter/Voltage Source. Variable temperature has been provided by a homemade cryostat equipped with a 4K pulse-tube, using a cernox in good thermal contact with the samples as thermometer.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

Table S1 with unit cell parameters for the alloys, Figure S1 with temperature dependence of the resistivity of gold-rich solid solutions. Crystallographic information files (CIF) files for the single-crystal X-ray diffraction experiments. The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5b01059. Crystallo-

Table 3. Crystallographic Data

	[AuOC ₄] _{0.3} [NiOC ₄] _{0.7}	[AuOC ₄] _{0.5} [NiOC ₄] _{0.5}	[AuOC ₄] _{0.7} [NiOC ₄] _{0.3}
formula	C ₄₄ H ₅₂ Au _{0.30} Ni _{0.70} O ₄ S ₄	C ₄₄ H ₅₂ Au _{0.50} Ni _{0.50} O ₄ S ₄	C ₄₄ H ₅₂ Au _{0.69} Ni _{0.31} O ₄ S ₄
fw (g mol ⁻¹)	872.59	900.93	926.69
system	triclinic	triclinic	triclinic
space group	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$
a (Å)	9.2160(7)	9.3148(14)	9.3119(3)
b (Å)	13.9280(11)	13.918(2)	13.8821(5)
c (Å)	18.5420(15)	18.489(3)	18.4260(6)
α (deg)	105.593(3)	105.319(5)	105.1490(10)
β (deg)	98.297(3)	99.699(6)	99.557(2)
γ (deg)	108.207(3)	107.845(6)	107.7420(10)
V (Å ³)	2108.8(3)	2117.8(6)	2110.15(12)
T (K)	150(2)	150(2)	150(2)
Z	2	2	2
D_{calc} (g cm ⁻³)	1.374	1.413	1.458
μ (mm ⁻¹)	1.592	2.203	2.774
total reflns	31 553	33 119	21 895
abs corr	multiscan	multiscan	multiscan
uniq reflns (R_{int})	9347 (0.0460)	9424 (0.0712)	9645 (0.0363)
uniq reflns ($I > 2\sigma(I)$)	7288	6771	7742
R_1	0.0806	0.0600	0.0433
wR_2 (all data)	0.2446	0.1846	0.1435
GOF	1.071	1.086	1.140

graphic information files are also available from the Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) upon request (<http://www.ccdc.cam.ac.uk> CCDC deposition numbers 1062003–1062005).

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

*E-mail: marc.fourmigué@univ-rennes1.fr (M.F.).

*E-mail: claude.pasquier@u-psud.fr (C.P.).

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was made possible with financial support from ANR (France) under contract no. ANR-12-BS07-0032, and from the Ministry for Higher Education and Research (France) for a Ph.D. support (to K.M.). We thank the CDIFX (Rennes) for access to X-ray diffraction facilities and F. Gouttefangeas (CMEBA/SCANMAT, Université Rennes 1) for the EDX measurements.

REFERENCES

- (1) (a) Jérôme, D. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5565–5592. (b) Lefebvre, S.; Wzietek, P.; Brown, S.; Bourbonnais, C.; Jérôme, D.; Mézière, C.; Fourmigué, M.; Batail, P. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *85*, 5420–5423.
- (2) Mori, T. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 4947–4970.
- (3) (a) Wu, P.; Mori, T.; Enoki, T.; Imaeda, K.; Saito, G.; Inokuchi, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 127–132. (b) Aldoshina, M. Z.; Goldenberg, L. M.; Zhilyaeva, E. I.; Lyubovskaya, R. N.; Takhirov, T. G.; Dyachenko, O. A.; Atovmyan, L. O.; Lyubovskii, R. B. *Mater. Sci.* **1988**, *14*, 45–55. (c) Dyachenko, O. A.; Gritsenko, V. V.; Shilov, G. V.; Lyubovskaya, R. N.; Lyubovskii, R. B. *Synth. Met.* **1994**, *62*, 193–196. (d) Wang, H. H.; Ferraro, J. R.; Williams, J. M.; Geiser, U.; Schlueter, J. A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 1893–1894.
- (4) In TTF-TCNQ, the nonfractional band filling is determined from the crossing point of the TTF's HOMO and TCNQ's LUMO bands. This crossing point varies under pressure as the band dispersion varies. See: (a) Jérôme, D.; Schultz, H. *Adv. Phys.* **1982**, *31*, 299–490. (b) Megtert, S.; Comès, R.; Vettier, C.; Pynn, R.; Garito, A. *Solid State Commun.* **1981**, *37*, 875–877.
- (5) Kumai, R.; Asamitsu, A.; Tokura, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8263–8264.
- (6) (a) Mori, H.; Kamiya, M.; Haemori, M.; Suzuki, H.; Tanaka, S.; Nishio, Y.; Kajita, K.; Moriyama, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1251–1260. (b) Katsuhara, M.; Kimura, S.; Mori, T.; Misaki, Y.; Tanaka, K. *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 458–462.
- (7) Perruchas, S.; Boubekur, K.; Canadell, E.; Misaki, Y.; Auban-Senzier, P.; Pasquier, C.; Batail, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3335–3348.
- (8) (a) Yamamoto, K.; Tajima, H.; Yamaura, J.; Aonuma, S.; Kato, R. *J. Phys. Soc. Jpn.* **1999**, *68*, 1384–1391. (b) Hiraki, K.; Kanoda, K. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol., Sect. A* **1996**, *285*, 157–162. (c) Hiraki, K.; Kanoda, K. *Synth. Met.* **1997**, *86*, 2111–2112. (d) Yamamoto, T.; Tajima, H.; Kato, R. *Solid State Commun.* **2000**, *114*, 281–284.
- (9) (a) Hubbard, J. *Proc. R. Soc. London, Ser. A* **1963**, *A276*, 238–257. (b) Mott, N. F. *Proc. Phys. Soc., London, Sect. A* **1949**, *62*, 416–422. (c) Mott, N. F. *Metal–Insulator Transitions*; Taylor and Francis: London, 1990.
- (10) Whangbo, M.-H. *J. Chem. Phys.* **1979**, *70*, 4963–4966.
- (11) (a) Awaga, K.; Sugano, T.; Kinoshita, M. *Solid State Commun.* **1986**, *57*, 453–456. (b) Awaga, K.; Sugano, T.; Kinoshita, M. *J. Chem. Phys.* **1986**, *85*, 2211–2218.
- (12) Jamali, J. B.; Achiwa, N.; Mukai, K.; Suzuki, K.; Asano, T.; Ajiro, Y.; Matsuda, K.; Iwamura, H.; Kuwajima, S.; Soejima, Y. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol., Sect. A* **1999**, *334*, 121–130.
- (13) Porter, W. W.; Vaid, T. P. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 469–475 and references therein.
- (14) Tanaka, H.; Okano, Y.; Kobayashi, H.; Suzuki, W.; Kobayashi, A. *Science* **2001**, *291*, 285–287.
- (15) (a) Kobayashi, A.; Fujiwara, E.; Kobayashi, H. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5243–5264. (b) Kobayashi, H.; Kobayashi, A.; Tajima, H. *Chem. - Asian J.* **2011**, *6*, 1688–1704.
- (16) Zhou, B.; Yajima, H.; Kobayashi, A.; Okano, Y.; Tanaka, H.; Kumashiro, T.; Nishibori, E.; Sawa, H.; Kobayashi, H. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 6740–6747.
- (17) (a) Idobata, Y.; Zhou, B.; Kobayashi, A.; Kobayashi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 871–874. (b) Yasuzuka, S.; Idobata, Y.; Zhou, B.; Kobayashi, A.; Katoh, K.; Cui, H. B.; Kato, R.; Tokumoto, M.; Kobayashi, H. *J. Phys. Soc. Jpn.* **2014**, *83*, 074701.
- (18) Pal, S. K.; Bag, P.; Itkis, M. E.; Tham, F. S.; Haddon, R. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 14738–14741.
- (19) Yzambart, G.; Bellec, N.; Nasser, G.; Jeannin, O.; Fourmigué, M.; Auban-Senzier, P.; Íñiguez, J.; Canadell, E.; Lorcy, D.; Roisnel, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17138–17148.
- (20) Kokatam, S.; Ray, K.; Pap, J.; Bill, E.; Geiger, W. E.; Le Suer, R. J.; Rieger, P. H.; Weyhermüller, T.; Neese, F.; Wieghardt, K. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 1100–1111.
- (21) Garreau-de Bonneval, B.; Moineau-Chane Ching, K. I.; Alary, F.; Bui, T.-T.; Valade, L. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 1457–1467.
- (22) (a) Schiødt, N. C.; Bjørnholm, T.; Bechgaard, K.; Neumeier, J. J.; Allgeier, C.; Jacobsen, C. S.; Thorup, N. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1996**, *53*, 1773–1778. (b) Dautel, O. J.; Fourmigué, M.; Canadell, E.; Auban-Senzier, P. *Adv. Funct. Mater.* **2002**, *12*, 693–698. (c) Belo, D.; Alves, H.; Lopes, E. B.; Duarte, M. T.; Gama, V.; Henriques, R. T.; Almeida, M.; Pérez-Benitez, A.; Rovira, C.; Veciana, J. *Chem.—Eur. J.* **2001**, *7*, 511–519.
- (23) Tenn, N.; Bellec, N.; Jeannin, O.; Piekara-Sady, L.; Auban-Senzier, P.; Iniguez, J.; Canadell, E.; Lorcy, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16961–16967.
- (24) Filatre-Furcate, A.; Bellec, N.; Jeannin, O.; Auban-Senzier, P.; Fourmigué, M.; Vacher, A.; Lorcy, D. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 8681–8690.
- (25) (a) Perochon, R.; Davidson, P.; Rouzière, S.; Camerel, F.; Piekara-Sady, L.; Guizouarn, T.; Fourmigué, M. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 1416–1422. (b) Debnath, S.; Srour, H. S.; Donnio, B.; Fourmigué, M.; Camerel, F. *RSC Adv.* **2012**, *2*, 4453–4462.
- (26) (a) Horie, H.; Takagi, A.; Hasebe, H.; Ozawa, T.; Ohta, K. *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 1063–1071. (b) Ohta, K.; Inagaki-Oka, Y.; Hasebe, H.; Yamamoto, I. *Polyhedron* **2000**, *19*, 267–274.
- (27) (a) Debnath, S.; Bergamini, J.-F.; Artzner, F.; Mériadec, C.; Camerel, F.; Fourmigué, M. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 2283–2285. (b) Mebrouk, K.; Debnath, S.; Fourmigué, M.; Camerel, F. *Langmuir* **2014**, *30*, 8592–2014.
- (28) Perochon, R.; Piekara-Sady, L.; Jurga, W.; Clérac, R.; Fourmigué, M. *Dalton Trans.* **2009**, 3052–3061.
- (29) Mukai, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, *42*, 40–46.
- (30) Balberg, I. *Phys. Rev. Lett.* **1987**, *59*, 1305–1308.
- (31) (a) Lu, W.; Chou, T.-W.; Thostenson, E. T. *Appl. Phys. Lett.* **2010**, *96*, 223106. (b) Kilbride, B. E.; Coleman, J. N.; Frayssé, J.; Fournet, P.; Cadek, M.; Drury, A.; Hutzler, S.; Roth, S.; Blau, W. J. *J. Appl. Phys.* **2002**, *92*, 4024–4030.
- (32) Ambrosetti, G.; Balberg, I.; Grimaldi, C. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2010**, *82*, 134201.
- (33) Altomare, A.; Burla, M. C.; Camalli, M.; Cascarano, G.; Giacovazzo, C.; Guagliardi, A.; Moliterni, A. G. G.; Polidori, G.; Spagna, R. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 115–119.
- (34) Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **2008**, *A64*, 112–122.
- (35) Farrugia, L. J. *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 837–838.