Université Libanaise
Ecole Doctorale
Sciences et Technologie

UNIVERSITÉ PARIS SUD

UNIVERSITE LIBANAISE et UNIVERSITE PARIS-SUD
Ecole Doctorale en Sciences et Technologies et Ecole Doctorale de Chimie Paris-Sud

THESE DE DOCTORAT

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN SCIENCES
DE L'UNIVERSITE PARIS-SUD ET DE L'UNIVERSITE LIBANAISE
Discipline : Chimie

Présentée par
Nada DIA

NANOPARTICULES PHOTOMAGNETIQUES ET AGENTS DE CONTRASTE A BASE DE RESEAUX DE COORDINATION

Thèse dirigée par : Pr. Talal MALLAH et Dr.Laure CATALA (France)
Pr. Zeinab SAAD et Pr. Hala HAFEZ (Liban)

Soutenue le 08 janvier 2013 devant le jury composé de :

Pr. Yves JOURNAUX	Président du jury
Pr. Mirvat ZAKHOUR	Rapporteur
Dr. Sébastien FLOQUET	Rapporteur
Pr. Talal MALLAH	
Pr. Zeinab SAAD	
Dr. Laure CATALA	
Pr. Hala HAFEZ	

Savoir s'étonner à propos est le premier
pas fait sur la route de la découverte.

Louis Pasteur

Remerciement

Ce travail de thèse a été réalisé en cotutelle au sein du Laboratoire de Chimie Inorganique (LCI) à l'Université Paris Sud et de l'Université Libanaise. Je tiens à remercier Monsieur Talal Mallah de m'avoir accueillir au sein du laboratoire pendant la période séjournée en France.

Je tiens à remercier vivement les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et de traverser des milliers de kilomètres pour venir le faire au Liban. Un grand Merci au Pr. Yves Journaux de m'avoir faire l'honneur de présider le jury. J'adresse également mes sincères remerciements aux Dr. Mirvat Zakhour et Dr. Sébastien Floquet d'avoir accepté d'examiner ce travail en tant que rapporteurs.

Faire une thèse en cotutelle, c'est avoir quatre chefs! Pour moi c'était une grande richesse. A ce titre, j'aimerai exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude aux Pr. Talal Mallah et Dr. Laure Catala (en France) et Pr. Zeinab Saad et Dr. Hala Hafez (au Liban). Je vous remercie pour votre aide précieux et pour la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ces trois années. Un grand Merci à Talal pour son grand soutien pendant les moments difficiles. Quelques mots du fond du coeur à Laure, qui m'a solidement encadré et à qui je suis extrêment reconnaissante. Que te dire Laure, il n'y a pas de mots qui expriment ma gratitude. Je te remercie pour ta rigueur scientifique, ton professionnalisme, tes idées toujours innovantes mais également pour ta gentillesse, et ton bonne humeur. Tout simplement, le travail avec toi est un grand plaisir et une magnifique synergie. J'ai toujours apprécié nos discussions scientifiques et aussi personnelles, j'étais très contente de voire cette relation professionnelle devenir rapidement amicale. Je te remercie de m'avoir toujours encouragé et j'espère que nous pourrons encore longtemps continuer à concevoir des beaux nano-cubes avec des propriétés toujours pertinentes.

Je tiens à remercier l'Université Libanaise, le CNRS Libanais et le service des relations international de l'Université paris-Sud d'avoir financer ce travail. Je remercie aussi l'association Islamique d'éducation pour leur soutien tout au long de mes années d'études.

Je voudrais remercier toutes les personnes qui m'ont formé à l'utilisation des différentes techniques de caractérisations : Danielle Jaillard (du Centre Commun de Microscopie Electronique d'Orsay) et Jessica Marrion (du centre d'imagerie de Gif sur Yvette) pour la

microscopie électronique à transmission, François Brisset pour les mesures EDX, Romuald Saint-Martin pour la diffraction des rayons X sur poudre, et bien évidemment Eric Rivière pour les mesures SQUID (merci beaucoup Eric ! Je mémoriserai pour toujours ta fameuse phrase « pas de problèmes Nada, t'inquiètes pas on va y arrivé »). Un grand merci également à nos collaborateurs : Corine Mathonnière de l'Université de Bordeaux pour les mesures photomagnétiques, Alexandre Gloter du laboratoire de physique des solides pour les belles images HRTEM, Olivier Tillement et Lucy Sancey du laboratoire de physico-chimie de matériaux luminescents pour les mesures de relaxivité et les tests d'internalisations et de toxicité.

Un grand merci est réservé aux docteurs et futures docteurs de notre équipe : Yoann Prado, avec qui j'ai fait les premiers pas dans l'exploration du monde des nanoparticules cœurs-coquilles, Youssuf Raza pour les beaux moments qu'on a passé en faisant les manips, pour nos discussions et surtout les sessions de langues Arab et Pakistanienne, je te souhaite une bonne continuation et surtout n'oublies jamais de « Keep smiling ». Bien évidemment, merci à Gabrielle Paul. Gaby, le travail avec toi était un grand plaisir, tu étais une brillante stagiaire mais aussi une adorable amie. Je te remercie pour les agréables moments passés ensemble. Je te souhaite une très bonne continuation pour ta thèse, tu auras évidemment de très bonnes résultats.

Un grand merci à Sandra Mazerat pour son aide précieux surtout pour la préparation des monocouches de CsCoFe sur HOPG. Sandra, tu es une personne exceptionnelle à tous les niveaux, je te remercie d'être toujours présente à mon côté pour me soutenir et m'encourager avec tes beaux mots.

Je remercie également tous les membres du LCI pour les agréables moments passés au laboratoire. Merci beaucoup à ma bella amiga Marta, toujours adorable ! Merci à Merwen, mon meilleur méchant-gentil ami, pour toutes nos discussions toujours chouettes. Merci également à Etienne, la rédaction est devenue beaucoup plus amusante depuis ton arrivé dans notre calme bureau ! La vie au LCI n'a pu être si agréable sans la présence des jeunes thésards et post-doc: Juliette, Julien, Stéphanie, Nathalie, Olga, Gérôme, Baptiste, Charlotte, Virgile, Georges et Lam mais aussi les permanents : Vincent, Yu, Anne L., Anne B., Marie-Laure, Katell, Fred, Gulia, Ally, Victoria et Marie. Je n'oublierai jamais la petite Michelle toujours présente pour faciliter les opérations administratives avec un grand sourire.

Je tiens à remercier mes ami(e)s libanais, avec qui, le séjour en France est devenu agréable. Merci les filles, Amar et Hawraa, pour les magnifiques moments : la course et les soirées film traditionnels du vendredi soir, les sessions de maquillage et les infinies repas. Merci également aux garçons : Ahmad, Ghayas (et sa voiture), Houssein et Ali d'être toujours présents à nos côtés.

Mes sincères remerciements s'adressent aux compagnonnes du chemin, les futurs-docteurs : Fatima (ma soulmate), Mariam, Khouloud et Souad. Notre chemin a commencé depuis Nabatieh passant par Beyrouth pour finir en France et au cours duquel nous avons vécu des larmes et les fou-rires. Ce chemin reste longue et difficile mais votre présence fidèle le rend sans doute une belle aventure.

Un spécial merci est réservé à mon ami "virtuel" Mohamad Tarhini. Je te remercie pour ton grand soutien bien qu'à longue distance et pour toutes nos discussions (sur facebook). Bien que tu n'aimes pas la chimie, tu sauras un jour que tout ce qui nous entoure n'est que de la chimie !!

Tous mes remerciements sont adressés à ma belle et tendre famille, papa, maman, mes sœurs Sanaa, Wafaa et Ghadir et mon nouveau frère Mohamad. Rien que du bonheur soit à votre côté. Ce travail n'aurait jamais pu être mené à fin sans votre soutien illimité, votre amour et votre confiance. Je vous remercie pour tous vos sacrifices inconditionnels.

Sans oublier, un grand merci à mon oncle Ali mon premier prof. de chimie pour son grand support.

Résumé

Titre : Nanoparticules photomagnétiques et agents de contraste à base de réseaux de coordination

L'état d'art concernant l'élaboration des matériaux inorganiques multifonctionnels, à l'échelle nanométrique, a fait l'objet de nombreuses recherches depuis vingt ans. Les réseaux de coordination tridimensionnels d'analogues de bleu de Prusse présentent des propriétés magnétiques modulables par l'application d'un stimulus extérieur (champ magnétique, irradiation lumineuse, pression ou variation de température etc...) qui mènent à une variété d'applications notamment pour le stockage de l'information et pour l'imagerie médicale. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail de thèse.

L'objectif principal porte sur la synthèse, la caractérisation chimique et structurale et l'étude des propriétés magnétiques, photomagnétiques et de relaxivité de nano-objets multicouches de ces réseaux. Dans une première partie, nous avons cherché à élaborer des nanoparticules de l'analogue $CsCoFe(CN)_6$ du bleu de Prusse photomagnétique de tailles bien contrôlées. La synthèse met en jeu plusieurs facteurs qui influent la taille et l'homogénéité des particules. Ainsi une croissance contrôlée de la taille a été obtenue permettant de sonder l'effet de la taille sur la réponse photomagnétique. L'assemblage de ces particules sur un substrat de graphite orienté HOPG a permet d'obtenir une monocouche compacte sur plusieurs microns qui conduit à une croissance de films d'épaisseurs contrôlées. Le comportement photomagnétique a été étudié sur ces films. Dans la deuxième partie, nous nous sommes également intéressés à combiner, toujours à l'échelle nanométrique, cet analogue photomagnétique à un autre réseau ferromagnétique $CsNiCr(CN)_6$ dans le but de créer une réponse exaltée sous lumière à plus haute température. Un comportement synergique est observé dans de telles hétérostructures et se manifeste par (*i*) une aimantation présentant un renversement uniforme des deux composantes et (*ii*) une augmentation photo-induite de l'aimantation qui persiste jusqu'à la température d'ordre du ferromagnétique.

La dernière partie est consacrée à la synthèse d'agents de contraste nanométriques de réseaux de coordination. D'une part, des nanoparticules de bleu de Prusse $KFeFe(CN)_6$ de tailles différentes ont été synthétisées avec un excellent contrôle de la taille. Les valeurs de relaxivité de la composante longitudinale T_1 du temps de relaxation montrent une dépendence de la taille et du taux d'atomes paramagnétiques en surface. D'autre part, nous avons élaboré un alliage $Mn_xIn_{1-x}Fe(CN)_6$ avec différentes proportions en manganèse, différentes tailles ont été obtenues en fonction du taux de manganèse inséré. Nous avons démontré que les ions Mn^{II} sont localisés en surface dans une structure proche de la structure cœur-coquille qui explique les valeurs élevées observées. Les valeurs élevées de la relaxivité de ces particules en font d'excellents candidats en tant qu'agents de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique (IRM). Afin d'explorer leurs potentialités, les particules de $KFeFe(CN)_6$ de 6 nm et de $Mn_{0.3}In_{0.7}Fe(CN)_6$, présentant la plus grande valeur de relaxivité, ont été enrobées par un polymère fluorescent biocompatible et internalisées au sein des cellules vivantes. Des tests de toxicité ont été aussi effectués.

Mots clefs: Nanoparticules, analogue de bleu de Prusse, cœur-coquille, photomagnétisme, comportement synergique, agents de contraste, relaxivité.

Abstract

Titre: Photomagnetic and contrast agent coordination nanoparticles

Designing new objects in the perspective of creating useful functionalities at the nanoscale has been the subject of intense research efforts during the last 20 years. In the field of molecular magnetism, coordination nanoparticles (CNP) are among the most fascinating materials in the field of molecular magnetism because they may show bistability at room temperature under the effect of different external stimuli such as light, temperature, pressure, electrical field, etc…

The new and elegant route to stabilize negatively charged surfactant-free nanoparticles in water permitting an epitaxial growth of successive the layers of the same or of different Prussian Blue Analogues described by some of us was used in this work to design core-multi-shell nanocrystals with a fine tuning of their thickness. These network structures may be useful for several applications such as data storage and medical imaging.

In the first part, we describe the synthesis of well controlled photomagnetic $CsCoFe(CN)_6$ nanoparticles. The synthesis involves several factors that influence the size and homogeneity of the particles. The controlled growth of the size objects was also performed to investigate the effect of the size on the photomagnetic response. The assembly of these particles on oriented graphite (HOPG) substrates leads to a compact monolayer of several microns. The compact monolayers were used as template for the controlled growth of photomagnetic films. In the second part, we report the synthesis of sub-50 nm heterostructured nano-objects in which a ferromagnetic network of $CsNiCr(CN)_6$ is combined to a photo magnetic $CsCoFe(CN)_6$ layer in order to achieve synergy between the two components. The synergistic behavior is observed in such heterostructures and manifested by (i) a uniform reversal of the magnetization and (ii) a persistent increase of the photo-induced magnetization up to the "ordering" temperature (60 K) of the ferromagnetic component.

The last part is devoted to the synthesis of nanosized coordination networks contrast agents. First, Prussian blue nanoparticles $KFeFe(CN)_6$ with different sizes were prepared with excellent size control. Relaxivity values of the longitudinal component T_1 of the relaxation time were found to depend on the size and the rate of the paramagnetic atoms present on the surface. On the other hand, we describe the synthesis of $Mn_xIn_{1-x}Fe(CN)_6$ nanoparticles with different proportions of Mn. Different sizes were obtained, which depend on the rate of inserted Mn ions. We have demonstrated that the Mn^{II} ions are located on the surface in a *sub*-core-shell structure, which explains the high relaxivity values. The high relaxivity values of these particles show that they are excellent candidates as contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI).

Keywords: Nanoparticles, Prussian blue analogue, core-shell Photomagnetism, synergistic behavior, contrast agents and relaxivity.

Sommaire

Introduction……1

Chapitre I : Bibliographie……..3

I.1.Bleu de Prusse et ses analogues……...3

I.1.1. Bleu de Prusse : structure et propriétés……..3

I.1.2. Analogues de bleu de Prusse : Structure et propriétés……...4

I.1.3. Propriétés de commutation des analogues de bleu de Prusse……6

I.1.3.1. L'analogue manganèse-fer……7
I.1.3.2. L'analogue fer-chrome……...8
I.1.3.3. L'analogue cobalt-fer……9

I.1.4. Nanoparticules de l'analogue de bleu de Prusse $A_xCo[Fe(CN)_6]_y$ ……..15

I.2. Agents de contraste pour Imagerie à Résonance Magnétique (IRM)……...18

I.2.1. L'imagerie par résonance magnétique……18

I.2.1.1. Principe de la RMN……..19
I.2.1.2. Relaxation……20

I.2.2. Agents de contraste et théorie de relaxivité nucléaire……..22

I.2.2.1. Théorie de relaxation nucléaire……....23

I.2.3. Optimisation de la relaxivité des agents de contraste……..29

I.2.3.1. Paramètres influençant le mécanisme de sphère interne……..29
I.2.3.2. Agents de contrastes T_1 commerciaux……32
I.2.3.3.Vers des nouvelles générations des agents de contraste……35

Objectifs de la thèse……..51

Chapitre II : Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$:Contrôle de taille et propriétés magnétiques……..64

II.1.Introduction……..64

II.2. Stabilisation électrostatique des nanoparticules.....……...65

II.2.1. Stabilisation des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse……..65

II.2.2. Facteurs influant sur la taille et l'homogénéité des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$……68

II.2.2.1. Effet de la température……69
II.2.2.2. Effet de la stœchiométrie et du pH……..74
II.2.2.3. Effet du solvant……...79
II.2.2.4. Conclusion……..85

II.2.3. Etude des propriétés photomagnétiques…….86

II.2.3.1.Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de taille 7 nm……...86
II.2.3.2.Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de taille 14 nm…….89

II.3. Monocouche des nanoparticules photomagnétique sur surface……..90

II.3.1. Microscopie à force atomique…….91

II.3.2.Croissance du film et propriétés photomagnétiques……92

II.3.3.Conclusion……...94

II.4. Croissance contrôlée de la taille des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$.....94

II.4.1 Synthèse des nanoparticules cœur-coquilles……95

II.4.2. Croissance des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$…….96

II.4.2.1. Croissance en milieu aqueux……...96
II.4.2.2. Croissance dans un mélange eau-acétone……...97

II.4.3.Mesures photomagnétiques…….99

II.4.4. Conclusion……101

II.5. Conclusion……101

Chapitre III : Comportement synergique des nanoparticules multicouches Ferro/Photomagnétiques……106

III.1. Introduction……..106

III.1.1. Contexte : élaboration de nanoparticules cœur-multicoquilles……...107

III.1.2. Choix des phases à combiner……..109

III.1.3. Objectif……111

III.2. Synthèse des nanoparticules cœur-coquille……113

III.2.1. Synthèse des particules cœur de $CsNiCr(CN)_6$ 12 nm……114

III.2.2. Synthèse des nanoparticules cœur-coquille $CsNiCr(CN)_6$@$ACoFe(CN)_6$ 32nm……114

III.2.3. Croissance de la deuxième coquille de $CsNiCr(CN)_6$……115

III.3. Taille, cristallinité et composition chimique des nanoparticules cœur-coquille..115

III.3.1. Caractérisation de la taille……...115

III.3.2. Structure et cristallinité des nanoparticules Cœur-coquille……120

III.3.3. Caractérisation Chimique des nanoparticules cœur-coquille……..125

III.3.4. Conclusion……...128

III.4. Autres Stratégies de synthèse……..129

III.4.1. Effet de l'alcalin…….129

III.4.2. Conclusion……..133

III.5. Etude des propriétés magnétiques et photomagnétiques des nanoparticules cœur-coquille ……134

III. 5.1. Propriétés magnétiques des objets modèles [32] et [42]……134

III.5.1.1. Courbes FC / ZFC des nanoparticules cœur-coquille [32] et [42]...134
III.5.1.2. Courbes d'aimantation des nanoparticules [32] et [42]……...135

III.5.2. Réponse photomagnétique des nanoparticules [32Cs] et [42Cs]……136

III.5.2.1. Les bicouches CsNiCr@CsCoFe [32Cs]……137
III.5.2.2. tricouche CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs]……139
III.5.2.3. Discussion des résultats……...141

III.6.Conclusion……142

Chapitre IV : Nanoparticules de bleu de Prusse pour l'imagerie médicale……..147

IV. 1. Introduction……...148

IV.2. Nanoparticules de bleu de Prusse $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$ et cœur-coquilles $CsNi^{II}[Co^{III}(CN)_6]$@$KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$……..149

IV.2.1. Nanoparticules de bleu de Prusse : relaxivité vs taille ……...151

IV.2.1.1. Synthèse des nanoparticules de bleu de Prusse……...151
IV.2.1.2. Caractérisations de la taille……..153

IV.2.1.3. Caractérisations chimiques……..157
IV.2.1.4. Mesures de relaxivité……...159
IV.2.1.5. Discussion……161

IV.2.2. Nanoparticules cœur-coquille : Contribution des couches internes ?.....164

IV.2.2.1. Synthèse de nanoparticules cœur-coquille……..165
IV.2.2.2. Caractérisations de la taille……..166
IV.2.2.3. Caractérisations chimiques……..169
IV.2.2.4. Relaxométrie……171

IV.3.Discussion……174

IV.4. Images "fantômes" des nanoparticules de bleu de Prusse……...178

IV.5. Internalisation cellulaire des nanoparticules de bleu de Prusse [7]……180

IV.5.1. Synthèse des nanoparticules $KFe^{II}Fe^{III}(CN)_6$ [7] et fonctionnalisation avec du dextran-TRITC……...180

IV.5.2. Etude des redispersions……...181

IV.5.3. Suivie de l'internalisation cellulaire par microscopie confocale……...182

IV.5.4. Etude de toxicité……184

IV.6. Conclusion……...184

Chapitre V : Nanoparticules $K_zMn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$: agents de contraste T_1 pour IRM……...188

V.1. Introduction……...188

V.2. Synthèse et caractérisations chimiques et structurales des particules……..190

V.2.1. Synthèse des particules……190

V.2.2 Caractérisations structurales et de taille des particules……190

V.2.2.1. Diffusion dynamique de la lumiére (DDL)……...190
V.2.2 2. Diffraction des rayons X sur poudres (DRX)……...192
V.2.2.3. Microscopie électronique à transmission (MET)……..194
V.2.2.4. Discussion……195

V.2.3. Caractérisations chimiques des particules……197

V.2.3.1. Analyse élémentaire..……197
V.2.3.2. Spectroscopie Infrarouge……198

V.3. Mesures de relaxivité et discussion……...199

V.3.1. Relaxométrie…….199

V.3.2. Modèle d'alliage……...201

V.3.3. Modèle cœur-coquille……..203

V.3.4. Relaxivité optimale……...205

V.4. Internalisation cellulaire des particules $Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_{y}$ [30]……...207

V.4.1. Synthèse des particules $Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_{y}$ [30] enrobées de dextran-TRITC…….207

V.4.2. Etude des redispersions…….....208

V.4.3. Suivi de l'internalisation cellulaire des particules par imagerie confocale defluorescence…….209

V.4.5. Etude de toxicité……..…..210

V.5. Conclusion et perspectives……210

Conclusion et perspectives…….214

Annexes……217

Introduction

Introduction

"Small is beautiful", mais aussi très efficace. C'est ainsi que la réduction de la taille d'un matériau vers un état nanométrique lui confère de nouvelles propriétés physico-chimiques, qu'il ne possède pas à l'échelle micrométrique, à l'origine de cette efficacité. Les nanoparticules suscitent un intérêt croissant pour les chimistes aussi bien que les physiciens et les biologistes cherchant à élaborer des objets sur mesure multifonctionnels adaptés à diverses applications. Pourtant, travailler à l'échelle des atomes n'est pas toujours facile et certains défis restent à relever tels que (*i*) le contrôle de la taille et les propriétés des nanostructures, (*ii*) la compréhension de l'effet de la taille sur leurs propriétés physico-chimiques. Ainsi, la conception de nano-objets ayant de nouvelles propriétés synergiques, obtenues par couplage des matériaux à comportements magnétiques différents est également intéressante et prometteuse.

En regard de ces problématiques, ce travail de thèse s'inscrit dans la thématique de la synthèse contrôlée des nanoparticules de réseaux de coordination dont le but, à long terme, est de permettre l'élaboration des nano-dispositifs pour le stockage d'information et d'agents de contraste pour l'imagerie médicale innovants. En raison de la large gamme des propriétés qu'ils présentent, le bleu de Prusse et ses analogues ont été utilisés dans le cadre de ce travail. Cette classe de matériaux révèle une variété des comportements magnétiques en réponse aux stimulations extérieures (champ magnétique, lumière, pression et température etc…). Cette spécificité alliée au contrôle de la taille et de la croissance à l'échelle nanométrique nous a permis d'élaborer des nano-objets homo- et hétérostructurés et d'étudier leurs propriétés magnétiques dans la perspective d'applications électroniques et médicales.

Le premier chapitre présente, dans une première partie, une introduction générale à la structure et aux propriétés du bleu de Prusse et ses dérivés. Un intérêt particulier est dédié au phénomène de photomagnétisme observé dans l'analogue CoFe. La seconde partie est centrée autour des agents de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique. Après un rappel de la théorie de relaxivité nucléaire, un aperçu de l'état de l'art sur les agents de contraste sera exposé.

Le chapitre II présente les différentes voies de synthèse employées pour contrôler l'élaboration des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de différentes tailles ainsi que leurs propriétés photomagnétiques.

Le chapitre III est consacré à la synthèse et à l'étude du comportement magnétique des nano-objets cœur-coquilles hétérostructurés, obtenus par couplage d'un réseau ferromagnétique $CsNiCr(CN)_6$ au réseau photomagnétique $CsCoFe(CN)_6$.

Le chapitre IV est dédié aux propriétés de relaxivité des nanoparticules contenant du bleu de Prusse. Le travail concerne le contrôle de taille de nanoparticules de bleu de Prusse et la croissance contrôlée d'une coquille d'épaisseur variable de ce réseau sur un cœur $CsNi^{II}Co^{III}(CN)_6$. Cette étude permet de mettre en évidence l'influence prépondérante de la taille et d'une partie de la microporosité sur leurs propriétés en tant qu'agents de contraste.

Le dernier chapitre dévoile la synthèse d'une série d'analogue de bleu de Prusse tri-métallique $Mn^{II}_xIn_{1-x}Fe^{II}(CN)_6$ avec différents taux de dopage en Mn^{II} et l'étude de leur relaxivité, qui révèlent des propriétés de relaxivité exaltées liées à une structure de type cœur-coquille.

Enfin, les conclusions et les perspectives découlant de ce travail seront exposées.

Chapitre 1

Bibliographie

Chapitre I : Bibliographie

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons cherché à élaborer et étudier les propriétés magnétiques et photomagnétiques des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse, tout en explorant leur utilisation potentielle pour le stockage de l'information et comme agents de contraste en imagerie à résonance magnétique (IRM). Pourtant, avant de détailler les objectifs de la thèse ainsi que les stratégies employées pour y répondre, il est essentiel de remémorer certaines notions générales et exposer une vue d'ensemble sur les récents travaux effectués dans ce domaine. Ce chapitre se veut donc une introduction à la famille de bleu de Prusse et ses analogues. Un intérêt particulier est ainsi apporté au concept du photomagnétisme observé dans l'analogue CoFe. Nous présentons brièvement les principales études qui ont permis de comprendre et expliquer cet effet spectaculaire. Dans une dernière partie, nous nous intéressons aux propriétés paramagnétiques de complexes et de nanoparticules pouvant être utilisés en tant qu'agents de contraste. Une revue non exhaustive est dédiée aux différents travaux effectués pour améliorer l'efficacité des agents de contraste.

I.1. Bleu de Prusse et ses analogues :

I.1.1.Bleu de Prusse : structure et propriétés

Le bleu de Prusse, considéré comme étant le premier composé de coordination, a été découvert à Berlin au début du XVIII^{ème} siècle. Il s'agit d'un précipité de couleur bleu caractéristique obtenu immédiatement par réaction de coprécipitation des solutions aqueuses de chlorure de fer (III) et d'hexacyanoferrate (II) de potassium et de formule générale $Fe^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3.15H_2O$. Toutefois, la difficulté de cristallisation n'a permis de résoudre sa structure cristallographique que tardivement, dans les années 70. En effet, Buser et al. ont démontré que le bleu de Prusse cristallise dans un réseau tridimensionnel cubique à faces centrées et de paramètre de maille a = 10.17 Å (groupe d'espace *Fm3m*)[1] où les atomes de fer (ferreux et ferrique) alternent dans la structure reliés par des ligands cyanures. Par ailleurs, la stœchiométrie [4:3], imposée par l'électroneutralité du réseau, engendre la présence de lacunes non ordonnées en ferrocyanure ; la sphère de coordination des ions Fe^{III} est alors complétée par des molécules d'eau. Des molécules d'eau zéolitiques peuvent en outre être accueillies à l'intérieur des cavités du réseau (*Fig. I-1*).

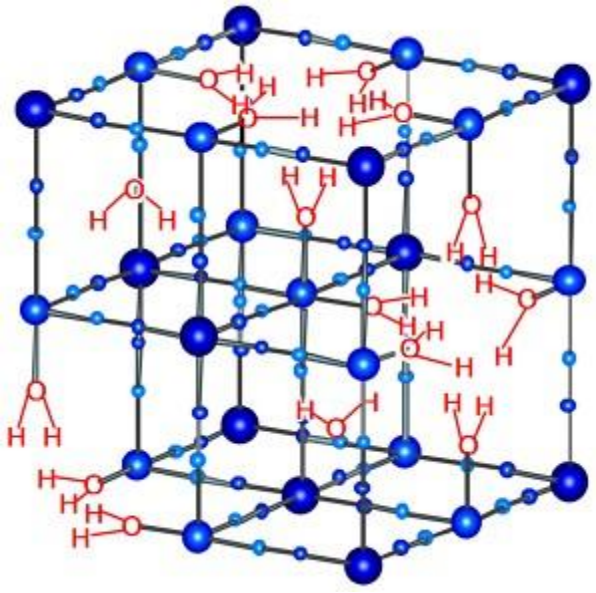


Figure I-1 : Représentation de la structure cristallographique du bleu de Prusse avec des molécules d'eau coordinnées et zéolitiques

La couleur caractéristique du bleu de Prusse se veut une de ses propriétés les plus marquantes. Cette couleur due à une intense bande d'intervalence à 700 nm, qui correspond à un transfert de charge du Fe^{II} vers le Fe^{III}. Le bleu de Prusse est un composé à valence mixte de classe II.[2] En outre, ce composé possède un ordre ferromagnétique en dessous de 5.6 K. Mayoh et Day ont expliqué cette faible interaction d'échange entre les ions Fe^{III}(HS) par une délocalisation électronique partielle, aboutissant à un mélange des états excité et fondamental.[3]

I.1.2. Analogues de bleu de Prusse : Structure et propriétés

Le remplacement des ions Fe(II) et Fe(III) du bleu de Prusse par d'autres ions di- et trivalents de la première série de métaux de transition (Ni^{II}, $Co^{II/III}$, Mn^{II}, $Cr^{II/III}$ etc…), a permis de mettre au point une nouvelle famille de composés bien diversifiés d'analogues de bleu de Prusse. Ces composés possèdent une formule générale $A_xM_4^{II/III}[M'^{III/II}(CN)_6]_{(8+x)/3}\square_{(4-x)/3}.nH_2O$ où A est un cation alcalin et □ représente les lacunes intrinsèques en hexacyanométallates. Le taux de lacunes et la structure du composé sont fonction de la quantité d'alcalin inséré.

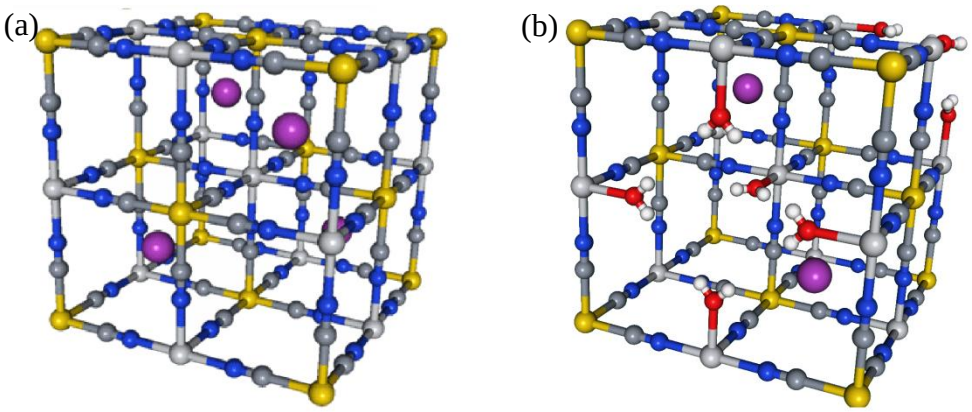


Figure I-2 : Structures des analogues de bleu de Prusse $A_xM_4^{II/III}[M'^{III/II}(CN)_6]_{(8+x)/3}\square_{(4-x)/3}.nH_2O$: (a) pour x=4 et (b) pour x<4 ; M'(jaune), M (gris clair), C (gris foncé), N (bleu) et cation alcalin (violet). Les molécules d'eau coordinnées sont représentées en rouge.

Pour x=4, la structure est un réseau cubique à faces centrées non lacunaire. Les ions M occupant les sommets et centres des faces du réseau, s'enchaînent *via* le pont cyanure aux ions M'qui occupent les sites octaédriques. Les cations alcalins occupent les interstices tétraédriques du réseau *(Fig. I-2(a)).* D'autre part, le caractère σ-donneur / π accepteur du côté carbone et σ-donneur / faiblement π accepteur du côté azote impose aux ions M' et M une configuration bas spin et haut spin respectivement.

Pour toutes les autres stœchiométries (x<4), la structure de l'analogue est lacunaire en entités $M'(CN)_6^{n-}$. En effet les ions M situés au voisinage des sites vacants, complètent leur sphère de coordination par des molécules d'eau. Les sites interstitiels sont alors occupés par des molécules zéolitiques, en plus des cations alcalins, pour compenser la charge du réseau *(Fig I-2(b)).*

En se limitant à la première série des métaux de transition (3d), il existe déjà un grand nombre de combinaisons pour le couple M^{2+}/M'^{3+} et de multiples composés $A_xM^{II}[M'^{III}(CN)_6]_y.nH_2O$ sont envisageables. Nous focaliserons ici sur les propriétés de commutation photo-induites observées pour certains analogues.

Les propriétés magnétiques des analogues de bleu de Prusse dérivent des interactions d'échange ferromagnétiques ou antiferromagnétiques entre les métaux de transition M et M'à travers le pont de cyanure.[4]

Rappelons brièvement ces interactions, les deux ions M et M' possèdent une symétrie octaédrique, où M est relié du côté azote avec une configuration haut spin $M(NC)_6$ (les orbitales t_{2g}.et e_g sont mis en jeu) et M' est relié du côté carbone avec une configuration bas

spin $M'(CN)_6$. Pour ce dernier, les configurations d^n avec n>6 n'a jamais été reportées, seules les orbitales t_{2g} sont occupées. Ainsi, deux voies d'échanges sont distinguées :

- L'échange entre les orbitales de même symetrie $t_{2g}(M)$ / t_{2g} (M') qui conduit à un recouvrement entre des orbitales magnétiques stabilisant la situation des électrons appariés. L'interaction d'échange est alors de nature antiferromagnétique.
- L'échange entre les orbitales orthogonales $t_{2g}(M)$ / $e_g(M')$ qui stabilise l'état des électrons non-appariés et la nature de l'échange est donc ferromagnétique

La flexibilité chimique du bleu de Prusse, résultant de la possibilité de remplacer à volonté les ions Fe par d'autres métaux, a permis de prévoir et contrôler la nature des interactions d'échange entre les deux centres métalliques voisins dans le but de concevoir d'une manière *rationnelle* des aimants à base d'analogue de bleu de Prusse à très hautes températures critique *Tc* (au voisinage de la température ambiante).[5] Ainsi, des composés ferrimagnétiques $Cs_xCr^{II/III}_y[Cr^{III}(CN)_6]_z$, où x, y et z varient en fonction de la méthode de préparation, ont une *Tc* proche de l'ambiante (270 K pour le composé $Cr^{II}_{0,36}Cr^{III}_{1,76}(CN)_6$).[6,7] Les températures les plus élevées (allant jusqu'à 365 K), ont été obtenues avec l'analogue $Cs_xV^{II/III}[Cr(CN)_6]_y$, dont la composition et la *Tc* varient selon le taux d'oxydation de V^{II} en V^{III}.[8,9]

Parallèlement, certaines recherches se sont orientées vers le contrôle des propriétés magnétiques de ces analogues de bleu de Prusse par un stimulus extérieur, tel que la pression, la température ou une excitation lumineuse.[7,10] Parmi ces différents stimuli, la lumière a conduit à des résultats importants. En effet, les années 90 se sont avérées révolutionnaires dans ce domaine, notamment du fait de la découverte d'une augmentation photo-induite de l'aimantation de l'analogue hexacyanoferrate de cobalt.[11] Depuis cette découverte, de nombreuses études ont été réalisées dans le but de comprendre et élucider l'origine de l'effet photomagnétique observé pour d'autres analogues et de contrôler leurs propriétés.

I.1.3. Propriétés de commutation des analogues de bleu de Prusse

Dans cette partie, nous nous intéressons aux propriétés de commutation photo-induite observées pour certains composés de la famille d'analogues de bleu de Prusse exclusivement et qui varie entre un simple transfert de charge (analogue $Mn^{II}Fe^{III}$),[12] ou transition de spin ($Fe^{II}Cr^{III}$)[13] et un processus plus complexe de transfert de charge couplé à une transition de spin (l'analogue CoFe).

I.1.3.1. L'analogue manganèse-fer :

L'analogue $A_xMn^{II}[Fe^{III}(CN)_6]_y$ (A=Cs, Rb) a été tout d'abord étudié pour ses propriétés de commutation thermo-induites. Sur une série de composés $Rb_xMn[Fe(CN)_6]_{(2+x)/3}.yH_2O$, il a été démontré que l'état électronique des ions Mn et Fe bascule entre deux états : Mn^{II} (d^5 ; S = 5/2)-NC-Fe^{III} (d^5; S = 1/2) favorisé à h/aute température (HT) et Mn^{III} (d^4 ; S = 2)-NC-Fe^{II} (d^6; S = 0) stabilisé à basses températures 0(LT). La transition entre ces deux états s'effectue avec l'ouverture d'une boucle d'hystérèse (ΔT = 86 K) entre 216 et 302 K *(Fig I-3).*

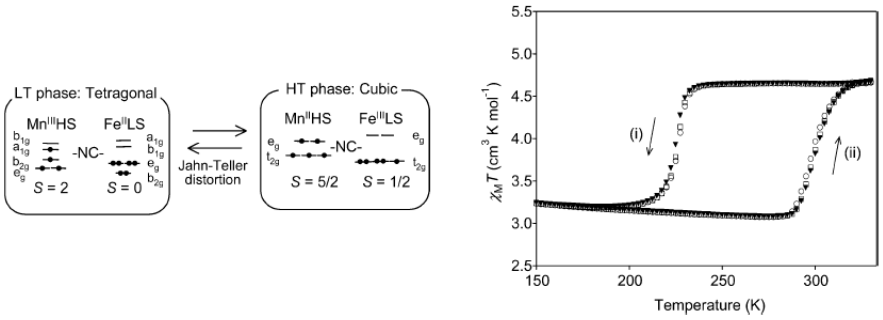


Figure I-3 : Etats électroniques des phases haute température (HT) et basse température (BS) (gauche) et produit $\chi_M T$=f(T) de l'analogue $RbMn[Fe(CN)]_6$

La diffraction de rayons X sur poudre a mis en évidence un changement de la structure entre cubique à faces centrées à haute température et trigonale à basse température. La variation des propriétés magnétiques est attribuée à un transfert de charge entre les sites Mn^{II} et Fe^{III} accompagné d'une distorsion de type Jahn-Teller sur le site Mn^{III} générée par le transfert électronique.[14] Un comportement photomagnétique intéressant a été également reporté par la même équipe sur l'analogue $Rb_{0,88}Mn[Fe(CN)_6]_{0,96}.0,5H_2O$. A basse température, l'état stabilisé est Mn^{III} (d^4 ; S = 2)-NC-Fe^{II} (d^6; S = 0) et le composé est ferromagnétique en dessous de sa température de curie de 12 K. L'irradiation lumineuse de l'analogue, à T = 3 K et λ = 532 nm, entraîne une diminution de l'aimantation due aux interactions antiferromagnétiques des paires Mn^{II} (d^5 ; S = 5/2)-NC-Fe^{III} (d^5; S = 1/2) photo-générées *(Fig. I-4).*

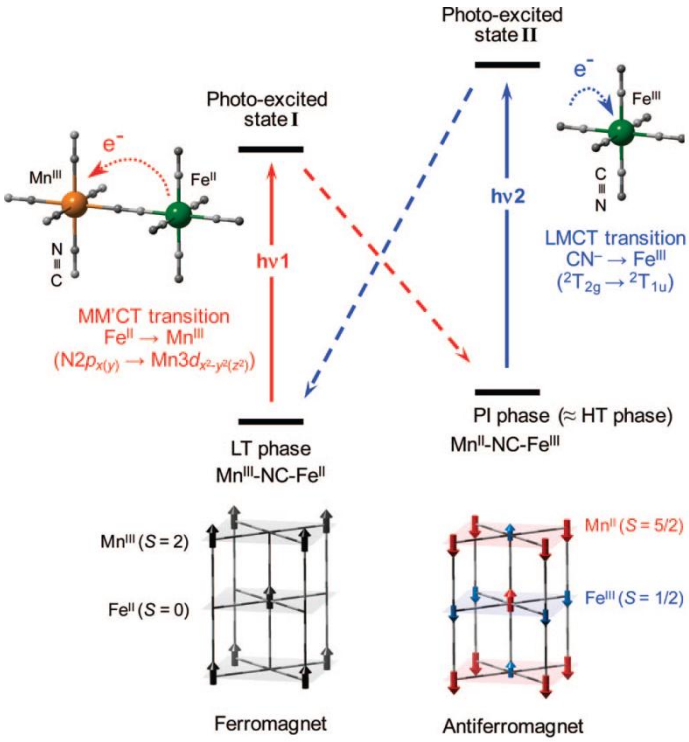


Figure I-4 : Schéma représentant le processus de photo-excitation dans l'analogue $Rb_{0.88}Mn[Fe(CN)_6]_{0.96}.0.5H_2O$[15]

Ce phénomène est réversible et le système retrouve ses propriétés originales par un traitement thermique à 180 K ou par irradiation à nouveau à λ = 410 nm.[16] Ce transfert d'électron est reproductible et des cycles d'irradiations successives peuvent être appliqués, tout en conférant au composé une bistabilité par voie optique.

I.1.3.2. L'analogue fer-chrome :

L'analogue Fe-Cr est connu en tant que premier analogue de bleu de Prusse à transition de spin thermo-induite.[17] Ce composé bascule entre deux états : HT (haute température) Fe^{II}(HS ; S=2)-NC-Cr^{III}(BS) et BT (basse température) Fe^{II}(BS ; S=0)-NC-Cr^{III}(BS). La variation de χT=f(T) enregistrée en montée et descente de la température montre une large hystérèse thermique *(Fig. I-5).*

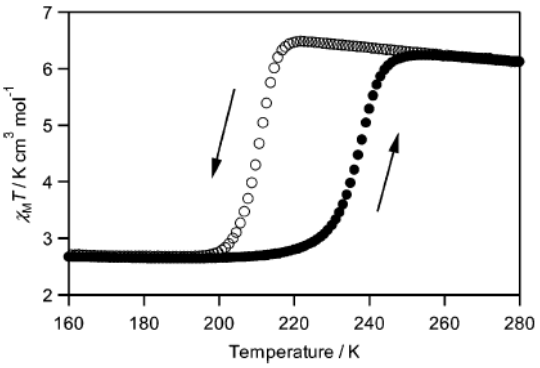


Figure I-5 : Produit χT=f(T) enregistrée en montée et descente de la température du composé $CsFe^{II}[Cr^{III}(CN)_6]$

Des effets photomagnétiques ont été également reportés sur cet analogue. Dans un premier temps, Ohkoshi et al ont montré que le composé $Fe^{II}_{1,5}[Cr^{III}(CN)_6].7,5H_2O$ possède des propriétés de commutation photo-induite même en absence d'alcalin.[13] Avant irradiation, le composé est ferromagnétique en dessous de 21 K. L'irradiation lumineuse, dans le bleu (λ= 400 nm) et à basse température, induit une légère diminution de l'aimantation qui persiste stable et constante pendant plusieurs jours. Le système retrouve son état initial par chauffage au-dessus de 40 K. D'ailleurs, il a été démontré que l'analogue $CsFe(Cr(CN)_6].1,3H_2O$ présente également le même phénomène aussi bien que des propriétés de commutation en température. L'effet photomagnétique et de commutation thermique ont été mis en évidence par diffraction de rayons X d'une source de rayonnement synchrotron et démontrés dû à un changement de l'état de spin (transition photo et/ou thermo-induite) du Fe^{II}(HS ; S=2)↔Fe^{III}(BS ; S=0) sous l'effet de la lumière.[18]

I.1.3.3. L'analogue cobalt-fer :

Le phénomène d'aimantation photo-induite dans un composé d'analogue de bleu de Prusse a été mis en évidence, pour la première fois en 1996 par l'équipe de Hashimoto, sur le composé $K_{0,2}Co_{1,4}Fe(CN)_6.6,9H_2O$.[11] Avant irradiation, le composé est formé essentiellement des paires Co^{III}(BS, S=0)-NC-Fe^{II}(BS, S=0) et Co^{II}(HS, S=3/2)-NC-Fe^{III}(BS, S=1/2) et s'ordonne (ordre ferrimagnétique) en dessous de sa température de Curie de 16K. L'irradiation du composé, à basse température par une lumière rouge (λ=630 nm) induit une nette augmentation de l'aimantation qui persiste après arrêt de l'irradiation. La valeur de la température de Curie augmente à 19 K *(Fig. I-6)*, accompagnée d'un élargissement du champ coercitif à 1500 contre 800 Oe mesuré avant irradiation.

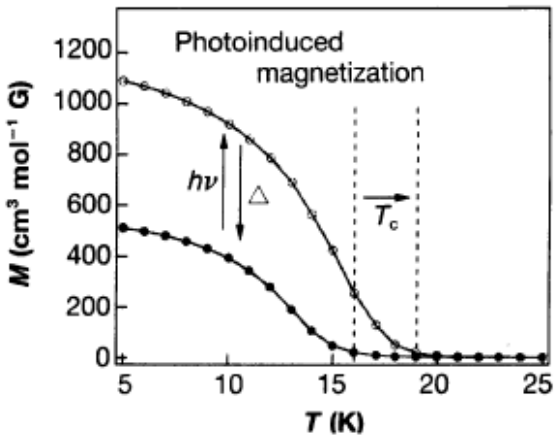


Figure I-6 : Courbes d'aimantation « field-cooled » avant (●) et après (○) irradiation du composé $K_{0,2}Co_{1,4}Fe(CN)_6.6,9H_2O$ mesuré sous un champ H=5G[11]

Cette augmentation de l'aimantation a été attribuée à la régénération des paires Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS), par transfert de charge photo-induit accompagné d'une transition de spin de l'ion Co^{III}. Ce processus *CTIST* (Charge Transfer Induced Spin Transition) étant réversible et l'état initial est partiellement rétabli par irradiation dans le bleu ou thermiquement au delà de 150K *(Fig. I-7).*

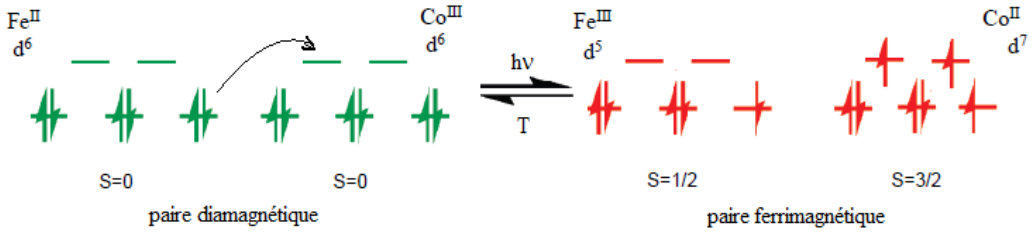


Figure I-7 : Schéma du processus CTIST dans l'analogue CoFe

Peu de temps après, les mêmes auteurs ont reporté des propriétés plus spectaculaires sur un film $K_{0,4}Co_{1,3}[Fe(CN)_6]$, synthétisé par voie électrochimique, avec une température de curie de 26 K et un champ coercitif atteignant 6000 G après irradiation. En plus, une autre irradiation dans l'infrarouge était capable de retourner le système à son état initial.[19]

Par la suite, cette série de composés a été intensément étudiée, par deux groupes de recherche : un groupe français de Verdaguer, Bleuzen[20,21] qui se sont intéressés aux aspects structuraux et le groupe japonais de Hashimoto qui a orienté ses études vers les effets photomagnétiques.[22]

D'une part, l'effet photomagnétique a été démontré intimement lié à la composition chimique et la structure de ces composés de formule générale $A_xCo_4[Fe(CN)_6]_{(8+x)/3}.yH_2O$, avec A un

cation alcalin (K^+, Na^+, Rb^+ et Cs^+). En effet, le photomagnétisme est codé par le taux d'insertion de l'alcalin, régissant la quantité des lacunes et également la rigidité de la structure. Toutefois, ces alcalins sont responsables du transfert d'électrons induisant la formation des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} photoactives. Des études structurales et magnétiques effectuées sur une série de composés avec différents alcalins ont montré que le comportement photomagnétique est toujours observé sauf dans le cas d'alcalin de plus grande taille et en grande quantité (Cs^+) ou l'absence d'alcalin.[23,24] Dans le premier cas, la grande quantité d'alcalin inséré fournit à la structure une rigidité empêchant le transfert photo-induit de l'électron. Le système demeure alors quasi- diamagnétique (maximum de Co^{III}-NC-Fe^{II}) même après irradiation. L'absence du photomagnétisme dans le second cas revient à l'absence des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} photoactives générées. Avant irradiation, le système est ferrimagnétique sous 16 K (paires Co^{II}-NC-Fe^{III} majoritaires), l'irradiation dans ce cas ne présente aucun effet sur l'aimantation *(Fig I-8)*.[25]

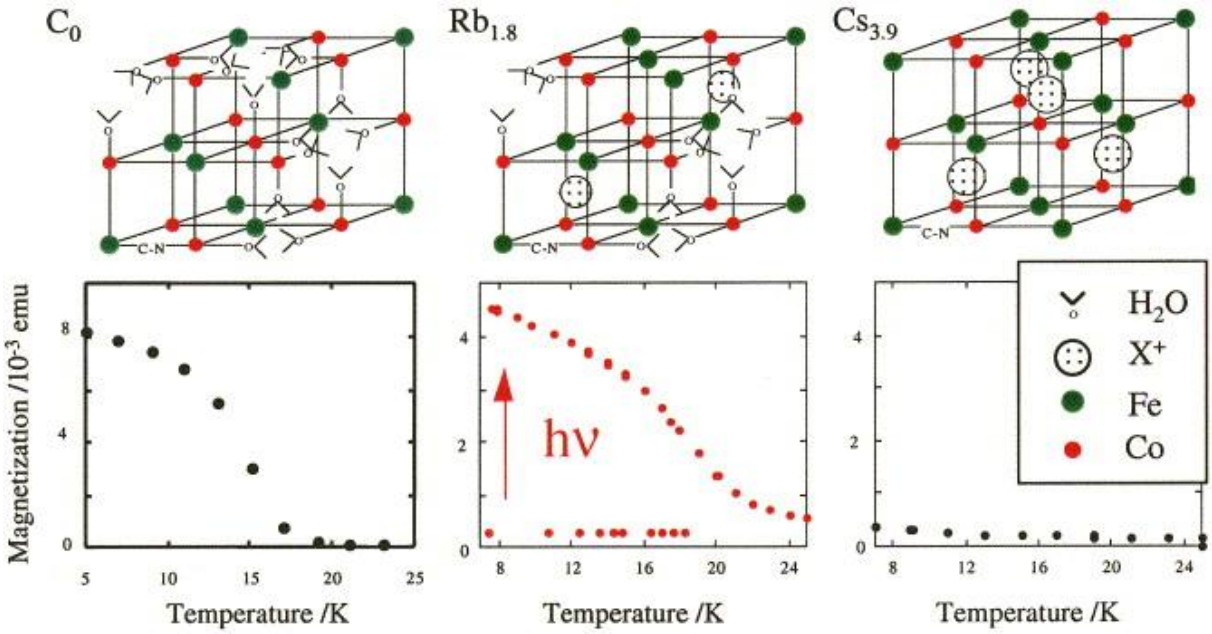


Figure I-8 : Représentation schématique des réseaux d'analogue AxCoFe de différentes compositions sans alcalin (C_0), avec du Rubidium ($Rb_{0,8}$) et de Césium ($Cs_{3,9}$) et les courbes d'aimantation en fonction de la température avant et après irradiation.[25]

D'autre part afin de comprendre le déroulement du processus photomagnétique, des études de spectroscopie d'absorption X aux seuils K et L du Co et du Fe ainsi que de spectroscopie Mössbauer ont été menées et ont mis en évidence des changements structuraux accompagnant le transfert de l'électron.[26-28] Le passage de l'état fondamental Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) diamagnétique vers l'état métastable Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) paramagnétique s'accompagne d'une variation des longueurs de liaisons Co-NC-Fe. L'analyse de la partie EXAFS du spectre

d'absorption X (Extended X-ray Absorption Fine structure) d'analogues de différentes compositions $M_xCo_y[Fe(CN)_6].zH_2O$ (M= Na, K et Rb) a montré que la distance Co-N augmente fortement sous l'effet de la lumière de 1.91 Å à 2.08 Å, la liaison Fe-C restant quasiment invariable (1,91 Å avant irradiation et 1,93 Å après irradiation).[29-31] Ainsi, la caractérisation de la structure par diffraction des rayons X sur poudre en mode dispersif a mis en évidence une dilatation de la maille de la structure cubique à faces centrées de 9,96 Å avant irradiation à 10,28 Å après irradiation.[32] En conclusion, ces analyses ont montré que seuls les atomes de cobalt proches des sites tétraédriques contenant l'alcalin subissent une déformation structurale, qui s'étend ensuite à longue distance par coopérativité.[33]

Les études visant la compréhension du processus photomagnétique ont été orientées suivant deux axes séparés. Alors que le premier tend à dévoiler le mécanisme de la phototransformation sous irradiation, le deuxième cherche à expliquer la formation des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} photoactives avant irradiation.

Dans un premier temps, l'explication de la formation des paires Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) lors de la synthèse de l'analogue CoFe s'est basée sur une hypothèse de variation de champ des ligands de l'ion cobalt. L'environnement moyen de l'ion cobalt est généralement $Co(NC)_{6-x}(OH_2)_x$. Or, par l'insertion d'alcalin, la valeur de x diminue et les molécules H_2O, à champ faible, sont remplacées par des ligands –NC à champ plus fort, ce qui produit une augmentation du paramètre de champ cristallin du Co. Le potentiel redox du couple Co^{III}/Co^{II} devient inferieur à celui du $Fe^{III}(CN)_6/ Fe^{II}(CN)_6$ et le transfert d'électron se produit spontanément Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS)→ Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) expliquant la formation des paires diamagnétiques.[20,28] Des études plus récentes basées sur la détermination, pour la première fois, du paramètre de champ cristallin des ions Co par spectroscopie d'absorption X (XAS) ont permis de mieux progresser dans la compréhension de l'origine des paires diamagnétiques.[34,35] Les mesures ont montré que le paramètre du champ cristallin des ions Co^{II} varie en raison des différentes géométries de l'enchaînement Co^{II}-NC-Fe^{III} alors que celui des ions Co^{III} demeure invariable grâce à sa configuration $t_{2g}^6e_g^0$ hautement stabilisée en symétrie octaédrique *(Fig I-9)*.

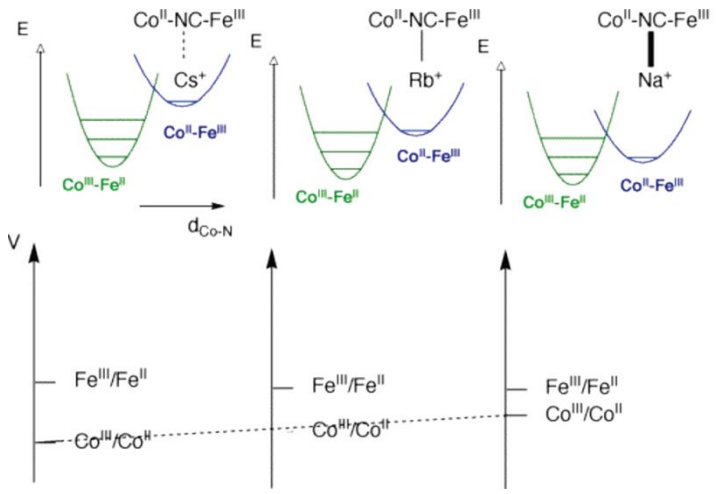


Figure I-9 : Position qualitative des potentiels redox des couples $Co^{III/II}$ et $Fe^{III/II}$ et des énergies des états $Co^{III}Fe^{II}$ et $Co^{II}Fe^{III}$ de l'analogue ACoFe avec A= Na, Rb et Cs[35]

En effet, les auteurs ont éliminé la première hypothèse à la faveur d'une nouvelle explication basée sur une redistribution de densité électronique dans l'enchaînement Co-NC-Fe, *via* le pont cyanure, modifiant ainsi les potentiels redox des espèces lors de la formation du solide.[29]

Le mécanisme a été décrit par deux étapes possibles. Les états électroniques impliqués dans les propriétés de photo-commutation sont illustrés dans la *figure I-10* (cas de l'analogue $Rb_2Co_4[Fe(CN)_6]_{3.3}.11H_2O$.

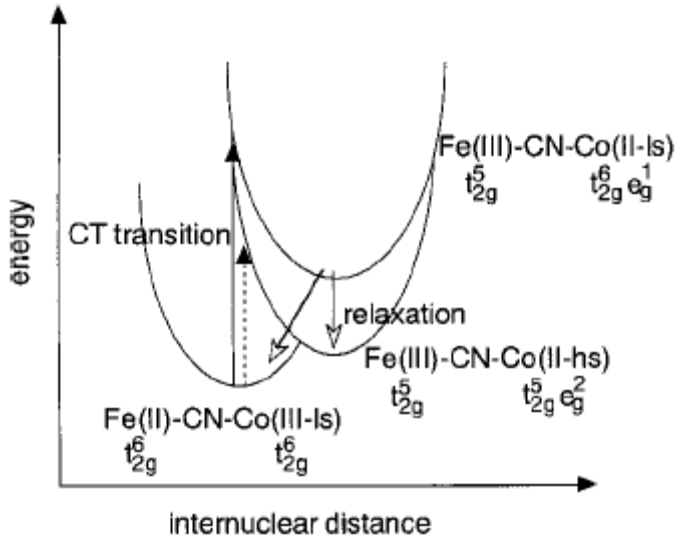


Figure I-10 : Diagramme d'énergie potentielle des états électroniques du paire Co-NC-Fe impliqué dans le processus de photo-excitation

A basse température et sous excitation lumineuse, deux transitions optiques de transfert de charge sont possibles. Le système passe de son état fondamental Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) soit vers l'état excité Co^{II}(BS)-NC-Fe^{III}(BS) de même multiplicité ($\Delta S=0$), soit directement vers

Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) de multiplicité différente. Or cette dernière est une transition spin-interdite, ce qui rend la première transition la plus probable. Ensuite le système relaxe vers l'état métastable (Co^{II}(HS)-Fe^{III}(BS))* de multiplicité différente ($\Delta S=1$), tout en étant accompagné d'un allongement de la liaison Co-ligand (BS→HS). Les deux états fondamental et métastable sont assez proches en énergie, permettant de piéger le composé le plus longtemps possible dans l'état métastable.[28] Enfin, cet état métastable retrouve son état initial par chauffage du composé au-dessus d'une température appelée température de relaxation. Cette température a été démontrée dépendante de la nature de l'alcalin inséré. Elle est d'autant plus importante que la taille de l'alcalin est plus petite. En effet, la valeur la plus élevée, de 135 K, a été reportée pour l'analogue $Na_2Co_4[Fe(CN)_6]_{3,3}.11,3\ H_2O$, alors qu'elle est de 110 K et 95 K pour les analogues $Rb_2Co_4[Fe(CN)_6]_{3,3}.10,7H_2O$ et $Cs_2Co_4[Fe(CN)_6]_{3,3}.11,6H_2O$ respectivement.[35]

En dépit de son aspect spectaculaire, le processus photomagnétique était limité à très basse température. Par ailleurs, des études menées par Shimamoto et al sur une série de l'analogue $Na_xCo_4[Fe(CN)_{8+x/3}].yH_2O$ ont mis en évidence un effet de commutation thermique à des températures plus élevées (relativement proches de l'ambiante).[36-38] La *figure I-11* représente les études magnétiques de l'analogue $Na_{0,34}Co_{1,33}[Fe(CN)_6].4,5H_2O$, montrant une importante augmentation de l'aimantation avec l'ouverture d'un large cycle d'hystérèse thermique.

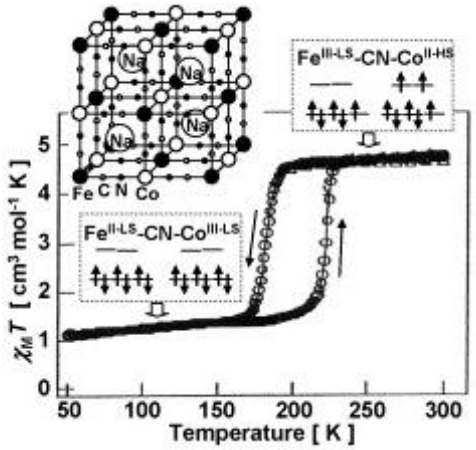


Figure I-11 : Produit $\chi_M T$ en fonction de la température de l'analogue $Na_{0,34}Co_{1,33}[Fe(CN)_6].4,5H_2O$ avant et après irradiation[37]

Les propriétés de commutation des analogues Co-Fe du bleu de Prusse peuvent être également induites par différents stimuli extérieurs tels que la pression[39] ou un courant électrique.[40] Très récemment, Cafun et al. ont reporté un transfert d'électrons photo-induit

sous pression à la température ambiante dans l'analogue $C_xCo_4[Fe(CN)_6]_{8+x/3}.nH_2O$, ayant une faible proportion d'alcalin inséré.[41]

I.1.4. Nanoparticules de l'analogue de bleu de Prusse $A_xCo[Fe(CN)_6]_y$:

Le processus photomagnétique a été largement étudié pour des composés massifs et ce n'est que récemment que des études ont été réalisées sur des nanoparticules. D'une manière générale, l'obtention d'objets de taille nanométrique s'est articulée suivant deux méthodes principales: la méthode *bottom up* qui repose sur la construction des nano-objets par assemblage des atomes ou des molécules et la méthode *top-down* qui consiste à la réduction de la taille du composé massif. Pour la synthèse des nanoparticules de réseaux de coordination, la première méthode semble plus adaptée car elle permet d'obtenir des nanoparticules mieux contrôlées en taille et en forme. Toutefois, des matrices organiques, bio-organiques (surfactant, lipide, protéine etc.) ou inorganique (silice mésoporeuse, zéolite), de polymères ou de micelles ont été utilisés pour confiner la croissance du réseau. Ainsi, la synthèse des nanoparticules de l'analogue $A_xCo[Fe(CN)_6]_y$ s'est inscrite dans ce même contexte.

La réduction de la taille d'un matériau est souvent accompagnée d'un changement de ses propriétés magnétiques. Pour un matériau ferromagnétique, la réduction de la taille aboutit à un blocage de l'aimantation lorsque la taille est inférieure à celle du monodomaine magnétique (comportement superparamagnétique).[42] Pareillement pour les composés photomagnétiques, un comportement de blocage de l'aimantation photo-induite est attendu lorsque la taille passe sous la taille critique monodomaine.

Les premières nanoparticules de l'analogue $A_xCo[Fe(CN)_6]_y$ ont été synthétisées en 2000 par Chow et al.[43] au sein des micelles inverses constituées de poly(oxyéthylene)$_5$-nonyl-phénol-éther (NP5) et de poly(oxyéthylene)$_9$-nonyl-phénol-éther (NP9) dans l'éther de pétrole. Les nanoparticules formées possèdent une taille variant entre 5 et 10 nm, et l'étude des propriétés magnétiques a montré que ces objets, entourés d'une couche de surfactant, possèdent une température de curie de 14 K très proche de celle du massif et un large champ coercitif de 1800 Oe contre 800 Oe pour le composé massif. Pourtant aucune étude n'a été menée pour déterminer si elles sont monodomaines ou multidomaines. L'utilisation d'un autre surfactant, le bis-(2-éthylhexyl sulfosuccinate) noté AOT dans un mélange eau/isooctane, a permis à A.

Mann et al. d'obtenir des nano-objets monodisperses dont la taille peut être bien contrôlée en fonction de la concentration des précurseurs et la concentration en surfactant et eau.[44]

Une synthèse en milieu liquide ionique a été développée par l'équipe de J. Larionova. En effet, des nanoparticules d'hexacyanoferrate de cobalt de 3 nm sont obtenues à partir de l'agent 1-butyl-3-méthylimidazolium tétrafluoroborate. La température de blocage mesurée pour ces particules est de 2,3 K, et l'hystérèse n'a pas été mesurée.[45] Une autre méthode proposée par la même équipe repose sur la stabilisation des nanoparticules au sein des billes d'un polymère biocompatible, le chitosan, dans le méthanol. Cette méthode a conduit à des nanocomposites $Co^{2+}/[Fe(CN)_6]^{3-}$/chitosan d'environ 2 nm.[46]

Bien que les méthodes de préparation de nanoparticules photomagnétiques de CoFe soient nombreuses et variées, la majorité d'entre elles manque d'études détaillées des propriétés magnétiques et photomagnétiques. Parmi le peu d'études, Moore et al. ont reporté un comportement superparamagnétique pour les nano-objets $K_xCo[Fe(CN)_6]_y$, de 8-10 nm, préparés dans une matrice de silice xérogel. Les mesures de susceptibilité magnétique hors-phase ont aboutit à une très faible valeur de τ_0 de 3.10^{-6} s, attestant le comportement superparamagnétique. D'autre part, les mesures photomagnétiques ont montré une augmentation photo-induite de l'aimantation de 9% seulement en raison du faible taux de paires photoactives Co^{III}-NC-Fe^{II}.[47]

Dans une autre étude, des mesures photomagnétiques ont été menées par Frye et al. sur un composé $Rb_{1,8}Co_4[Fe(CN)_6]_{3,2}[PVP]_{220}$ préparée dans le polymère polyvinylpyrrolidone (PVP). Les particules de 10 nm présentent un comportement verre de spin avec T_B de 8 K. Après irradiation, l'aimantation FC augmente de 40 % et le maximum de la ZFC augmente de 8 à 10K.[48] Ainsi, Pajerowski et al ont signalé, sur une série de particules de formule $Rb_xCo[Fe(CN)_6]_y.[PVP]_n$ de différentes tailles, que la réponse photomagnétique est fortement corrélée à la taille *(Fig. I-12)*. Toutefois selon eux, cette réponse n'est plus observée en dessous de 10 nm.[49]

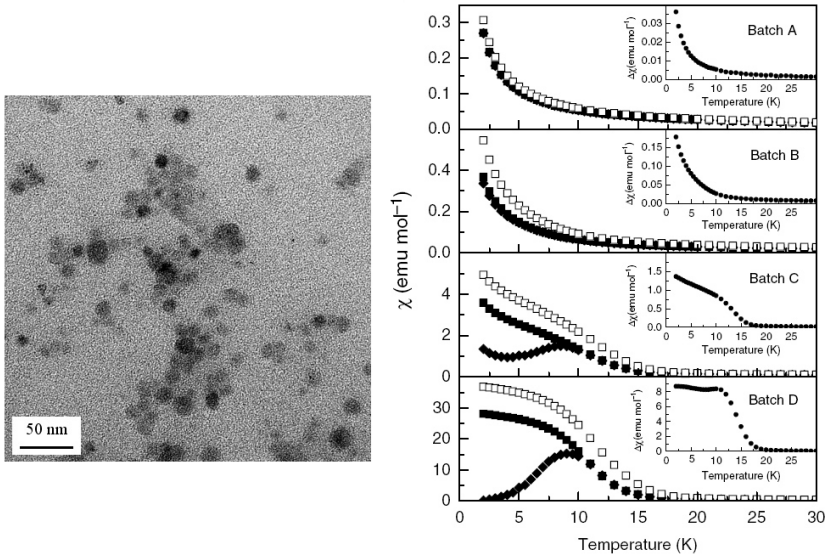


Figure I- 12 : image TEM des nanoparticules $Rb_{0,9}Co_4[Fe(CN)_6]_{2,9}.6,6H_2O$ de 13 nm (gauche) et courbes d'aimantation FC et ZFC avant (●) et après (○) irradiation des particules de différentes tailles : 3.3 nm (batch A), 6.9 nm (batch B), 9.7 nm (batch C) et 13 nm (batch D (droite).

Fornasieri et al. ont récemment décrit la synthèse des nanoparticules de l'analogue RbCoFe par précipitation contrôlée (procédé sol-gel) au sein des nanopores (5nm) d'un monolithe de silice mésoporeuse constitué de tetraméthoxisilane (TMOS) et de Pluronic P123 (poly(éthylène glycol)-block-poly-(propylène glycol)-block-poly(éthylène glycol). Les particules obtenues ont une très petite taille similaire à celle des pores *(Fig. I-13)*.

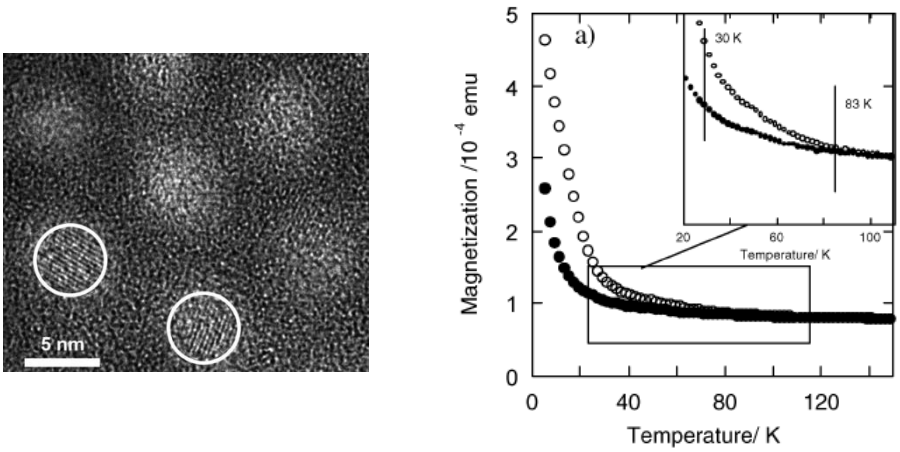


Figure I-13 : Image HRTEM (gauche) et courbe d'aimantation en fonction de la température (droite) de nanoparticules CoFe confinées dans une monolithe de silice

Les mesures photomagnétiques effectuées sur ces objets montrent une augmentation de l'aimantation après irradiation. Bien que cette augmentation soit plus faible que celle observée pour le massif, sa présence met en évidence la persistance de l'effet

photomagnétique à très faible taille. Le phénomène de photo-transformation a été démontré réversible et le système retrouve son état initial par chauffage au dessus de 60 K.[50]

I.2. Agents de contraste pour Imagerie à Résonance Magnétique (IRM):

Les nanomatériaux possèdent des propriétés spécifiques dues à leur taille et qui sont absentes dans le domaine micrométrique et au-delà. Les nanomatériaux sont utilisables dans une large gamme d'applications biomédicales, aussi bien que technologiques, tel que le marquage cellulaire, la délivrance des principes actifs, le traitement de cancers par hyperthermie, et le diagnostique médical etc…[51-53] Cette partie bibliographique sera consacrée aux agents de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique (IRM). Après une brève présentation de cette technique, de son principe et de l'ensemble de mécanismes impliqués dans le phénomène de relaxation, nous exposerons, sans être exhaustif, les principaux composés reportés dans la littérature ainsi que les récentes stratégies adoptées pour améliorer leurs propriétés.

I.2.1. L'imagerie par résonance magnétique :

L'imagerie par résonance magnétique, IRM, est l'une des techniques les plus performantes pour l'imagerie médicale qui fournit des images tridimensionnelles et en coupes avec une très grande précision anatomique (jusqu'à 1mm) et un bon contraste. Cette technique non-invasive, non radioactive et sans effets secondaires connus, est basée sur le phénomène de la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons soumis à un signal radiofréquence (RF). Il s'agit essentiellement de la réponse des protons de l'eau contenus dans l'organisme lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique extérieur et à une excitation électromagnétique. Les premiers développements de l'IRM datent des années 1973. C'est ainsi que les avancées accomplies, à l'époque, dans le domaine de la RMN et du traitement informatique des données ont aboutit à la première image d'un corps humain entier en 1978.[54] L'IRM est devenue une technique majeure dans l'imagerie médicale moderne. Potentiellement, elle est appelée encore à des développements importants.

Découlant du principe de résonance magnétique nucléaire, le magnétisme mesuré en IRM n'est détectable que pour les noyaux possédant un nombre impair de protons. C'est le cas de l'atome d'hydrogène (^{1}H) qui est abandonnement répandu dans le vivant, tant au niveau de l'eau, des liquides organiques que des graisses. Pour bien comprendre le principe de l'IRM, il sera indispensable de présenter un aperçu de la RMN.

I.2.1.1. Principe de la RMN :

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

- En absence d'un champ magnétique statique puissant, les noyaux d'hydrogène possèdent des moments magnétiques individuels orientés au hasard. L'aimantation totale M_0, résultante de la somme de ces moments, est nulle *(Fig. I-14(a))*.

- Après l'application d'un champ magnétique uniforme B_0 dirigé selon l'axe Oz, les moments magnétiques nucléaires s'orientent avec le champ B_0 et décrivent un mouvement de rotation (précession) autour de B_0. Une aimantation résultante M_0 est alors détectée *(fig. I-14(b))*.

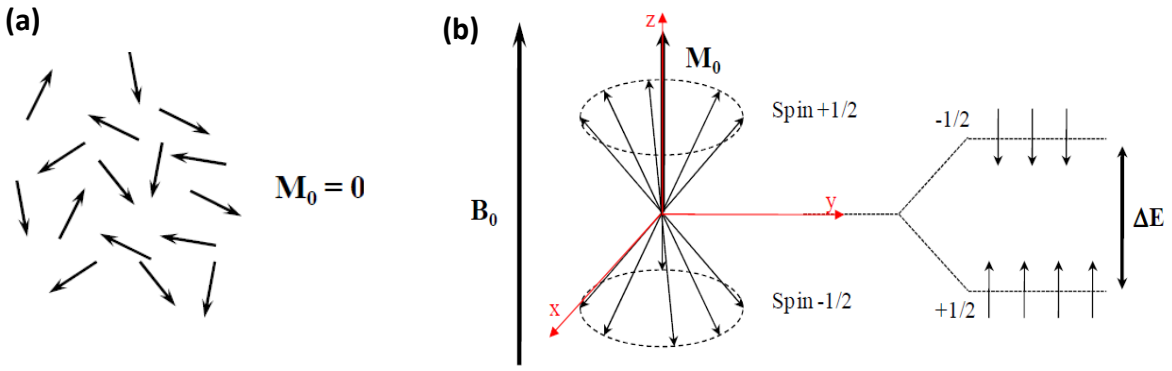


Figure I-14 : (a) Moments magnétiques des noyaux d'atomes d'hydrogène orientés au hasard et dont leur somme donne une aimantation M_0 nulle ; (b) moments magnétiques orientés dans un champ magnétiques B_0 avec une distribution des niveaux d'énergie.

- En appliquant un second champ magnétique B_1 (impulsions radiofréquences 10^6 fois plus faible et perpendiculaire à B_0), les spins basculent dans le plan xy de sorte que la nouvelle aimantation M se retrouve dans le plan xy où elle sera mesurée *(Fig. I-15(a))*.
- Après arrêt des impulsions, l'aimantation M tend à relaxer vers son état d'équilibre suivant l'axe Oz tout en décrivant un mouvement hélicoïdal de rayon décroissant *(Fig. I-15(b))*. Les valeurs des composantes de l'aimantation varient alors en fonction du temps où la composante transversale M_{xy} se déphase et tend à s'annuler alors que la composante longitudinale M_z croît jusqu'à atteindre sa valeur initiale. La décroissance de M_{xy} engendre un courant induit (signal électrique) qui sera capté par la bobine émettrice de B_1. Une fois amplifié, ce signal représente un ensemble de sinusoïdes

amorties en fonction du temps, qui par la transformée de Fourier, représente le spectre RMN final.

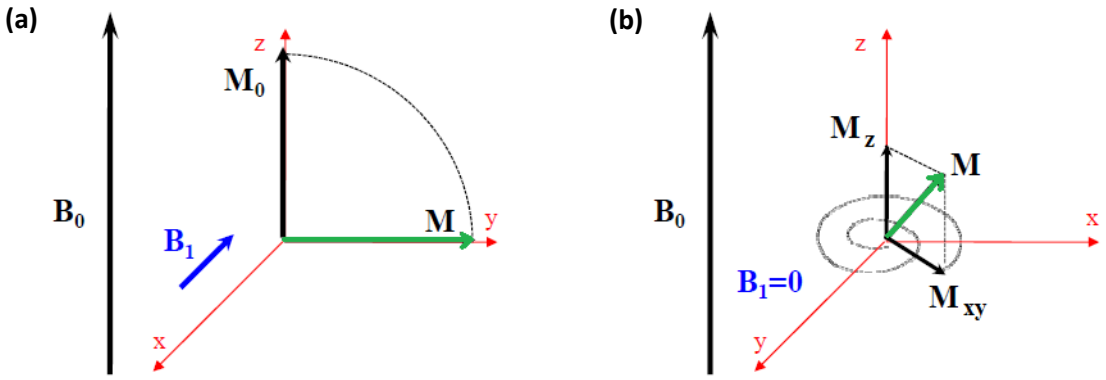


Figure I-15 : (a) Schéma représentatif du déplacement de l'aimantation M_0 en M sous l'application des impulsions radiofréquences B_1. (b) retour de l'aimantation M vers sa position d'équilibre en retrouvant sa composante longitudinale maximale M_z et sa composante transversale M_{xy} nulle

I.2.1.2. Relaxation :

Bien que simultanées, le retour des deux composantes de relaxation M_z et M_{xy} à leurs valeurs initiales sont considérées séparément. On définit le temps de relaxation comme étant le temps mis par chacune des deux composantes pour retourner à sa valeur d'équilibre.

- La relaxation longitudinale, correspondante au retour à l'équilibre de l'aimantation suivant l'axe z, suit une loi exponentielle croissante *(Fig. I-16(a))* décrite par l'expression:

$$M_z(t) = M_0 (1-e^{-t/T1}) \quad \textbf{(1)}$$

Où M_0 correspond à l'aimantation à l'équilibre et T_1 est une constante de temps appelé temps de relaxation longitudinale. L'augmentation de la composante longitudinale est liée à la désexcitation des moments individuels qui tendent à repeupler leur état fondamental tout en émettant une énergie non radiative. Elle dépend de la mobilité des atomes d'hydrogène ou celle des molécules où ils sont engagés. T_1 est d'autant plus court que ces hydrogène sont liés à des molécules volumineuses.

- La relaxation transversale qui correspond à la perte de l'aimantation M_{xy}, suit une loi exponentielle décroissante *(Fig. I-16(b))* décrite par l'expression suivante :

$$M_{xy}(t) = M_0.e^{-t/T2} \quad \textbf{(2)}$$

Avec T_2 le temps de relaxation transversale. Cette décroissance a pour origine la perte de cohérence entre les moments individuels en rotation qu'ils avaient acquis lors de l'application du pulse. Après arrêt du pulse, la fréquence de précession varie alors d'un proton à l'autre ce qui engendre une perte de rotation en phase.

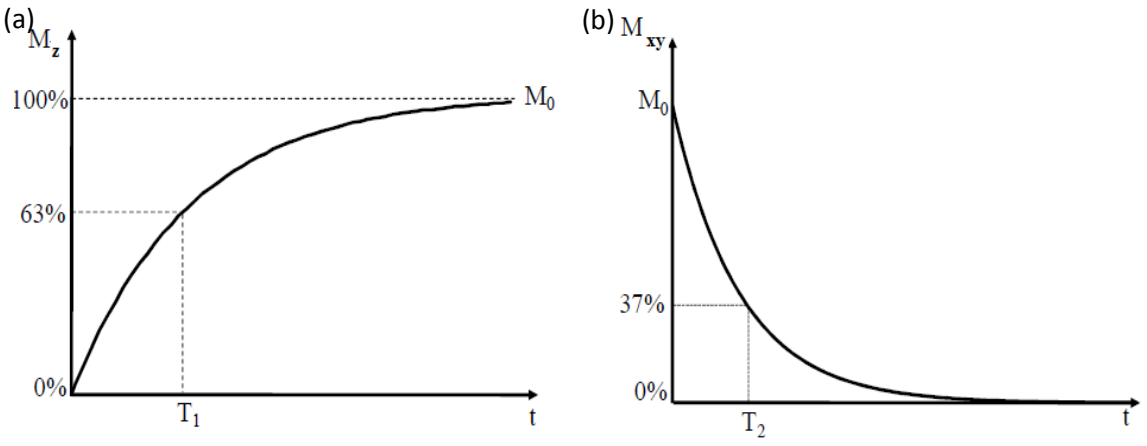


Figure I-16 : (a) Evolution en fonction du temps de l'aimantation longitudinale M_z et (b) de l'aimantation transversale M_{xy} après arrêt de l'impulsion B_1. T_1 et T_2 sont respectivement le temps mis par M_z pour atteindre 63% à sa valeur d'équilibre et le temps mis par M_{xy} pour diminuer jusqu'à 37% de sa valeur maximale sous excitation

Les temps de relaxation T_1 et T_2 dépendent de nombreux paramètres notamment la mobilité, l'environnement moléculaire des protons de l'eau et de certains paramètres diffusionnels tels que la température et la viscosité du milieu. Dans les tissus biologiques, la perte du signal transversal est toujours plus rapide que le retour à l'équilibre de l'aimantation longitudinale. En effet, le temps de relaxation transversale T_2 est plus court que le temps de relaxation longitudinale T_1. C'est ainsi, que la différence entre les deux temps, T_1 et T_2, est à l'origine du contraste intrinsèque permettant de distinguer les différents tissus de leurs éventuelles altérations (tumeurs).

Etant basée sur le temps de relaxation du proton de l'eau qui est le principal constituant des tissus biologiques, l'IRM est alors une technique d'imagerie qui permet une excellente résolution spatiale mais qui n'est pas assez sensible à certaines zones telles que le tractus gastro-intestinal (TGI) ou le cerveau. En effet, les modifications hydriques (faibles) liées à la présence de lésions au sein de l'organisme ne sont pas suffisantes pour la détection de certaines pathologies. Pour accroître la sensibilité du phénomène et améliorer le contraste, il est souvent nécessaire de procéder à de longs temps d'acquisitions. Une autre façon, très efficace d'influencer le signal IRM, s'est reposée sur l'utilisation des espèces magnétiques dites « agents de contraste » susceptibles d'engendrer un champ local, qui peut interagir avec

le moment nucléaire du proton tout en accélérant les relaxations longitudinales et transversales. Cela permet à la fois de renforcer le contraste des tissus anormaux ou œdémateux, possédant une teneur plus élevée en eau que les tissus sains, mais aussi de réduire le temps d'acquisition. Ceci conduit à l'amélioration de la qualité de l'image comme le montre la *figure I-17.*

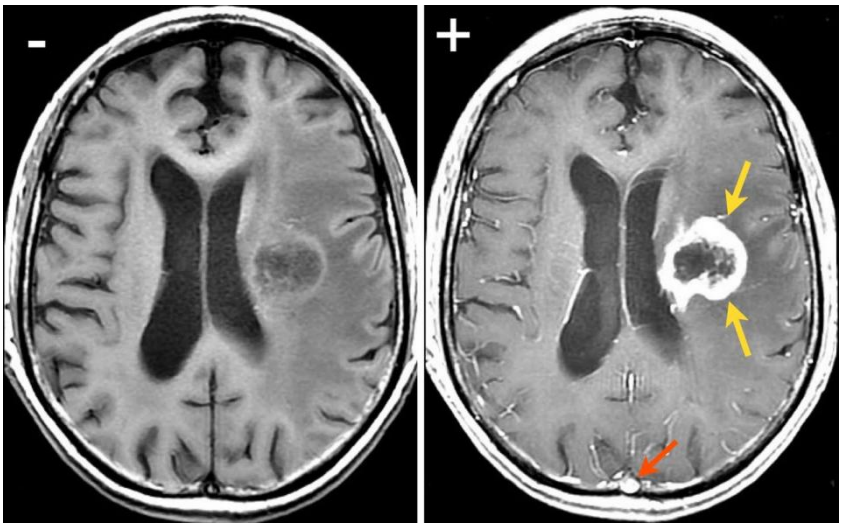


Figure I-17 : Cliché IRM de la sphère cérébrale enregistré sans agent de contraste (-) et avec agent de contraste (+). La flèche rouge représente un vaisseau sanguin normal alors que les flèches jaunes montrent un développement d'une tumeur.

II.2.2. Agents de contraste et théorie de relaxivité nucléaire :

Les agents de contraste sont des édifices magnétiques utilisés pour raccourcir le temps de relaxation des protons afin de renforcer le contraste de l'image. D'une manière générale, ils doivent être solubles dans l'eau, biocompatibles et complètement éliminés de l'organisme par le système rénal. Chimiquement parlant, un agent de contraste idéal devrait contenir des métaux ayant un maximum d'électrons non appariés permettant d'induire un champ local capable de modifier les paramètres intrinsèques des molécules d'eau présentes dans les tissus. Grâce à son spin élevé (7/2), le gadolinium trivalent Gd^{3+}, est l'ion paramagnétique le plus efficace. Ainsi son état fondamental ^8S lui confère un long temps de relaxation électronique et une efficace interaction avec les molécules d'eau. Outre le gadolinium, d'autres cations tels que le Mn(II) et le Fe(III), de spin élevé (S=5/2), sont aussi de bons candidats.

Selon leur mode d'action, ces agents sont classés en deux catégories : les agents-T_1 ou positifs (renforcent le blanc dans l'image) formés essentiellement des chélates de Gd (III) et les agents-T_2 ou négatifs (fournissent des images plus sombres) à base d'oxydes métalliques.

Alors que les « T_1 » altèrent la composante longitudinale de la vitesse de relaxation, les « T_2 » agissent sur la composante transversale. L'efficacité d'un agent de contraste est donnée par sa "relaxivité", grandeur reflétant sa capacité à augmenter les vitesses de relaxations des protons des molécules d'eau environnantes. Actuellement environ 30-40% des tests médicaux d'IRM sont effectués en utilisant des agents de contraste. En effet, dans la recherche à une meilleure sensibilité de l'IRM, la plupart des études tend à concevoir des agents de contraste ayant une meilleure relaxivité et également une moindre toxicité.

Avant de présenter les principaux travaux effectués dans ce domaine, il est bien nécessaire d'introduire la théorie de la relaxivité, de souligner les principaux mécanismes qui y sont impliqués et de discuter les paramètres moléculaires à optimiser pour augmenter l'efficacité des ces agents.

II.2.2.1. Théorie de relaxation nucléaire :

Tout comme les protons, les électrons possèdent un moment magnétique μ, le spin électronique. A l'application d'un champ magnétique, les moments magnétiques des électrons non appariés, dans les espèces paramagnétiques, s'orientent dans le même sens du champ en engendrant une aimantation non nulle.
Placés au voisinage des centres paramagnétiques, les moments magnétiques nucléaires des protons de l'eau présents dans le milieu sont alors influencés par les moments magnétiques électroniques *via* des interactions dipolaires, ce qui entraîne la diminution de leur temps de relaxation longitudinale et transversale. La première formulation mathématique de ces temps a été reportée dans le cadre de la théorie générale de relaxation fondée par Solomon, Bloembergen et Morgan.[55,56] Dans la suite, cette théorie est appliquée aux complexes de Gd^{3+}.

La vitesse de relaxation longitudinale ou transversale d'un spin (*i*) au voisinage d'une espèce paramagnétique, $(1/T_i)_{obs,}$ est exprimé par la somme de la contribution diamagnétique $(1/T_i)_{dia}$ et paramagnétique $(1/T_i)_{para}$, telles que :

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{dia} + \left(\frac{1}{T_i}\right)_{para} \qquad (i = 1, 2) \tag{3}$$

Les indices '*dia*' et '*para*' désignent les adjectifs diamagnétique et paramagnétique respectivement. La vitesse de relaxation diamagnétique $(1/T_i)_{dia}$ correspond à la relaxation

intrinsèque des protons de l'eau pure, pour un champ et une température donnés, le tout en absence d'un centre paramagnétique.

L'interaction entre le moment magnétique des électrons non appariés du centre métallique et du moment nucléaire du proton, à l'origine de la vitesse de relaxation paramagnétique $(1/T_i)_{para}$, étant proportionnelle à la concentration en espèces paramagnétiques, l'équation **(3)** devient donc :

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{dia} + r_i[M] \quad (i = 1, 2) \qquad \textbf{(4)}$$

Avec r_i le coefficient de proportionnalité appelé « relaxivité », exprimé généralement en $mM^{-1}.s^{-1}$, et qui désigne l'efficacité de l'espèce paramagnétique. Un agent de contraste est alors d'autant plus efficace que la valeur de la relaxivité est élevée.

La vitesse de relaxation des protons de l'eau est dominée par le champ magnétique local crée au voisinage du centre paramagnétique *via* un couplage dipolaire ente le spin nucléaire et le spin électronique. Ce champ diminue lorsque la distance séparant les deux spins devient plus grande. C'est ainsi que toute interaction chimique permettant de diminuer cette distance conduit à l'augmentation de vitesse de relaxation, autrement dit l'efficacité d'un agent de contraste. Ces interactions dipolaires sont traditionnellement décrites suivant deux modes :

- La relaxation dans la sphère interne, due à des interactions à courte portée avec les protons de molécules d'eau directement liées au métal. Ces molécules s'échangent en permanence avec celles libres dans le milieu avoisinant.
- La relaxation dans la sphère externe, due à des interactions à longue portée avec les protons de molécules d'eau non liées; la diffusion libre de ces dernières au voisinage du complexe engendre des fluctuations du champ magnétique local ressenti par les protons. Par ailleurs, les molécules d'eau coordinnées en seconde sphère (non liées directement au centre métallique mais associées à travers des liaisons d'hydrogène) peuvent également s'échanger avec les molécules d'eau libres et assister au processus de relaxation.

Ces deux contributions (de la sphère interne et externe) permettent de séparer l'effet des interactions intramoléculaires de l'effet des interactions intermoléculaires. Cette distinction est également faite pour pouvoir corréler les vitesses de relaxation observées aux théories

(5)

connues. La relaxation paramagnétique, de même que la relaxivité associée, peuvent donc s'écrire ainsi :

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_{para} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{sphère\ interne} + \left(\frac{1}{T_i}\right)_{sphère\ externe} \quad (i = 1,2)$$

$$\boldsymbol{r_i = r_i^{sphère\ interne} + r_i^{sphère\ externe}} \quad \boldsymbol{(i = 1, 2)} \qquad \textbf{(6)}$$

D'une manière générale, les mécanismes de relaxation de sphère interne et externe contribuent similairement à la relaxation totale observée pour les protons. La contribution de la sphère interne pourrait être considérablement améliorée contrairement à celle de la sphère externe difficilement modifiable. En effet, les améliorations majeures des agents de contraste cherchent à augmenter la contribution de la sphère interne. D'autre part, l'augmentation du contraste d'une image IRM est l'un des grands défis recherchés, pour cette raison nous nous intéresserons particulièrement, par la suite, à la vitesse de relaxation longitudinale $1/T_1$.

I.2.2.1.1. Relaxation de la sphère interne :

La contribution de la sphère interne à la relaxation des protons résulte de l'échange de la molécule d'eau coordonnée directement au centre paramagnétique avec le solvant. D'après la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan (SBM), cette contribution qui est fonction de plusieurs temps caractéristiques est donnée par l'équation suivante :

$$\boldsymbol{\frac{1}{T_1^{s1}} = \frac{qP_m}{T_{1m}+\tau_m}} \qquad \textbf{(7)}$$

Où P_m est la fraction molaire de molécules d'eau coordinées au centre métallique, q le nombre de molécules d'eau coordinées, T_{1m} le temps de relaxation longitudinale des protons de l'eau liée (en absence d'échange) et τ_m le temps moyen de résidence de la molécule d'eau dans la 1ère sphère de coordination (soit l'inverse de la constante d'échange K_{ex}^{-1}).

La théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan a décrit la relaxation des protons T_{1m} suivant deux mécanismes : le mécanisme scalaire *SC* (ou de contact), qui correspond à l'interaction entre la densité électronique et la densité nucléaire à l'emplacement du noyau *via* les liaisons, et le mécanisme dipôle-dipôle *DD* (ou de pseudo-contact), qui correspond à l'interaction électron-proton en dehors du noyau, d'où :

$$\frac{1}{T_{1m}} = \frac{1}{T_1^{DD}} + \frac{1}{T1_1^{SC}} \quad \textbf{(8)}$$

La contribution scalaire et dipôle-dipôle sont données par les équations (9) et (10) respectivement :

$$\frac{1}{T_1^{SC}} = \frac{2}{3} S(S+1) \left(\frac{A}{h}\right)^2 \left[\frac{\tau_{e2}}{(1+\omega_s^2 \tau_{e2}^2)}\right] \quad \textbf{(9)}$$

$$\frac{1}{T_1^{DD}} = \frac{2}{15} \frac{\gamma_H^2 g^2 \mu_B^2 S(S+1)}{r^6} \left[\frac{3\tau_{c1}}{(1+\omega_H^2 \tau_{c1}^2)} + \frac{7\tau_{c2}}{(1+\omega_s^2 \tau_{c2}^2)}\right] \quad \textbf{(10)}$$

Concernant la contribution scalaire, la constante de couplage hyperfine (A / h) entre l'électron du métal et le proton de la molécule d'eau est assez faible pour la majorité des agents de contraste. En effet, sa contribution à la vitesse de relaxivité des protons T_{1m} n'est pas efficace et peut être négligée par la suite. La relaxation des protons coordinnés est donc gouvernée principalement par la contribution dipôle-dipôle *(éq. (11)),* où (γ_I) est le rapport gyromagnétique nucléaire du proton, (*g)* le facteur de Landé de l'électron libre, (μ_B*)* le magnéton de Bohr, (*r)* distance entre spin électronique et spin nucléaire, (ω_I) et (ω_S) fréquences de Lamor de l'électron et du proton respectivement (ω_S=658 ω_I) et τ_{c1} le temps de corrélation relatif à la dynamique du couplage proton-électron. Ce dernier est exprimé tel que :

$$\frac{1}{\tau_{c1}} = \frac{1}{T_{1e}} + \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{\tau_R} \quad \textbf{(11)}$$

$$\frac{1}{\tau_{e1}} = \frac{1}{T_{1e}} + \frac{1}{\tau_m} \quad \textbf{(12)}$$

Ces approximations montrent que la relaxation nucléaire du proton peut être donc modulée en fonction de trois temps caractéristiques : le temps de relaxation électronique du centre paramagnétique (T_{1e}), le temps de résidence des molécules d'eau dans la première sphère de coordination (τ_m) et le temps de corrélation rotationnelle du complexe (τ_R). D'une manière générale, la relaxivité est gouvernée par le temps le plus court parmi ces trois. Elle est d'autant plus importante que ce dernier est plus long tout en restant plus court que les deux autres. Ceci aboutit à trois cas limites:[57]

- $T_{1e} << \tau_m$ et τ_R : la relaxation du proton est alors due à la relaxation du moment magnétique de l'électron, par l'intermédiaire du champ fluctuant qu'il génère.
- $\tau_m << T_{1e}$ et τ_R : l'échange entre la molécule d'eau de sphère interne et le solvant crée un champ électronique local, ressenti par le proton et aboutissant à sa relaxation.
- $\tau_R << T_{1e}$ et τ_m : la rotation de l'édifice, beaucoup plus rapide que la relaxation électronique, mène le noyau à ressentir le champ électronique fluctuant et se relaxer par la suite.

L'ensemble de ces équations, constituant la théorie SBM, montre que la relaxivité de sphère interne est influencée par plusieurs facteurs *(Fig. I-18),* à savoir :

- Le nombre d'hydratation (*q*)
- La distance séparant le spin électronique du métal du spin nucléaire *(r)*
- La vitesse d'échange $K_{ex}=1/\tau_m$ des molécules d'eau coordinnées avec le solvant
- Le temps de corrélation rotationnelle du complexe τ_R
- Le temps de relaxation électronique T_{ie}

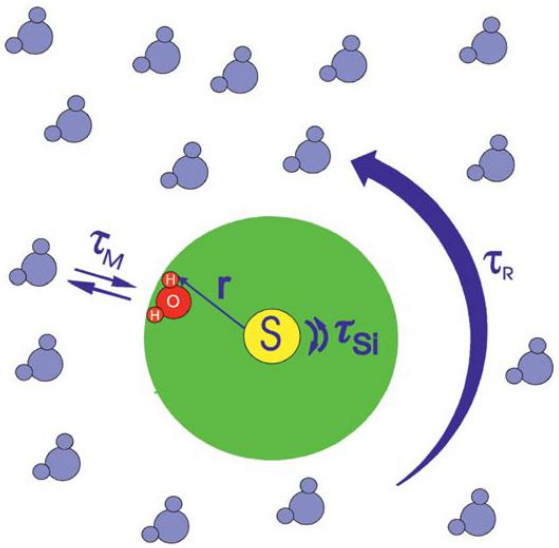


Figure I- 18 : Schéma représentatif du mécanisme de la sphère interne d'un complexe de contraste avec les paramètres dynamiques (temps de corrélation rotationnel τ_R , temps d'échange de la molécule d'eau coordonnée τ_M , temps de relaxation électronique du métal τ_{Si} et la distance *r*, agissant sur la relaxivité)

La modification de ces différents paramètres, *via* des interactions supramoléculaires, est la clé principale pour une optimisation de la relaxivité. Cette partie sera discutée plus précisément par la suite.

I.2.2.1.2. Relaxivité de la seconde et la sphère externe :

Outre celles de la sphère interne, les molécules d'eau non liées directement au métal peuvent fournir un mécanisme adjoint à la relaxation paramagnétique, tout en augmentant la relaxivité de l'agent de contraste.[58,59] Ces molécules sont localisées généralement dans la seconde et/ou la sphère externe de coordination.

La contribution de la seconde sphère est calculée par l'application de la théorie SMB, tout comme la sphère interne, en ajustant certains termes tel que la vitesse d'échange τ'_M, le nombre de molécules d'eau *q'* et la distance *r' (Fig. I-19).* Bien qu'elle soit non négligeable, cette contribution n'est pas toujours facile à quantifier car le nombre de molécules d'eau autour de l'espèce paramagnétique et la distance métal-proton (*r*) ne sont pas exactement connus et le temps de résidence τ_M est très court.

Par ailleurs, la contribution de sphère externe est essentiellement considérée dans le cas d'absence de molécules d'eau dans la première sphère de coordination de l'espèce paramagnétique. Elle résulte des interactions dipolaires entre le spin nucléaire et le spin électronique des molécules d'eau en diffusion à proximité du centre paramagnétique.

Le temps de relaxation de la sphère externe T_1^{OS} est simulé par la théorie de Hwang and Freed,[60] tel que :

$$\frac{1}{T_1^{OS}} = \mathbf{C}[3\mathbf{j}(\boldsymbol{\omega}_\mathbf{H}) + 7\mathbf{j}(\boldsymbol{\omega}_\mathbf{s})] \quad \textbf{(13)}$$

$$\mathbf{C} = \left(\frac{32\pi}{405}\right)\gamma_H^2 g^2 \mu_B^2 (S+1)\frac{N_A M}{1000\, aD} \quad \textbf{(14)}$$

$$j(\omega_j) = R_e\left[\frac{1+\frac{1}{4}z_j}{1+z_j+\frac{4}{9}z_j^2+\frac{1}{9}z_j^3}\right] \quad \textbf{(15)}$$

$$\text{tel que } z_j = \sqrt{i\omega\frac{d^2}{D}+\frac{d}{DT_{1e}}} \qquad j = 1,2 \quad \textbf{(16)}$$

où *M* est la concentration en espèces paramagnétiques en mM, N_A le nombre d'Avogadro, *J(ω)* la densité spectrale correspondante à la transformée de Fourier des fonctions corrélation temporelle associées à la relaxation électronique, *d* distance minimale d'approche entre le

centre paramagnétique et le proton d'une molécule d'eau libre et *D* le coefficient de diffusion relative de la molécule d'eau et l'espèce paramagnétique ($D=D_I + D_S$).

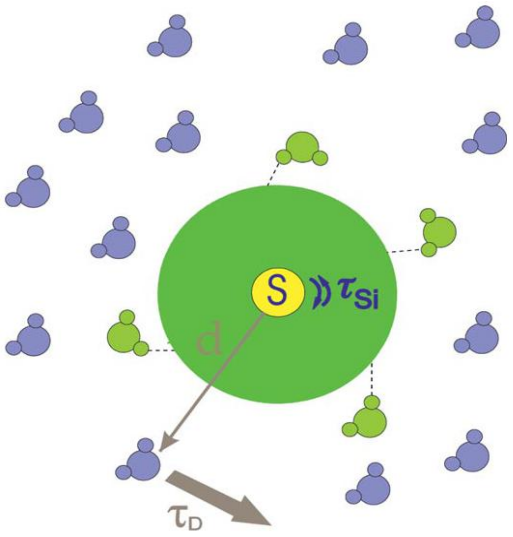


Figure I-19 : Schéma représentatif du mécanisme de la sphère interne

A champs magnétiques d'intérêt, la contribution de la sphère externe dépend essentiellement de la diffusion relative de l'espèce paramagnétique et des molécules d'eau ainsi que de la distance les séparant.

La contribution de sphère externe à la relaxivité totale est relativement non négligeable (de l'ordre de 2 à 3 $mM^{-1}.s^{-1}$, à 20 MHz et 25°C, pour des complexe de Gd^{3+}).[59]

I.2.3. Optimisation de la relaxivité des agents de contraste

I.2.3.1. Paramètres influençant le mécanisme de sphère interne

Comparées aux valeurs théoriques de relaxivité, celles obtenues pour les agents de contraste commerciaux sont relativement faibles. Or, nous avons vu précédemment que la relaxavité de sphère interne est fonction de plusieurs paramètres physiques et chimiques (paragraphe I.2.2.1.1). En effet, la conception des agents de contraste de meilleure relaxivité repose sur l'optimisation de ces paramètres. Ce paragraphe vise à présenter brièvement chacun de ces paramètres et met l'accent sur son influence sur le phénomène de relaxation des protons afin d'améliorer l'efficacité des agents paramagnétiques et de minimiser la dose efficace à introduire dans l'organisme.

- le nombre d'hydratation (q) :

Comme la relaxivité de la sphère interne est linéairement proportionnelle au nombre des molécules d'eau directement liées au centre paramagnétique (q) *(éq. (8)),* la poly-hydratation de l'édifice paramagnétique renforcerait davantage la relaxivité d'un agent de contraste donné.[61] Le degré d'hydratation d'un complexe de Gd (III) dépend de la denticité du ligand chélate. En modifiant la denticité du ligand, il est alors envisageable d'augmenter le nombre de molécules d'eau de la sphère interne et par conséquence l'efficacité du complexe. Cependant, une diminution de la denticité du chélate pourrait s'accompagner d'une perte de la stabilité thermodynamique et/ou cinétique du complexe, ce qui augmenterait sa toxicité biologique. De plus, dans de telles structures poly-hydratées, la possibilité d'échange des molécules d'eau par les anions endogènes (carbonates, phosphates, citrates, etc.) est plus grande, consistant à une chute de la relaxivité. Malgré ces risques, de nombreuses structures de chélates de Gadolinium bis- et tris-hydratés ont été développées, tout en présentant des valeurs de relaxivité élevées et une stabilité particulièrement intéressantes.[62-66]

- la distance métal-proton de l'eau (r) :

La relaxivité de la sphère interne est fonction de la distance séparant le proton de la molécule d'eau du centre métallique $(1/r_{M\text{-}H})^6$ *(éq. 10).* Ainsi, une faible variation de ce paramètre aurait un effet significatif sur la valeur de la relaxivité de sphère interne. Un faible raccourcissement de 0.1 Å de la valeur de $r_{M\text{-}H}$ conduit à une augmentation de 20 % de la relaxivité.
Bien qu'elle soit difficile à maîtriser, une possibilité de diminuer la distance métal-proton consiste à diminuer l'angle d'inclinaison de plan de la molécule par rapport à l'axe métal-oxygène, en générant de fortes liaisons d'hydrogènes entre la molécule d'eau et le groupement latéral du chélate. Des mesures ENDOR (Electron-Nuclear Double Resonance) effectuées sur une série de complexes à base de Gd^{3+} ont montré que la distance $r_{M\text{-}H}$ est très uniforme (3,1 ± 0,1 Å) indépendamment de la nature du ligand.[67,68] D'ailleurs, les études cherchant à optimiser ce paramètre difficile à maîtriser expérimentalement sont très rares.

- Echange de la molécule d'eau de la sphère interne ($K_{ex} = 1/\tau_m$) :

Un des processus clef qui apporte une importance particulière à la relaxivité est l'échange entre les molécules d'eau de la sphère interne et celles du solvant. La vitesse d'échange étant définie comme l'inverse de temps de résidence de la molécule d'eau dans la première sphère de coordination τ_m. Plus l'échange est rapide (τ_m plus faible), plus le contact entre le spin

nucléaire du ^{1}H et le spin électronique est court, accélérant la relaxation des protons et permettant de transmettre cet effet, induit par le centre métallique, vers les molécules du solvant. La vitesse d'échange de la molécule d'eau peut être estimée par RMN de l'^{17}O.[69] Le temps de résidence optimale varie entre 10 et 100 ns ; il dépend fortement de plusieurs paramètres tels que la force du champ magnétique, le temps de corrélation rotationnelle τ_R et le temps de relaxation électronique T_{ie}.[70]

La vitesse d'échange de la molécule d'eau a été examinée pour une large gamme de complexe de Gd^{3+}. Pour les chélates de Gd^{3+} à usage clinique, il a été démontré que cette vitesse est inférieure d'environ deux ordres de grandeur à celle de l'ion hydraté $Gd(H_2O)_8^{3+}$. Ces observations résultent de la différence du mécanisme d'échange des molécules d'eau, dissociatif dans le premier cas et associatif dans le deuxième.[71] De nombreux travaux ont été effectués dans le but d'améliorer la relaxivité des protons, par accélération de l'échange de la molécule d'eau et qui reposent sur la conception des nouvelles structures chélatantes augmentant l'encombrement stérique autour de la première sphère de l'eau.[72]

- Temps de relaxation électronique T_{ie} :

La relaxation du spin électronique est gouvernée par un mécanisme ZFS (Zero-Field Splitting). Ce dernier est lié à la modulation temporelle de la levée de dégénérescence des niveaux électroniques du Gd(III) causée par la rotation brownienne et transitoire du champ du ligand. La description théorique complète de ce mécanisme étant complexe et limitée par plusieurs paramètres tels que la force du champ magnétique et la vitesse de rotation. En effet, la contribution de temps de relaxation électronique, T_{ie}, n'est significative qu'à faible champ (en dessous de 0,23 T).[73] D'une manière générale, plus lente est la relaxation électronique, plus grande est la relaxivité. Ce paramètre est néanmoins difficile à contrôler et une modification rationnelle de la relaxation du spin électronique n'a jamais été atteinte.

- Temps de corrélation rotationnelle τ_R :

Un des paramètres les plus simples à optimiser, dans l'objectif d'augmenter la relaxivité des protons, est le temps de corrélation rotationnel. La théorie de relaxation prédit que la relaxivité est d'autant plus élevée que le temps de corrélation rotationnelle est long (éq. 8 et 9).[74] La *figure I-20* représente le profil de la relaxivité r_1 des complexes de polyaminocarboxylate de Gd(III) en fonction de la fréquence de Lamor, à différentes valeurs de τ_R. Pour des valeurs de champ couramment utilisées en milieu clinique entre 10 et 130

MHz (0,2-3T), un temps de corrélation rotationnel supérieur à 1 ns garantit une augmentation significative de la relaxivité. A noter qu'au delà de 10 ns, ce temps n'aurait plus d'effet.

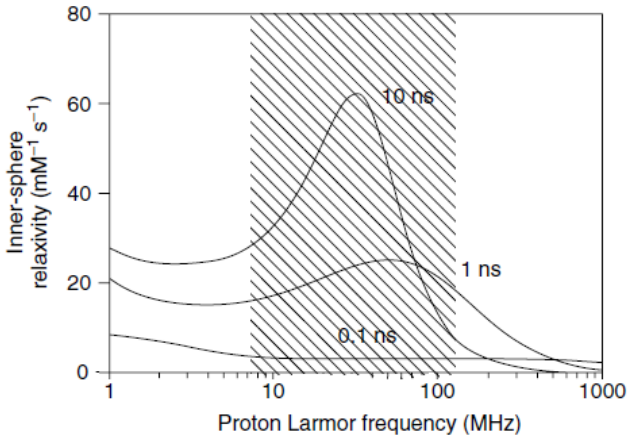


Figure I-20: Relaxivité de sphère interne en fonction de la fréquence de Lamor à différents temps de corrélation rotationnelle τ_R simulée par la théorie SBM

Or, pour un complexe donné de faible masse molaire, la relaxivité est limitée par sa rotation rapide. C'est ainsi que réduire la mobilité de l'agent, par augmentation de sa masse molaire, est le défi majeur auquel les chimistes ont été confrontés pendant les dernières vingt cinq années pour améliorer l'efficacité des agents de contraste. Il existe trois stratégies essentielles à considérer pour ralentir le mouvement de l'édifice paramagnétique *in vivo*, à savoir : *(i)* la modification de la structure du ligand chélatant pour atteindre une masse molaire importante, *(ii)* l'incorporation par liaison covalente de petits complexes dans des substrats macromoléculaires biocompatibles tels que des protéines, polysaccharides, liposomes et *(iii)* élaboration des nanoparticules contenant des ions paramagnétiques. Ceci permet d'optimiser la relaxivité de l'édifice mais également d'assembler des centaines et milliers de centres paramagnétiques au sein d'un seul objet. Ces différentes approches seront discutées par la suite.

I.2.3.2. Agents de contrastes T_1 commerciaux :

Bien qu'ils améliorent la relaxation des protons des molécules d'eau, les cations métalliques utilisés en tant qu'agents de contraste sont toxiques. Leur présence sous forme libre dans l'organisme pourrait être à l'origine de nombreuses complications. A titre exemple, les ions de Gd^{3+} ont tendance à former des complexes hydroxo insolubles à pH physiologique et peuvent s'accumuler dans le foie, les os, et les ganglions lymphatiques. D'autre part, du fait de son rayon atomique très proche de celui du calcium (107,8 pm pour Gd^{3+} contre 114 pm

pour le Ca^{2+}), le gadolinium peut interférer avec les processus physiologiques calcium-dépendant tout en inhibant la contractilité myocardique, la coagulation et la neurotransmission etc.[75]

Une solution pour éviter cette toxicité consiste à immobiliser ces ions au sein de ligands chélates, linéaires ou cycliques, pour former des complexes non toxiques, inertes et stables dans l'organisme. La découverte de l'aptitude des structures polyaminocarboxylates à former des chélates stables thermodynamiquement et cinétiquement avec les ions Gd(III),[74] a ouvert la voie au développement de la chimie des agents de contraste paramagnétiques et en fin de compte de la mise en marché de nombreux produits de différentes architectures et des valeurs de relaxivité suffisantes pour améliorer le contraste des images IRM. Actuellement, les agents à base de Gd(III) représentent 90% de l'ensemble des produits de contraste T_1 utilisés en diagnostic clinique. Et parmi les nombreuses architectures des ligands, neuf chélates de Gd(III) sont seulement autorisés pour l'injection dans l'organisme (*Fig. I-21 et Tab. I-1*). [76]

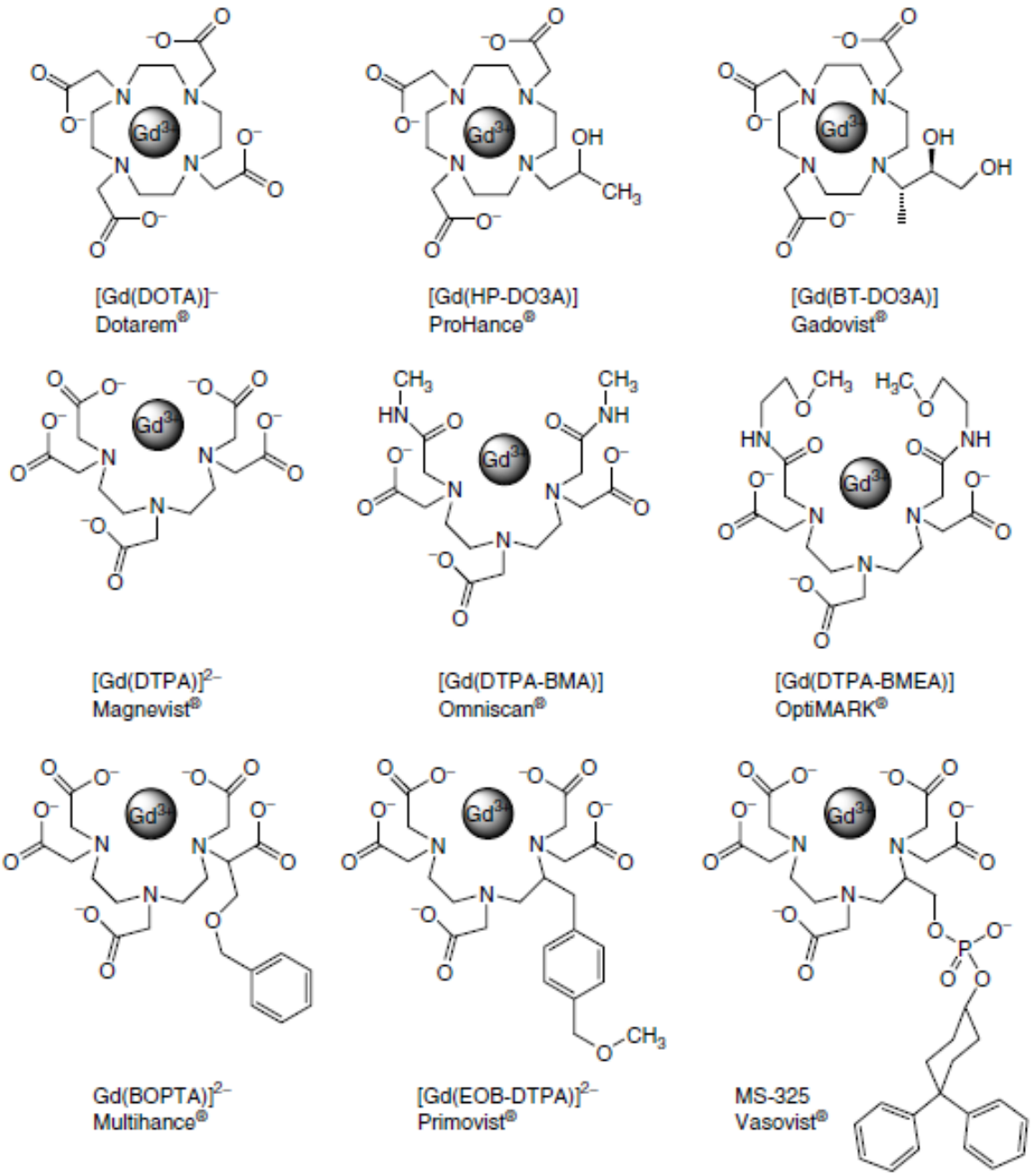


Figure I-21 : Agents de contraste T_1 à base de Gd(III) utilisés cliniquement[76]

Nom Commercial	**Relaxivité r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)**
Magnevist®	4,3
Dotarem®	4,2
ProHance®	4,4
Omniscan®	4,6
Gadovist®	5,3
MultiHance®	6,7
OptiMARK®	5,2
Primovist®	7,3
Vasovist®	19

Tableau I-1 : Relaxivité des principaux agents de contraste commerciaux à base de gadolinium mesuré à 20MHz

Cependant, les chélates à base de Mn(II) et de Fe(III) existent très peu et les études destinées au développement de tels produits sont rares comparé au gadolinium, à cause de la faible relaxivité qu'ils présentent. A ce jour, il n'existe qu'un seul agent de contraste T_1 de Mn(II) autorisé pour l'usage clinique, Teslascan ® Mn^{II}DPDP, ayant une relaxivité longitudinale comparable aux complexes de Gd^{III} (r_1 = 2,8 $mM^{-1}.s^{-1}$). Aucun chélate à base de Fe(III) n'a pas été encore approuvé.

Les exemples d'agents de contraste listés dans la littérature sont très nombreux et largement variés. Dans ce qui suit, nous nous intéresserons aux agents de contraste paramagnétiques et aux principales stratégies développées pour renforcer leur efficacité.

I.2.3.3.Vers des nouvelles générations des agents de contraste :

Comme déjà mentionné ci-dessus, les premières générations d'agents de contraste commercialisés sont des petites molécules de faible masse molaire. Ces dernières souffrent essentiellement de certains inconvénients tels qu'une non-spécificité, un faible temps de rétention dans le sang et une faible relaxivité. Depuis, la majorité des études focalisent sur le développement de nouvelles architectures d'agents de contraste de meilleure relaxivité.
Or à la recherche des stratégies d'amplification des signaux, il a été observé que la rotation dynamique est le facteur principal qui contrôle l'efficacité des chélates de Gd(III) de faible masse molaire. Les nanoparticules du fait de leur taille permettent de ralentir la mobilité des

complexes paramagnétiques, elles sont capables d'intégrer une concentration élevée de centres métalliques au sein de leurs structures aussi bien qu'à la surface. D'autre part, la taille et la surface des nanoparticules sont facilement ajustables pour un ciblage spécifique des tissus. A cet effet, différentes approches ont été développées allant d'un couplage covalent de macromolécules naturelles à des polymères, dendrimères, liposomes, polysaccharides et zéolithes etc…, pour l'élaboration de nanomatériaux contenant des ions paramagnétiques. Une classification par taille de ces différentes structures est représentée dans la *figure I-22*.

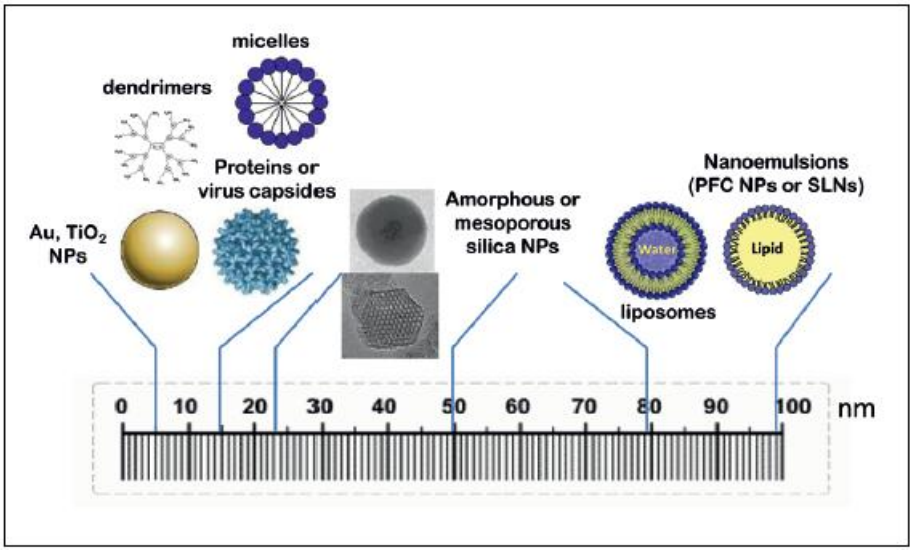


Figure I-22 : Agents de contraste macromoléculaires et nanométriques à base de Gd(III) classés suivant leur taille.

Une conception soigneuse de ces structures, de leur composition et leur chimie de surface est essentielle pour obtenir les propriétés recherchées, précisément un contraste élevé, une grande stabilité chimique, un ciblage spécifique et/ou multi-modalité. Toutefois de nombreuses revues concernant la préparation, les propriétés et les applications d'agents de contraste nanométriques ont été publiées [76-80]

Il s'agit dans ce paragraphe de mettre l'accent, sans être exhaustif, sur les principaux travaux effectués dans le but d'élaborer de nouvelles générations d'agents de contraste à relaxivité élevée. Ceux-ci concernent particulièrement les ions de Gd (III), de meilleure efficacité, mais aussi les ions Mn(II) et Fe(III).

I.2.3.3.1. Agents de contraste à base de Gd(III):

a- Augmentation de la masse molaire des chélates : Adduits macromoléculaires

Depuis leur découverte, les travaux se sont concentrés sur l'amélioration des propriétés des complexes de Gd(III), notamment Gd-DTPA et Gd-DOTA. L'une des premières tentatives pour augmenter la masse molaire, par augmentation de la taille, repose sur le greffage direct par liaison covalente d'une macromolécule sur l'agent de petite taille préalablement fonctionnalisé. Différents exemples ont été obtenus par des réactions de polymérisation du Gd-DTPA dianhydre avec des polymères synthétiques linéaires tels que la cystamine[81] et la L-cystine.[82] La relaxivité dans ces macromolécules varie en fonction de la masse molaire, qui dépend-elle même de la longueur de la chaîne. Les valeurs de relaxivité sont généralement autour de 10 $mM^{-1}.s^{-1}$.

Pour des raisons de faible greffage des chélates de Gd(III), cette méthode a été rapidement délaissée vers l'association des chélates à des protéines et polymères « Garo » naturels *(Fig I-23)* tel que l'albumine,[83] les polysuccinimides,[84] les polysaccharides[85] ou les polyacides-aminés.[86]

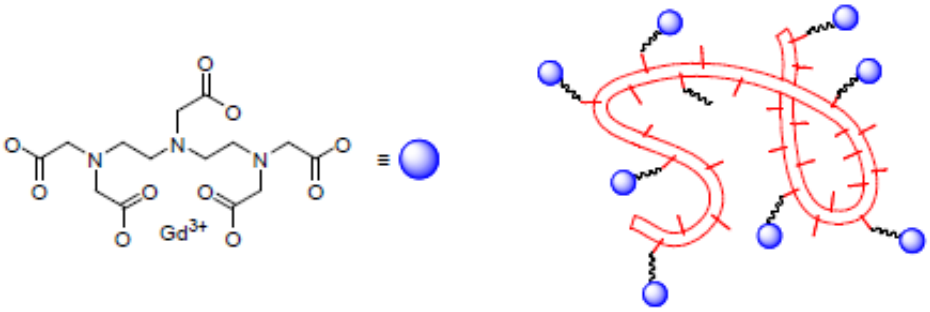


Figure I-23 : (a) Illustration du Gd-DTPA attaché à un polymère Garo

Parmi les travaux les plus pertinents, les chélates des dérivés Gd-DTPA greffés sur l'albumine stérique humaine (Gd-DTPA/HSA) ou bovine (Gd-DTPA/BHS) ont montré des valeurs de relaxivité élevées (14 $mM^{-1}.s^{-1}$ contre 3 $mM^{-1}.s^{-1}$ pour le Gd-DTPA seul à 10 MHz).[87] Bien qu'elles soient élevées, ces valeurs restent inferieures à celles prédites par la théorie SMB. En effet, ces structures n'ont pas pu être utilisées cliniquement à cause des problèmes de toxicité cardiovasculaire et du long temps de rétention dans l'organisme qu'ils présentent. D'autre part, un effet limitant de ces structures est la flexibilité de la chaîne reliant le chélate à la macromolécule, ce qui engendre un important degré de rotation interne expliquant les valeurs de relaxivité inferieures à celles escomptées.

Comme solution, Zhang et al. ont proposé de combiner des chélates tétramère de Gd(III) à la macromolécule *via* deux points d'accrochage (ancrage multi-site) afin d'apporter plus de rigidité et une meilleur relaxivité à la structure *(Fig I-24).* En effet, une augmentation de 30% de la relaxivité a été obtenue pour la molécule de Gd-DTPA à deux fractions de HSA (Human Serum Albumin).[88]

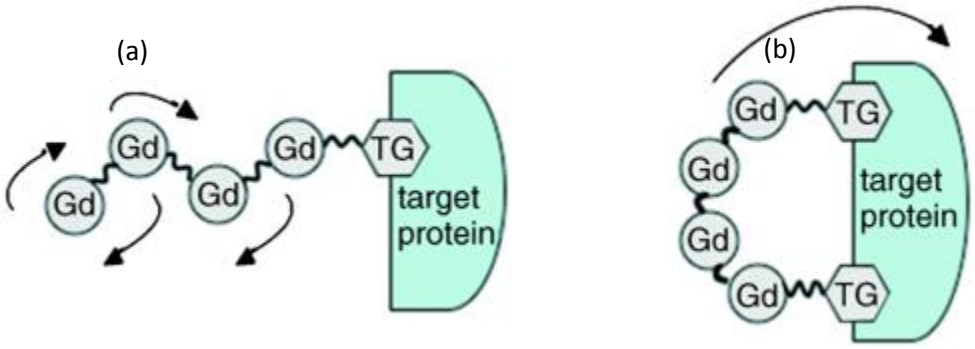
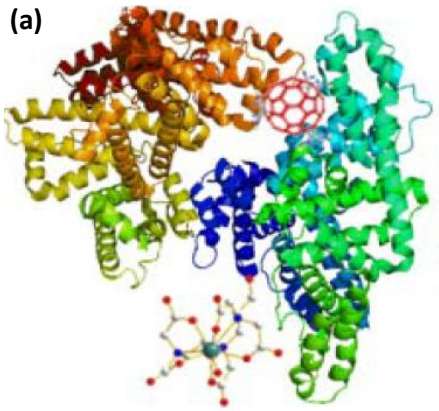


Figure I-24 : Représentation schématique de l'accrochage mono (a) et multi-site (b) du tétramère de Gd(III) conjugué à une protéine cible[88]

Récemment, Zhen et al. ont reporté le couplage du chélate de Gd conjugué à l'albumine Gd-DTPA/HSA à une molécule de carboxylfullèrene C_{60}. La synergie entre le HSA et le C_{60} a mené à une augmentation significative de la relaxivité du système à r_1= 86 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 20MHz (de même ordre de grandeur que les maxima théoriques de 80-120 $mM^{-1}.s^{-1}$ obtenus à 20 MHz et 298 K) *(Fig. I-25).*[89]



(b)

compounds	relaxivity r_1 ($mM^{-1}\,s^{-1}$) (at 300 K)		
	3 T	1.5 T	0.5 T
Gd-DTPA	3.9	4.7	4.5
Gd-DTPA-HSA (in water)	19.4	26.4	37.8
Gd-DTPA-HSA (in saline)	14.4	23.5	31.5 (310 K)
Gd-DTPA-HSA-C_{60} (in water)	25.0	38.0	86.0
Gd-DTPA-HSA-C_{60} (in saline)	19.0	32.9	58.4 (310 K)

Figure I-25 : (a) Représentation 3D de la structure $(Gd\text{-}DTPA)_x$ -HSA-$\{C_{60}[C(COOH)_2]_3\}_y$; (b) tableau comparatif des valeurs de relaxivité obtenues à différents champs magnétiques (en $mM^{-1}.s^{-1}$ par mM de gadolinium)[89]

D'autres adduits macromoléculaires, ayant des structures similaires, ont été également développés tels que le poly(L-lysine-*co*-Gd-DTPA), obtenu par greffage du chélate de Gd(III) au poly(L-lysine), et dont la relaxivité est trois fois plus grande que celle du Gd-DTPA.[90]

Des polymères cascades ou dendrimères, largement utilisés pour des applications biomédicales, ont été ainsi explorés en tant que plateformes d'agent de contraste macromoléculaire. Ces structures ont été choisies en raison de leurs nombreuses caractéristiques telles qu'une faible polydispersité, une taille et forme bien définies, une non toxicité et une surface facilement fonctionnalisable. Parmi les différentes familles de dendrimères, les polyamidoamines (PAMAM) et les polypropyleneimine (PPI) sont les plus couramment étudiées. Ce sont des molécules sphériques, solubles dans l'eau, avec des groupements amines terminales à la surface. Le nombre des groupements amines augmente rapidement suivant la génération du dendrimère où il existe 8 amines sur un dendrimère d'une seule génération G_1, 16 sur G_2, 32 sur G_3 et ainsi de suite.[91]

Les premiers exemples de chélates de Gd(III) dendritique ont été décrits par Wiener et al..[92] Ainsi, une large variété de telles architectures a été développée, possédant un caractère multimodal pour la délivrance de médicaments et l'imagerie par fluorescence en plus de leur principale tâche en tant qu'agent de contraste.[93,94] Parmi les travaux pionniers, le Gadomer-17 (ou Gd-DTPA-24-Cascade-polymer) a suscité un intérêt remarquable. Sa structure distinguée, constituée par un cœur central d'acide trimésique sur lequel sont greffés des dendrons L-lysine, lui permet d'accueillir jusqu'à 24 complexe de gadolinium *(Fig. I-26)* d'où sa valeur de relaxivité élevée de 17.2 $mM^{-1}.s^{-1}$.[95]

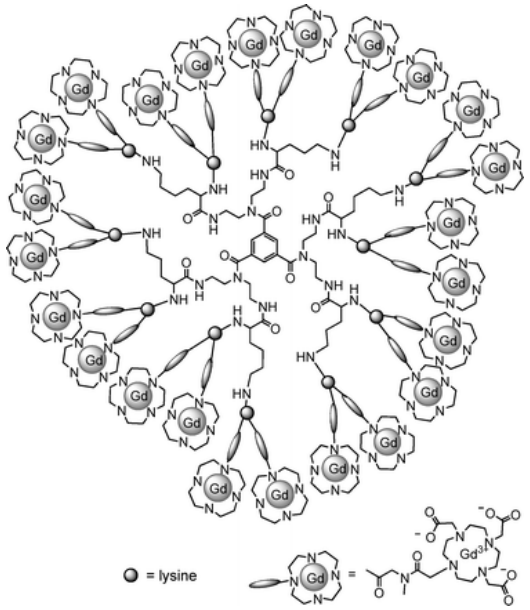


Figure I-26 : Structure simplifiée du Gadomer-17 [94]

Néanmoins, les chélates dendritiques décrits à ce jour sont non-biodégradables et difficilement excrétés hors de l'organisme en raison de leur taille supérieure au seuil rénal (11

nm pour des chélates G_9). Ye et al. ont récemment reporté la synthèse de quatre générations d'agents de contraste dendritiques biodégradables (G_x/MOP–DTPA ; x=0,1,2 et 3) formés d'un cœur central de β-cyclodextrine sur lequel sont greffés des dendrons . Ces composés possèdent une taille entre 2,8 et 8,6 nm en fonction le degré de polymérisation et relaxivité de l'ordre de 11,7 $mM^{-1}.s^{-1}$ (2,7 fois plus grand que celle du Gd-DTPA). En plus, ces particules biodégradables sont faiblement retenues dans les tissus ce qui les rend très prometteurs pour l'imagerie des reins et des tissus sanguins.[96]

Globalement, les valeurs de relaxivité des dendrimères conjugués varient entre 15 $mM^{-1}.s^{-1}$et 40 $mM^{-1}.s^{-1}$ selon le type du chélate de Gd(III) et la génération du dendrimère.[77] Ces valeurs sont clairement plus élevées que celles obtenues pour les polymères linéaires.

b- Encapsulation au sein des structures lipidiques, protéiques et polysaccharides :

Les agrégats lipidiques, y compris les micelles, les liposomes et les lipoprotéines ont été largement étudiés pour des applications en imagerie. Ces structures sont généralement formées par l'auto-assemblage, en solution aqueuse, de molécules amphiphiles. Alors que les micelles sont auto-organisées en une seule couche constituée par une large tête hydrophile et une longue chaîne hydrophobe, les liposomes sont arrangés en double couche sphérique sous la forme de vésicules fermées dont la taille varie entre 50 et 1000 nm *(Fig. I-27).* Etant donné leur taille, l'encapsulation des chélates de Gd(III) au sein de ces nanoparticules lipidiques induit une augmentation significative de leur relaxivité. De telles architectures sont ainsi capables de transporter un grand nombre d'ions paramagnétiques pour l'imagerie IRM, d'être chargées par des molécules pharmaceutiques et/ou être fonctionnalisées en surface pour le ciblage *in vivo*. Ceci leurs confère un aspect multimodal diagnostic/thérapeutique. Une large variété de systèmes micellaires a été reportée pour leur potentialité en tant qu'agent de contraste, avec des valeurs de relaxivité aux alentours de 25$mM^{-1}.s^{-1}$, découlant d'une lente rotation du système.[97-99]

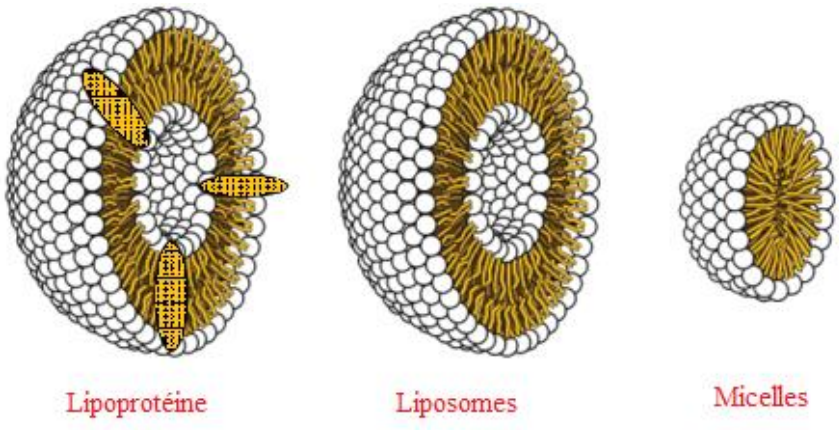


Figure I-27 : Représentation schématique des micelles, liposomes et lipoprotéines

En ce qui concerne les liposomes, il s'est avéré possible d'encapsuler des complexes de Gd(III) à l'intérieur du cœur hydrophile de la vésicule. Un premier exemple de liposomes paramagnétiques a été référé par Tilcock et al. et s'est reposé sur l'encapsulation du chélate commercial Gd-DTPA (ou Magnevist®).[100] Toutefois, une réduction significative de la relaxivité des liposomes a été observée par rapport aux complexes isolés,[101] ce qui a été expliqué par une perméabilité limitée des molécules d'eau à travers les bicouches lipidiques.[102] Dans le but d'améliorer les propriétés de relaxivité, certaines études se sont basées soit sur la modification des paramètres physico-chimiques susceptibles d'affecter la perméabilité des liposomes tels que le pH[103] et la température,[104] soit sur la fonctionnalisation de la surface des liposomes par des groupements polyéthylènes glycol PEG.[105] A noter que les liposomes paramagnétiques peuvent être également des efficaces agents de contraste T_2. La relaxivité transversale r_2 typique a été estimée par 10^6 à 10^9 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 7 T et à 289 K, du même ordre de grandeur que les nanoparticules d'oxydes de fer.[106]

Outre les nanolipoparticules artificielles, des systèmes naturels tels que les lipoprotéines de hautes-densités (HDL) et de basses-densités (LDL) ont été démontrés comme des agents de contrastes puissants et sélectifs au diagnostic de l'athérosclérose.[107,108]

D'autre part, un procédé d'encapsulation du complexe commercial Gd-HPDO3A (ProHance®) au sein de l'apoferritine, assemblage macromoléculaire protéique, a permis de rehausser la relaxivité vingt fois plus que celle du complexe isolé dans l'eau (r_1=80$mM^{-1}.s^{-1}$).[109] Toutefois, une relaxivité de même ordre de grandeur a été obtenue pour des complexes Gd-DOTA encapsulés au sein d'un hydrogel polysaccharidique de chitosan et d'acide hyaluronique. Les images fantômes de la suspension colloïdale contenant ces nano-objets

biocompatibles ont montré qu'ils sont d'efficaces agents de contraste T_1 aussi bien que T_2, offrant une nouvelle voie vers un diagnostic plus spécialisé (*Fig I-28).*[110]

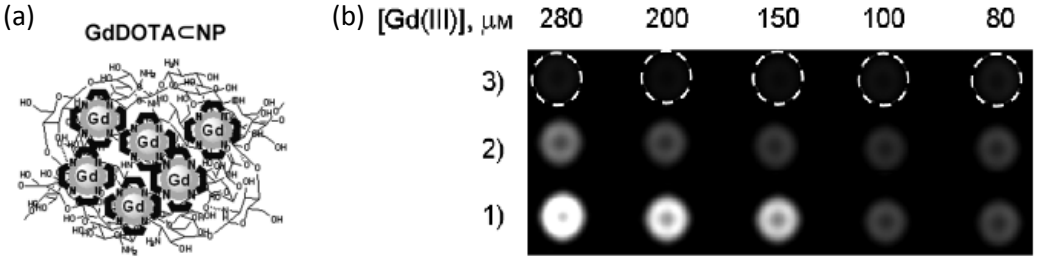


Figure I-28 : (a) Schéma d'encapsulation du complexe Gd-DOTA par les polysaccharides, (b) images fantômes pondérés en T_1 de 1) nanoparticules Gd-DTPA⊂Nps, 2) Gd-DTPA (DORATEM®), 3) H_2O (comme référence)[110]

Comme d'autres types d'encapsulation reportés dans la littérature, des ions de Gd(III), sous forme libre et sans ligand chélates, ont été piégés au sein des nanostructures inorganiques telles que les zeolithes, les fullerènes ou les nanotubes de carbone *(Fig. I-29).* Dans le cas des zéolithes dopées au Gd, GdNaY, une relaxivité de 40 $mM^{-1}.s^{-1}$ a été reportée. Pourtant, cette valeur était largement plus faible que celle prédite par les calculs théoriques. Les auteurs ont expliqué cette différence par la diffusion limitée des molécules d'eau en raison de faibles dimensions des pores (~ 5 Å).[111]

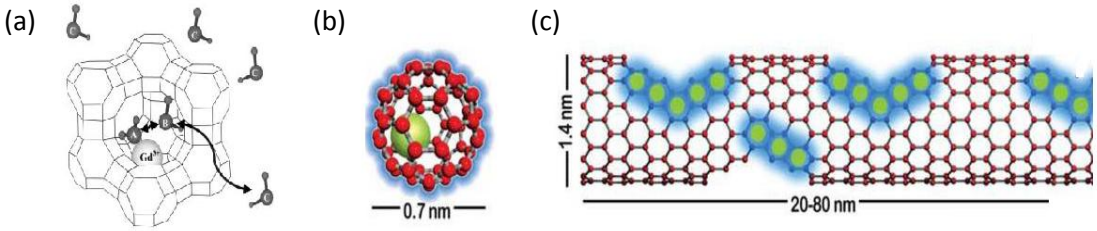


Figure I-29 : Représentation schématique d'ion de gadolinium encapsulés au sein (a) d'une zéolithe, (b) d'un fullerène, et (c) d'un nanotube de carbone

En outre, les Gadofullerènes ($Gd@C_{60}$) et les Gadotubes de carbone (Gd@US-tube) sont considérés comme des paradigmes de conception d'une nouvelle génération d'agents de contraste dite « intelligent » et à hautes performances.[112] Ces structures produites généralement par arc électrique à partir des matériaux composites Gd/graphite sont capables d'emprisonner l'ion Gd^{3+}, tout en masquant sa toxicité. La relaxivité obtenue pour ces structures est très élevée et largement dépendante du pH.[113] Une étude récente effectuée par Ananta et al. a montré que le confinement de ces deux structures au sein des nanoparticules

mésoporeuses de silice augmenterait la valeur de la relaxivité des Gadofullerènes et Gadonanotubes de carbone jusqu'à 200 $mM^{-1}s^{-1}$ et 150 $mM^{-1}s^{-1}$ respectivement.[114]

c- Greffage sur des nanostructures :

Une des stratégies d'augmentation de la masse molaire des complexes est leur greffage sur des nanostructures. Dans ce contexte, les différents travaux effectués se sont basés sur l'utilisation de nanoparticules inorganiques, ayant des propriétés intéressantes, sur lesquelles sont ensuite greffés des chélates de Gd(III). Parmi les différentes catégories de nanoparticules inorganiques, les plus étudiées sont les nanoparticules de silice mésoporeuse, les nanodiamants, les nanoparticules d'or et d'oxyde de fer.

En raison de leur structure poreuse et leur importante surface spécifique, les silices mésoporeuses constituaient des plateformes idéales à la conception d'efficaces agents de contraste tout en permettant de confiner au sein de leurs pores des chélates de Gd(III) *(Fig I-30)*. Taylor et al ont décrit le greffage des chélates Gd-DTTA au sein de la silice mésoporeuse MCM-41. Une relaxivité importante de 30 $mM^{-1}.s^{-1}$ (trois fois plus élevé que celle du complexe Gd-DTTA isolé) a été obtenue, et qui résulte de l'accessibilité des molécules d'eau aux pores et du ralentissement de la rotation locale des complexes greffés.[115] D'autre part, une étude effectuée par Carniato et al., concernant des silices mésoporeuses de type MCM-41 et SBA-15 fonctionnalisées par des complexes Gd(III), a montré que la relaxivité dépend fortement de la taille des pores, qui contrôle la position du chélates de Gd(III) en surface ou à l'intérieur du pore.[116] Les auteurs ont montré que la relaxivité est d'autant plus importante que la majorité des chélates sont greffés en surface de la silice.

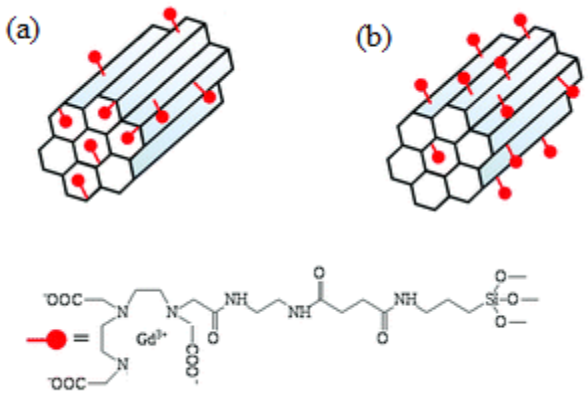


Figure I-30 : Représentation schématique de greffage des chélates de gadolinium greffés (a) au sein des pores et (b) à la surface de silice mésoporeuse

L'augmentation de la relaxivité a été démontrée par Duncan et al pour des chélates NDP_2-Gd(III) (imidodi-méthanediphosphate) immobilisés dans une silice mésoporeuse à différentes surfaces spécifiques, diamètres des pores et volumes des pores. Une relaxivité par-particule de $3.3x10^7$ $mM^{-1}.s^{-1}$ a été mesurée pour ces structures et représente une des plus grandes valeur reportées dans la littérature.[117]

Parmi les autres supports nanométriques, les nano-diamants fonctionnalisés par de chélates de gadolinium ND-Gd(III) ont présenté une relaxivité intéressante de 58 $mM^{-1}.s^{-1}$(dix fois plus élevé que le Gd-DOTA).[118] Une remarquable amélioration du contraste a été également observée lors du couplage des nanoparticules d'oxyde de fer aux chélates de Gd(III). Cette augmentation a pour origine l'effet synergique entre les oxydes de fer superparamagnétique et le Gd(III) paramagnétique.[119] Ce type de composés à double contraste ouvre la voie à une nouvelle génération d'agents de contraste pour un diagnostique plus délicat et précis. Par ailleurs, plusieurs équipes ont été intéressées par le greffage de chélates de Gd(III) sur des nanoparticules d'or, menant à des objets bimodales d'agents de contraste et tomographie des rayons X *(Fig I-31).*[120-122]

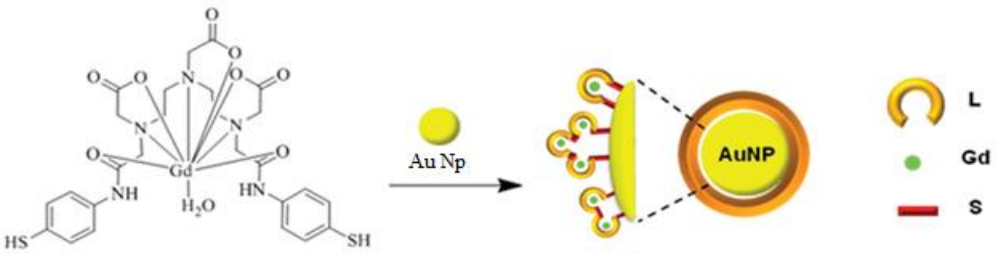


Figure I-31: Schéma représentatif de nanoparticules d'or fonctionnalisé par des chélates de Gd(III) [122]

Une relaxivité bien intéressante de 60 $mM^{-1}.s^{-1}$ a été reportée par Morrigi et al. pour des nanoparticules d'or fonctionnalisées par un chélate de Gd(III) accueillant deux molécules d'eau.[123] En dépit de cette grande relaxivité, l'instabilité de tels objets était un point faible de la stratégie adoptée par les auteurs. Très récemment, Beija et al. ont décrit la synthèse des objets de même type bien stables, utilisant des concentrations plus limitées en Gd(III) et le tout sans compromettre l'efficacité de l'agent de contraste (r_1=30$mM^{-1}.s^{-1}$).[124]

d- Nanoparticules inorganiques contenant d'ions paramagnétiques :

Parallèlement aux travaux visant à réduire la mobilité des chélates de Gd(III), d'autres stratégies d'amélioration de la relaxivité des agents de contraste se sont appuyées sur

l'élaboration des nanoparticules inorganiques d'ions paramagnétiques et qui a ouvert la voie à une nouvelle classe d'agents de contraste T_1 et/ou T_2.[125,126] Toutefois, la classification des nanoparticules inorganiques en tant qu'agents T_1 ou T_2 est fonction de la valeur du rapport de relaxivité transversale et longitudinale r_2/r_1. Alors qu'elle est faible (de l'ordre de 1 à 2) pour les agents T_1, la valeur r_2/r_1 est beaucoup plus élevée pour les agents T_2 (facteur de 10).[127]

- Agents T_1 :

En raison de leur grande influence sur la relaxivité des protons, les nanoparticules à base de gadolinium notamment les oxydes Gd_2O_3,[128] les phosphate $Gd^{III}PO_4$[129,130] et les fluorures $Gd^{III}F_3$[131] ont suscité un intérêt remarquable en tant qu'agents T_1 nanométriques. L'utilisation de ces particules, ayant une faible valeur du rapport r_2/r_1, a permis d'améliorer considérablement la qualité des images pondérées en T_1. Outre les valeurs de relaxivité supérieures à celles de chélates de Gd(III), ces objets peuvent être injectés à faibles doses en raison de la densité élevée en ions métalliques. Toutefois, le dopage de tels objets par des lanthanides fluorescents (Eu^{3+} ou Tb^{3+}) aussi bien que la fonctionnalisation de la surface par des biopolymères (dextran, Polyéthylène glycol, ADN), des molécules organiques chargées (citrate) ou bien de la silice, confèrent à ces nanoparticules un caractère d'imagerie multimodal (IRM et de fluorescence FI) et/ ou de vectorisation des médicaments.

Concernant les oxydes de Gadolinium, les premières particules reportées ont été synthétisées par des réactions de coprécipitation et de réduction du sel de chlorure de gadolinium ($GdCl_3$) en présence du dextran (~30 nm). En raison de la grande polydipersité, l'utilisation de ces particules en tant qu'agents de contraste n'a pas pu être réalisée. Une autre voie de synthèse effectuée dans le polyol a permis de mieux réduire et contrôler la taille. En effet, des particules de taille uniforme (< 5 nm) ont été obtenues et sont formées d'un cœur inorganique entouré d'une coquille stabilisante telle que de PEG36[132] ou polysiloxane *(Fig. I-32 gauche)*. Dans ce dernier cas, la fonctionnalisation des objets par une substance fluorescente les a rendus appropriés à un double usage en IRM et l'imagerie de fluorescence. Néanmoins, une diminution de la relaxivité a été observée alors que la taille des particules augmente, cette observation a été expliquée par une participation exclusive des ions paramagnétiques de la surface à la relaxation des protons.[133]

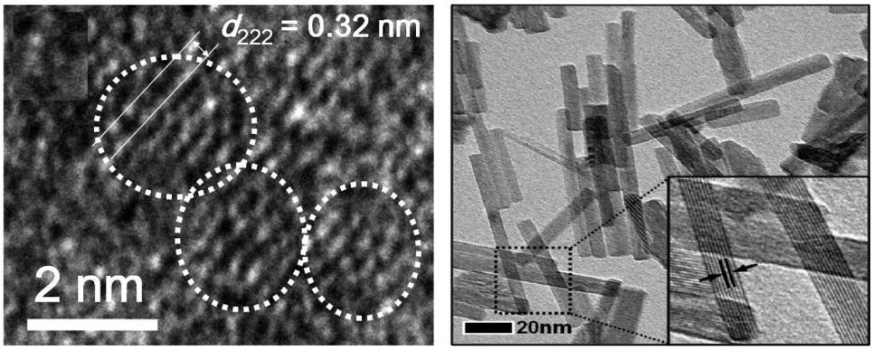


Figure I-32 : Image HRTEM des *ultrasmall* nanoparticules Gd_2O_3 (gauche) [78]; (b) image MET des nano-bâtonnets de $GdPO_4$ fonctionnalisés à l'ADN (droite)[130,134]

Une autre voie d'amélioration de la relaxivité des nanoparticules inorganiques s'est reposée sur l'élaboration de systèmes poreux facilitant l'accès des molécules d'eau vers les centres paramagnétiques internes. Les travaux concernant ce type de matériaux sont encore restreints, parmi eux, Guari et al. ont décrit la synthèse d'un dérivé à ponts cyanures à base de gadolinium, le $Gd^{III}Fe^{III}(CN)_6.4H_2O$, encapsulé dans une matrice polysaccharidique biocompatible (chitosan). Des particules de 6 nm ont été obtenues et possèdent une valeur de relaxivité de l'ordre de 20 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 1,5T. Malgré la structure microporeuse et la présence des molécules d'eau zéolitiques au sein de ces réseaux, cette valeur était bien inférieure à celle escomptée. Ceci a été considéré comme une première indication sur l'absence ou la faible contribution des ions paramagnétiques du cœur du réseau à la relaxation des protons.[135]

Récemment, des nanoparticules trimétalliques à base d'octacyanométallate, $Ln0_{,33}Gd_x^{3+}[Mo(CN)_8]_3$ (Ln^{3+}= Eu, Tb), ont été reportées également par la même équipe. La relaxivité de ces objets sphériques de 3-4 nm est du même ordre de grandeur que celle l'Omniscan® (du chélate de Gd (III) commercial). Le dopage avec des lanthanides fluorescents leur confèrent un caractère multifonctionnel pour imagerie multimodale.[136]

- Agents T_2 :

Il s'agit essentiellement des nanoparticules d'oxydes métalliques de Fe(III) qui sont superparamagnétiques et qui altèrent la composante transversale T_2 de la relaxation nucléaire. Le superparamagnétisme se dit d'un comportement magnétique des matériaux ferro ou ferrimagnétiques lorsque leurs taille est inférieure à celle du monodomaine magnétique. A l'application d'un champ, les moments magnétiques microscopiques sont aimantés de la même manière qu'un matériau paramagnétique mais avec une susceptibilité magnétique plus

grande. La coopérativité des moments de spin individuels créee alors un spin géant capable d'induire une forte perturbation du champ local menant à une diminution du temps de relaxation transversale T_2.

Dans le cas des oxydes de fer (magnétite Fe_3O_4 ou maghémite Fe_2O_3), la surface des nanoparticules est fonctionnalisée par des agents stabilisants pour éviter leur agrégation et assurer leur stabilité dans les milieux biologiques. Ces derniers sont le plus souvent des revêtements organiques tels que des dendrimères phosphatés,[137] des citrates,[138] des dimercapto-succinate,[139] du polyéthylène glycol,[140] des siloxanes et du dextran[141] etc.

Deux catégories de nanoparticules d'oxyde de fer sont distinguées, les SPIO (SuperParamagnetic Iron Oxide) de diamètre supérieur à 50 nm et les USPIO (Ultrasmall SuperParamagnetic Iron Oxide) de diamètre inferieur à 50 nm. L'utilisation des agents de contraste T_2 à base d'oxyde de fer a été autorisée cliniquement et il existe actuellement trois agents commerciaux de type SPIO et un seul de type USPIO *(Tab. I-2).* A noter que dans certains cas, les UPSIO de moins 10 nm peuvent également avoir un effet T_1.[142]

Nom Commerciale	**Diamètre hydrodynamique (nm)**	**Relaxivité r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)**
Lumirem®	300	4.3
Endorem®	80-150	4.2
Resovist® ou Cliavist®	62	4.4
Sinerem®	20-40	4.6

Tableau I-2: Diamètre moyen et relaxivité (mesurées à 20MHz) des principaux agents de contraste T_2 commerciaux à base de nanoparticules d'oxyde de fer

Dans une autre approche, Park et al se sont intéressés à tester l'efficacité d'oxydes de lanthanide Ln_2O_3 (avec Ln= Eu, Dy, Ho et Er) revêtus d'acide D-glucuronique comme de nouveaux agents de contraste IRM.[143] Sauf dans le cas de Gadolinium, les nanoparticules de très petites tailles de ~3 nm ont présenté des valeurs de relaxivité transversale intéressantes (à 5T, r_2 varie entre 15-40 $mM^{-1}.s^{-1}$ selon la nature de l'ion utilisé) contre de très faibles valeurs de relaxivité longitudinale qui ne dépasse pas 0,2 $mM^{-1}.s^{-1}$ quelque soit la nature du lanthanide. Ces résultats permettent de classer ces objets en tant qu'agents négatifs T_2, tout en ouvrant les perspectives d'utilisation rationnelle de nouveaux agents de contraste T_2 à champs élevés, où les agents T_1 perdent leur efficacité.

I.2.3.3.2. Agents de contraste à base de Mn (II) et Fe (III) :

- Complexes et nanoparticules à base de Mn (II)

Vue de leur toxicité et leur faible moment magnétique, les études concernant les agents de contraste à base de Mn^{II} sont moins nombreuses que celles du Gd^{III}. Bien que le temps de relaxation électronique de cet ion soit plus long que celui du Gd^{III}, et l'échange des molécules d'eau plus rapide, les valeurs de relaxivité obtenues pour ces complexes sont relativement faibles. Toutefois, ces valeurs ont pu être améliorées en adoptant des stratégies similaires à celles utilisées pour renforcer la relaxivité de chélates de Gd^{III}. Ainsi, plusieurs études concernant l'interaction entre les chélates de Mn^{II} avec des polysaccharides, des porphyrines, des liposomes etc… ont été décrites.[144,145]

Un grand intérêt a été également suscité par les oxydes de manganèse II, MnO.[92] Le premier exemple d'utilisation des nanoparticules MnO comme agents de contraste a été reporté par H. Na et al. sur une série de ces objets de différentes tailles (de 7 à 25 nm) encapsulés par des chaînes PEG modifiées. Une relaxivité inférieure à 1 $mM^{-1}.s^{-1}$ a été mesurée et qui diminue alors que la taille augmente *(Fig I-33).*[146]

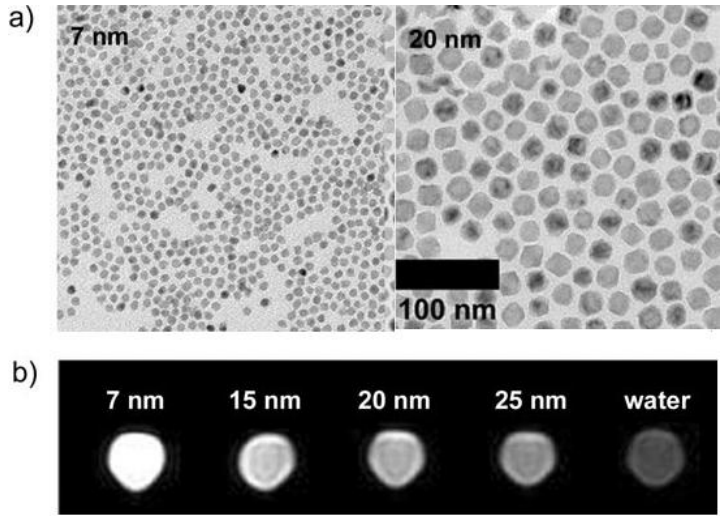


Figure I- 33 : (a) Images TEM et (b) images pondérées en T_1 à 3T des nanoparticules MnO de différentes tailles

Les auteurs ont attribué cette diminution à la participation exclusive des ions de la surface au processus de relaxation. En exprimant la relaxivité par atome de surface et par particules, les valeurs de 30 $mM^{-1}.s^{-1}$ et 10^3 à 10^4 $mM^{-1}.s^{-1}$ sont obtenues, et sont comparables à celles des objets à base de Gd^{III}.

Une stratégie pour améliorer la relaxivité, par augmentation de la surface spécifique de ces objets, s'est reposée sur l'élaboration de structures creuses à base de Mn, plutôt que de réduire la taille de ces objets. Ainsi, le traitement thermique (à 300˚C) des nanoparticules MnO de 20 nm en présence d'oxyde de trioctylphosphine a permis d'obtenir des objets creux dont la relaxivité longitudinale a augmenté d'un facteur sept (de 0,35 à 1,15 $mM^{-1}.s^{-1}$).[147] Des essais d'encapsulation de MnO dans une coquille de silice MnO@$mSiO_2$ suivis d'un traitement à l'éthylacétate et l'hydroxyde de sodium à 60˚C, pour obtenir un système creux H-MnO@$mSiO_2$ (*Fig. I-34(a)*), n'ont pas permis d'améliorer la relaxivité (r_1=0,2 $mM^{-1}.s^{-1}$) en raison de la faible diffusion de molécules d'eau à travers la coquille de silice.[148]

D'autres nanostructures de Mn^{II}, le $Mn(BDC)(H_2O)_2$ et le $Mn_3(BTC)_2(H_2O)_6$ (avec BDC : 1.4-benzénedicarboxylate et BTC : 1,3,5-benzènetricarboxylate), ont été également décrites par Taylor et al.. Une relaxivité assez importante, de l'ordre de 5 $mM^{-1}.s^{-1}$, a été mesurée pour ces plaquettes de taille polydisperse variant entre 50 et 300 nm (*Fig. I-34(a)*).[149]

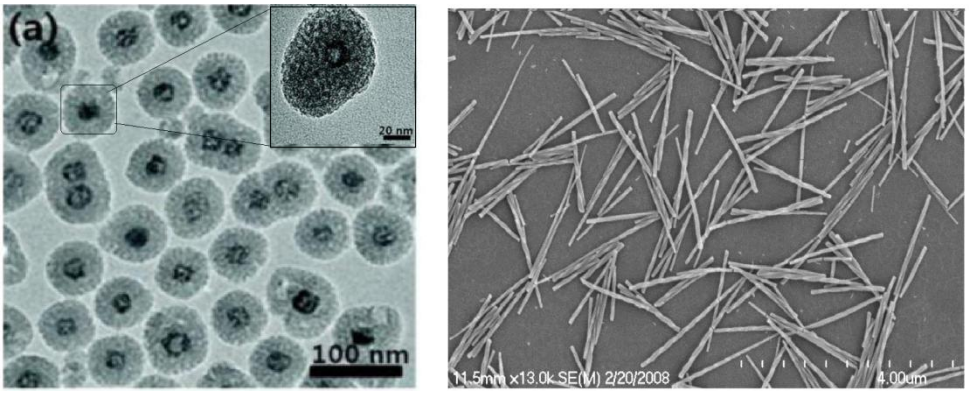


Figure I-34 : (a) Image TEM des nanoparticules creuses H-MnO@$mSiO_2$ et (b) image SEM des nano-bâtonnets spirales $Mn_3(BTC)_2(H_2O)_6$.

Une approche originale de conception des agents de contraste pour l'imagerie multimodale s'est reposée sur l'utilisation des quantum dots en tant que plateforme d'encapsulation des ions paramagnétiques.[150] Dans ce contexte, Tu et al. ont récemment rapporté le dopage du Mn^{II} dans des quantum dots de silicium, $Si_{Mn}QDs$. Ces objets d'environ 4 nm, enrobés par du Dextran sulfaté, présentent une relaxivité longitudinale intéressante de 25 ± 1,44 mM^{-1} s^{-1}, permettant d'améliorer significativement le contraste des macrophages à la fois par IRM et par imagerie de fluorescence.[151]

- Complexes et nanoparticules à base de Fe(III)

Par son spin élevé (S=5/2), le fer (III) semble être un candidat idéal pour des agents de contraste pour l'IRM. Pourtant, sa faible vitesse d'échange ainsi que le temps de relaxation électronique relativement faible ($10^{-9}/10^{-10}$ s), ne permettent pas de larges variations de la relaxivité. Toutefois, la complexation des ions Fe^{III} aux chélates polycarboxilique traditionnel (DOTA, DTPA, HP-DO3A) a conduit à des valeurs de relaxivité raisonnables.[144,152]

Des études récentes se sont tournées vers la synthèse des nanoparticules à base de Fe^{III}. Pour des nanostructures cœur-coquille Fe@Au, préparées par la méthode de micelle inverse, une relaxivité bien intéressante a été mesurée (r_1 = 6,87 mM^{-1} s^{-1}).[153] D'ailleurs, pendant le déroulement de cette thèse, Shokouhimehr et al. ont décrit la synthèse des nanoparticules de bleu de Prusse $Fe^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ enrobées de citrate, d'environ 13 nm. En dépit de leur faible relaxivité (r_1 = 0,079 $mM^{-1}.s^{-1}$), les auteurs suggèrent que ces objets, efficaces en tant qu'agents de contraste, peuvent être des plateformes de vectorisation de petites molécules.[154]

Objectifs de la thèse :

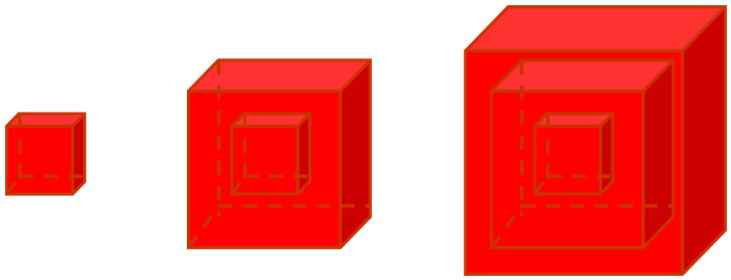
Les réseaux de coordination tridimensionnels à ponts cyanures et plus spécialement la famille des bleu de Prusse présentent des propriétés magnétiques à l'état massif modulables par différents stimuli (température, lumière ou pression). Toutefois, la réduction de la taille des grains de ces réseaux à une échelle nanométrique (<100 nm dans deux dimensions) s'accompagne de notables modifications de ces propriétés. Ainsi, depuis plusieurs années, l'objectif recherché au sein de l'équipe est i) de contrôler par diverses méthodes la taille et l'homogénéité des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse ii) d'étudier l'effet de la réduction de taille sur les propriétés magnétiques et/ou optiques de ces réseaux, iii) explorer de nouveaux comportements synergiques issus de l'assemblage, toujours à l'échelle nanométrique, de tels réseaux de nature magnétique différente.

Le travail effectué au cours de cette thèse s'articule selon trois objectifs :

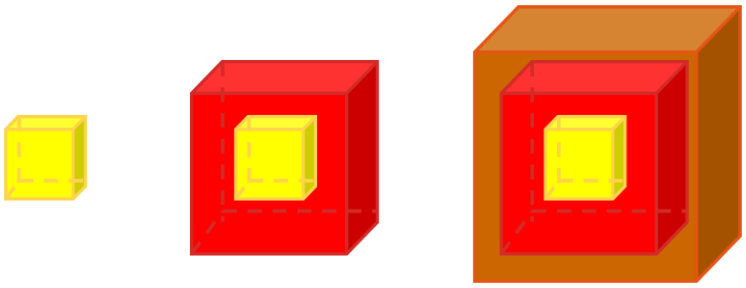
- Synthèse et contrôle de taille des nanoparticules de l'analogue $CsCoFe(CN)_6$ photomagnétique.
- Elaboration des nano-objets multicouches hétérostructurés, par couplage du réseau ferromagnétique $CsNiCr(CN)_6$ au réseau photomagnétique $CsCoFe(CN)_6$, et exploration du comportement synergique résultant.
- Synthèse de nanoparticules de bleu de Prusse et de l'analogue trimétallique $Mn_xIn_{1-x}Fe(CN)_6$ et évaluation de leur efficacité en tant qu'agent de contraste.

La méthode de stabilisation spontanée de particules chargées de réseaux à ponts cyanures, développée au sein de l'équipe, a permis de réaliser des nano-objets multi-coquilles obtenus par croissance épitaxiale en solution de réseaux de même nature ou de nature différente. Pour atteindre les objectifs présentés ci-dessus, cette méthode de synthèse a été adoptée dans le cadre de ce travail. Ainsi deux stratégies de synthèses ont été employées :

1- La croissance d'une coquille de même nature sur une particule cœur qui permet de moduler et de contrôler la taille des particules :



2- La croissance d'une coquille de nature différente à celle de la particule de cœur qui permet d'obtenir des objets avec une synergie possible entre cœur et coquille :



3- La croissance de particules trimétalliques par dopage.

Références bibliographiques :

(1) Buser, H. J.; Schwarzenbach, D.; Petter, W.; Ludi, A. *Inorganic Chemistry* **1977**, *16*, 2704-2710.

(2) Robin, M. B.; Day, P. *Adv. Inorg. Chem. Radiochem* **1967**, *10*, 422.

(3) Mayoh, B.; Day, P. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1976**, 1483-1486.

(4) *Molecular Magnetism*; Khan, O., Ed.; CVH publishers, 1993.

(5) Kahn, O. *Nature* **1995**, *378*, 667.

(6) Mallah, T.; Thiebaut, S.; Verdaguer, M.; Veillet, P. *Science* **1993**, *262*, 1554.

(7) Sato, O.; Lyoda, T.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Science* **1996**, *271*, 49-51.

(8) Ferlay, S.; Mallah, T.; Ouahes, R.; Veillet, P.; Verdaguer, M. *Nature* **1995**, *378*, 701-703.

(9) Ferlay, S.; Mallah, T.; Ouahes, R.; Veillet, P.; Verdaguer, M. *Inorganic Chemistry* **1999**, *38*, 229-234.

(10) Escax, V.; Bleuzen, A.; Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Goujon, A.; Varret, F.; Verdaguer, M. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 12536-12543.

(11) Sato, O.; Iyoda, T.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Science* **1996**, *272*, 704-705.

(12) Tokoro, H.; Yokoyama, T.; Okamoto, K.; Ohta, T.; Ohkoshi, S.; Hashimoto, K. *Journal of Physical Reviews B* **2002**, *66*, 184111.

(13) Ohkoshi, S.; Einaga, Y.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1999**, *473*, 245-249.

(14) Tokoro, H.; Ohkoshi, S.; Matsuda, T.; Hashimoto, K. *Inorganic chemistry* **2004**, *43*, 5231-5236.

(15) Tokoro, H.; Matsuda, T.; Nuida, T.; Moritomo, Y.; Ohoyama, K.; Dangui, E. D. L.; Boukheddaden, K.; Ohkoshi, S. *Chemistry of Materials* **2008**, *20*, 423-428.

(16) Tokoro, H.; Matsuda, T.; Nuida, T.; Moritomo, Y.; Ohoyama, K.; Dangui, E. D. L.; Boukheddaden, K.; Ohkoshi, S. *Chemistry of Materials* **2007**, *20*, 423-428.

(17) Kosaka, W.; Nomura, K.; Hashimoto, K.; Ohkoshi, S. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 8590-8591.

(18) Papanikolaou, D.; Margadonna, S.; Kosaka, W.; Ohkoshi, S.; Brunelli, M.; Prassides, K. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 8358-8363.

(19) Sato, O.; Einaga, Y.; Iyoda, T.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Journal of the Electrochemical Society* **1997**, *144*, L11-L13.

(20) Verdaguer, M. *Science* **1996**, *272*, 698.

(21) Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Bleuzen, A.; Arrio, M. A.; Sainctavit, P.; Lomenech, C.; Escax, V.; Baudelet, F.; Dartyge, E.; Gallet, J. J. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 6653-6658.

(22) Sato, O.; Hayami, S.; Einaga, Y.; Gu, Z. Z. *Bulletin-Chemical Society of Japan* **2003**, *76*, 443-470.

(23) Bleuzen, A.; Lomenech, C.; Escax, V.; Villain, F.; Varret, F.; dit Moulin, C. C.; Verdaguer, M. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 6648-6652.

(24) Bleuzen, A.; Escax, V.; Itié, J. P.; Münsch, P.; Verdaguer, M. *Comptes Rendus Chimie* **2003**, *6*, 343-352.

(25) Escax, V.; Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Champion, G.; Itié, J. P.; Münschb, P.; Verdaguer, M.; Bleuzen, A. *Comptes Rendus Chimie* **2003**, *6*, 1165-1173.

(26) dit Moulin, C. C.; Villain, F.; Bleuzen, A.; Arrio, M. A.; Sainctavit, P.; Lomenech, C.; Escax, V.; Baudelet, F.; Dartyge, E.; Gallet, J. J. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 6653-6658.

(27) Gawali-Salunke, S.; Varret, F.; Maurin, I.; Enachescu, C.; Malarova, M.; Boukheddaden, K.; Codjovi, E.; Tokoro, H.; Ohkoshi, S. I.; Hashimoto, K. *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109*, 8251-8256.

(28) Sato, O.; Einaga, Y.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Inorganic chemistry* **1999**, *38*, 4405-4412.

(29) Giorgetti, M.; Berrettoni, M.; Filipponi, A.; Kulesza, P. J.; Marassi, R. *Chemical physics letters* **1997**, *275*, 108-112.

(30) Yokoyama, T.; Ohta, T.; Sato, O.; Hashimoto, K. *Physical Review B* **1998**, *58*, 8257.

(31) Yokoyama, T.; Kiguchi, M.; Ohta, T.; Sato, O.; Einaga, Y.; Hashimoto, K. *Physical Review B* **1999**, *60*, 9340.

(32) Escax, V.; Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Champion, G.; Itié, J. P.; Munsch, P.; Verdaguer, M.; Bleuzen, A. *Comptes rendus. Chimie* **2003**, *6*, 1165-1173.

(33) Escax, V.; Bleuzen, A.; Itié, J. P.; Munsch, P.; Varret, F.; Verdaguer, M. *The Journal of Physical Chemistry B* **2003**, *107*, 4763-4767.

(34) Cartier dit Moulin, C.; Champion, G.; Cafun, J. D.; Arrio, M. A.; Bleuzen, A. *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 1309-1311.

(35) Cafun, J. D.; Champion, G.; Arrio, M. A.; dit Moulin, C. C.; Bleuzen, A. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *33*, 11552-11559.

(36) Shimamoto, N.; Ohkoshi, S.; Sato, O.; Hashimoto, K. *Inorganic chemistry* **2002**, *41*, 678-684.

(37) Sato, O. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **2004**, *5*, 203-223.

(38) Shimamoto, N.; Ohkoshi, S.; Sato, O.; Hashimoto, K. *Chemistry Letters* **2002**, *31*, 486-487.

(39) Bleuzen, A.; Cafun, J. D.; Bachschmidt, A.; Verdaguer, M.; Münsch, P.; Baudelet, F.; Itiel • , J. P. *The Journal of Physical Chemistry C* **2008**, *112*, 17709-17715.

(40) Sato, O.; Kawakami, T.; Kimura, M.; Hishiya, S.; Kubo, S.; Einaga, Y. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 13176-13177.

(41) Cafun, J. D.; Lejeune, J.; Baudelet, F.; Dumas, P.; Itié, J. P.; Bleuzen, A. *Angewandte Chemie International Edition*.

(42) Brinzei, D.; Catala, L.; Rogez, G.; Gloter, A.; Mallah, T. *Inorganica Chimica Acta* **2008**, *361*, 3931-3936.

(43) Chow, P. Y.; Ding, J.; Wang, X. Z.; Chew, C. H.; Gan, L. M. *Physica Status Solid. A* **2000**, *180*, 547.

(44) Vaucher, S.; Fielden, J.; Li, M.; Dujardin, E.; Mann, S. *Nano Letters* **2002**, *2*, 225-229.

(45) Clavel, G.; Larionova, J.; Guari, Y.; Guérin, C. *Chemistry-A European Journal* **2006**, *12*, 3798-3804.

(46) Guari, Y.; Larionova, J.; Molvinger, K.; Folch, B.; GuÃ©rin, C. *Chemical communications* **2006**, 2613-2615.

(47) Moore, J. G.; Lochner, E. J.; Ramsey, C.; Dalal, N. S.; Stiegman, A. E. *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 2741-2743.

(48) Frye, F. A.; Pajerowski, D. M.; Anderson, N. E.; Long, J.; Park, J. H.; Meisel, M. W.; Talham, D. R. *Polyhedron* **2007**, *26*, 2273-2275.

(49) Pajerowski, D. M.; Frye, F. A.; Talham, D. R.; Meisel, M. W. *New Journal of Physics* **2007**, *9*, 222.

(50) Fornasieri, G.; Aouadi, M.; Durand, P.; Beaunier, P.; Riviére, E.; Bleuzen, A. *Chemical Communications* **2010**, *46*, 8061-8063.

(51) Lohse, S. E.; Murphy, C. J. *Journal of the American Chemical Society* **2012**.

(52) Colombo, M.; Carregal-Romero, S.; Casula, M.; Gutiérrez, L.; Morales, M.; Böhm, I.; Heverhagen, J.; Prosperi, D.; Parak, W. J. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41*, 4306-4334.

(53) Reddy, L.; Arias, J.; Nicolas, J.; Couvreur, P. *Chemical Reviews* **2012**, *112*, 5818-5878.

(54) Damadian, R.; Minkoff, L.; Coldsmith, M.; Koutcher, J. *Naturwissenschaften* **1987**, *65*, 250-252.

(55) Solomon, I.; Bloembergen, N. *The Journal of Chemical Physics* **1956**, *25*, 261-266.

(56) Bloembergen, N.; Morgan, L. O. *The Journal of Chemical Physics* **1961**, *34*, 842-850.

(57) Bertini, I.; Luchinat, C.; Aime, S. *Coordination Chemistry Reviews* **1996**, *150*, 77-108.

(58) Aime, S.; Botta, M.; Crich, S. G.; Giovenzana, G. B.; Pagliarin, R.; Piccinini, M.; Sisti, M.; Terreno, E. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **1997**, *2*, 470-479.

(59) Botta, M. *European journal of inorganic chemistry* **2000**, *2000*, 399-407.

(60) Hwang, L. P.; Freed, J. H. *The Journal of Chemical Physics* **1975**, *63*, 4017-4025.

(61) Kumar, K. *Journal of alloys and compounds* **1997**, *249*, 163-172.

(62) Aime, S.; Calabi, L.; Cavallotti, C.; Gianolio, E.; Giovenzana, G. B.; Losi, P.; Maiocchi, A.; Palmisano, G.; Sisti, M. *Inorganic chemistry* **2004**, *43*, 7588-7590.

(63) Xu, J.; Franklin, S. J.; Whisenhunt Jr, D. W.; Raymond, K. N. *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 7245-7246.

(64) Hajela, S.; Botta, M.; Giraudo, S.; Xu, J.; Raymond, K. N.; Aime, S. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 11228-11229.

(65) Christopher, J.; Botta, M.; Aime, S.; Raymond, K. N. *Inorganic chemistry* **2001**, *40*, 6746-6756.

(66) Jocher, C. J.; Moore, E. G.; Xu, J.; Avedano, S.; Botta, M.; Aime, S.; Raymond, K. N. *Inorganic chemistry* **2007**, *46*, 9182-9191.

(67) Astashkin, A. V.; Raitsimring, A. M.; Caravan, P. *Journal of physical chemistry A* **2004**, *108*, 1990-2001.

(68) Raitsimring, A. M.; Astashkin, A. V.; Baute, D. *Journal of physical chemistry A* **2004**, *108*, 7318-7323.

(69) Micskei, K.; Helm, L.; Brucher, E.; Merbach, A. E. *Inorganic Chemistry* **1993**, *32*, 3844-3850.

(70) Caravan, P.; Farrar, C. T.; Frullano, L.; Uppal, R. *Contrast media & molecular imaging* **2009**, *4*, 89-100.

(71) Helm, L.; Merbach, A. E. *Chemical Reviews* **2005**, *105*, 1923-1959.

(72) Ruloff, R.; Tóth, É.; Scopelliti, R.; Tripier, R.; Handel, H.; Merbach, A. E. *Chemical Communications* **2002**, 2630-2631.

(73) Nonat, A.; Gateau, C.; Fries, P. H.; Mazzanti, M. *Chemistry-A European Journal* **2006**, *12*, 7133-7150.

(74) Lauffer, R. B. *Chemical Reviws* **1987**, *87*, 901-927.

(75) Idée, J. M.; Port, M.; Raynal, I.; Schaefer, M.; Le Greneur, S.; Corot, C. *Fundamental & clinical pharmacology* **2006**, *20*, 563-576.

(76) Bonnet, C. S.; Tóth, É. *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials* **2012**.

(77) Botta, M.; Tei.L *European journal of inorganic chemistry* **2012**, 1945-1960.

(78) Mulder, W. J. M.; Strijkers, G. J.; van Tilborg, G. A. F.; Cormode, D. P.; Fayad, Z. A.; Nicolay, K. *Accounts of chemical research* **2009**, *42*, 904-914.

(79) Hermann, P.; Kotek, J.; Kubíček, V.; Lukeš, I. *Dalton Trans.* **2008**, 3027-3047.

(80) Laurent, S.; Henoumont, C.; Vander Elst, L.; Muller, R. *European Journal of Chemistry* **2012**, 1889-1915.

(81) Lu, Z. R.; Parker, D. L.; Goodrich, K. C.; Wang, X.; Dalle, J. G.; Buswell, H. R. *Magnetic resonance in medicine* **2003**, *51*, 27-34.

(82) Aaron, M.; Wang, X.; Goodrich, K. C.; Zong, Y.; Parker, D. L.; Lu, Z. R. *Bioconjugate chemistry* **2004**, *15*, 1424-1430.

(83) Schmiedl, U.; Ogan, M. D.; Moseley, M. E.; Brasch, R. C. *American journal of roentgenology* **1986**, *147*, 1263-1270.

(84) Lee, H. Y.; Jee, H. W.; Seo, S. M.; Kwak, B. K.; Khang, G.; Cho, S. H. *Bioconjugate chemistry* **2006**, *17*, 700-706.

(85) Sun, G.; Fengb, J.; Jinga, F.; Peia, F.; Liu, M. *Journal of magnetism and magnetic materials* **2003**, *265*, 123-129.

(86) Wen, X.; Jackson, E. F.; Price, R. E.; Kim, E. E.; Wu, Q.; Wallace, S.; Charnsangavej, C.; Gelovani, J. G.; Li, C. *Bioconjugate chemistry* **2004**, *15*, 1408-1415.

(87) Clarkson, R. *Contrast Agents I* **2002**, 201-235.

(88) Zhang, Z.; Greenfield, M. T.; Spiller, M.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B.; Caravan, P. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 6766-6769.

(89) Zhen, M.; Zheng, J.; Ye, L.; Li, S.; Jin, C.; Li, K.; Qiu, D.; Han, H.; Shu, C.; Yang, Y. *Applied Materials & Interfaces* **2012**, *4*, 3724-3729.

(90) Schuhmann-Giampieri, G.; Schmitt-Willich, H.; Frenzel, T.; Press, W. R.; Weinmann, H. J. *Investigative radiology* **1991**, *26*, 969.

(91) Haag, R. *Chemistry-A European Journal* **2001**, *7*, 327-335.

(92) Wiener, E. C.; Brechbiel, M. W.; Brothers, H.; L., M. R.; Gawson, O. A.; Tomalia, D. A.; Lauterbur, P. C. *Magnetic resonance in medicine* **1994**, *31*, 1-8.

(93) Menjoge, A. R.; Kannan, R. M.; Tomalia, D. A. *Drug Discovery Today* **2010**, *15*, 171-185.

(94) Rolland, O.; Turrin, C. O.; Caminade, A. M.; Majoral, J. P. *New Journal of Chemistry* **2009**, *33*, 1809-1824.

(95) Misselwitz, B.; Schmitt-Willich, H.; Ebert, W.; Frenzel, T.; Weinmann, H. J. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* **2001**, *12*, 128-134.

(96) Ye, M.; Qian, Y.; Shen, Y.; Hu, H.; Sui, M.; Tang, J. *journal of material chemistry* **2012**, *22*, 14369-14377.

(97) Andre, J. P.; Toth, E.; Fischer, H.; Seelig, A.; Mecke, H. R.; Merbach, A. E. *Chemistry-A European Journal* **1999**, *5*, 2977-2983.

(98) Nicolle, G. M.; Toth, E.; Eisenwiener, K. P.; Mäcke, H. R.; Merbach, A. E. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2002**, *7*, 757-769.

(99) Grogna, M.; Cloots, R.; Luxen, A.; Jérôme, C.; Passirani, C.; Lautram, N.; Desreux, J. F.; Detrembleur, C. *Polymer Chemistry* **2010**, *1*, 1485-1490.

(100) Tilcock, C.; MacDougall, P.; Unger, P.; Cardenas, D.; Fajardo, L. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Biomenbranes* **1990**, *1022*, 181-186.

(101) Fossheim, S. L.; Fahlvik, A. K.; Klaveness, J.; Muller, R. N. *Magnetic resonance imaging* **1999**, *17*, 83-89.

(102) Terreno, E.; Sanino, A.; Carrera, C.; Castelli, D. D.; Giovenzana, G. B.; Lombardi, A.; Mazzon, R.; Milone, L.; Visigalli, M.; Aime, S. *Journal of inorganic biochemistry* **2008**, *102*, 1112-1119.

(103) Løkling, K. E.; Skurtveit, R.; Dyrstad, K.; Klaveness, J.; Fossheim, S. L. *International journal of pharmaceutics* **2004**, *274*, 75-83.

(104) Wang, T.; Hossann, M.; Reinl, H. M.; Peller, M.; Eibl, H.; Reiser, M.; Issels, R. D.; Lindner, L. H. *Contrast media & molecular imaging* **2008**, *3*, 19-26.

(105) Ayyagari, A. L.; Zhang, X.; Ghaghada, K. B.; Annapragada, A.; Hu, X.; Bellamkonda, R. V. *Magnetic resonance in medicine* **2006**, *55*, 1023-1029.

(106) Terreno, E.; Delli Castelli, D.; Cabella, C.; Dastrù, W.; Sanino, A.; Stancanello, J.; Tei, L.; Aime, S. *Chemistry & biodiversity* **2008**, *5*, 1901-1912.

(107) Briley-Saebo, K. C.; Geninatti-Crich, S.; Cormode, D. P.; Barazza, A.; Mulder, W. J. M.; Chen, W.; Giovenzana, G. B.; Fisher, E. A.; Aime, S.; Fayad, Z. A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113*, 6283-6289.

(108) Lowell, A.; Qiao, H.; Liu, T.; Ishikawa, T.; Zhang, H.; Oriana, S.; Wang, M.; Ricciotti, E.; FitzGerald, G.; Zhou, R.; Yamakoshi, Y. *Bioconjugate chemistry* **2012**.

(109) Aime, S.; Frullano, L.; Geninatti Crich, S. *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, *41*, 1017-1019.

(110) Courant, T.; Roullin, V. G.; Cadiou, C.; Callewaert, M.; Andry, M. C.; Portefaix, C.; Hoeffel, C.; de Goltstein, M. C.; Port, M.; Laurent, S. *Angewandte Chemie International Edition* **2012**, 9119-9122.

(111) Platas-Iglesias, C.; Vander Elst, L.; Zhou, W.; Muller, R. N.; Geraldes, C. F. G. C.; Maschmeyer, T.; Peters, J. A. *Chemistry-A European Journal* **2002**, *8*, 5121-5131.

(112) Sethi, R.; Mackeyev, Y.; Wilson, L. J. *Inorganica Chemica Acta* **2012**, *in press*.

(113) Sitharaman, B.; Wilson, L. J. *Journal of Biomedical Nanotechnology* **2007**, *3*, 342-352.

(114) Ananta, J. S.; Godin, B.; Sethi, R.; Moriggi, L.; Liu, X.; Serda, R. E.; Krishnamurthy, R.; Muthupillai, R.; Bolskar, R. D.; Helm, L. *Nature nanotechnology* **2010**, *5*, 815-821.

(115) Taylor, K. M. L.; Kim, J. S.; Rieter, W. J.; An, H.; Lin, W.; Lin, W. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 2154-2155.

(116) Carniato, F.; Tei, L.; Dastrù, W.; Marchese, L.; Botta, M. *Chemical Communications* **2009**, 1246-1248.

(117) Duncan, A. K.; Klemm, P. J.; Raymond, K. N.; Landry, C. C. *Journal of americain chemical society* **2012**, *134*.

(118) Manus, L. M.; Mastarone, D. J.; Waters, E. A.; Zhang, X. Q.; Schultz-Sikma, E. A.; MacRenaris, K. W.; Ho, D.; Meade, T. J. *Nano letters* **2009**, *10*, 484-489.

(119) Zhang, F.; Huang, X.; Qian, C.; Zhu, L.; Hida, N.; Niu, G.; Chen, X. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2012**, *425*, 886-891.

(120) Alric, C.; Taleb, J.; Duc, G. L.; Mandon, C.; Billotey, C.; Meur-Herland, A. L.; Brochard, T.; Vocanson, F.; Janier, M.; Perriat, P. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 5908-5915.

(121) Park, J.; Reddy, P. A. N.; Kim, H. K.; Kim, I. S.; Kim, G. C.; Chang, Y.; Kim, T. J. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2008**, *18*, 6135-6137.

(122) Sk Md, N.; Kim, H. K.; Park, J.; Chang, Y.; Kim, T. J. *bulletin korean chemical society* **2010**, *31*, 1177-1181.

(123) Moriggi, L.; Cannizzo, C.; Dumas, E.; Mayer, C. R.; Ulianov, A.; Helm, L. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 10828-10829.

(124) Beija, M.; Li, Y.; Duong, H. T.; Laurent, S.; Vander Elst, L.; Muller, R. N.; Lowe, A. B.; Davis, T. P.; Boyer, C. *Journal of Materials Chemistry* **2012**.

(125) Na, H. B.; Hyeon, T. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, *19*, 6267-6273.

(126) Xu, W.; Kattel, K.; Park, J. Y.; Yongmin, C.; Kim, T. j.; Lee, G. H. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 12687-12700.

(127) Caravan, P.; Ellison, J. J.; McMurry, T. J.; Lauffer, R. B. *ChemInform* **1999**, *30*, no-no.

(128) McDonald, M. A.; Watkin, K. L. *Academic radiology* **2006**, *13*, 421.

(129) Hifumi, H.; Yamaoka, S.; Tanimoto, A.; Citterio, D.; Suzuki, K. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 15090-15091.

(130) Dumont, M. F.; Baligand, C.; Li, Y.; Knowles, E. S.; Meisel, M. W.; Walter, G. A.; Talham, D. R. *Bioconjugate chemistry* **2012**, *23*, 954-957.

(131) Evanics, F.; Diamente, P. R.; Van Veggel, F.; Stanisz, G. J.; Prosser, R. S. *Chemistry of materials* **2006**, *18*, 2499-2505.

(132) Fortin, M. A.; Petoral Jr, R. M.; Söderlind, F.; Klasson, A.; Engström, M.; Veres, T.; Käll, P. O.; Uvdal, K. *Nanotechnology* **2007**, *18*, 395501.

(133) Bridot, J. L.; Faure, A. C.; Laurent, S.; Riviére, C.; Billotey, C.; Hiba, B.; Janier, M.; Josserand, V.; Coll, J. L.; Vander Elst, L. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 5076-5084.

(134) Park, J. Y.; Baek, M. J.; Choi, E. S.; Woo, S.; Kim, J. H.; Kim, T. J.; Jung, J. C.; Chae, K. S.; Chang, Y.; Lee, G. H. *ACS nano* **2009**, *3*, 3663-3669.

(135) Guari, Y.; Larionova, J.; Corti, M.; Lascialfari, A.; Marinone, M.; Poletti, G.; Molvinger, K.; Guérin, C. *Dalton Transactions* **2008**, 3658-3660.

(136) Chelebaeva, E.; Larionova, J.; Guari, Y.; Ferreira, R. A. S.; Carlos, L. D.; Trifonov, A. A.; Kalaivani, T.; Lascialfari, A.; Guérin, C.; Molvinger, K. *Nanoscale* **2011**, *3*, 1200-1210.

(137) Basly, B.; Felder-Flesch, D.; Perriat, P.; Billotey, C.; Taleb, J.; Pourroy, G.; Begin-Colin, S. *Chemical Communications* **2010**, *46*, 985-987.

(138) Răcuciu, M.; CreangÄ*f*, D. E.; Airinei, A. *The European Physical Journal E: Soft Matter and Biological Physics* **2006**, *21*, 117-121.

(139) Lee, J. H.; Jun, Y.; Yeon, S. I.; Shin, J. S.; Cheon, J. *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 8340-8342.

(140) Barrera, C.; Herrera, A. P.; Rinaldi, C. *Journal of colloid and interface science* **2009**, *329*, 107-113.

(141) Mornet, S.; Portier, J.; Duguet, E. *Journal of magnetism and magnetic materials* **2005**, *293*, 127-134.

(142) Mornet, S.; Vasseur, S.; Grasset, F.; Duguet, E. *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 2161-2175.

(143) Kattel, K.; Park, J. Y.; Xu, W.; Kim, H. G.; Lee, E. J.; Bony, B. A.; Heo, W. C.; Lee, J. J.; Jin, S.; Baeck, J. S. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2011**, *3*, 3325-3334.

(144) Schwert, D.; Davies, J.; Richardson, N. *Contrast Agents I* **2002**, 165-199.

(145) Zhen, Z.; Xie, J. *Theranostics* **2012**, *2*, 45.

(146) Na, H. B.; Lee, J. H.; An, K.; Park, Y. I.; Park, M.; Lee, I. S.; Nam, D. H.; Kim, S. T.; Kim, S. H.; Kim, S. W. *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 5493-5497.

(147) Shin, J.; Anisur, R. M.; Ko, M. K.; Im, G. H.; Lee, J. H.; Lee, I. S. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 321-324.

(148) Peng, Y. K.; Lai, C. W.; Liu, C. L.; Chen, H. C.; Hsiao, Y. H.; Liu, W. L. **2011**, *5*, 4177-4187.

(149) Taylor, K.; Rieter, W.; Lin, W. *Journal of americain chemical society* **2008**, *130*, 14358-14359.

(150) Resch-Genger, U.; Grabolle, M.; Cavaliere-Jaricot, S.; Nitschke, R.; Nann, T. *Nature Methods* **2008**, *5*, 763-775.

(151) Tu, C.; Ma, X.; Pantazis, P.; Kauzlarich, S. M.; Louie, A. Y. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 2016-2023.

(152) Richardson, N.; Davies, J. A.; Raduchel, B. *Polyhedron* **1999**, *18*, 2457-2482.

(153) Cho, S. J.; Jarrett, B. R.; Louie, A. Y.; Kauzlarich, S. M. *Nanotechnology* **2006**, *17*, 640.

(154) Shokouhimehr M.; Soehnlen E.; Hao J.; Griswold Mark; Flask Chris ; Fan Xudong; Basilion P. James ; Soumitra, B.; Songping, a. H. D. *journal of materials chemistry* **2010**, *20*, 5251-5259.

Chapitre II

Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$: Contrôle de taille et propriétés photomagnétiques

Chapitre II : Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$:Contrôle de taille et propriétés magnétiques

Ce chapitre est consacré à la synthèse des nanoparticules de l'analogue de bleu de Prusse photomagnétique $Cs_x[CoFe(CN)_6]_y$ par stabilisation électrostatique dans l'eau. Cherchant à avoir des tailles ajustables et contrôlées, plusieurs facteurs de synthèse tels que la température, le pH, la stœchiométrie et le solvant ont été étudiés. Les propriétés photomagnétiques de ces nanoparticules ont ensuite été étudiées afin de connaître l'efficacité de la phototransformation à cette échelle. L'un des objectifs ambitieux à terme est de réaliser des mesures de transport sur une monocouche d'objets photocommutables. A ces fins, la mise en forme d'une monocouche des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 12 nm sur une surface HOPG ainsi que la croissance contrôlée sur cette couche d'ancrage a permis la mesure de propriétés photomagnétiques. Enfin, la croissance contrôlée du même réseau jusqu'à une taille de 25 nm a été effectuée afin d'étudier l'influence de la taille sur la réponse magnétique photo-induite.

I. Introduction :

Depuis la découverte fascinante de l'obtention d'une aimantation photo-induite réversible, l'analogue de bleu de Prusse $A_xCo[Fe(CN)_6]_y$ a été l'objet de nombreuses recherches scientifiques. Une multitude d'études expérimentales[1,2] aussi bien que théoriques[3-5] vise à élucider l'origine et les facteurs influençant ce phénomène. Le processus repose sur un transfert métal-métal de l'électron induit par la lumière qui s'accompagne d'un changement de l'état de spin entre les deux sites métalliques du fer vers le cobalt selon le processus Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) → Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) (BS et HS correspondent à l'état bas spin et haut spin respectivement). La quantité de paires diamagnétiques Co^{III}-NC-Fe^{II} est gérée par le taux d'alcalins insérés qui limite les lacunes en hexacyanoferrate au sein du réseau. La réponse photomagnétique, est d'autant plus efficace que le réseau contient de paires photocommutables. Dans le cas du césium Cs^+ toutefois, il a été constaté qu'un taux trop important engendre une rigidité qui ne permet pas au réseau d'accommoder le changement structural lié à la transformation.[6,7] Ces études ont été essentiellement centrées sur les matériaux massifs.

Depuis une petite dizaine d'années, des travaux ont cherché à explorer cet effet photomagnétique à l'échelle nanométrique afin de contrôler l'état de spin de l'objet individuel

par irradiation lumineuse. Ainsi, des efforts considérables ont été dédiés à la synthèse contrôlée des nanoparticules photomagnétiques $A_xCoFe(CN)_6$ dont les plus remarquables sont la synthèse en microémulsion inverse,[8] en présence de polymère organique le poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)[9] ou chitosan,[10] par procédé sol-gel,[11] par confinement dans une silice mésoporeuse,[12] et dans un mélange eau-formamide[13] etc. Ces différentes voies de synthèse reposent essentiellement sur l'utilisation d'une matrice ou d'un agent *stabilisant* qui limite la croissance du réseau. Alternativement, une nouvelle voie de synthèse de nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse a été développée par notre équipe en 2006 se basant sur la stabilisation "spontanée" des particules dans l'eau en favorisant une charge négative par un contrôle de leur stœchiométrie.

Cette voie de synthèse a été adoptée dans ce chapitre pour élaborer ces particules photomagnétiques. Le but est de maîtriser des objets photocommutables de tailles observables (>20 nm) pour pouvoir à terme sonder les propriétés de l'objet unique et de maîtriser leur organisation sur substrats. Les objectifs à atteindre consistent à *(i)* optimiser les conditions de synthèse des nanoparticules photomagnétiques de $CsCoFe(CN)_6$ dans le but d'obtenir la plus petite taille monodisperse, *ii)* greffer les particules les plus homogènes en taille et en forme sur un substrat HOPG et *(iii)* contrôler la croissance des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ au delà de 20 nm.

II.2. Stabilisation électrostatique des nanoparticules :

II.2.1. Stabilisation des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse

La stabilisation spontanée des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse en milieu aqueux a été reportée pour la première fois dans le cadre de la thèse de D. Brinzei. L'addition rapide, à température ambiante sous forte agitation et à faibles concentrations, d'une solution aqueuse de sel de chlorure de nickel $NiCl_2.6H_2O$ (2mM) en présence de deux équivalents de chlorure de césium CsCl (4 mM) sur un volume équivalent d'une solution aqueuse d'hexacyanochromate $K_3Cr(CN)_6.6H_2O$ (2mM) a abouti à la formation de particules de $CsNiCr(CN)_6$ de 6 nm chargées négativement et stables sur plusieurs semaines *via* les forces de répulsions électrostatiques.[14] Bien que la notion de bleu de Prusse "soluble" préexistait, la plupart des analogues n'avaient pas été décrits et les particules obtenues étaient agrégées.

En l'absence d'un mécanisme concernant les réseaux de coordination dans la littérature, la formation de cette catégorie de nanoparticules a été expliquée par les processus de nucléation

et croissance proposé par Lamer pour la formation des particules de soufre.[15] Ce mécanisme gouverne la formation des particules en solution par quatre étapes *(Fig. II-1)*. La première (I) correspond à la formation des précurseurs de charge nulle en solution. Une fois leurs concentrations ayant atteint un degré de sursaturation (C_{min}), les précurseurs se condensent pour former les germes : c'est la nucléation (II). Cette étape étant extrêmement brutale et ne s'arrête que lorsque la vitesse de consommation des précurseurs devient largement supérieure à leur production toujours en continu. A ce stade, la concentration en précurseurs repasse au voisinage de sa valeur critique (C_{min}) donnant relais à l'étape suivante: la croissance (III). Les précurseurs restant en solution diffusent alors sur les germes déjà formés en entraînant l'augmentation de leur taille. La croissance se poursuit jusqu'à ce que la concentration en précurseurs chute vers une valeur seuil de solubilité de la phase solide C*s* à laquelle la nucléation n'a pas eu lieu.

Dans certain cas, le processus se termine par une dernière étape de vieillissement ou « mûrissement d'Ostwald » (IV) qui se manifeste par l'évolution de la taille en fonction du temps. Les petites particules se redissocient à la faveur de la croissance des particules de tailles plus grandes.

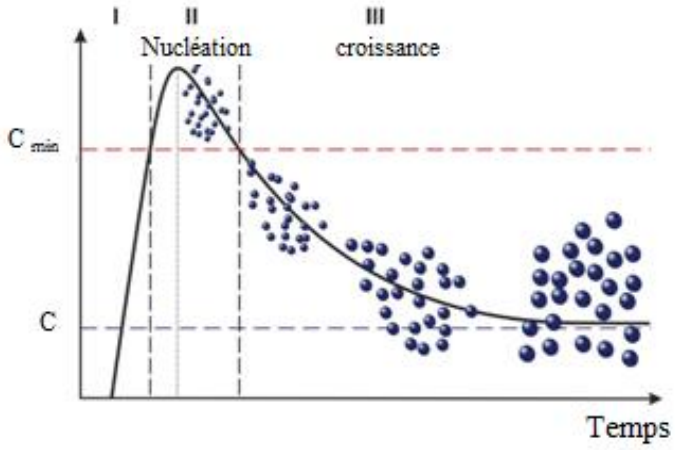


Figure II-1 : Schéma représentatif de l'évolution de la taille et du nombre de particules formées en solution et de la concentration des précurseurs en fonction du temps avec les phases correspondent respectivement à I : formation des précurseurs, II : Nucléation et III : croissance (C et C_{min} sont la concentration à sursaturation et sursaturation critique)

La concentration critique (sursaturation) et la durée de l'étape de nucléation sont donc deux conditions nécessaires à l'obtention d'une étroite distribution de taille. Par conséquent, l'obtention des particules de tailles monodisperses réclame *(i)* une nucléation explosive de très courte durée de sorte qu'une seule étape de formation de germes soit produite et *(ii)* une croissance régulière et absolument découplée de la nucléation.

Comparées aux oxydes et aux métaux, les particules d'analogue de bleu de Prusse présentent plusieurs points de différence. La préparation de ces réseaux fait intervenir deux types des précurseurs chargés, l'anion hexacyanométallate $M'(CN)_6^{3-}$ et le cation du métal divalent hexa-hydraté $M(H_2O)_6^{2+}$ et qui sont introduits et non pas générés en solution. Malgré ces différences, la formation des particules par cette voie de stabilisation spontanée suit le même modèle de la formation des particules en solution. Le mélange brutal favorise une nucléation instantanée en apportant en solution des concentrations élevées en précurseurs suffisantes pour déclencher une germination.

La formation d'un germe $[M^{II}–NC–M'^{III}]_x$ est régi par un mécanisme d'échange dissociatif I_d des molécules d'eau de la sphère de coordination du métal divalent M(II) et décrite par la succession des équations suivantes :

- (1) dimérisation :

$$[(H_2O)_5M^{II} – OH_2]^{2+} \leftrightarrow [(H_2O)_5M^{II}]^{2+} + H_2O$$
$$[(H_2O)_5M^{II}]^{2+} + [NC – M'^{III} – (CN)_5]^{3-} \rightarrow [(H_2O)_5M^{II} – NC – M'^{III}(CN)_5]^{-}$$

- (2) oligomérisation :

$$[(H_2O)_5M^{II} – NC – M'^{III}(CN)_5]^{-} + [(H_2O)_5M^{II}]^{2+} \rightarrow [(H_2O)_5M^{II} – NC – M'^{III}(CN)_5 – M^{II}(H_2O)_5]^{+}$$

$$[(H_2O)_5M^{II} – NC –M'^{III}(CN)_5 –M^{II}(H_2O)_5]^{+} + [NC –M'^{III} – (CN)_5]^{3-} \leftrightarrow [(H_2O)_5M^{II} – NC – M'^{III}(CN)_4 –M^{II}(H_2O)_4 –M'^{III}(CN)_5]^{2-}$$

- (3) formation du germe:

$$[(H_2O)_5M^{II} – NC –M'^{III}(CN)_4 –M^{II}(H_2O)_4 –M'^{III}(CN)_5]^{2-} \rightarrow\rightarrow\rightarrow [M^{II} –NC– M'^{III}]_{n.}\, xH_2O$$

La consommation rapide des précurseurs par formations des germes ($C_{précurseurs} < C_{min}$) empêche toute nucléation ultérieure où seule la croissance se produit. Une fois les germes formés et stabilisés, la croissance démarre par accumulation des précurseurs restants en solution. Au final, les nanoparticules chargées négativement sont obtenues en solution et stabilisées sous forme d'une suspension colloïdale à cause des répulsions électrostatiques.

Cette stabilisation spontanée a été extrapolée à différents analogues de bleu de Prusse. Le *tableau II-1* regroupe les différentes tailles de nanoparticules obtenues en changeant la nature du métal divalent et de l'hexacyanométallate, sans modification des conditions.

	$[Cr^{III}(CN)_6]^{3-}$	$[Fe^{III}(CN)_6]^{3-}$	$[Co^{III}(CN)_6]^{3-}$
Fe^{II}	Précipité (80, à 2°C)	7 ; 30 (2 pics)	40
Co^{II}	40	15	18
Ni^{II}	7	6	6
Cu^{II}	75 (pic large)	55 (pic large)	51 (pic large)

Tableau II-1 : Diamètres hydrodynamiques moyens obtenus pour différents analogues de bleu de Prusse par diffusion dynamique de la lumière (nm) synthétisés par stabilisation spontanée dans l'eau.[16]

Les suivis cinétiques par spectroscopie UV-visible des réactions de formation des différentes nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse ont montré que cette large variation de taille peut différer en fonction de la labilité du métal divalent utilisé.[16] Les particules monodisperses et de petite taille, résultant de l'homogénéisation des précurseurs avant germination, sont obtenues avec le métal le moins labile (cas de nickel (II) ; $\tau \sim 10^4$ s^{-1}). Dans le cas des métaux plus labiles tels que cuivre (II) et le fer (II), une nucléation inhomogène se produit par la formation de germes locaux et aboutit à l'obtention de particules polydisperses et de plus grande taille. Un autre point crucial à la formation des petites particules homogènes est le découplage entre la nucléation et la croissance.

II.2.2. Facteurs influants la taille et l'homogénéité des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$

De nombreuses études concernant l'optimisation de la taille des nanoparticules d'oxydes métalliques en variant les paramètres tels que la température,[17] le pH[18] ou la nature du solvant[19] ont été listées dans la littérature. Cependant, pour les nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse ces études sont très restreintes. A partir de tout ce qui précède, nous allons nous focaliser sur la synthèse des nanoparticules photomagnétiques de l'analogue $CsCoFe(CN)_6$ ayant la plus petite taille et la mieux contrôlée en modulant certaines conditions de synthèse susceptibles d'influencer les processus de nucléation et croissance.

La préparation des particules suit la même voie de synthèse décrite pour les particules $CsNiCr(CN)_6$. Une solution aqueuse contenant 2mM de $CoCl_2$ en présence de 4 mM de CsCl est rapidement ajoutée à un même volume d'une solution d'hexacyanoferrate à 2 mM sous forte agitation. Une solution limpide de couleur violette est alors obtenue indiquant la formation des nanoparticules de $CsCoFe(CN)_6$.

La taille des particules est vérifiée par diffusion dynamique de la lumière et par microscopie électronique à transmission (MET) sur les suspensions colloïdales. Pourtant, les caractérisations chimiques et structurales ainsi que les mesures photomagnétiques nécessitent des poudres. Pour cette raison, les nanoparticules sont récupérées par un tensio-actif chargé positivement, le bromure de cétyltriméthylammonium $C_{19}H_{42}NBr$, représenté dans la *figure II-2*. La solution de nanoparticules est ajoutée goutte à goutte à 3 équivalents de volume d'une solution méthanoïque de CTA à 6 mM puis centrifugée à grande vitesse (8000 tr/min) pendant 10 minutes. Le précipité est ensuite lavé une fois à l'eau et deux fois à l'acétonitrile pour éliminer les éventuelles impuretés de sels de ferricyanure $CTA_3Fe(CN)_6$.

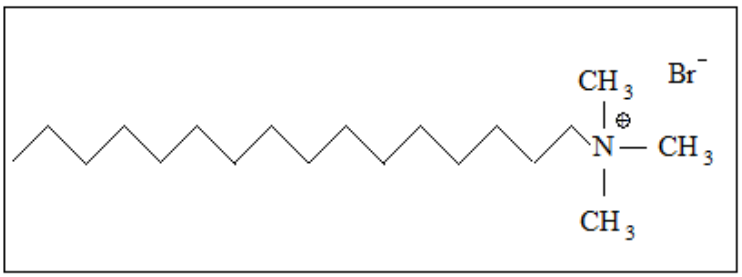


Figure II-2 : Schéma représentative du surfactant CTAB

II.2.2.1. Effet de la température :

Deux synthèses identiques des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ ont été effectuées à température ambiante et à 2˚C respectivement.

II.2.2.1.1.Caractérisation de la taille :

La première évaluation de la taille des particules est obtenue par diffusion dynamique de la lumière (DDL). Cette technique permet de déterminer le diamètre hydrodynamique des particules en suspension en tenant compte d'une couche de solvatation. L'allure du profil de distribution de tailles des particules en volume donne une indication sur la taille et la polydispersité de l'échantillon analysé. D'autre part, la morphologie et la taille sont vérifiées par l'observation des particules par microscopie électronique à transmission MET (Annexe I).

La *figure II-3* représente l'évolution du diamètre hydrodynamique obtenue par DDL et les images MET des particules obtenues à basse et température ambiante.

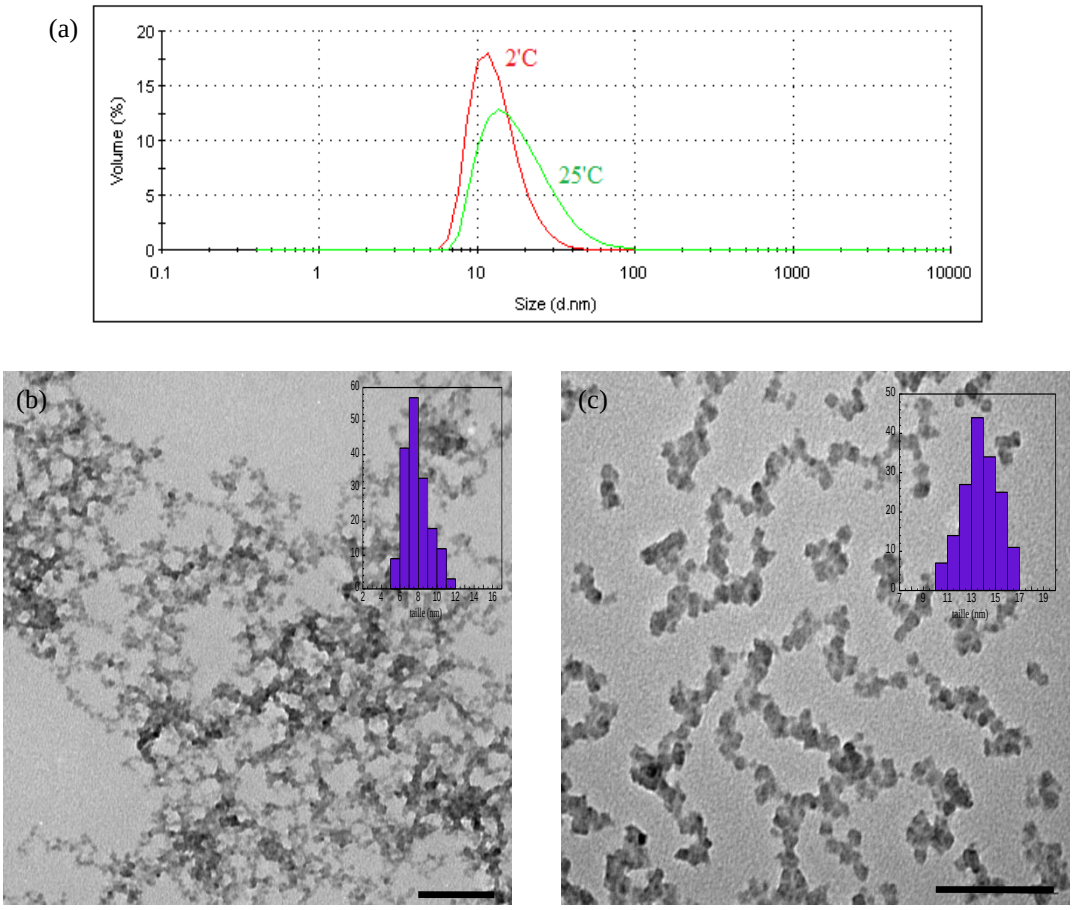


Figure II-3 : Evolution du diamètre hydrodynamique des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ en fonction de la température (a) ; Images MET des particules synthétisés à basse température (b) et à température ambiante (c) (échelle 100 nm)

Les tailles extraites de ces deux techniques sont regroupées dans le *tableau II-1* mettant en évidence une influence de la température sur les dimensions et l'homogénéité des particules. Les résultats montrent que l'abaissement de la température de synthèse conduit à une diminution de la taille avec une distribution plus étroite. La présence d'un pic unique suggère une nucléation homogène sans agrégation des particules, confirmée par l'adéquation avec les tailles estimées en MET.

Température	**Taille en DDL**	**Taille en MET**
25°C	15 nm	13,8 ± 1.6 nm
2°C	11 nm	7,8 ± 1.3 nm

Tableau II-1 : Tailles moyennes des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ obtenues par DDL et par MET en fonction de la température

Les tailles mesurées par DDL sont légèrement surestimées par rapport à celles mesurées par MET ce qui est dû à la présence de la couche de solvatation. Les images MET montrent dans les deux cas des petites particules homogènes autour de 8 nm à 2˚C, contre 14 nm à 25˚C. Il est difficile à ces tailles de mettre en évidence leur morphologie. Un facettage est toutefois visible pour les particules de 14 nm.

D'un point de vue cinétique, l'abaissement de la température a pour conséquence de diminuer la vitesse d'échange des molécules d'eau des ions $Co^{II}(H_2O)_6^{2+}$. La vitesse de formation des germes passant par l'échange de *n* molécules d'eau, est abaissée à basse température, et peut être obtenue dans des conditions plus homogènes. Sur le plan thermodynamique, la constante de formation du réseau est plus élevée à basse température (la liaison Co-NC-Fe est plus stable) et favorise une sursaturation plus importante. La combinaison de ces deux facteurs peut expliquer la meilleure homogénéité obtenue à basse température.

II.2.2.1.2. Caractérisations chimique et structurale :

La structure, la composition chimique et l'état d'oxydation des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ sont vérifiés par diffraction des rayons X sur poudre, spectroscopie infrarouge et analyse élémentaire.

- *Diffraction des rayons X :*

Les diffractogrammes des rayons X sur poudre des nanoparticules préparées à basse et température ambiante présentés dans la *figure II-4* confirment la structure cubique à faces centrées caractéristique des analogues de bleu de Prusse. Les paramètres de maille obtenus sont a = 9,82 (Å) et a= 9,98 (Å) respectivement. Cette valeur est caractéristique de l'état d'oxydation Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS).

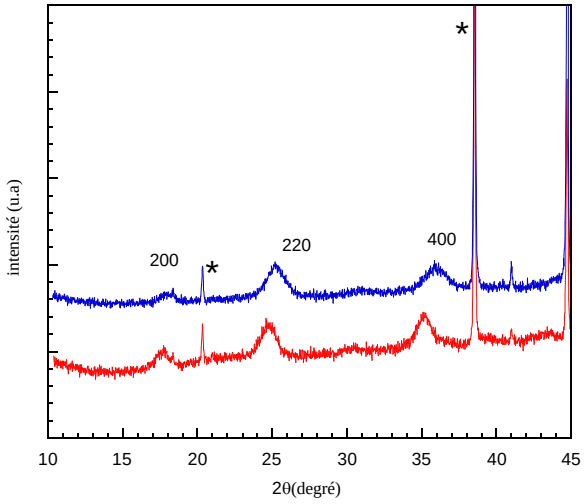


Figure II-4 : Diagramme de diffraction des rayons X sur poudre des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées à température ambiante (rouge) et à 2˚C (bleu). Les pics marqués par (*) correspondent au porte échantillon en aluminium.

L'augmentation de la température induit la diminution de la largeur des pics. La largeur à mi-hauteur extraite des raies les plus intenses (400) permet de calculer la taille des domaines diffractant par l'application de la formule de Scherrer (Annexe I). Les tailles calculées sont de 6,1 nm pour les particules obtenues à basse température et de 11,9 nm pour celles obtenues à température ambiante. Ces valeurs sont légèrement inférieures aux tailles obtenues par MET.

- *Analyse élémentaire :*

Les formules chimiques des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ ont été déterminées à partir des données obtenues par EDX (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy) qui donne les rapports de métaux, ainsi que des analyses élémentaires des éléments C,H et N *(Tab. II-2)*.

	Formule chimique	Masse molaire ($g.mol^{-1}$)
à 25 ˚C	$Cs_{0,62}Co[Fe(CN)_6]_{0,81}.(CTA)_{0,1}.(H_2O)_7$	473
à 2 ˚C	$Cs_{0,62}Co[Fe(CN)_6]_{0,82}.(CTA)_{0,11}.(H_2O)_{7,5}$	484

Tableau II-2: Formule chimique des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées à basse et température ambiante

Les compositions chimiques obtenues pour les deux composés sont quasi-identiques indiquant aucune influence de la température sur la composition des échantillons. Le taux d'insertion du césium par unité de $Co[Fe(CN)_6]_{0.8}$ est de 0,62, cela signifie qu'il y a environ 2.5 atomes de Cs par maille. En dépit de ce taux assez élevé, un taux de lacunes en ferricyanure de l'ordre de 20% est observé au sein des deux composés.

- *Spectroscopie Infrarouge :*

La spectroscopie infrarouge a été effectuée sur des pastilles de nanoparticules (récupérées au CTA) diluées dans une matrice de bromure de potassium KBr. Les spectres enregistrés sont représentés dans la *figure II-5*. Les principales bandes observées correspondent à trois groupements essentiels : O-H (l'eau), C-H (surfactant) et le pont cyanure reliant les deux métaux de transition. Les deux composés présentent la même signature chimique. Ceci montre que la température ne présente aucun effet sur la composition chimique.

Les molécules d'eau sont caractérisées par une large bande à 3640 cm^{-1} caractéristique de la vibration asymétrique des deux liaisons O-H et une seconde bande à 1610 cm^{-1} qui correspond à la déformation de l'angle H-O-H.

L'enrobage des particules par le CTA est repéré par deux bandes de forte intensité à 2850 et 2925 cm^{-1} associées aux élongations symétriques et asymétriques respectivement de la liaison C-H de la chaîne alkylique.

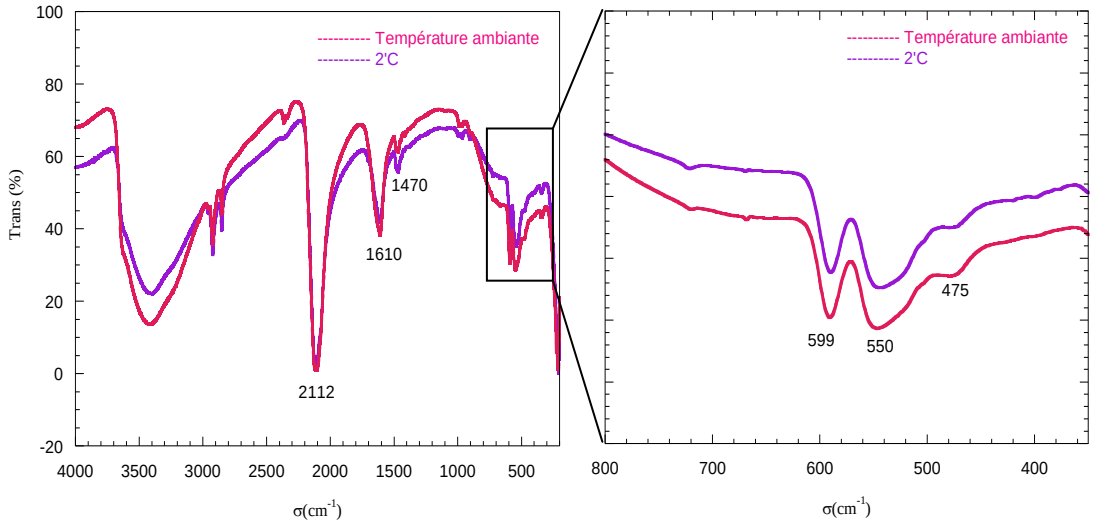


Figure II-5 : Spectres infrarouge des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ en fonction de la température (gauche) avec un zoom sur la zone de basses fréquences (300-800 cm^{-1}) (droite).

La vibration d'élongation asymétrique des cyanures M^{II}-NC-M'^{III} apparaît généralement dans la zone entre 2100 et 2200 cm^{-1}. Dans le cas de l'analogue CoFe, la position de cette bande donne une information fiable sur l'état d'oxydation des paires d'ions la constituant. La bande intense et unique observée à 2112 cm^{-1} montre que la majorité des paires sont diamagnétiques Co^{III}-NC-Fe^{II} dues à l'insertion du césium dans les sites tétraédriques.[20] Cette large bande est légèrement plus basse que celle du composé massif car elle englobe aussi la contribution des paires Co^{II}-CN-Fe^{II} éventuellement formées à 2094 cm^{-1}.

Les vibrations de la liaison métal-carbone situées dans la zone des basses fréquences entre 200-600 cm^{-1} confirment l'état (+II) du Fer *(Fig. II-5 droite)*. Les deux bandes à 599 et 475

cm^{-1} correspondent aux fréquences de vibration $\nu(Fe^{II}\text{-}C)$ et $\delta(Fe^{II}\text{-}CN)$ respectivement et la large bande à 550 cm^{-1} correspond au paire $Co^{III}\text{-}NC\text{-}Fe^{II}$. L'absence de tout pic à 390 cm^{-1}, caractéristique de la liaison Fe^{III}-C, confirme bien que le transfert d'électron est effectif et qu'il ne subsiste plus d'entités ferricyanures.[21]

- *Spectroscopie UV-visible :*

L'état d'oxydation des paires d'ions constituant les nanoparticules de l'analogue $CsCoFe(CN)_6$ est également mis en évidence par spectroscopie UV-visible. Les spectres enregistrés sur les solutions colloïdales à 1mM et de couleur violette *(Fig. II-6)*, sont identiques et caractérisés par une large bande d'intervalence à 530 nm. Cette bande correspond au transfert de charge métal-métal correspondant au passage de l'état $Co^{III}\text{-}NC\text{-}Fe^{II}$ à l'état $Co^{II}\text{-}NC\text{-}Fe^{III}$.

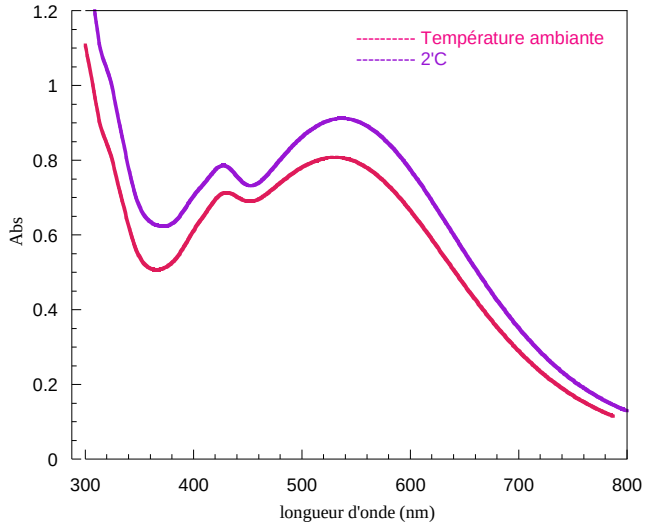


Figure II-6 : Spectres UV-vis des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées à basse (violet) et température ambiante (rose)

La bande observée à 430 nm est caractéristique du transfert de charge métal-ligand du précurseur ferricyanure $K_3[Fe(CN)_6]$ et suggère sa présence en solution.

II.2.2.2. Effet de la stœchiométrie et du pH:

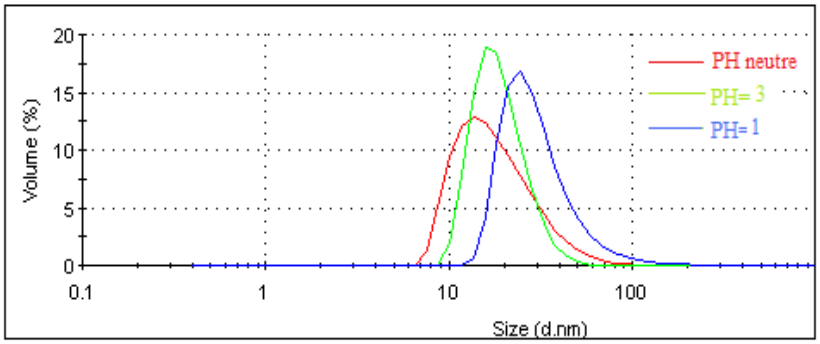
Une solution envisagée pour éliminer l'excès de ferricyanure en solution (qui peut coprécipiter avec l'ajout du CTAB) était de réduire sa quantité introduite en milieu réactionnel à 0,8 équivalent par rapport à 1 équivalent de Co^{II}. Par ailleurs, certaines synthèses du massif de l'analogue A_xCoFe décrites dans la littérature recommandent un pH acide pour limiter la formation des paires $Co^{II}\text{-}NC\text{-}Fe^{II}$.[1,22,23] Ainsi, une synthèse a été testée à pH=3 et tout en réduisant la quantité de ferricyanure.

Deux séries de nanoparticules ont été alors préparées : la **série 1** avec un rapport [Co : Fe] égale à [1 :1] et **série 2** avec un rapport [1 :0.8], à trois différentes valeurs de pH (neutre, pH=3 et pH=1). Le pH initial des solutions aqueuses de précurseurs a été ajusté avec une solution diluée d'acide nitrique. Le mélange s'est toujours effectué à température ambiante et sous forte agitation. Les solutions obtenues sont toutes limpides et de couleur violette.

II.2.2.2.1.Caractérisation de la taille (DDL et MET) :

Pour l'ensemble de ces expériences, l'évolution de la taille des particules a été suivie par DDL. Les distributions de taille en volume illustrées dans la *figure II-7* montrent que les particules n'ont pas la même taille, ni la même homogénéité en fonction du pH et de la stœchiométrie en hexacyanoferrate. Les tailles obtenues sont regroupées dans le *tableau II-3*.

(a)



(b)

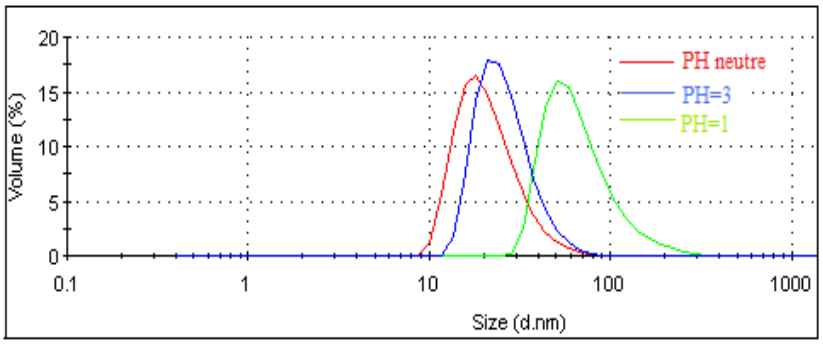


Figure II-7 : Distributions de taille mesurées par DDL des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ en fonction du pH pour un rapport [Co:Fe] (a) [1:1] et (b) [1:0.8]

Stœchiométrie [Co/Fe]		**Série 1** [1/1]	**Série2** [1/0.8]
pH	Neutre	14	18
	3	15	21
	1	24	50

Tableau II-3 : Diamètres hydrodynamiques obtenues par DDL des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ issues des différentes synthèses

Les résultats montrent que de la taille des particules augmente en réduisant la quantité de ferricyanure à 0.8 équivalent par rapport au Co^{II}. Concernant l'effet du pH, les particules obtenues sont d'autant plus grandes que la solution est plus acide. Pourtant cette augmentation n'est pas linéaire entre les deux séries. A titre exemple, pour un rapport Co/Fe [1:1] la taille augmente de 15 nm à 24 nm en passant de pH=3 à pH=1 alors qu'elle est double presque en présence de 0.8 équivalent de ferrocyanure (21 nm à 50 nm). Ces observations mettent en évidence un effet du pH seul, de la stœchiométrie seule et des deux combinés sur la formation des particules.

A noter que seules les particules préparées avec le rapport Co/Fe [1:1] et à pH neutre (conditions généralement utilisées) restent stables en solution sur une longue durée (plusieurs mois). Les autres particules issues de différentes synthèses perdent leur stabilité au-delà de 72h et tendent à s'agréger puis précipiter.
La dispersion et la stabilité dans le temps d'une suspension colloïdale est régie par un équilibre entre les forces attractives de Van der Waals et les forces électrostatiques répulsives.[24] Sachant que cette méthode de synthèse est basée sur les répulsions électrostatiques inter-particulaires, une charge négative suffisamment importante, par excès de cyanures à la surface des particules, est fortement recommandée. Pour les particules de la **série 2**, la réduction de la quantité de ferricyanure engendre une surface faiblement chargée négativement, comparée à celle des particules préparées dans les conditions standards, ce qui favorise leur agrégation par dominance des forces attractives.
La stabilisation des particules est par ailleurs très sensible à la force ionique de la solution. Dans un milieu acide, les molécules d'eau coordinées aux Co^{II} de la surface des particules peuvent être progressivement protonées à l'instar de ce qui se produit sur d'autres systèmes.[25] Au fur et à mesure, la charge positive engendrée neutralise la charge négative des cyanures non pontants jusqu'à ce que la charge moyenne de la surface devienne nulle (point de charge nulle) et les particules s'agrègent puis précipitent par disparition des répulsions électrostatiques.

Pour accéder à la taille réelle, les particules $CsCoFe(CN)_6$ des deux séries à pH=3 et pH=1 ont été observées par microscopie électronique. Les images présentées dans la *figure II-8* mettent en évidence une forme cubique pour toutes les particules et relativement mieux contrôlée en présence d'un excès de ferricyanure (**série 1**). La diminution de pH permet toutefois d'obtenir

des particules mieux facettées. Les tailles obtenues sont en bon accord avec les tailles obtenues par DDL *(Tab. II-4)* avec une distribution de taille relativement homogène.

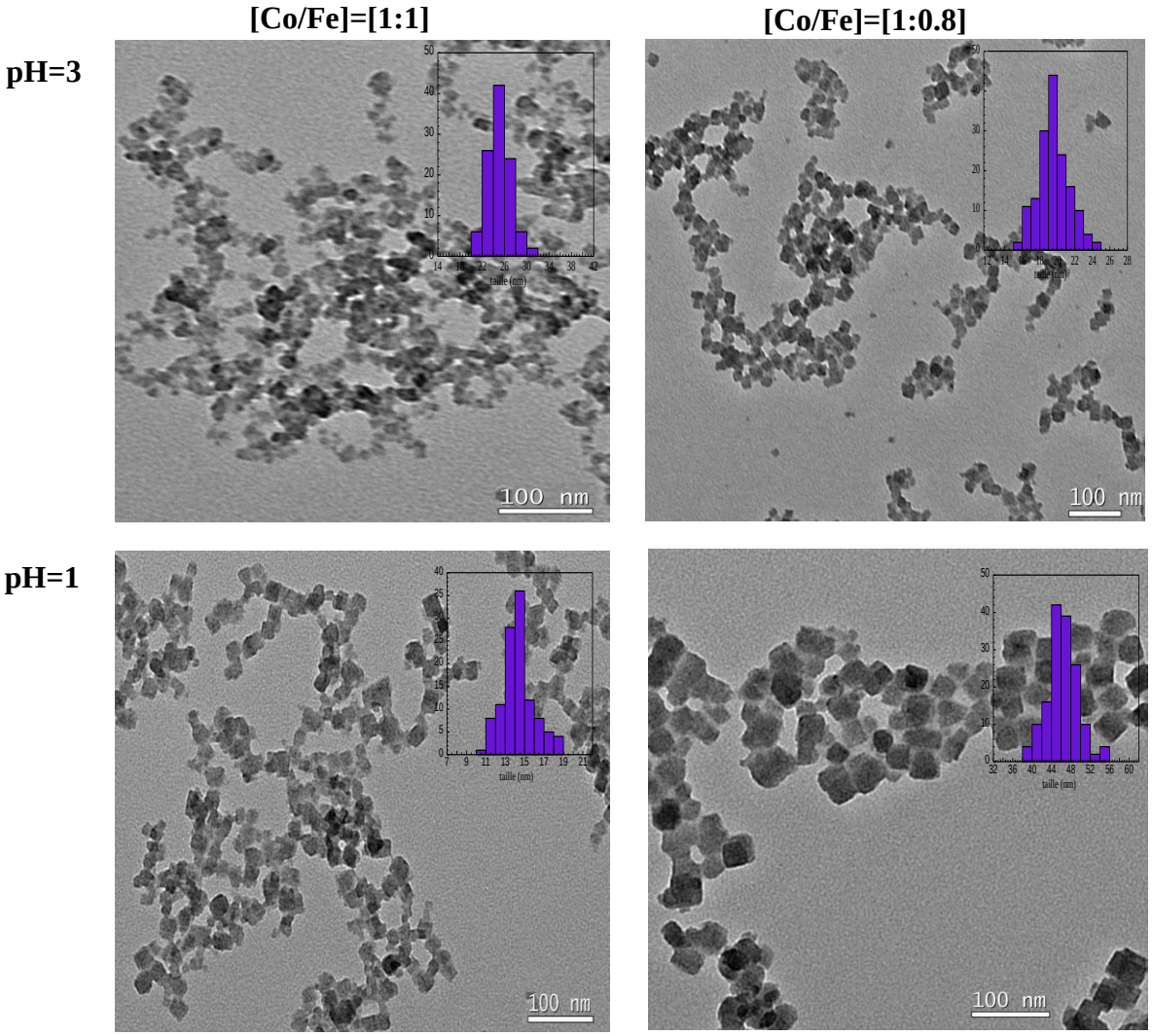


Figure II-8 : Images MET des particules $CsCoFe(CN)_6$ des séries **1** et **2** préparées à pH =3 et pH=1 (échelle 100 nm)

Stœchiométrie [Co/Fe]		Série 1 [1/1]	Série 2 [1 0.8]
pH	Neutre	13,8 ± 1,6	13,5 ± 2,6
	3	14,6 ± 2	19,5 ± 1,8
	1	25,1 ± 2,2	45,8 ± 4

Tableau II-4 : Tailles moyennes et distributions des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ obtenues par MET

Une augmentation de la taille est observée lorsqu'on diminue la stœchiométrie en fer à pH acide. A pH neutre, la taille moyenne reste identique avec une augmentation légère de la

distribution en tailles. L'explication de la variation de la taille réside dans l'effet du pH et de l'hexacyanometallate sur la nucléation des particules. En réduisant la concentration du ferricyanure, la sursaturation de la solution en précurseurs diminue et le nombre de germes formés est plus petit. L'incorporation du reste de la matière s'effectue alors sur un petit nombre de germes ce qui conduit à une augmentation de la taille des particules. Cet effet est encore plus favorisé à faible pH. L'écrantage des répulsions entre particules par les protons ou la faible charge des particules due à une protonation des molécules d'eau liées aux cobalt de surface peut induire une agrégation contrôlée des particules primaires conduisant à une taille plus grande.

II.2.2.2.2.Caractérisations spectroscopiques :

Les spectres infrarouge des particules de la **série 1** présentent la même bande caractéristique à 2114 cm^{-1} *(Fig. II-9)*. Pourtant, cette bande devient plus étroite quand le milieu est plus acide confirmant une diminution de la formation des paires Co^{II}-NC-Fe^{II}.

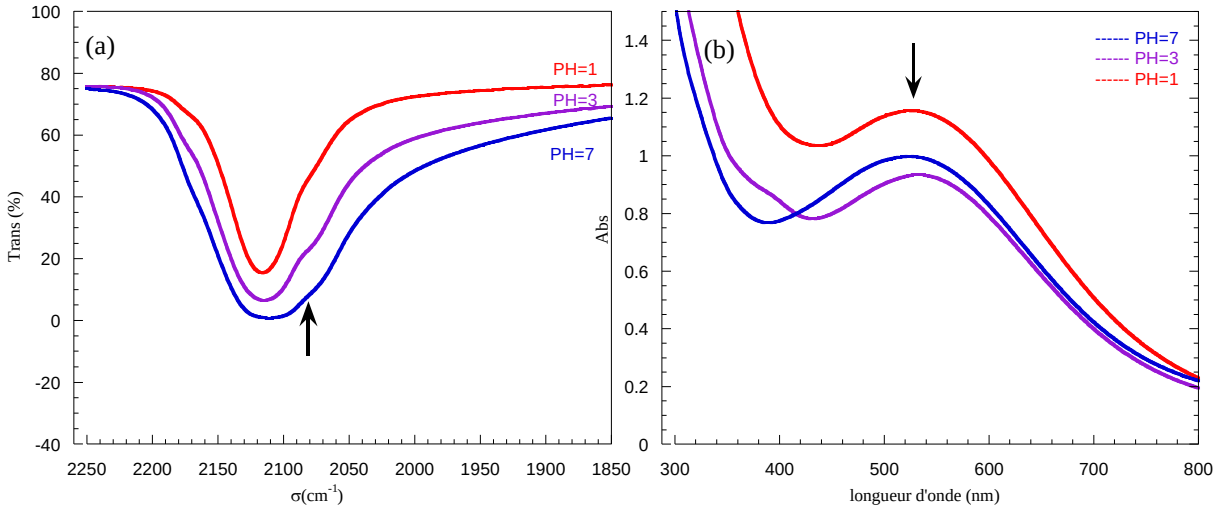


Figure II-9 : (a) Spectres IR des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de la **série 1** ([Co:Fe]=[1:1]) ; (b) spectres UV-Vis de la **série 2** ([Co:Fe]=[1:0.8]) préparées à différents PH

La signature spectroscopique du transfert de charge métal-métal du Fe^{II} vers le Co^{III} est toujours observée quel que soit le pH de la solution par sa large bande caractéristique à 530 nm comme pour les particules de la **série 2** *(Fig. II-8b)*. L'absence de toute bande à 420 nm implique que l'excès de ferricyanure a bien été réduit en diminuant la stœchiométrie Fe : Co à 0,8.

Malgré leur influence cruciale sur la taille, ni la variation de pH ni la réduction de la quantité de ferricyanure n'influencent la valence des particules $CsCoFe(CN)_6$. Toutefois, l'état d'oxydation Co^{III}-CN-Fe^{II} est conservé.

II.2.2.3. Effet du solvant :

La formation des particules a été aussi explorée au sein de plusieurs mélanges eau-solvant. Le méthanol, l'éthanol et l'acétone ont été sélectionnés à cause de leur constate diélectrique élevée. Une faible fraction de solvant est utilisée avec un rapport $V_{eau}/V_{co\text{-}solvant}$ égal à 5. Vu la très faible solubilité de l'hexacyanoferrate dans les solvants organiques, cette proportion est ajoutée sur la solution aqueuse contenant le chlorure de cobalt et le césium. Le mélange s'est effectué à température ambiante, à pH neutre et avec un rapport [Co:Fe] équimolaire.
Dans le cas de l'éthanol, la solution s'est immédiatement troublée, suggérant une rapide agrégation des particules. Par contre des solutions limpides de couleur brun orangé et violette sont respectivement obtenues dans le cas du méthanol et de l'acétone.

II.2.2.3.1.Caractérisation de taille par DDL et MET :

La *figure II-10* présente le diamètre hydrodynamique des particules $CsCoFe(CN)_6$ obtenues dans les différents mélanges mesuré par diffusion de la lumière.

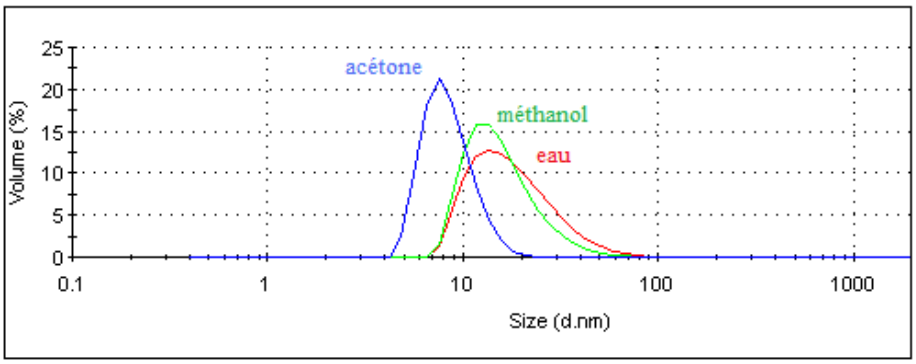


Figure II-10 : Diamètres hydrodynamiques mesurées par DDL des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans un mélange eau-acétone (bleu), eau-méthanol (vert) et dans l'eau seul (rouge)

Comparées aux particules de 13 nm préparées dans l'eau seule, les mesures de taille montrent qu'une plus petite taille de 7 nm et fortement homogène (distribution étroite de taille en volume) est obtenue par l'introduction d'une petite proportion d'acétone. Aucun changement de taille moyenne n'est observé dans le cas du méthanol (13nm), pourtant les particules semblent être légèrement plus homogènes.

L'observation des particules par microscopie électronique n'est pas conforme aux résultats obtenus par DDL. Les images montrent de très petites particules quelle que soit la nature du cosolvant utilisé (acétone ou méthanol) *(Fig. II-11).* Les tailles mesurées sont 6.3 ± 1.1 nm dans l'acétone et 6.2 ± 0.8 nm dans le méthanol respectivement. Une morphologie bien

définie des nanoparticules est toutefois difficile à être mise en évidence à cause de leur petite taille et leur faible contraste.

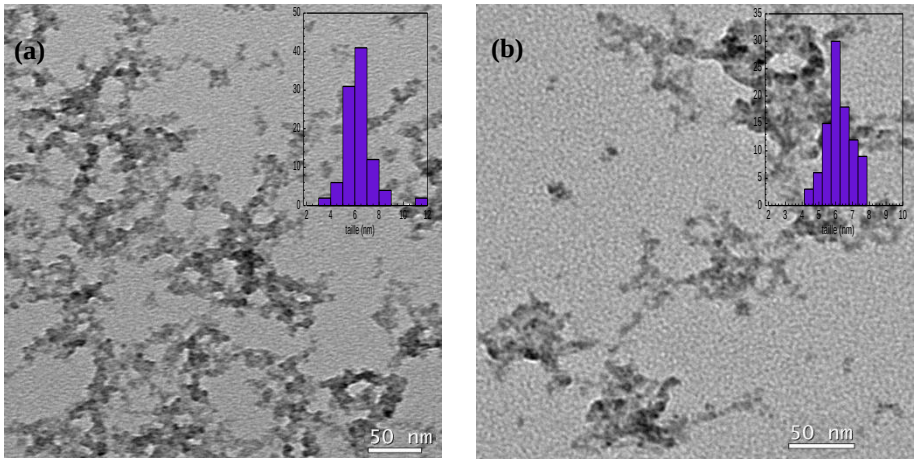


Figure II-11 : Cliché MET des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans un mélange eau-acétone (a) et eau-méthanol (b) (échelle 50 nm)

Dans le cas du méthanol, la différence entre la taille mesurée par DDL (13 nm) et celle observée en MET (6 nm) peut être expliquée par une éventuelle agrégation de quelques particules, mais plus probablement à l'approximation consistant à prendre les paramètres de l'eau (viscosité) pour l'ajustement en DDL.

Dans l'ensemble, l'addition d'une petite fraction de méthanol ou d'acétone en tant que cosolvant à la réaction aboutit à une taille plus petite et monodisperse. S. Ayyapan et al. ont corrélé le changement de taille des nanoparticules dans des mélanges eau-solvant à la variation de la constante diélectrique du milieu.[26] Conformément à la théorie de nucléation classique, la formation des nuclei est fortement dépendante de la sursaturation de la solution S (avec $S= C/C_L$ où C est la concentration du précurseur en solution et C_L est la solubilité de la phase solide). Or C_L est d'autant plus grand que la constante diélectrique du milieu est plus élevée. Dans les mélanges eau-méthanol ou eau-acétone, la constance diélectrique du milieu diminue (à 25 ˚C les constantes diélectriques de l'eau, de l'acétone et du méthanol sont 80, 20 et 32 respectivement) ceci induit une diminution de C_L et par conséquence une augmentation de S. Cette sursaturation plus importante induit l'augmentation de la vitesse de nucléation et au final l'obtention des particules de tailles plus petites.

D'un point de vue cinétique, l'échange de la molécule d'eau de la première sphère de coordination entre l'ion divalent et le solvant dépend fortement de l'effet σ et π donneur et du solvant dans le cas des métaux de transition. Or, l'acétone et le méthanol, ayant un caractère

donneur, diminuent la labilité du Co^{II}. Le remplacement des molécules d'eau par des molécules de MeOH diminue la vitesse d'échange des molécules du solvant de 3,6 x 10^6 pour $[Co(H_2O)_6]^{2+}$ à 1,8 x 10^4 pour $[Co(MeOH)_6]^{2+}$ respectivement.[27] Ceci peut permettre une meilleure homogénéisation des précurseurs en solution lors du mélange ce qui est favorable à l'obtention de particules de tailles homogènes.

II.2.2.3.2.Caractérisations spectroscopiques : mise en évidence de l'influence du solvant sur la valence des particules

- *Spectroscopie UV-visible :*

Outre son influence sur la taille, un effet supplémentaire sur l'état d'oxydation du CoFe a été observé dans le cas du méthanol. Dans une première observation, la couleur orangée obtenue sur la solution colloïdale des nanoparticules préparées dans l'eau-méthanol laisse présumer un transfert d'électron incomplet du Co^{II} vers le Fe^{III} malgré l'excès de césium introduit en solution. Cette observation a été vérifiée par spectroscopies UV-visible et IR.

Les spectres UV-Vis enregistrés sur les solutions colloïdales des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ dans différents mélanges sont présentés dans la *figure II-12*.

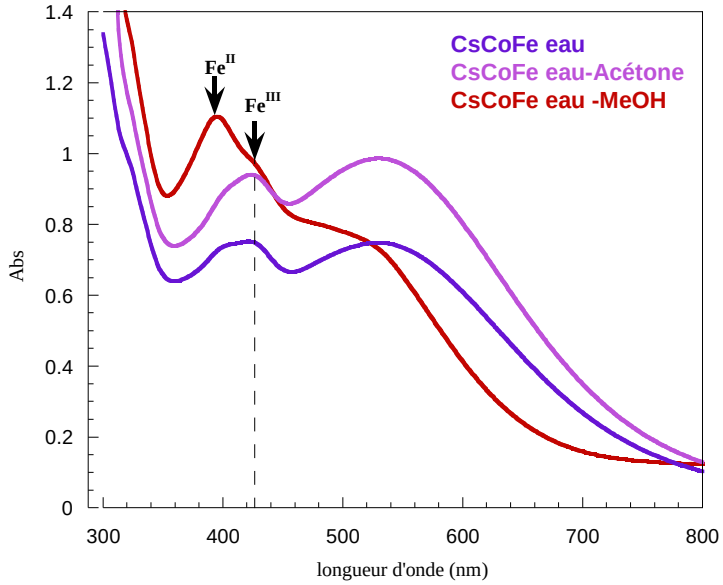


Figure II-12 : Spectre UV-Vis des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans l'eau (violet), dans un mélange eau-acétone (mauve) et eau-méthanol(orange)

Les particules préparées dans un mélange eau-acétone possèdent la même signature spectroscopique que celles préparées dans l'eau avec l'apparition de la bande d'intervalence à 530 nm caractéristique de l'état Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS). En revanche, le spectre obtenu dans le mélange eau-méthanol est notablement différent. La bande la plus intense est observée à 393

nm et correspond au transfert de charge métal-ligand des entités $[Fe(CN)_6]^{3-}$ [20] Sa présence indique une prédominance de paires Co^{II}-NC-Fe^{III}.

- *Spectroscopie infrarouge :*

Les spectres infrarouge des poudres de nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ récupérées au CTA sont représentés sur la *figure II-13*.

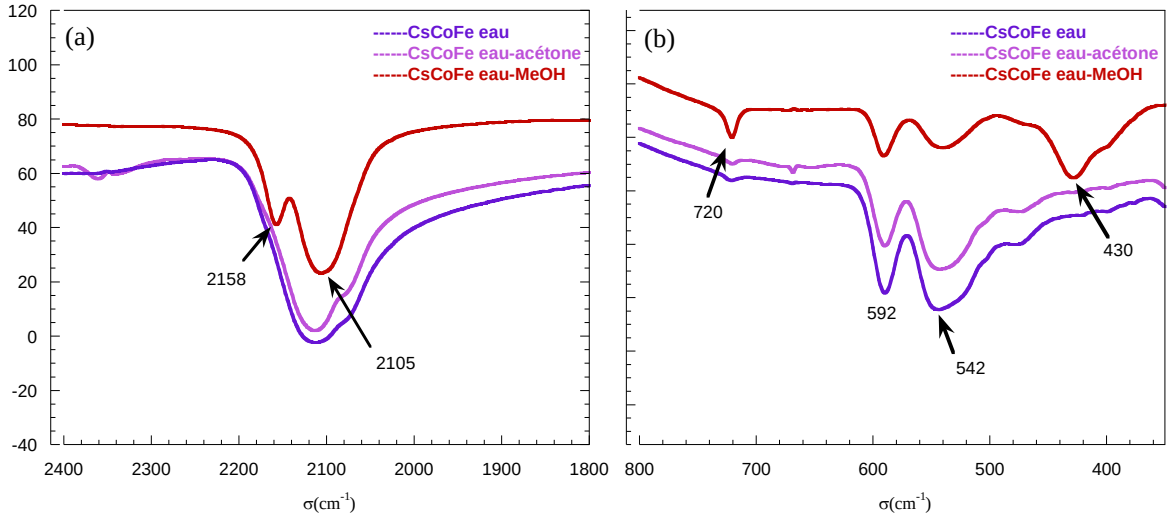


Figure II-13 : Spectres infrarouge des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans l'eau (violet), mélange eau-acétone (mauve) et eau-méthanol (marron) dans la zone des hautes (a) et basses fréquences (b)

Le spectre des particules préparées en présence d'acétone est similaire à celui des particules obtenues dans l'eau seulement avec une large bande à 2112 cm^{-1} caractéristique de l'élongation des cyanures au sein des paires Co^{III}-NC-Fe^{II}. Toutefois la présence des paires Co^{II}-NC-Fe^{II} est indiquée par le petit épaulement à 2098 cm^{-1}. Dans le cas du méthanol, la bande asymétrique des cyanures pontants à 2105 cm^{-1} indique une grande proportion des paires Co^{II}-NC-Fe^{II}. Une bande supplémentaire est observée à 2158 cm^{-1} et correspond à la vibration des cyanures pontants ayant l'état d'oxydation Co^{II}-NC-Fe^{III}.[20] Ceci est corroboré par la bande à 430cm^{-1}, obtenue dans la zone des basses fréquences, caractéristique de l'élongation de la liaison Fe^{III}-C. Ceci reflète que les particules obtenues dans le cas du méthanol contiennent une majorité de paires Co^{II}-NC-$Fe^{II/III}$. En d'autres termes, ces résultats montrent que le transfert de charge induit par le césium a été partiellement affecté par la présence du méthanol.

Une première hypothèse pour expliquer l'effet du méthanol a été de considérer une éventuelle variation de la composition du réseau qui peut influencer le champ du ligand de l'ion cobalt. Généralement, pour une structure peu lacunaire favorisée par la présence d'alcalin, les ions Co(II) sont entourés par 5 azotes et un oxygène d'une molécule d'eau.[6] La structure du réseau est alors rigide avec des enchaînements Co-NC-Fe linéaires, les couplages orbitalaires entre

Co et les NC sont forts et l'état bas spin des ions est alors stabilisé.[28] Alors qu'en présence de lacunes, le réseau est suffisamment flexible avec une stabilisation de l'état Co^{II}(HS). Or, le rapport Co/Fe obtenu par EDS pour les particules préparées en présence de méthanol est identique à celui des particules préparées dans l'eau *(Tab. II-5)* avec un même taux de lacunes de l'ordre de 20%. Cette hypothèse est donc inappropriée.

	Cs/Co	Fe/Co
Eau-méthanol	0,43	0,82
Eau	0,6	0,82

Tableau II-5 : Rapports des métaux obtenus par EDS pour les nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans l'eau et dans un mélange eau-méthanol.

Cependant, le rapport Cs/Co est inférieur à la valeur habituellement obtenue dans l'eau ce qui indique que l'insertion de césium dans le réseau est limitée en présence de méthanol. Bleuzen et al. ont reporté que la formation des paires photomagnétiques Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) est un phénomène local et privilégié aux ions voisins de l'alcalin où seuls les atomes de Co sont impliqués dans le transfert de charge. Ainsi il dépend de la localisation du césium au sein du réseau.[29] De ce fait, les paires CoFe localisées au voisinage des tétraèdres déficitaires en césium ne subissent pas le transfert d'électron ce qui explique la présence des paires Co^{II}-NC-Fe^{III}. D'autre part, il est possible qu'en présence du méthanol, le césium adapte sa position aux extrémités lacunaires et non pas aux centres des tétraèdres. A cette position, il interagit avec les trois atomes d'oxygène des molécules d'eau des trois ions Co^{II} et les six ponts cyanure voisins. Les liaisons Co-NC-Fe sont alors coudées ce qui affaiblit les couplages orbitalaires entre le Co et les azotes NC et un état Co^{II}(HS) est alors favorisé.

Ainsi, en présence d'acétone les nanoparticules CsCoFe sont diamagnétiques avec une majorité des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} tandis qu'un mélange est obtenu en présence du méthanol. Nous avons cherché à générer un transfert d'électron par chauffage des nanoparticules faites dans le méthanol dans l'objectif de générer plus de paires photo-actives. L'idée initiale était que le méthanol (présent dans le réseau) bloquait le transfert et que sa suppression au sein du réseau permettrait l'obtention de paires Co^{III}-NC-Fe^{II}. Ceci était corroboré par des études qui montraient que le chauffage de l'analogue CoFe s'accompagnait d'un transfert interne d'électron où des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} stables étaient formées sans décomposition des ferrocyanures.[30] Ainsi, la poudre des particules $CsCoFe(CN)_6$ à valence mixte (couleur marron) préparée dans l'eau-méthanol et récupérée au CTA a été chauffée à 100˚C dans

l'étuve pendant 4h. La *figure II-14* montre les spectres infrarouge des nanoparticules avant et après chauffage.

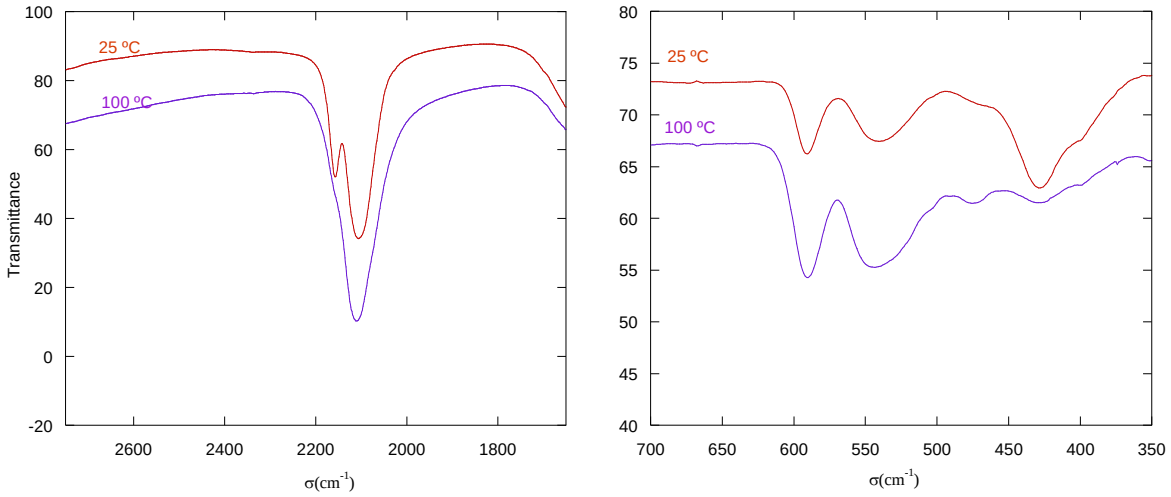


Figure II-14 : Spectres infrarouge dans les zones des hautes (a) et des basses fréquences (b) des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans un mélange eau-méthanol à température ambiante (marron) et après chauffage à 100 ºC (violet)

Le chauffage provoque plusieurs modifications du spectre. Dans la zone 1800-2600 cm^{-1}, la bande de vibration des paires Co^{II}-NC-Fe^{III} a disparu à la faveur de l'élargissement de la bande à 2104 cm^{-1} résultant de la contribution des paires Co^{II}-NC-Fe^{II} majoritaires et Co^{III}-NC-Fe^{II}. A basses fréquences, la vibration Fe^{III}-C a disparu alors que l'intensité des bandes de vibration de la liaison Fe^{II}-C à 590 et 470 cm^{-1}est devenue plus grande. Ceci met en évidence la réduction des ferricyanures en ferrocyanures. Par ailleurs, en examinant les spectres IR avant et après chauffage, une bande à 720 cm^{-1} correspondant à la vibration (C-O) du méthanol disparait.

Bien que les ferricyanures soient réduits, un transfert d'électron thermo-induit ne peut être considéré dans notre cas. L'augmentation observée de l'intensité de la bande à 2104 cm^{-1} n'est pas due à la génération de nouvelles paires de Co^{III}-NC-Fe^{II} mais à la formation des paires Co^{II}-NC-Fe^{II} ayant un fort coefficient d'absorption. Ceci est confirmé par UV-visible *(Fig. II-15)* car ce n'est pas l'intensité de la bande de transfert de charge Co^{III}-NC-Fe^{II} qui augmente mais celle du transfert Co^{II}-NC-Fe^{III} qui diminue.

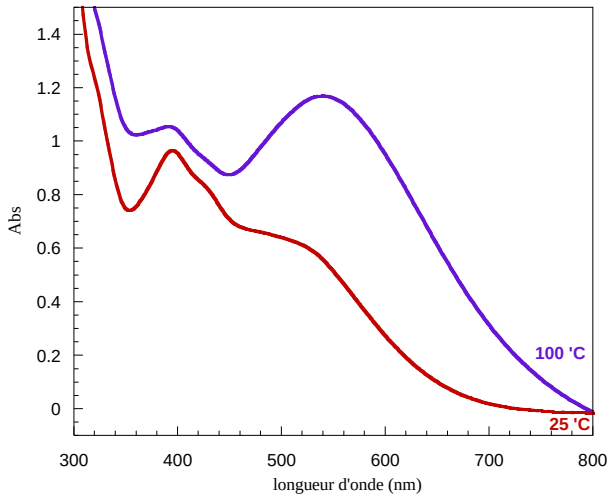


Figure II-15 : Spectres UV-vis des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans un mélange eau-méthanol à température ambiante (marron) et après chauffage à 100 ºC (violet)

La présence de méthanol au sein du réseau nous conduit à émettre l'hypothèse d'une réduction des ferricyanures par celui-ci à hautes températures, conduisant à du formaldéhyde volatile. L'absence de transfert efficace conduisant à une majorité des paires Co^{II}-NC-Fe^{III} peut s'expliquer par la présence de méthanol qui limite la quantité d'alcalin incorporé et sans doute la localisation de ceux-ci au sein des lacunes. La variation du champ du ligand autour du Co^{II} peut également être invoquée.

II.2.2.4. Conclusion :

Dans cette étude, nous avons préparé des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ par stabilisation spontanée dans l'eau sans aucun additif. La taille et l'homogénéité des nanoparticules s'est avérée très sensible aux variations de certains paramètres de synthèse tels que la température, le pH, la stœchiométrie et la nature du solvant. Nous sommes parvenus à synthétiser des particules homogènes de 8 nm obtenues à basse température (2 ºC) dans l'eau. En milieu acide et en réduisant la quantité de ferricyanure, la taille des particules formées est plus grande et moins homogène. Enfin, la synthèse testée dans des mélanges eau-méthanol et eau-acétone a abouti à de petites particules homogènes dans les deux solvants. Les changements de tailles observés sont reliés à l'influence des différents paramètres de synthèse sur la sursaturation qui à son tour affecte significativement les vitesses de nucléation. En dehors de la synthèse en présence de méthanol, le transfert d'électron induit par l'alcalin est obtenu dans tous les cas conduisant à des paires photoactives Co^{III}-NC-Fe^{II}.

II.2.3. Etude des propriétés photomagnétiques :

Après avoir étudié l'effet des différents paramètres sur la taille, nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés photomagnétiques de ces nanoparticules. Seules les particules de 7 nm et 14 nm synthétisées dans l'eau (à basse et température ambiante respectivement) ont été étudiées. Les mesures photomagnétiques ont été effectuées au laboratoire sur un magnétomètre SQUID (superconductor Quantum Interference Device) MPMS 5S fonctionnant en mode statique (dc) couplé à un faisceau laser qui est connecté à une fibre optique permettant de transmettre le faisceau à l'intérieur de la cavité du SQUID. L'échantillon est positionné à 4 cm du bout de la fibre. Pour un maximum de photo-transformation, une petite masse (~1mg) de la poudre des particules récupérées au CTA est étalée sur un support en carton à scotch double face. La pastille est ensuite scotchée par-dessus pour éviter toute orientation des particules. Les mesures magnétiques ont été effectuées sur les échantillons avant irradiation, après irradiation à 642 nm pendant 2h à 10 K puis après réchauffement à 300 K.

II.2.3.1.Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de taille 7 nm:

La *figure II-16* représente un suivi cinétique de l'aimantation en fonction du temps d'irradiation des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 7 nm préparées dans l'eau.

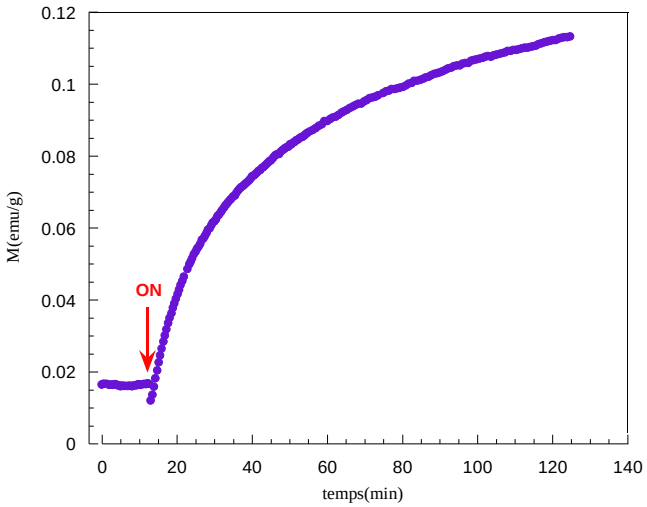


Figure II-16 : Evolution de l'aimantation des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ en fonction du temps sous irradiation à 10K et sous un champ de 30G

Avant irradiation, l'aimantation est très faible en raison de la présence majoritaire des paires $Co^{III}(t_{2g}^6e_g^0;S=0)$-NC-$Fe^{II}(t_{2g}^6e_g^0;S=0)$ diamagnétiques et de $Co^{II}(t_{2g}^5e_g^2;S=3/2)$ paramagnétique. L'exposition de l'échantillon à la lumière induit une augmentation de

l'aimantation par génération photo-induite des paires ferrimagnétiques Co^{II} ($t_{2g}^5e_g^2$; S=3/2)-NC-Fe^{III} ($t_{2g}^5e_g^0$; S=5/2). Cette augmentation tend vers un état stationnaire au-delà de 100 min. Il est difficile d'obtenir une photo-transformation totale en raison d'une répartition inhomogène et parfois épaisse de la poudre sur le support. Sachant que le processus de photo-excitation a un caractère « frontal », la forte absorption de la lumière par la première couche, jusqu'à saturation, diminue son intensité. La seconde couche est par conséquent partiellement phototransformée et les couches les plus profondes restent non irradiées.[1] Il est à noter qu'après irradiation à 10K, il est indispensable de réchauffer le composé à une température supérieure à la T_c pour s'affranchir à l'état de « photo-excitation brute » qui se manifeste par une relaxation de type verre de spin.[31]

L'aimantation en fonction de la température de l'échantillon $CsCoFe(CN)_6$-CTA a été mesurée avant, après irradiation et après chauffage à 300 K sous un champ de 50 Oe entre 5 et 60 K (courbes Field Cooled FC). L'échantillon est ensuite refroidi jusqu'à 5 K en champ nul et l'aimantation est mesurée entre 5 et 60 K sous un champ de 50 Oe (courbes Zero Field Cooled ZFC). Les courbes FC mesurées sont représentées dans la *figure II-17*. Les ZFC n'ont pas été reportées en raison d'un problème d'annulation du champ au sein de la bobine.

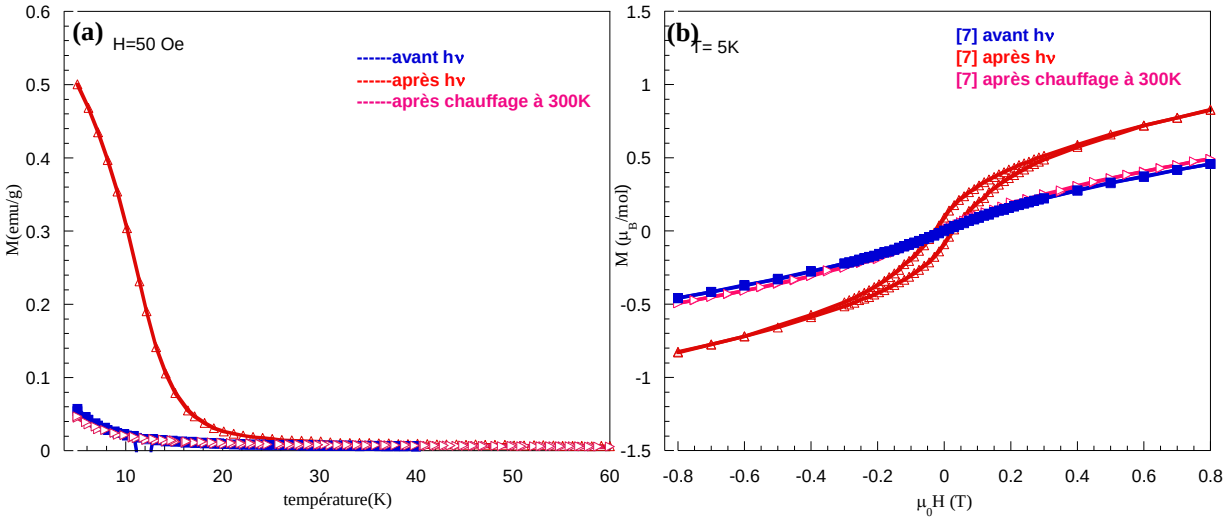


Figure II-17 : Aimantation Field Cooled à 50 Oe (a) et courbes d'hystérèses M=f(H) à 5 K (b) des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$-CTA de 7 nm avant irradiation (■), après irradiation(Δ) et après chauffage à 300K (►)

Après irradiation, l'aimantation du système augmente nettement et résulte de la photo-génération de paires Co^{II}-NC-Fe^{III}*. Les courbes FC montrent l'apparition d'un ordre ferrimagnétique en dessous de 18 K. Cette température est comparable à celle reportée dans la littérature pour des composés de composition voisine.[7] Après chauffage du composé à 300 K,

les paires ferrimagnétiques métastables relaxent vers leur état fondamental Co^{III}-NC-Fe^{II} et le système retrouve un comportement quasi-diamagnétique (faiblement paramagnétique). Cette courbe étant superposable avec celle mesurée avant irradiation, ceci confirme que le processus de photo-transformation est totalement réversible. En présence de plus d'un atome de césium par maille, le nombre de lacunes en $Fe(CN)_6$ diminue en réduisant la flexibilité du réseau. Cette rigidité acquise empêche l'allongement de la liaison Co-ligand (de l'ordre de 0.15 Å) qui accompagne le transfert de l'électron du Co^{III}(BS)-Fe^{II}(BS) vers Co^{II}(HS)-Fe^{III}(BS)[32,33] ce qui limite leur formation. Ainsi sur le composé "massif", ayant une composition très voisine ($Cs_{0.58}Co[Fe(CN)_6]_{0.85}$), aucun ordre n'a pu être mis en évidence. Dans le cas de nos particules, nous avons mis en évidence un gain notable de l'effet de la réduction de la taille, puisque nous parvenons à générer un "ordre" ferrimagnétique contrairement au composé "massif". Une phototransformation de l'ordre de 40 % a été obtenue.

La courbe d'aimantation en fonction du champ appliqué à 5 K présente une ouverture du cycle d'hystérèse avec un champ coercitif de 262 Oe *(Fig. II-17 (b))*. Une étude effectuée sur des nanoparticules photomagnétiques de RbCoFe de différentes tailles a montré que l'observation d'une hystérèse est observée au delà d'une taille de 10 nm.[34] Cependant dans notre cas, la coercitivité observée à si petite taille, qui peut paraître contradictoire avec d'autres résultats, est due aux fortes interactions dipolaires favorisées par la proximité des particules séparées par une double couche de CTA.[35] Un comportement de type verre de spin lié à ces interactions génère l'ordre apparent à des températures proches de celle du massif.
A noter que dans la littérature, la taille critique monodomaine de l'analogue $CsCoFe(CN)_6$ n'a jamais été déterminée. Un avantage de nos nanoparticules précipitées au CTA est qu'elles sont redispersables dans le méthanol. Il sera donc envisageable de rediluer ces particules dans une matrice de PVP et réaliser une étude détaillée de leurs propriétés magnétiques dans la perspective de déterminer la taille critique monodomaine. Ces études sont en cours, mais nécessitent de réaliser des mesures AC sous irradiation, ce qui n'est pas encore possible au laboratoire.

La température de relaxation de l'état métastable est définie par la température à laquelle le système retourne à l'état initial Co^{III}-NC-Fe^{II}. Pour la déterminer, la susceptibilité magnétique du système a été mesurée sous un champ de 5 T entre 5 et 200 K par pas de 1 K/min puis refroidie à la même vitesse de 200 à 5K. Le point de séparation des deux courbes $\chi T = f(T)$,

représentées dans la *figure II-18*, correspond alors à la température de retour de l'état photo-excité à son état fondamental et qui est de l'ordre de 120 K.

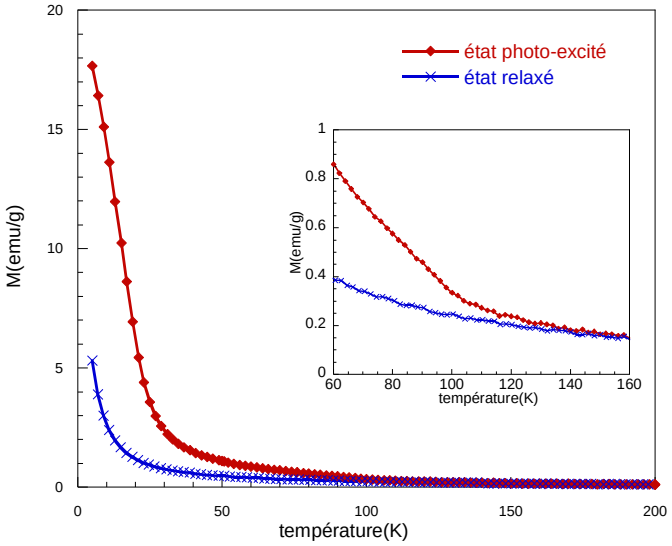


Figure II-18 : Courbes M=f(T) des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$-CTA de 6 nm mesurées sous un champ de 5T dans leur état photo-excité et relaxé

Cette valeur est nettement supérieure à la valeur reportée dans la littérature pour le massif $Cs_{0.5}CoFe_{0.85}$ (qui présente une faible phototransformation), qui est de 95 ± 2 K. Elle s'apparente à la température de relaxation du massif en présence de rubidium $Rb_{0.5}CoFe_{0.85}$ (avec toutefois une distribution plus importante de T_{relax} que le composé massif).[36] Ceci tend à indiquer une déstabilisation de l'état métastable photo-induit, qui induit une barrière d'énergie thermique de retour à l'état initial plus grande. Ceci pourrait traduire que les liaisons Co-NC-Fe sont plus coudées dans les nanosystémes, dues soit à des interactions avec les ions Cs^+ plus fortes, soit à un role particulier de la surface. Ceci reste un point à étudier.

II.2.3.2.Nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de taille 14 nm:

Les propriétés photomagnétiques des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$-CTA de 14 nm obtenues à température ambiante (dans l'eau) ont été étudiées de la même manière. Les courbes d'aimantation en fonction de la température enregistrées sous un champ de 50 Oe ainsi que les courbes d'hystérèse enregistrées à 5T avant et après irradiation sont représentées sur la *figure II-19.*

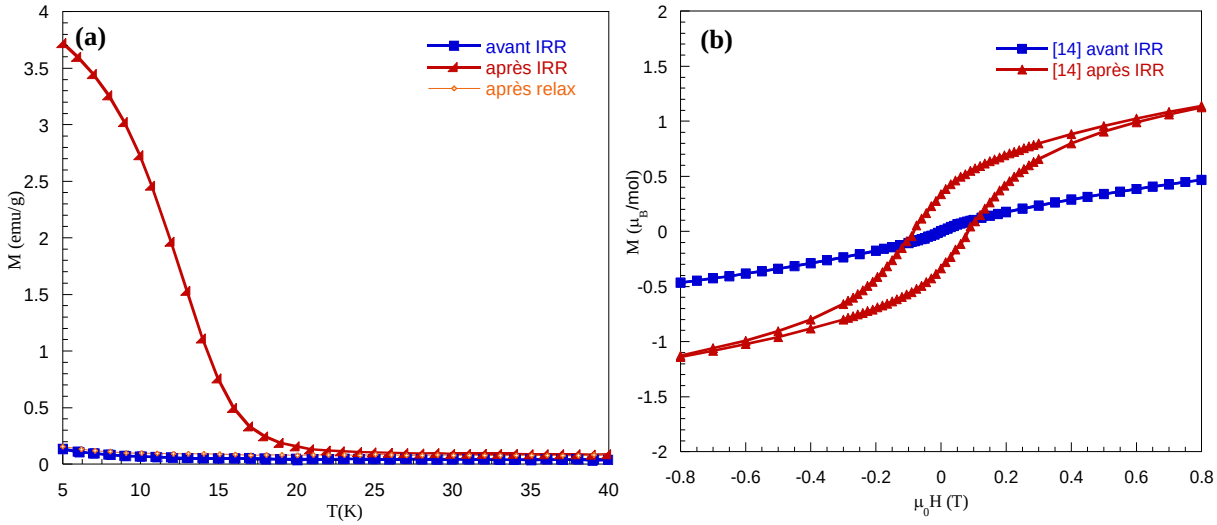


Figure II-19: Courbes d'aimantation Field Cooled à 50 Oe (a) et courbes d'hystérèses M=f(H) à 5K (b) des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$-CTA de 7 nm avant irradiation (■), après irradiation(▲)

Comme sur l'échantillon précédent, les particules constituées essentiellement des paires Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) avant irradiation sont très faiblement paramagnétiques. Après irradiation, les paires Co^{II}(BS)-NC-Fe^{III}(BS) ferrimagnétiques s'ordonnent en dessous de 20 K. L'hystérèse magnétique du composé mesurée à 5 K s'ouvre après irradiation avec un large champ coercitif de 820 Oe et une augmentation de la valeur de l'aimantation correspond à 50 % de photo-transformation. La large différence de la valeur du champ coercitif entre les particules de différentes tailles suggère une influence non négligeable de la taille. Sachant que la distance inter-particules est fixe (double couche de CTA), l'effet des interactions dipolaires est légèrement supérieure pour des objets de plus fort moment. Toutefois ces interactions influencent légèrement sur la coercivité des nanoparticules. Etant donné l'évolution de champ coercitif avec la taille, il est possible que ces deux systèmes soient monodomaines.

II.3. Monocouche des nanoparticules photomagnétique sur surface :

La commutation photo-induite fait des systèmes CoFe des candidats intéressants pour des dispositifs modèles, en spintronique notamment. Or l'élaboration des dispositifs adaptés au stockage et traitement de l'information à l'échelle nanométrique nécessite leur organisation sur un support solide tout en vérifiant la conservation de leurs propriétés.

Dans ce contexte, et après avoir détaillé la synthèse et l'étude des propriétés photomagnétiques des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ dans le paragraphe précédent, l'étape

suivante était de greffer ces objets sur une surface puis d'étudier leur réponse photomagnétique.

Ayant une taille homogène et une réponse photomagnétique importante, les particules de 14 nm préparées dans l'eau et à température ambiante ont été choisies pour être déposées. Le support utilisé est une surface HOPG (Hightly Ordered Pyrolitic Graphite). Le graphite est formé par des feuillets non compacts d'atomes de carbone arrangés dans un réseau hexagonal et organisé en une structure lamellaire par liaison de Van der-Waals. Les substrats de HOPG sont caractérisés par une surface lisse, non polaire et renouvelable *(Fig. II-20).*

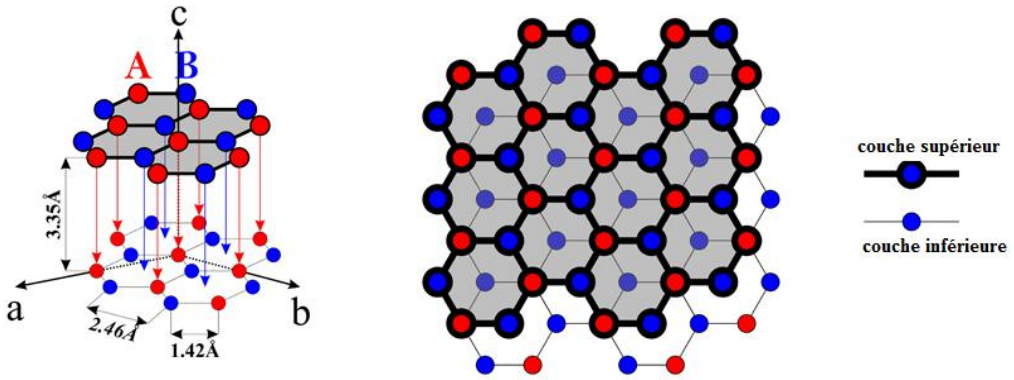


Figure II-20 : Schéma représentant la structure lamellaire du graphite

La monocouche des particules $CsCoFe(CN)_6$ déposées sur un substrat HOPG a été préparée par S. Mazerat. La surface HOPG a été préalablement exfoliée plusieurs fois à l'aide d'un ruban adhésif pour avoir une surface bien lisse puis immergée pendant 3h dans la solution des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ (de concentration 10^{-3} $mol.L^{-1}$) préparée dans l'eau comme décrit précédemment. Les particules sont fortement accrochées à la surface *via* des interactions non covalentes qui restent à étudier. La surface est ensuite rincée à l'eau et au méthanol respectivement puis séchée sous Argon.

II.3.1. Microscopie à force atomique :

Pour observer le dépôt des particules, la surface a été étudiée par microscopie à force atomique. Les images AFM ont été enregistrées par S. Mazerat sur un appareil « diInnova » en mode « tapping » *(Fig. II-21).*

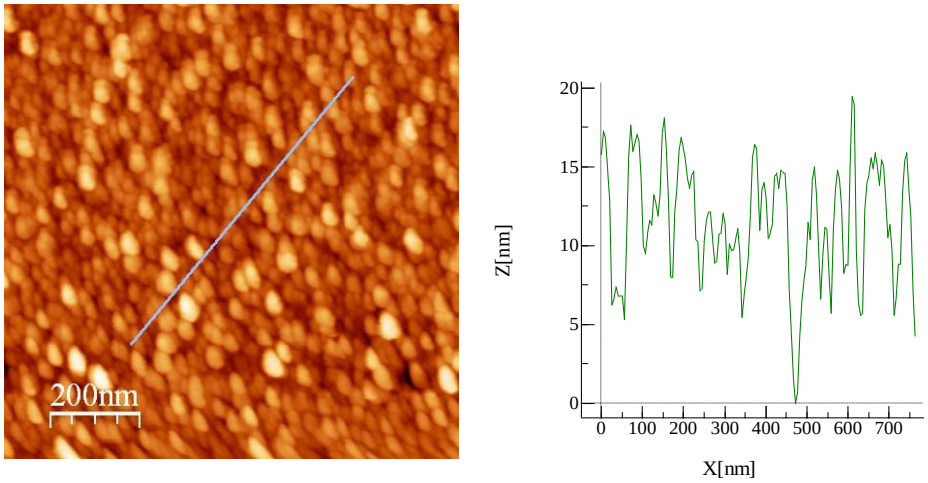


Figure II-21 : Image AFM des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ greffées sur une surface HOPG et profil en hauteur symbolisé en bleu sur l'image

Les images montrent que la surface est totalement tapissée d'objets bien définis et dont la taille est comprise entre 13 et 16 nm. Ceci met en évidence une interaction des nanoparticules avec la surface qui forment une monocouche homogène et dense. D'autres dépôts ont permis de mettre en évidence que l'interaction entre le ferrocyanure et le graphite est responsable de cet accrochage.

La faible quantité d'ions paramagnétiques n'a pas permis la mesure d'une réponse sous irradiation de la monocouche. Nous avons entrepris d'utiliser ce tapis comme *template* pour la formation de films ultraminces.

II.3.2.Croissance du film et propriétés photomagnétiques :

- Croissance du film :

Le film de $CsCoFe(CN)_6$ a été préparé par croissance séquentielle de plusieurs couches de $CsCoFe(CN)_6$ sur une monocouche de 13 nm préparée comme déjà décrit dans le paragraphe précédent. La monocouche a été immergée, pendant 10 minutes, dans une solution contenant de $CsCl/CoCl_2$ [1:1] à 2 mM, rincée au méthanol puis immergée dans une autre solution de ferricyanures $Fe(CN)_6^{3-}$ à 2 mM. Plusieurs cycles d'immersion-émersion successives (15 cycles) ont été réalisés afin d'obtenir un film de 30 nm. L'évolution de la taille a été suivie par AFM, montrant une augmentation de la taille de 1 nm pour chaque cycle.

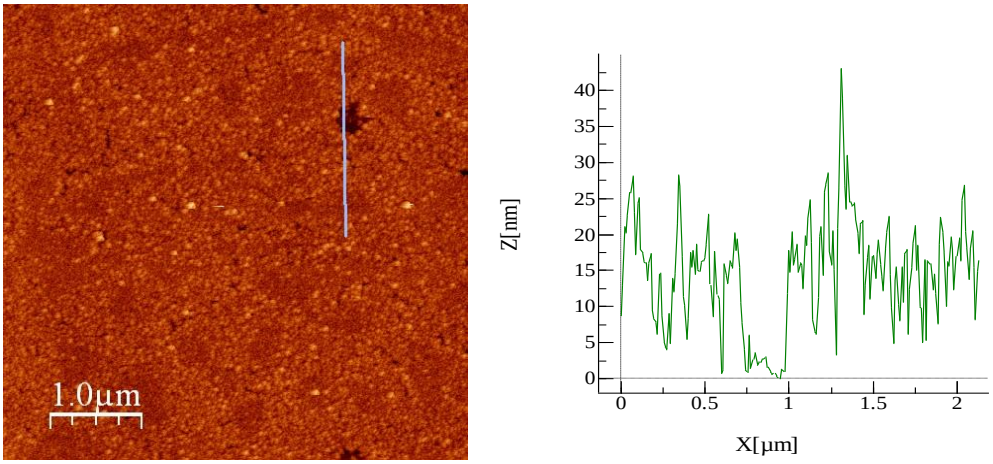


Figure II-22 : Image AFM du film $CsCoFe(CN)_6$ greffées sur une surface HOPG et profil en hauteur symbolisé en bleu sur l'image

Les images AFM *(Fig.I-22)* montrent une surface bien tapissée de nanoparticules de 25 nm, ce qui confirme une croissance homogène.

Les propriétés photomagnétiques du film ont été mesurées sur quelques feuillets exfoliés. Le film a été introduit dans le SQUID de manière à ce qu'il soit perpendiculaire au champ magnétique de la bobine où il a été irradié à 10 K pendant 2h et sous un champ de 30 Oe. Les courbes ZFC et FC montrent que le film présente un ordre Ferrimagnétique sous 20 K. L'aimantation devient 10 fois plus importante après irradiation avec une température de mise en ordre des paires ferrimagnétiques à 15 K *(Fig. II-23)*.

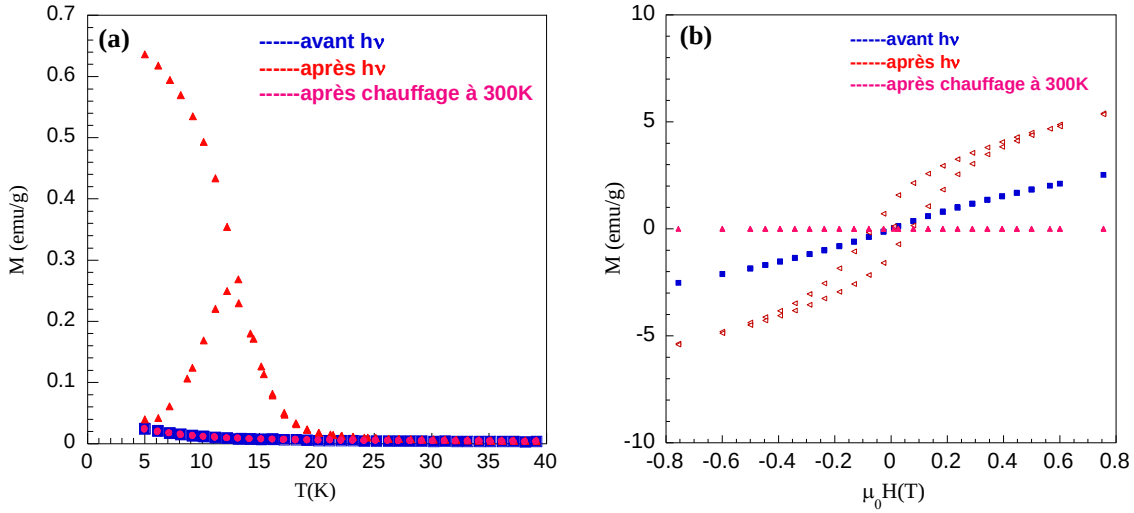


Figure II-23 : Courbes d'aimantation ZFC et FC mesurées sous un champ de 50 Oe (a) et courbes M=f(H) mesurées à 5 K de la monocouche de $CsCoFe(CN)_6$ sur HOPG avant irradiation (■), après irradiation (▶)et après traitement thermique à 300 K (●)

La variation de l'aimantation en fonction du champ montre aussi l'ouverture d'une boucle d'hystérèse avec un champ coercitif de 780 Oe. Cette valeur est proche de celle mesurée sur

les poudres de nanoparticules. Après traitement thermique de l'échantillon à 300 K, l'état initial est obtenu confirmant la réversibilité de la photo-transformation. Ainsi, la température de relaxation de la monocouche est supérieure à 120 K en plus nettement que pour la poudre des nanoparticules *(Fig. II-24)*. Elle s'apparente aux températures de relaxation observées sur le massif $Na_{0.5}CoFe$.

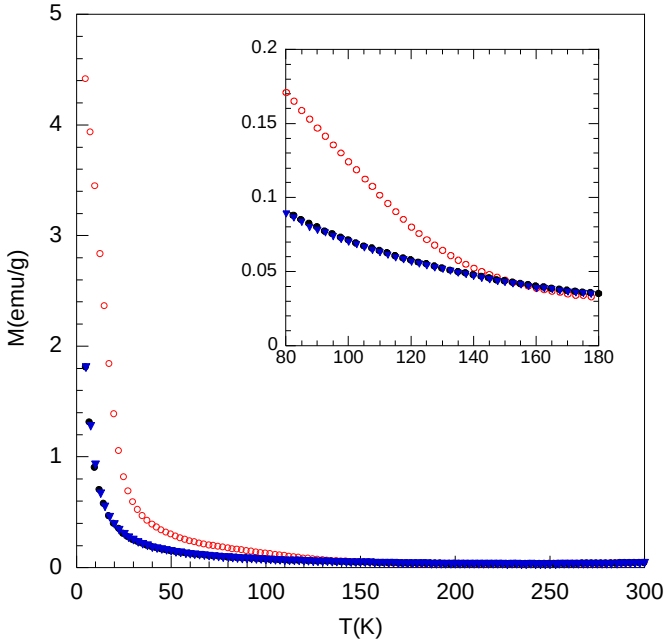


Figure II-24 : courbes M=f(T) du film $CsCoFe(CN)_6$-CTA de 30 nm mesurées sous un champ de 5T dans leur état photo-excité et relaxé

II.3.3.Conclusion:

Cette partie été consacrée à la mise en forme des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ synthétisées dans l'eau sans utilisation d'un agent stabilisant sur un support HOPG. Une monocouche homogène et compacte a été obtenue. Les propriétés photomagnétiques ont été étudiées et révèlent un ordre ferrimagnétique photoinduit à des températures voisines du "massif" mais avec une température de relaxation bien plus élevée que les composés massifs. Ce résultat, étant très prometteur, ouvre d'une part la voie au greffage d'autres nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse et d'autre part à des dépôts multicouches obtenues par croissance séquentielle des nanoparticules envisagées. Par ailleurs, des efforts pour caractériser la cristallinité des films formés sont en cours.

II.4. Croissance contrôlée de la taille des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$

Contrôler la taille des nanoparticules et leur architecture reste un défi important si l'on souhaite corréler taille et propriétés de manière fiable. Cette partie est consacrée à la

croissance contrôlée de la taille, toujours à l'échelle nanométrique, des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ et l'étude de l'effet de la taille sur leurs propriétés intrinsèques.

II.4.1 Synthèse des nanoparticules cœur-coquilles :

Un avantage majeur des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse est la présence des groupements cyanure non-pontants et de molécules d'eau à leur surface. Il est ainsi envisageable de faire croître leur taille par croissance épitaxiale puisque la surface ne comporte aucun agent stabilisant. Nous avons vu précédemment que la formation de ces particules par stabilisation électrostatique dans l'eau est régie par les phénomènes de nucléation et croissance. Or, la croissance de la taille des germes n'est favorisée que par réaction de précurseurs à la surface des particules plutôt qu'entre eux en solution. Une telle condition nécessite donc que la concentration des précurseurs introduits en solution soit assez élevée pour déclencher une nucléation hétérogène à la surface des particules et d'autre part qu'elle n'atteigne pas la sursaturation critique où une nucléation secondaire peut se produire. Cette condition n'est réalisable que par une addition lente des précurseurs et à faible concentration.

En considérant que chaque particule initialement formée sert de germe sur lequel s'accumule toute la quantité des précurseurs ajoutée, il sera donc possible de contrôler la croissance jusqu'à une taille bien précise en contrôlant la quantité de la matière introduite en solution. Une méthode de calcul de cette quantité pour les particules de bleu de Prusse est donnée par la relation suivante : [16]

$$\frac{N_s}{N_c} = \frac{V_{cs}}{V_c} - 1$$

Où N_c et N_s représentent le nombre d'atomes présents dans le cœur et la coquille respectivement et V_c et V_{cs} le volume de la particule du cœur et du cœur-coquille. Or, le volume d'une particule d'analogue de bleu de Prusse cubique à faces centrées est égal au cube de l'arête ($V=a^3$), ainsi le rapport du nombre d'atome est égal au rapport des quantités de la matière. L'équation est alors écrite d'une façon plus simple reliant directement la taille des particules à la quantité de la matière de précurseurs :

$$\frac{n_s}{n_c} = \left(\frac{a_{cs}}{a_c}\right)^3 - 1$$

Avec n_c : nombre de mole atome de particules cœur

n_s : nombre de mole atome de particules cœur-coquille

a_c : taille initiale des particules cœur

a_{cs} : taille finale des particules cœur-coquille

Pour toute croissance, la taille des particules cœur-coquille désirée a_{cs} ainsi que la taille des particules cœur a_c et la quantité de la matière n_c étant connues, il sera donc très facile de calculer la quantité de précurseurs n_s à ajouter.

En tenant compte de la faible différence de paramètres de maille des analogues de bleu de Prusse, l'application de cette méthode a été envisagée suivant deux stratégies. Soit par la croissance de coquilles d'un réseau identique à celui des particules cœurs, soit par la croissance de coquilles d'un réseau de nature différente.
L'efficacité de la première stratégie a été démontrée sur l'analogue $CsNiCr(CN)_6$ où la croissance de particules de ce réseau à différentes tailles a été contrôlée d'une manière efficace tout en conservant l'anisotropie de forme et la composition chimique.[37]
Cette partie regroupe les premiers essais visant à faire croître la taille des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ et l'étude de l'influence sur la réponse photomagnétique.

II.4.2. Croissance des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$:

II.4.2.1. Croissance en milieu aqueux :

Les particules cœur de $CsCoFe(CN)_6$ de 14 nm ont été synthétisées à température ambiante comme déjà décrit dans le paragraphe II.2.2 puis diluées deux fois dans l'eau pour éviter toute éventuelle agrégation lors de l'addition des précurseurs. La croissance est ensuite effectuée en ajoutant simultanément et goutte à goutte (pompe péristaltique ; V = 1mL/min) deux volumes égaux d'une solution aqueuse contenant 1 mM $CoCl_2$ et 2 mM CsCl et d'une solution contenant 1 mM de $K_3Fe(CN)_6$ dans la solution colloïdale des particules cœur de 13 nm sous agitation vigoureuse. Le rapport des quantités de matière utilisée n_s / n_c est égal à 6,11. A la fin de l'addition, une solution limpide et de couleur violette a été obtenue.

Les mesures de la taille ont été effectuées par DDL et par MET. La réussite de la croissance est directement confirmée sur la solution colloïdale par DDL qui montre une augmentation du diamètre hydrodynamique de 15 nm à 28 nm. En tenant compte de la couche de solvatation, cette taille est bien conforme à la taille attendue. Ainsi, la présence d'un seul pic indique

l'absence totale d'une nucléation secondaire ou d'une éventuelle agrégation des particules en solution *(Fig. II-25)*.

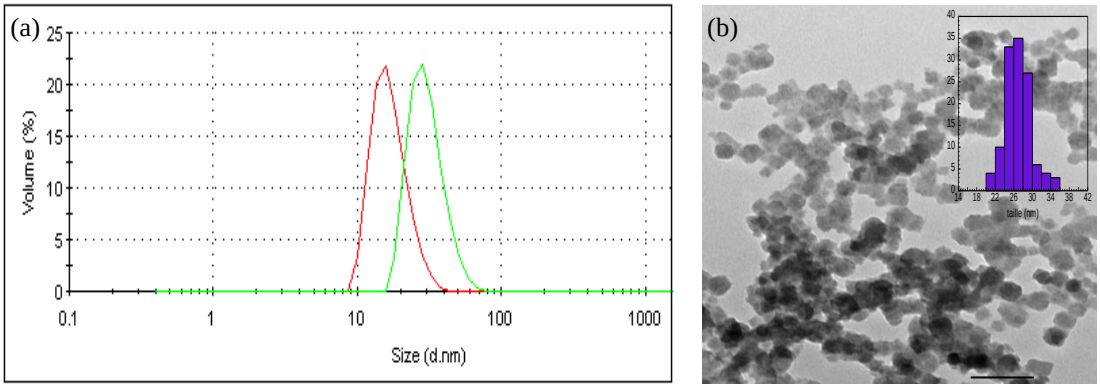


Figure II-25 : (a) Distributions de taille obtenue par DDL des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ cœur de 13 nm rouge) et cœur-coquille de 25 nm (vert) ; (b) cliché MET des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ préparées dans l'eau (échelle 100 nm)

La taille mesurée par MET est de 26,8 ± 2,6 et en excellent accord avec la taille calculée. Cependant, les particules semblent peu facettées avec une rugosité non négligeable de la surface. Ceci a été attribué dans un premier temps à une mauvaise cristallinité bien que nous verrons que cette rugosité n'est pas incompatible avec une bonne cristallinité (chap. III).
Il est probable que la surface soit constituée d'ions Co^{II} (3 oxygène des molécules d'eau et trois azote des groupements cyanures), le champ de ligand étant plus faible que les sites au cœur de la particule, et d'ions Co^{III} (2 Oxygène et 4 azote). La présence de Co^{III} en surface peut induire une réactivité plus faible, défavorable à une croissance contrôlée (limitée par la réaction d'incorporation en surface).

Plusieurs essais d'optimisation, en réduisant la quantité de césium et en ralentissant la vitesse d'addition des précurseurs, n'ont pas permis d'améliorer la morphologie des particules. Une autre stratégie a été de tester la croissance dans un mélange eau-acétone.

II.4.2.2. Croissance dans un mélange eau-acétone:

II.4.2.2.1.Synthèse et caractérisations physico-chimiques :

Comme démontré dans le paragraphe II.2.2, la synthèse effectuée dans un mélange eau-acétone aboutit à des particules $CsCoFe(CN)_6$ homogènes de 6 nm sans influencer l'état d'oxydation des paires $Co^{III}Fe^{II}$. La croissance de la taille de ces particules jusqu'à 25 nm a été ainsi testée. La synthèse suit le même procédé utilisé dans l'eau seulement, sauf que les

sels de précurseurs $CoCl_2$ (1mM) et CsCl (2mM) à ajouter sont dissous dans un mélange eau-acétone [5:1]. Le rapport de quantité de matière utilisé n_s/n_c = 44,5.

A la fin de l'addition, le suivi de la taille par DDL montre son évolution de 7 à 30 nm avec une distribution de taille relativement étroite *(Fig. II-26(a))*. En outre, l'observation des particules en MET *(Fig. II-26(b))* indique la présence d'objets homogènes de forme cubique bien facettés. La taille moyenne mesurée est de 25 ± 3,1 nm et en très bon accord avec la taille souhaitée ce qui prouve une incorporation totale et uniforme des précurseurs sur les germes présents en solution.

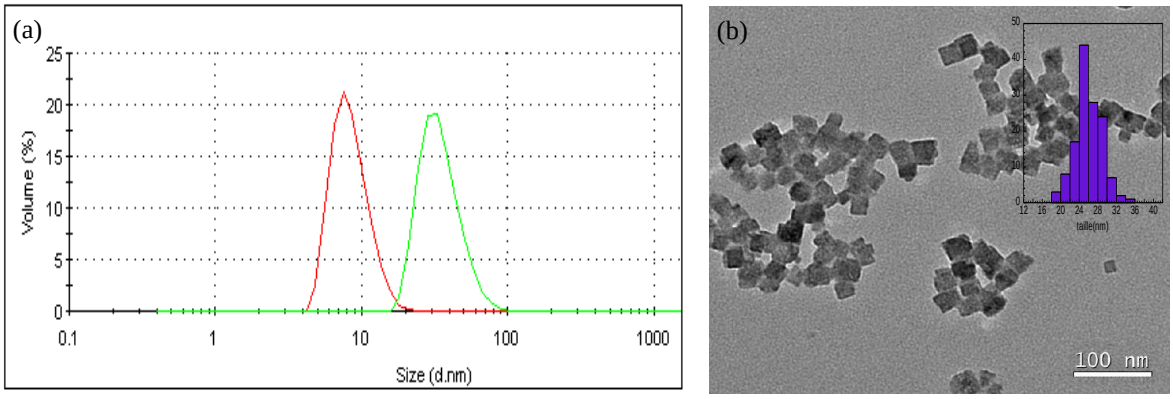


Figure II-26 : (a) Evolution du diamètres hydrodynamique obtenue par DDL des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ cœur de 6 nm (rouge) à 25 nm (vert) ; (b) cliché MET des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 25 nm préparées dans un mélange eau- acétone (échelle 100 nm)

Le spectre infrarouge effectué sur la poudre des particules $CsCoFe(CN)_6$ de 25 nm récupérées au CTA^+ met en évidence la formation des paires $Co^{III}Fe^{II}$ par les bandes caractéristiques des vibrations des cyanures pontants à 2121 cm^{-1} et de la liaison Fe^{II}-C à 590 et 532 cm^{-1} respectivement (Annexe II).

La cristallinité ainsi que la structure cristallographique cubique face centrée de ces objets a été confirmée sur le diffractogrammes de rayons X sur poudre représenté dans la *figure II-27* et comparé à celui des particules cœurs de 6 nm. Le paramètre de maille obtenue a= 9,95 Å étant constant pour les deux tailles et correspond à un réseau Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS).

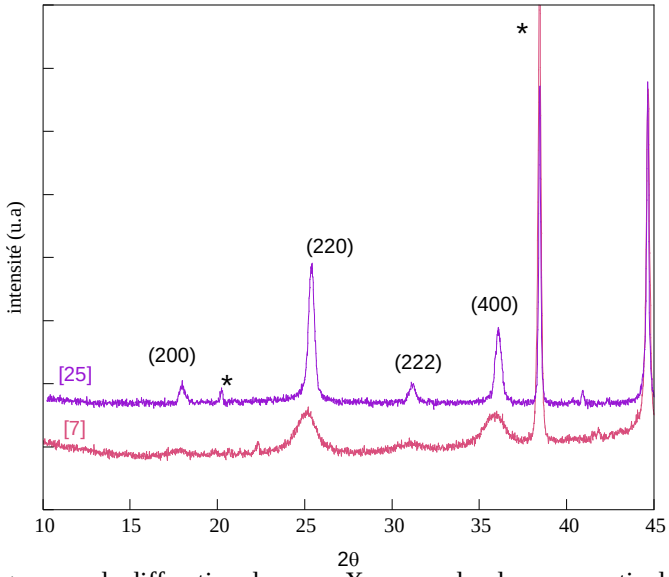


Figure II-27 : Diffractogramme de diffraction de rayon X sur poudre des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 6 nm (rose) et 25 nm (violet) préparées dans un mélange eau-acétone

La croissance de la taille se manifeste par un rétrécissement de la largeur à mi-hauteur des pics de réflexion des plans réticulaires et les tailles calculées en appliquant la loi de Scherrer sur le pic le plus intense sont 5,7 nm et 23,9 nm respectivement.

La formule chimique proposée à partir de l'EDS et des analyses élémentaires est $Cs_{0,85}Co[Fe(CN)_6]_{0,83}.(C_{19}H_{42}N)_{0,04}.\ H_2O_{4,12}$ pour les particules de 25 nm. Ce résultat montre une insertion plus importante de césium dans les sites tétraédriques ce qui confère aux particules de 25 nm une charge moins négative expliquant la faible quantité de surfactant. Pourtant le réseau est toujours lacunaire en ferricyanure à 17%.

II.4.3.Mesures photomagnétiques :

Les mesures photomagnétiques ont été effectuées sur la poudre des particules cœur $CsCoFe(CN)_6$ de 6 nm CTA nommé [6] et des cœur-coquilles de 25 nm nommé [25] dans les mêmes conditions d'irradiation (à 10 K et sous un champ de 30 Oe). La *figure II-28* représente une comparaison des courbes d'aimantations FC en fonction de la température mesurées sous champ de 50 Oe et des cycles d'hystérèse en champ mesurées à 5K entre -0,8 et 0,8 T.

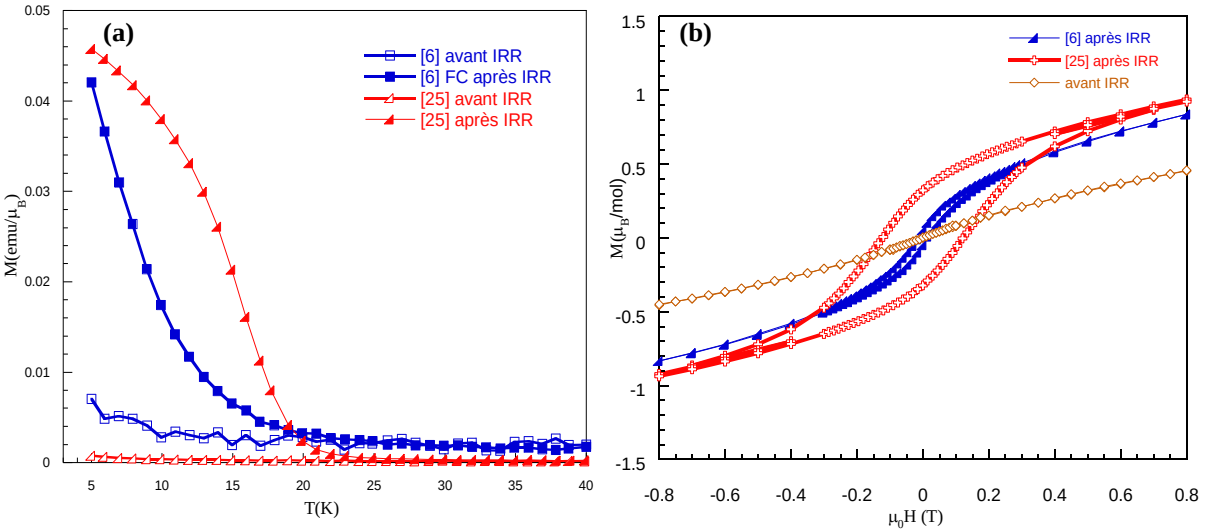


Figure II-28 : (a) Courbes d'aimantation FC mesurées sous un champ de 50 Oe et (b) courbes M=f(H) mesurées à 5 K des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 6 nm [6] (rouge) et 25 nm [25] (violet) préparées dans un mélange eau-acétone.

L'évolution de la taille des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 6 à 25 nm induit une différence de comportement magnétique après irradiation. Les particules de 25 nm se caractérisent par un ordre ferrimagnétique sous 24 K, tandis que les particules de 6 nm présentent cette mise en ordre bien en dessous de 15 K. Etant donné que les particules sont enrobées de CTA, il est surprenant que le comportement des particules [6]-acétone soit si différent du comportement de celles de 7 nm synthétisées dans l'eau. Une photoconversion plus faible peut être une hypothèse. Le champ coercitif de 150 Oe est en accord avec une plus faible taille.

En outre, ces paires paramagnétiques s'orientent en dessous de 21 K pour les particules 25 nm et sous 10 K pour celles de 6 nm. Cette variation de la température de mise en ordre est liée à la nature du comportement magnétique, mono ou mutlidomaine, en fonction de la taille des particules. Dans les particules de grandes tailles, les moments sont arrangés dans des domaines magnétiques conférant au système un comportement proche du celui de massif ayant une Tc = 24 K (comportement multidomaine). A très petite taille (proche de la taille critique), la formation d'un seul domaine est favorisée et a pour effet la diminution de la température de mise en ordre. Seules des mesures de susceptibilité alternative en matrice diluée permettent de confirmer la nature monodomaine de ces objets.

Ces interprétations s'accordent bien avec la variation de l'aimantation en fonction du champ magnétique où la valeur du champ coercitif augmente de 150 Oe pour les particules de 6 nm jusqu'à 1270 Oe pour celles de 25 nm (*Fig. II-29)*.

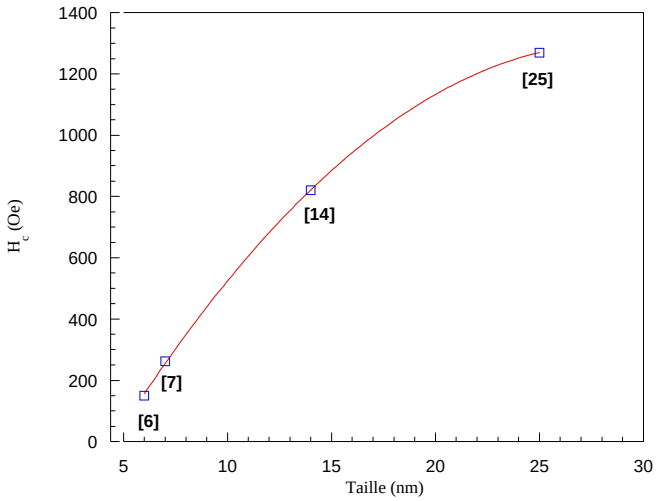


Figure II-29 : Variation du champ coercitif en fonction de la taille des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ à 5 K

II.4.4. Conclusion :

Dans cette partie, la croissance de nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 25 nm a été effectuée avec succès dans l'eau et dans un mélange eau-acétone avec un excellent contrôle de la taille et une distribution relativement étroite. Cependant, une morphologie bien facettée n'a été obtenue qu'en présence d'acétone. Ces particules présentent une réponse photomagnétique plus importante dans le cas des 25 nm, avec une mise en ordre sous 21 K et un champ coercitif important. Des mesures en matrice diluée sont prévues pour déterminer si cette propriété peut être maintenue sur des nano-objets individualisés, en s'affranchissant des interactions dipolaires.

II.5. Conclusion :

Ce chapitre est dédié à la synthèse des nanoparticules photomagnétiques $CsCoFe(CN)_6$ par stabilisation spontanée dans l'eau sans agents stabilisants. Cherchant à avoir des particules homogènes et de petite taille, différents paramètres de synthèse ont été modifiés tels que la température, le pH, la stœchiométrie et la nature du solvant. Les phénomènes de nucléation et de croissance, à l'origine de la formation des particules, influencés par ces changements entraînent une variation de la taille des particules. La réponse photomagnétique de ces objets est toujours observée même à très petite échelle, avec une efficacité variable selon la procédure de synthèse.

Des essais de mise en forme des particules sur une surface HOPG ont permis d'obtenir une monocouche homogène et compacte. Le signal de la monocouche n'a pas pu être mesuré en

SQUID. Des dépôts en multicouches par croissance séquentielle sur la surface de cette monocouche ont pallié à ce problème, et une réponse photo-induite a été mesurée.

D'autre part, la croissance de ce réseau tridimensionnel a pu être contrôlée dans l'eau et dans un mélange eau-acétone vers 25 nm. A cette taille, le comportement photomagnétique de ces particules est très proche de celui du massif dû à la combinaison d'un "ordre photo-induit" au sein du grain et de fortes interactions dipolaires inter-particules. Ces résultats sont préliminaires et de nombreuses mesures restent à effectuer pour bien comprendre l'effet de la taille sur la réponse photomagnétique. Il serait donc intéressant d'effectuer une étude sur une série complète des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de différentes tailles fortement diluées dans un polymère tel que le PVP pour minimiser les interactions dipolaires. Ces mesures pourraient permettre de déterminer la taille critique monodomaine de ces objets qui n'a jamais été reportée dans la littérature pour ce réseau et de vérifier si un blocage ou un ordre photo-induit persiste. Ces particules de 25 nm seront étudiées en parallèle par des techniques *in situ* (STEM-EELS, cathodoluminescence) permettant de sonder la photo-transformation de l'objet individuel, et d'établir une cartographie à haute résolution (valence Fe et Co en surface et au cœur).

En outre, le dépôt des particules de 25 nm est prévu sur HOPG. Une monocouche complète a été obtenue par S. Mazerat sur des nanoparticules de CsNiCr de 30 nm, et il devrait être identique avec les nanoparticules de 25 nm. Ceci permettra de mesurer la réponse photomagnétique de la monocouche et la comparer au film de même épaisseur obtenu par croissance séquentielle. Ce type de monocouche sera ensuite transposée sur graphite afin d'étudier la photomodulation du courant de spin dans des dispositifs modèles en collaboration avec Thalès.

Références bibliographiques:

(1) Goujon, A.; Roubeau, O.; Varret, F.; Dolbecq, A.; Bleuzen, A.; Verdaguer, M. *The European Physical Journal B-Condensed Matter and Complex Systems* **2000**, *14*, 115-124.

(2) Pejaković, D. A.; Manson, J. L.; Miller, J. S.; Epstein, A. J. *Physical review letters* **2000**, *85*, 1994-1997.

(3) Yoshizawa, K.; Mohri, F.; Nuspl, G.; Yamabe, T. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 5432-5437.

(4) Kawamoto, T.; Asai, Y.; Abe, S. *Physical Review B* **1999**, *60*, 12990.

(5) Kawamoto, T.; Asai, Y.; Abe, S. *Physical review letters* **2001**, *86*, 348-351.

(6) Escax, V.; Bleuzen, A.; Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Goujon, A.; Varret, F.; Verdaguer, M. *Journal of americain chemical society* **2001**, *123*, 12536.

(7) Bleuzen, A.; Escax, V.; Itié, J. P.; Münsch, P.; Verdaguer, M. *Comptes Rendus Chimie* **2003**, *6*, 343-352.

(8) Vaucher, S.; Fielden, J.; Li, M.; Dujardin, E.; Mann, S. *Nano letters* **2002**, *2*, 225-229.

(9) Kong, Q.; Chen, X.; Yao, J.; Xue, D. *Nanotechnology* **2005**, *16*, 164.

(10) Collins, A. M.; Mann, S.; Hall, S. R. *Nanoscale* **2010**, *2*, 2370-2372.

(11) Moore, J. G.; Lochner, E. J.; Ramsey, C.; Dalal, N. S.; Stiegman, A. E. *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 2741-2743.

(12) Fornasieri, G.; Aouadi, M.; Delahaye, E.; Beaunier, P.; Durand, D.; Rivière, E.; Albouy, P. A.; Brisset, F.; Bleuzen, A. *Materials* **2012**, *5*, 385-403.

(13) Vo, V.; Van, M. N.; Lee, H. I.; Kim, J. M.; Kim, Y.; Kim, S. J. *Materials Chemistry and Physics* **2008**, *107*, 6-8.

(14) Brinzei, D.; Catala, L.; Louvain, N.; Rogez, G.; Stéphan, O.; Gloter, A.; Mallah, T. *Journal of Materials Chemistry* **2006**, *16*, 2593-2599.

(15) LaMer, V. K.; Dinegar, R. H. *Journal of the American Chemical Society* **1950**, *72*, 4847-4854.

(16) Brinzei, D., université Paris Sud XI, **2007**.

(17) Qu, Y.; Yang, H.; Yang, N.; Fan, Y.; Zhu, H.; Zou, G. *Materials Letters* **2006**, *60*, 3548-3552.

(18) Gnanaprakash, G.; Mahadevan, S.; Jayakumar, T.; Kalyanasundaram, P.; Philip, J.; Raj, B. *Materials chemistry and physics* **2007**, *103*, 168-175.

(19) Gnanaprakash, G.; Ayyappan, S.; Jayakumar, T.; Philip, J.; Raj, B. *Nanotechnology* **2006**, *17*, 5851.

(20) Sato, O.; Einaga, Y.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Inorganic chemistry* **1999**, *38*, 4405-4412.

(21) Nakamoto, K. *infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*; J. Wiley New York, 1986.

(22) Bleuzen, A.; Lomenech, C.; Dolbecq, A.; Villain, F.; Goujon, A.; Roubeau, O.; Nogues, M.; Varret, F.; Baudelet, F.; Dartyge, E. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **1999**, *335*, 253-262.

(23) Cafun, J. D.; Londinière, L.; Rivière, E.; Bleuzen, A. *Inorganica Chimica Acta* **2008**, *361*, 3555-3563.

(24) Hunter, R. J. *Zeta potential in colloid science: principles and applications*; Academic press London, 1981.

(25) Jolivet, J. P.; Henry, M.; Livage, J. *DE LA SOLUTION A L'OXYDE*; L'Editeur: EDP Sciences, 1994.

(26) Ayyappan, S.; Philip, J.; Raj, B. *Materials Chemistry and Physics* **2009**, *115*, 712-717.

(27) Helm, L.; Merbach, A. E. *Chemical reviews* **2005**, *105*.

(28) Yokoyama, T.; Ohta, T.; Sato, O.; Hashimoto, K. *Physical Review B* **1998**, *58*, 8257.

(29) Bleuzen, A.; Escax, V.; Ferrier, A.; Villain, F.; Verdaguer, M.; Münsch, P.; Itié, J. P. *Angewandte Chemie* **2004**, *116*, 3814-3817.

(30) Martinez-Garcia, R.; Knobel, M.; Reguera, E. *The Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 7296-7303.

(31) Goujon, A.; Varret, F.; Escax, V.; Bleuzen, A.; Verdaguer, M. *Polyhedron* **2001**, *20*, 1339-1345.

(32) Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Bleuzen, A.; Arrio, M. A.; Sainctavit, P.; Lomenech, C.; Escax, V.; Baudelet, F.; Dartyge, E.; Gallet, J. J. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 6653-6658.

(33) V.Escax, A. B., C.Cartier dit Moulin, F. Villain, A. Goujon, F.Varret, M.Verdaguer *Journal of The Americain Chemical Society* **2001**, *123*, 12636.

(34) Pajerowski, D. M.; Frye, F. A.; Talham, D. R.; Meisel, M. W. *New Journal of Physics* **2007**, *9*, 222.

(35) Liu, H.; Gao, P.; Fang, J.; Shen, W. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2010**, *322*, 572-577.

(36) Cafun, J. D.; Champion, G.; Arrio, M. A.; dit Moulin, C. C.; Bleuzen, A. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *33*, 11552-11559.

(37) Prado, Y., Paris sud 11, **2010**.

Chapitre III

Comportement synergique des nanoparticules multicouches Ferro/Photomagnétiques

Chapitre III : Comportement synergique des nanoparticules multicouches Ferro/Photomagnétiques

Nous avons décrit dans le chapitre précédent la synthèse des nanoparticules de l'analogue photomagnétique $CsCoFe(CN)_6$ de différentes tailles par croissance épitaxiale sur des particules chargées négativement. Ce chapitre sera dédié à l'élaboration de nano-objets multicouches hétérostructurés dont les réseaux épitaxiés sont de natures chimiques différentes et présentent des propriétés magnétiques différentes. Nous nous intéresserons notamment à la combinaison d'un réseau ferromagnétique de $CsNiCr(CN)_6$ à un réseau photomagnétique de $CsCoFe(CN)_6$, au sein du même objet, dans le but d'obtenir un comportement global uniforme induit par la synergie des différents comportements. La voie de synthèse, les caractérisations chimiques et structurales ainsi que les propriétés magnétiques et photomagnétiques de ces systèmes seront donc exposées successivement.

III.1. Introduction:

L'aimantation photo-induite des matériaux se veut l'une des propriétés les plus attrayantes et les plus innovantes pour la réalisation de nouveaux dispositifs de stockage de l'information. A ce jour, la littérature présente une grande variété de matériaux étudiés pour leurs réponses photomagnétiques. Parmi eux, des molécules aimants organiques,[1] des complexes à transition de spin[2] et des réseaux de coordination. Parmi ces réseaux, les analogues de bleu de Prusse présentant un transfert de charge tels que les dérivés $A_xCo[Fe(CN)_6]_y.zH_2O$,[3] $FeCr(CN)_6.zH_2O$ [4] et $Rb_xMn[Fe(CN)_6]_y.zH_2O$[5] sont particulièrement intéressants.

L'analogue $A_xCoFe(CN)_6$ (A= K, Na, Rb, Cs) est sans doute le plus étudié en raison de la forte augmentation de l'aimantation photoinduite observée lors de la photoconversion des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} diamagnétiques en Co^{II}-NC-Fe^{III} paramagnétiques. L'efficacité de la réponse photomagnétique et les changements de volume de la maille observés au sein de ce réseau dépendent fortement du nombre de paires Co^{III}-NC-Fe^{II},[6] qui à son tour varie en fonction du taux et de la nature de l'alcalin (Na^+, K^+, Rb^+ et Cs^+) inséré dans ses interstices tétraédriques.[7] Ainsi, d'autres études ont montré que la photo-aimantation demeure intacte sur des longues durées et à petite échelle.[8-10] Or, ce phénomène s'est toujours limité à de très basses températures. Un défi est de pouvoir générer une réponse photomagnétique exaltée à des températures plus élevées. Une solution envisagée pour réaliser cet objectif réside dans le couplage du réseau photomagnétique à d'autres réseaux ferromagnétiques dont la température

d'ordre est suffisamment élevée. L'idée première était d'induire un couplage efficace entre cœur et coquille *via* la couche photoconvertie et d'obtenir une aimantation présentant un renversement uniforme sous champ magnétique. Par ailleurs, la modification des propriétés magnétiques sous l'effet des contraintes issues de la photo-dilatation du réseau était envisageable. Nous présentons dans la suite les phases que nous avons combinées en vue d'observer de tels effets.

III.1.1. Contexte : élaboration de nanoparticules cœur-multicoquilles

La synthèse de nano-objets multicomposants a débuté au sein de notre équipe au cours de la thèse de Daniela Brinzei en 2007. Pour la première fois, il s'est avéré possible de faire croître, dans l'eau et en absence d'agents organiques, une ou plusieurs coquilles d'un même analogue de bleu de Prusse (ABP) ou d'un ABP de natures différentes sur des nanoparticules chargées négativement servant des germes. La force de cette voie de synthèse repose sur un contrôle précis de la taille des particules et de leur anisotropie magnétique, tout en étant réalisable à relativement grande échelle (centaines de mg à 1g). La réalisation de nanoparticules homo- ou hétérostructurées a connu une avancée significative depuis lors au laboratoire et dans d'autres équipes.[11]

Lors d'une première étude, des nano-objets bicouches de CsFeCr@CoCr et CsNiCr@CsCoCr et tricouches de CsCoCr@CsFeCr@CsNiCr ont été synthétisés. Les images obtenues par microscopie électronique à haute résolution (HRTEM) du CsFeCo@CoCr ont montré une bonne cristallinité sans aucune discontinuité entre le cœur et la coquille révélant ainsi une parfaite épitaxie des réseaux *(Fig. III-1 (a))*. En plus, une synergie a été observée au sein des hétérostructures CsNiCr@CsCoCr de 12 nm [9 + 2x1.5] et qui s'est traduit par un élargissement de l'hystérèse avec une augmentation du champ coercitif à 2500 Oe contre 80 Oe et 600 Oe pour le CsNiCr et le CsCoCr respectivement *(Fig. III-1 (b))*.[12]

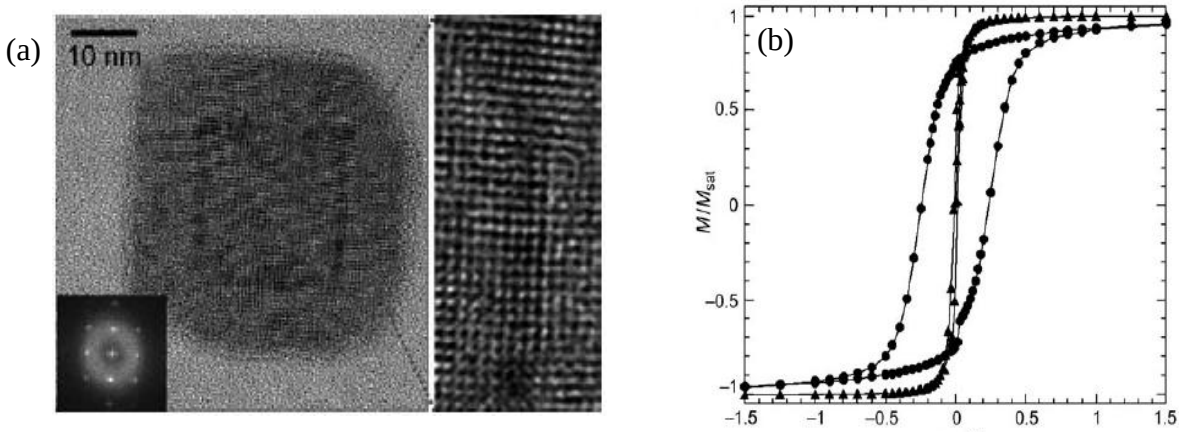


Figure III-1 : (a) Image MET à haute résolution et cliché de diffraction des particules CsCoFe@CoCr 40nm (échelle 100nm); (b) Cycle d'hystérèse de l'aimantation en fonction du champ magnétique des particules CsNiCr@CsCoCr (●) et CsNiCr 12 nm (▲).

Une seconde étude effectuée sur une série des nanoparticules de $CsNiCr(CN)_6$ de différentes tailles a mis en évidence une forte dépendance des propriétés magnétiques en fonction de la taille des particules. Des objets de [6] [8], [10], [12], [16], [18], [22] et [30] nm ont été élaborés avec un excellent contrôle de la taille, une même composition chimique et une parfaite cristallinité. Les mesures magnétiques de ces objets dilués dans une matrice de polymère organique, le PVP (Polyvinylpyrrolidone), ont permis la détermination de la taille critique du monodomaine et de la constante d'anisotropie magnéto-cristalline. Cette étude détaillée a montré que l'analogue $CsNiCr(CN)_6$ garde son comportement monodomaine jusqu' à une taille de 15 nm environ avec une température de blocage, relativement élevée, autour de 20K *(Fig. III.2)*.[13]

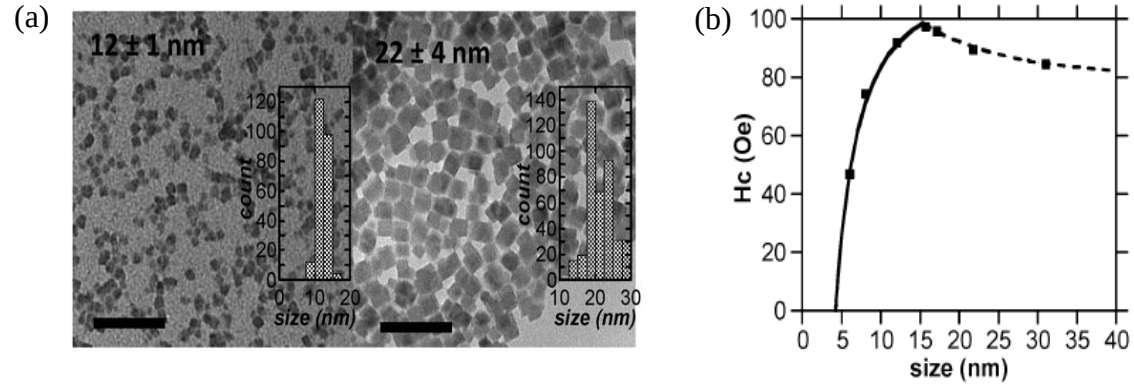


Figure III-2 : (a) Images MET des nanoparticules $CsNiCr(CN)_6$ de 12 et 22 nm (échelle100 nm) avec les diagrammes de distributions de la taille; (b) variation du champ coercitif en fonction de la taille ((■) valeur expérimentale et (—) valeur calculée).

La simplicité de cette voie de synthèse, l'excellent contrôle de la taille des particules, nous ont encouragé à aller plus loin dans la conception de nanoparticules cœur-coquille

multifonctionnelles en combinant cette fois-ci un réseau ferromagnétique à un autre photomagnétique.

III.1.2. Choix des phases à combiner

L'objectif était de combiner un réseau photomagnétique à un réseau ferromagnétique. Concernant la couche photomagnétique, l'analogue A_xCoFe largement étudié dans la littérature s'est imposé comme le candidat le mieux adapté. Bien que la température de relaxation de l'état photo-excité la plus élevée (135 ± 2 K) soit observée dans le cas où l'alcalin utilisé est le sodium ($Na_2Co_4[Fe(CN)_6]_{3,3}$) [7] et que l'aimantation photo-induite la plus importante est obtenue dans le cas du Rubidium ($Rb_2Co_4[Fe(CN)_6]_{3,3}$), notre choix s'est focalisé à l'analogue $CsCoFe(CN)_6$. Par sa taille bien adaptée (1,6 Å), le Césium s'insère parfaitement dans les interstices tétraédriques et exerce un effet *template* conduisant à des structures non lacunaires avec un transfert *quasi*-total de l'électron du Co^{II} au Fe^{III}, qui est à l'origine de la réponse photomagnétique importante (chap. II). Même à faible concentration, le transfert est accompli tout en maintenant une faible force ionique qui évite l'agrégation des particules, comme nous l'avons démontré dans le *chap.II*. Concernant la température de relaxation, nous avons également montré que dans le cas des nanoparticules $Cs_{0.6}CoFe_{0.8}$ nous parvenions à maintenir cette température au delà de 110K.

Pour le choix de la phase magnétique, l'ABP $CsNiCr(CN)_6$ semble approprié. La synthèse de cet analogue est maîtrisée dans notre laboratoire depuis longtemps et les propriétés à ces échelles sont bien comprises.[14] Comme démontré ci-dessus sur des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@CsCoCr, la croissance de deux couches moléculaires de CsCoCr sur cœur monodomaine de CsNiCr renforce fortement la coercivité du système. De ce fait, la croissance de quelques couches moléculaires de CsCoFe sur des cœurs monodomaines provoque-t-elle le même effet?

Ainsi, Zentková et al. ont reporté un effet de la pression sur la réponse magnétique des dérivés de bleu de Prusse de type $TM_3[Cr(CN)_6]_2 \cdot 12H_2O$. L'application d'une pression hydrostatique dans le cas de l'analogue $Ni^{II}[Cr^{III}(CN)_6]$ provoque un très faible décalage de T*c* ($\Delta Tc/\Delta P = -3$ $K.GPa^{-1}$) qui résulte de l'affaiblissement des interactions ferromagnétiques J_F.[15] Bien que cette variation n'ait pas été significative, le résultat intéressant réside dans le fait que l'application de faible pression induit des changements importants sur les valeurs de l'aimantation field-cooled et la forme de l'hystérèse de ce réseau. On peut s'attendre à avoir des modifications identiques sur la réponse magnétique des hétérostructures qui tire son

origine des contraintes créées au sein du CsNiCr *via* la déformation de la couche CsCoFe après irradiation**.** Un avantage supplémentaire au CsNiCr est que sa température de mise en ordre est égale à 70K[16] bien inférieur à la température de relaxation de la phase photomagnétique (95K). Cette condition est *a priori* essentielle pour détecter l'effet de synergie autour de la T_c.

En se basant sur tout ce qui précède, notre approche consiste à intercaler, au sein d'un même objet, une couche photoactive de $CsCoFe(CN)_6$ (Tc~18K) entre deux couches ferromagnétiques de $CsNiCr(CN)_6$ (Tc~70K). L'association de ces deux réseaux vise à obtenir des nano-objets hétérostructurés de différentes tailles (inferieur à 50nm) présentant une synergie de deux comportements magnétiques différents *(Fig. III-3)*.

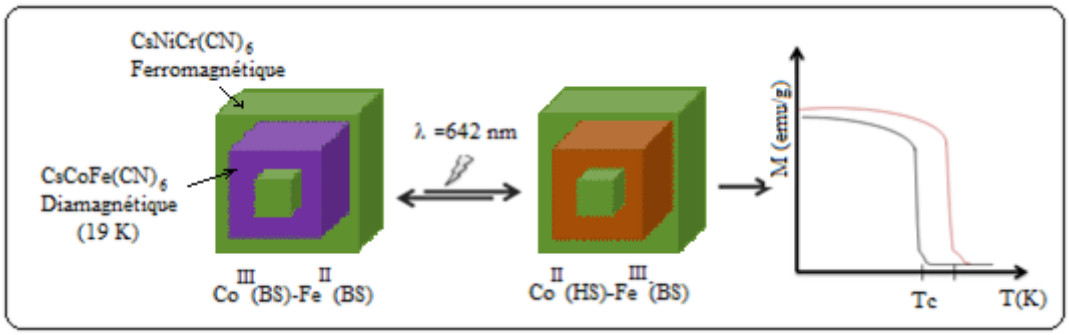


Figure III-3 : Schéma représentatif du couplage nanométrique du réseau ferromagnétique CsNiCr au réseau photomagnétique CsCoFe

III.1.3. Aperçu bibliographique :

Un exemple de combinaison de réseaux Ferro/Photomagnétique a été publié en 2010 par l'équipe de D.Talham sur des films minces de $RbNi[Cr(CN)_6]/RbCo[Fe(CN)_6]/RbNi[Cr(CN)_6]$ de 200 nm d'épaisseur environ.[17] Contrairement à l'augmentation de l'aimantation photo-induite observée normalement dans cette famille de composé, les auteurs ont observé une diminution persistante de l'aimantation mesurée sous refroidissement sous champ de 100 Oe *(Fig. III-4(b))*.

(a) (b)

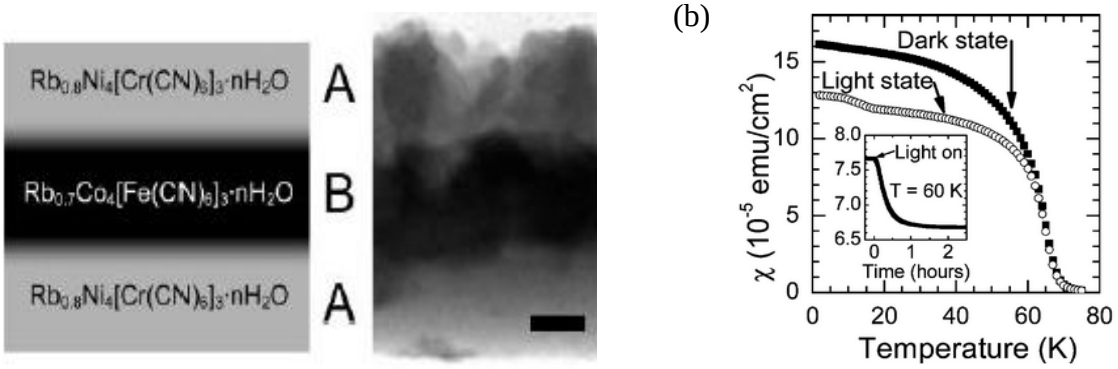


Figure III-4: (a) Images MET d'une section du film hétérostructuré RbNiCr@RbCoFe@RbNiCr (échelle100 nm); courbe ZFC à 100G avant (○) et après irradiation (■) à 100Oe

Ce résultat inattendu a été attribué dans un premier temps à l'interaction d'échange entre les paires d'ions Cr^{III}-CN-Co^{II} (Tc ~ 40K) et Fe^{III}-CN-Ni^{II} (Tc ~ 20K) générés à l'interface aussi bien que l'interaction des paires Fe-CN-Co et Cr-CN-Ni de chaque couche; une diminution de l'aimantation en résulte si la direction des moments de Fe^{III}-CN-Co^{II} photogénérés à l'interface est dominée par la forte interaction d'échange des ions Fe^{III} des paires Fe^{III}-CN-Ni^{II}. Et malgré la présence de larges zones de mélange entre les différentes phases (Fig. III-4), cette interprétation reste insuffisante pour expliquer cette considérable diminution.

En outre, et parallèlement à notre travail, la même équipe a rapporté en 2011 à nouveau une diminution photo-induite de l'aimantation dans des particules cœur-coquilles hétérostructurées de $KNiCr(CN)_6$@$RbCoFe(CN)_6$@ $KNiCr(CN)_6$.[11] Les auteurs ont employé et adapté notre voie de synthèse, mentionnée ci-dessus, pour construire des couches de 50 à 100 nm du réseau de cyanométallate sur des particules cœurs préalablement préparées. Des objets de l'ordre de plusieurs centaines de nanomètres (500 à 1000 nm) ont été obtenus avec un contrôle limité de la taille. L'effet synergique observé a été expliqué de la même manière que dans les films. Ainsi, la dilatation des liaisons Co-N dans le réseau Co^{II}-Fe^{III} générée sous irradiation induit des contraintes au niveau du réseau KNiCr où des interactions ferromagnétiques affaiblies provoquent une diminution de l'aimantation et de la température critique comme le suggérait Zentkova et al.[15]

III.1.3. Objectif :

L'originalité de notre travail repose donc sur l'élaboration des nano-cristaux tricouches multicomposantes de taille **inférieure à 50 nm** présentant un effet synergétique dû à la contribution de **quelques couches moléculaires seulement**. Les objets requis sont formés par

une couche photomagnétique $ACoFe(CN)_6$ (A= avec ou sans alcalin) sandwichée entre un cœur et une coquille externe ferromagnétique de $CsNiCr(CN)_6$.

La voie de synthèse *one–pot* adoptée évite la séparation des constituants au cours de la croissance et mène par la suite à un bon contrôle de taille. Ainsi, une influence cruciale des ions césium (I) a été examinée. L'insertion ou l'absence de cet alcalin dans les interstices tétraédriques de la couche photomagnétique induit des changements sur son état de valence, sa cristallinité et ses propriétés magnétiques. Dans ce contexte, deux séries de nanoparticules cœur-coquille ont alors été synthétisées *(Fig. III-5)*:

- La série A comprend des particules cœur-coquilles préparées en insérant du césium(I) dans la coquille $CoFe(CN)_6$. Les dimensions des réseaux constituants sont choisies soigneusement telles que le cœur monodomaine de 12 nm et la coquille externe ferromagnétique soient séparés par une coquille diamagnétique d'épaisseur de 10 nm suffisante à empêcher toute interaction dipolaire au sein de l'objet. Deux objets de tailles différentes ont été élaborés.
  - CsNiCr@CsCoFe de 32nm (12 + 2 x 10), formé d'un cœur $CsNi^{II}Cr^{III}(CN)_6$ de 12 nm entouré d'une coquille $Co^{II}Fe^{III}(CN)_6$ de 5nm d'épaisseur, noté **[32Cs]**.
  - Et CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr de 42 nm (12 + 2 x 10 + 2 x 5), obtenu également par la croissance d'une deuxième coquille $CsNi^{II}Cr^{III}(CN)_6$ de 5 nm autour de l'objet précédent, noté **[42Cs]**.
- La série B inclut les mêmes particules mais qui sont préparées sans alcalin dans la couche photomagnétique. En suivant le même ordre de la série A, ces deux objets *modèles* sont notés CsNiCr@CoFe **[32]** et CsNiCr@CoFe@CsNiCr **[42]** respectivement. Ces objets serviront de référence du comportement magnétique attendu pour les objets de la série **A** après irradiation.

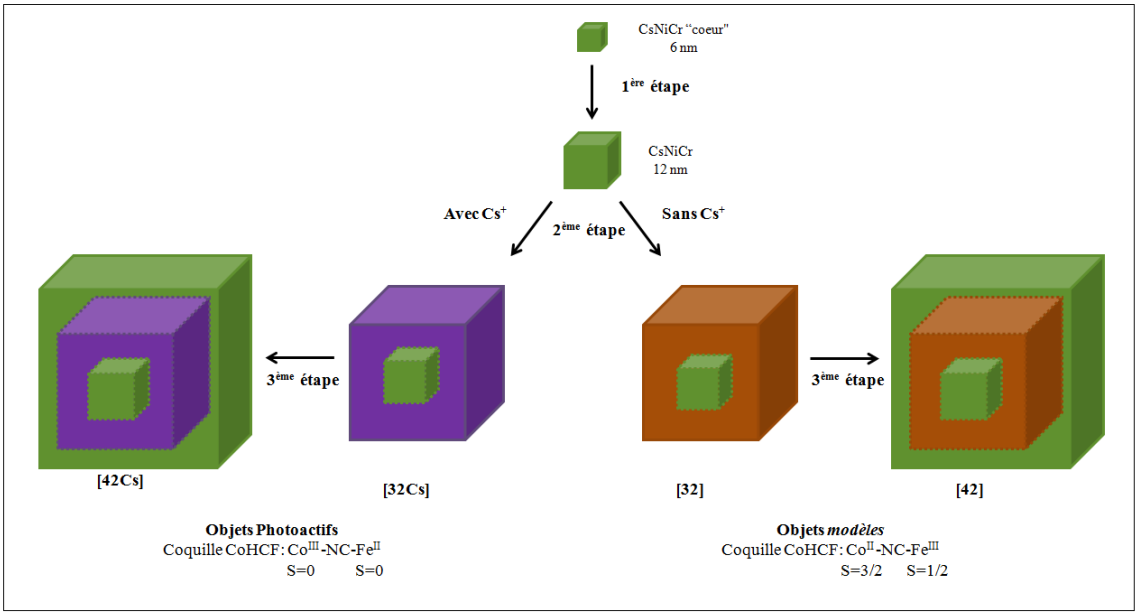


Figure III-5 : Stratégie de synthèse adoptée pour préparer les nanoparticules cœur-coquilles ; CsNiCr (vert), CsCoFe (violet) et CoFe (marron).

Concernant la réponse photomagnétique de ces objets avant et après irradiation, plusieurs questions seront abordées dans ce chapitre. Est-il possible d'observer, après irradiation, un comportement magnétique uniforme dans de tels systèmes hybrides par le biais d'interactions d'échange entre cœur et coquille photogénérées ("spring magnet") ? Et que sera donc l'influence de la couche ferromagnétique sur l'aimantation photo-induite ?

III.2. Synthèse des nanoparticules cœur-coquille:

La construction des nanoparticules hétérostructurées exige les mêmes conditions expérimentales utilisées pour contrôler la taille des réseaux homostructurés décrites dans le chapitre précédent. L'équation utilisée pour calculer la quantité de la matière à ajouter ($(n_s/n_c=(a_{sc}/a_c)^3-1$), reste valable pour tous les réseaux cubiques faces centrés d'analogue de bleu de Prusse à cause de la faible différence de paramètres de maille (Δa = 0,5 Å au maximum). Ceci aboutit à la formation des objets de tailles fortement cohérentes avec les tailles estimées. Néanmoins, cette différence peut induire certaines distorsions non-souhaitables au niveau de l'interface. Les quantités de précurseurs doivent être introduites lentement en solution et à faibles concentrations pour éviter toute nucléation secondaire. Ces travaux se sont basés sur le travail préliminaire de Laurent Lisnard lors de son stage post-doctoral.

III.2.1. Synthèse des particules cœur de $CsNiCr(CN)_6$ 12 nm:

Les nanoparticules cœur de $CsNiCr(CN)_6$ de 12 nm ont été obtenues à partir d'une solution $CsNiCr(CN)_6$ de 6 nm déjà préparées par simple « stabilisation électrostatique» dans l'eau.[13] La croissance est effectuée en ajoutant, goutte à goutte et simultanément, une solution aqueuse de $Ni^{II}Cl_2.6H_2O$ à 2 mM en présence de CsCl à 0,8 mM (0,4 équivalent par rapport au Ni^{II}) et une solution aqueuse de $K_3Cr(CN)_6$ à 2 mM. La réduction de la quantité de Cs^+ étant indispensable pour éviter toute nucléation secondaire favorisée par l'excès de cet ion. Les précurseurs sont ajoutés à température ambiante, sans dilution préalable des particules de départ et avec un rapport des quantités $n_s / n_c = 5{,}29$.

III.2.2. Synthèse des nanoparticules cœur-coquille $CsNiCr(CN)_6$@$ACoFe(CN)_6$ 32 nm:

Les deux particules [32Cs] et [32] ont été obtenues par croissance épitaxiale, à température ambiante, d'une coquille $ACoFe(CN)_6$ avec et sans césium respectivement sur la suspension colloïdale des particules de cœur $CsNiCr(CN)_6$ à 12 nm préalablement dilué dans un volume d'eau (annexe). Cette dilution permet d'éviter toute éventuelle agrégation des particules ainsi d'avoir un milieu réactionnel de faible concentration adéquat à empêcher les nucléations secondaires. Le rapport des quantités utilisées n_s / n_c est égale à 17,9.

Pour les particules **CsNiCr@CoFe [32]**, deux volumes égaux des solutions aqueuses, acidifiées à pH=3, de $CoCl_2.6H_2O$ à 1,5 mM et de $K_3Fe(CN)_6$ à 1,5 mM sont ajoutés goutte à goutte et simultanément (vitesse d'addition = 1 ml/min, en utilisant une pompe péristaltique). La croissance dans un milieu acide était nécessaire pour limiter la formation des paires Co^{II}-NC-Fe^{II}. La solution obtenue est limpide et de couleur marron caractéristique de l'état d'oxydation Co^{II}-CN-Fe^{III}.

Les particules **CsNiCr@CsCoFe [32Cs]** sont préparées de la même manière mais en présence de 0,6 mM de CsCl dans la solution aqueuse du $CoCl_2$. La quantité modérée de Césium introduite en solution (0,4 équivalent par rapport au métal divalent Ni^{II}) a été choisie d'une façon à avoir le maximum de paires diamagnétiques de Co^{III}-CN-Fe^{II} et empêcher la nucléation secondaire. Au fur et à mesure de l'addition, la solution vire au violet confirmant ainsi le transfert d'électron et la formation des paires Co^{III}-NC-Fe^{II}.

III.2.3. Croissance de la deuxième coquille de $CsNiCr(CN)_6$:

Concernant la croissance de la seconde coquille ferromagnétique de $CsNiCr(CN)_6$, la synthèse est effectuée sur les solutions [32] et [32Cs] diluées deux fois dans l'eau et sur lesquelles sont introduites les solutions aqueuses de $NiCl_2$ à 1,5 mM avec du CsCl à 3 mM et de $K_3Cr(CN)_6$ à 1,5 mM. Pour une épaisseur de 5 nm, le rapport des quantités utilisé est $n_s / n_c = 1{,}26$ tel que une taille de 42 nm est attendue pour les objets CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] et CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs].

Pour pouvoir les caractériser, toutes les particules sont précipitées en présence d'un surfactant chargé positivement, le bromure de cétyltriméthylammonium CTABr ($C_{19}H_{45}NBr$). Chacune des solutions de nanoparticules est ajoutée, goutte à goutte, à une solution de CTAB à 6 mM dans le méthanol (volume de MeOH/volume de H_2O = 3) puis centrifugée pendant 10 minutes à grande vitesse (8000 tr/min). Les poudres collectées sont ensuite lavées une fois à l'eau et deux fois à l'acétonitrile pour éliminer les impuretés des sels de chromicyanure-CTA puis séchées sous vide.

III.3. Taille, cristallinité et composition chimique des nanoparticules cœur-coquille :

III.3.1. Caractérisation de la taille :

III.3.1.1. Diffusion dynamique de la lumière :

Les différentes étapes de la croissance ont été suivies par la diffusion dynamique de la lumière. Les diamètres hydrodynamiques mesurés à la fin, prenant en compte la présence d'une couche de solvant, donnent une première évaluation de la taille moyenne des particules en solution. Ceci offre une première indication sur la réussite de la croissance. Les valeurs obtenues pour les objets de la série A sont en bon accord avec les tailles espérées *(Tab III-1)*, révélant ainsi une croissance cohérente des différentes coquilles. La présence d'une seule distribution avec une proportion en volume constant pour chaque solution confirme l'absence de toute nucléation secondaire *(Fig III-7)*.

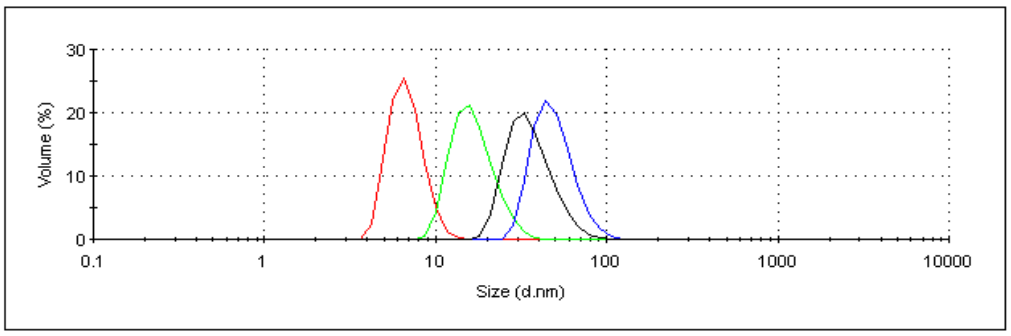


Figure III-7 : Distributions de taille obtenues par DDL des particules de la série A : cœurs CsNiCr 6nm (rouge), 12nm (vert), cœur-coquille CsNiCr@CsCoFe [32Cs] (noir) et CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr[42Cs] (bleu).

Par contre, des tailles relativement supérieures aux tailles attendues ont été obtenues pour les objets de la série B CsNiCr@CoFe [32] et CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] *(Tab. III-1)*, avec un élargissement des distributions du diamètre hydrodynamique *(Fig. III-8).*

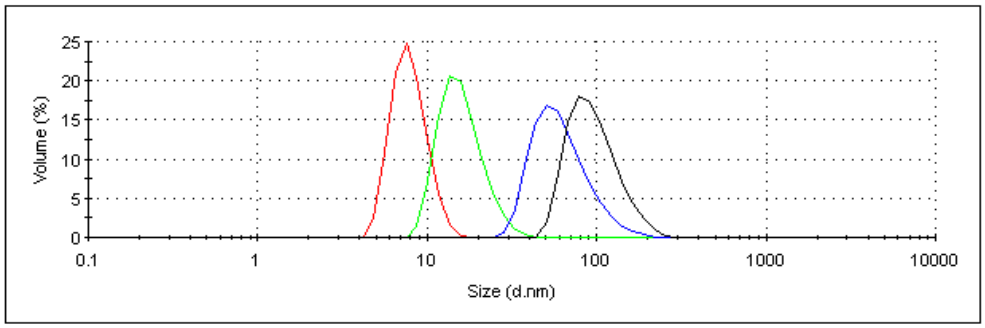


Figure III-8 : Distributions de taille obtenues par DDL des particules de la série B : cœurs CsNiCr 6nm (rouge), 12nm (vert) et cœur-coquille CsNiCr@CoFe [32] (bleu) et CsNiCr@CoFe@CsNiCr[42Cs] (noir).

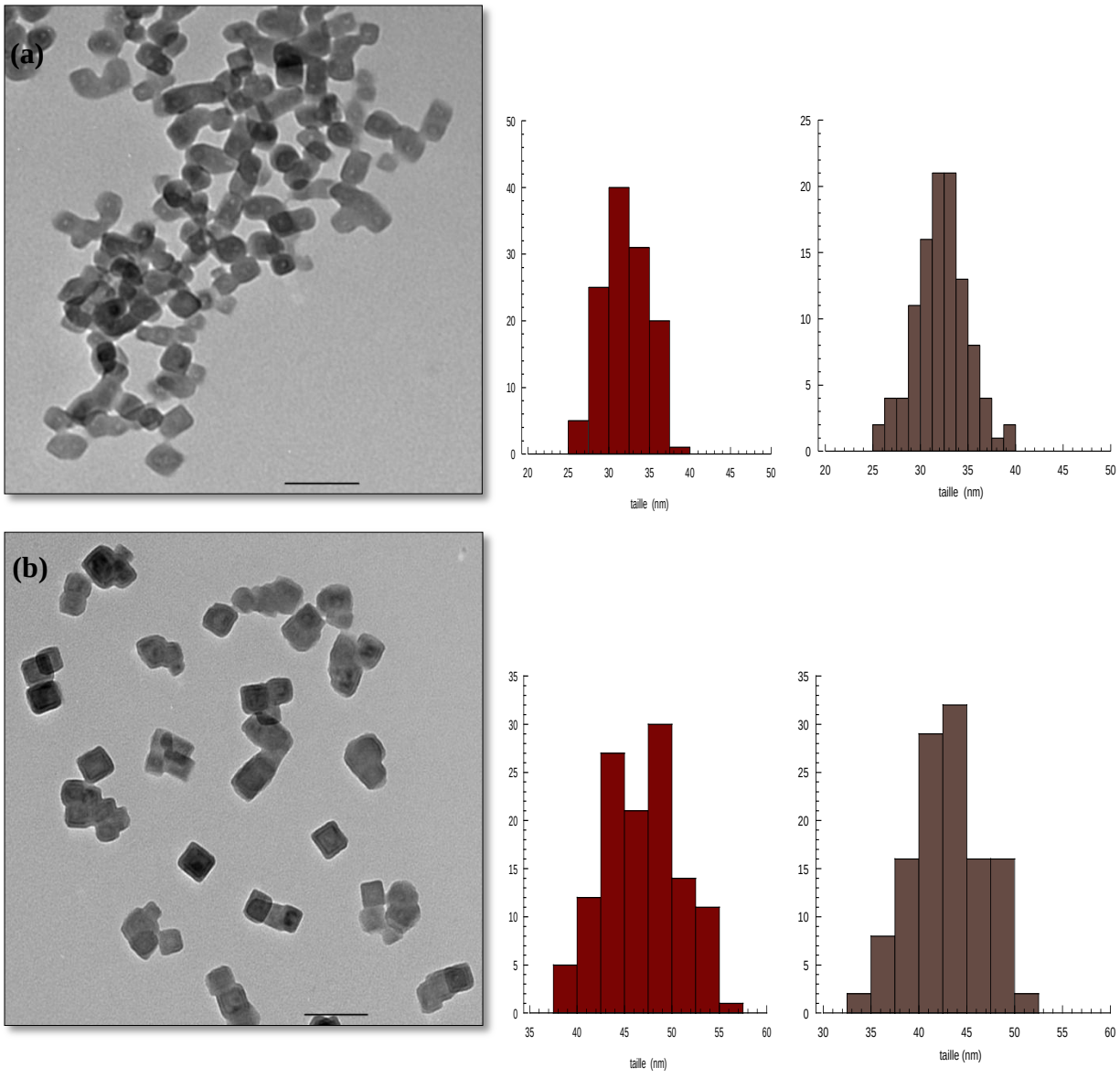
	[32x]		**[42x]**	
Serie A (avec Cs^+)	50	-28 mV	78	-16 mV
Serie B (sans Cs^+)	32	-34 mV	43	-34 mV

Tableau III-1: Tailles moyennes et potentiels zêta des nanoparticules cœur-coquille obtenues en DDL sur les solutions colloïdales

Le potentiel zêta négatif de toutes les particules proche de (~ -30mV) pour la plupart explique la grande stabilité des solutions colloïdales pendant des mois.

III.3.1.2. Microscopie électronique à transmission MET :

La microscopie électronique en transmission a été effectuée sur des redispersions des particules entourées de CTA dans le méthanol. Deux à trois gouttes sont déposées sur une grille en cuivre puis observées au microscope *(Fig III-9)*. Les tailles des particules redispersées sont vérifiées par DDL qui confirme des valeurs complètement identiques à celles obtenues dans l'eau. Ce résultat intéressant montre que ces particules sont manipulables même après précipitation et peuvent être organisées sur des substrats.



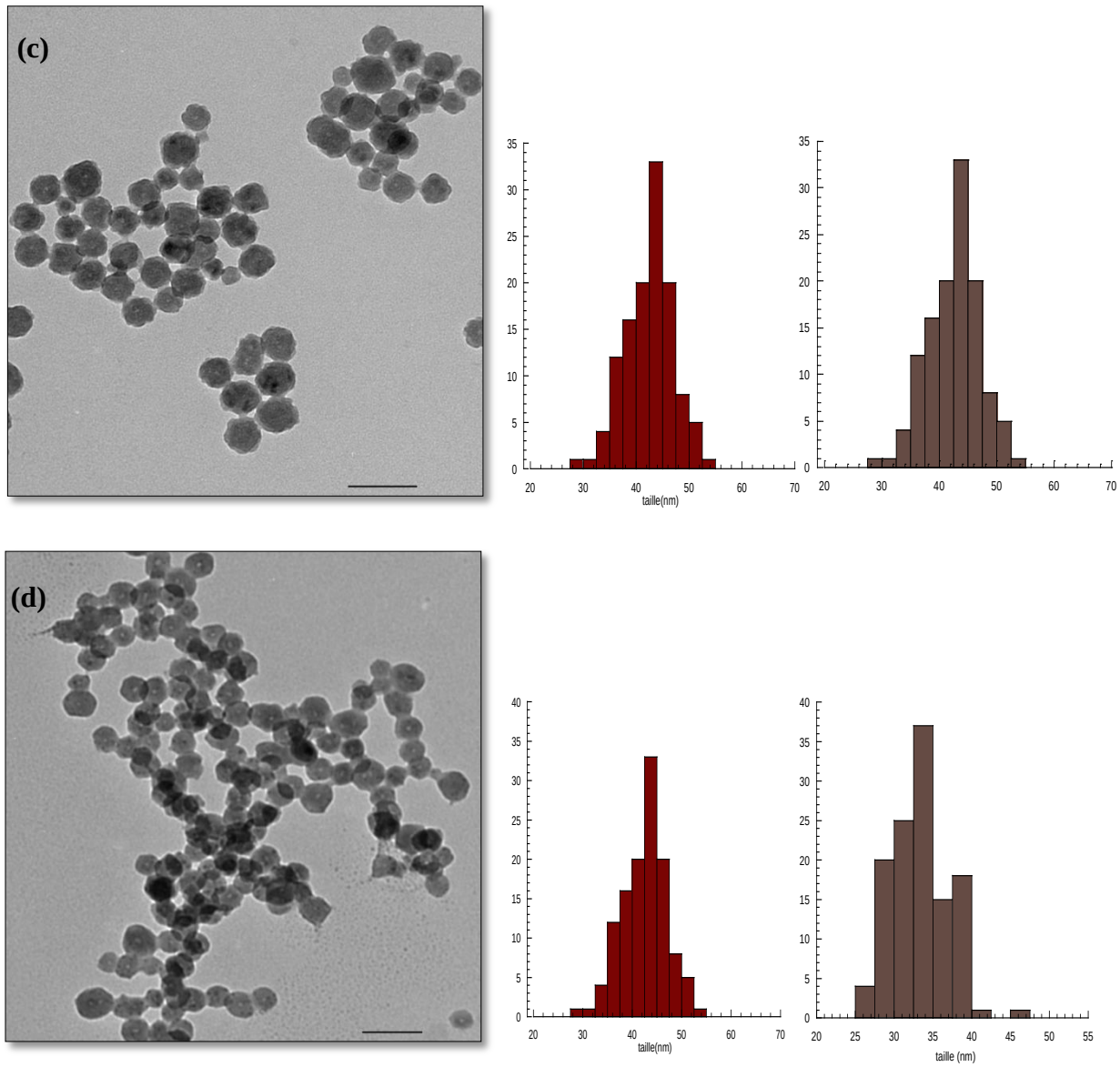


Figure III-9: Images MET et histogrammes de distribution de taille (longueur en rouge et largeur en gris) des nanoparticules cœur-coquille de la série B (sans Cs): (a) [32] et (b) [42] et de la série A (avec Cs) : (c) [32Cs], (d) et [42Cs] entourées de CTAB (échelle 100nm)

Les clichés MET ci-dessus présentent des objets bien homogènes en taille et en forme. Les particules de la série A, synthétisées en présence de césium dans la couche photomagnétique, possèdent une forme cubo-octaédrique contrairement aux particules de la série B (sans Cs) qui apparaissent sous forme de prismes rectangulaires bien facettés.

Les structures cœur-coquille sont clairement contrastées pour des objets [42] ce qui est dû à la différence de teneur en césium (I) entre la phase ferromagnétique et photomagnétique. Néanmoins, il est plus difficile d'examiner cette structure pour les objets [42Cs]. La richesse de la couche photomagnétique en césium entraine la formation des réseaux moins hydratés et plus résistants au faisceau d'électrons. Les spots brillants qui apparaissent au centre des

particules proviennent de l'endommagement des « cœurs » CsNiCr sous le faisceau (*Fig III-10).*

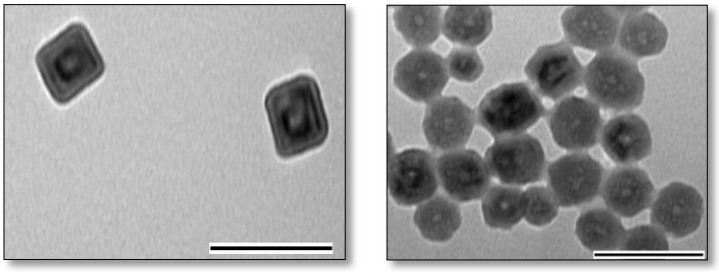


Figure III-10: Cliché MET zoomé des particules cœur-coquille [42] CsNiCr@CoFe@CsNiCr (gauche) et [42Cs] CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr (droite) (échelle 100nm)

Les tailles moyennes obtenues pour les objets de deux séries sont en excellent accord avec les tailles attendues *(Tab. III-2).* L'étroite distribution de taille moyenne de l'ordre de 10% à 15% confirme encore une fois l'efficacité de cette voie de synthèse qui conduit à un bon contrôle de taille des nanoparticules.

	[32x]		**[42x]**	
	L	***l***	***L***	***L***
Serie A (avec Cs^+)	35,6 ± 4,1	33,2 ± 3,7	42,3 ± 4,6	45,6 ± 4,3
Serie B (sans Cs^+)	31,9 ± 2,7	32 ± 2,8	46,7 ± 4,1	42,8 ± 3,7

Tableau III-2: Tailles (longueur et largeur) et distributions des particules cœur-coquille des séries A (avec Cs) et B (sans Cs) obtenues à partir des images MET

A noter que l'incohérence des tailles observée entre les deux techniques (DDL et MET) peut être expliquée par l'excès de cations en solution. Pour une particule chargée la sphère considérée en DDL contient la particule entourée de sa couche diffuse, ce qui entraîne une surestimation par rapport à une mesure de taille par microscopie *(Fig. III-11).*

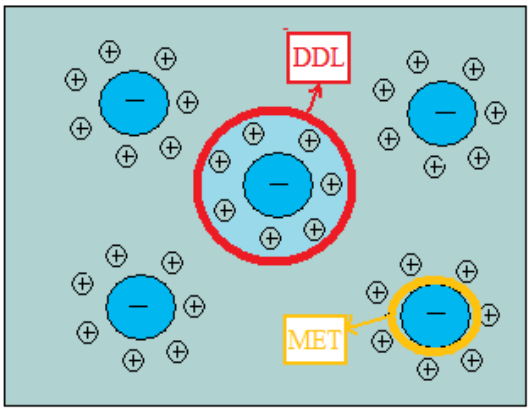


Figure III-11: Schéma représentatif de la différence de caractérisation de la taille entre DDL et MET pour des particules chargées négativement en solution.

III.3.2. Structure et cristallinité des nanoparticules Cœur-coquille :

III.3.2.1. Microscopie électronique à balayage par transmission (STEM) :

L'observation des objets par STEM (*Scanning Transmission Electron Microscope* a été realisée par A. Gloter au Laboratoire de Physique de solide (LPS - Orsay). Les images obtenues en mode « Champ sombre Annulaire à Grand Angle » (HAADF : *High Angle Annular Dark Field*) montrent, tout comme en TEM, une structure parfaitement cubique pour les objets CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] contre une forme cubo-octaédrique pour les objets CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] *(Fig. III-12)*. La taille mesurée des ces objets est toujours inférieure à 42 nm ce qui atteste une croissance bien contrôlée.

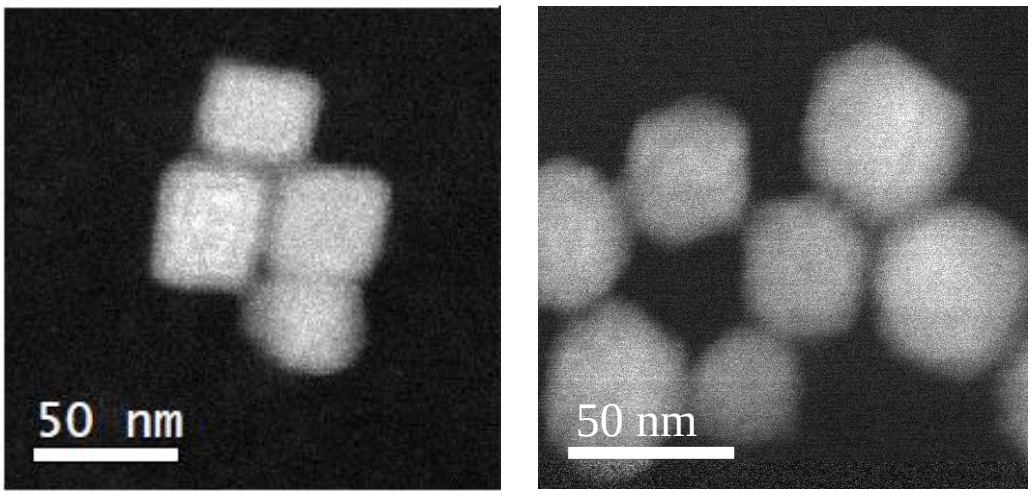


Figure III-12: Image STEM-HAADF d'un ensemble des particules cœur-coquille CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (gauche) et CsNiCr@CsCoCr@CsNiCr [42Cs] (droite) (échelle 50 nm)

La structure multicouche a été mise en évidence par la spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS : Electron Energy less spectroscopy) couplée au STEM. Cette technique permet de localiser précisément les différents éléments chimiques au sein de l'objet en y balayant un faisceau d'électrons par pas de 1 nanomètre. Le profil chimique obtenu des deux objets [42] et [42Cs] confirme leur nature cœur-coquille. Les tricouches [42] possèdent une répartition homogène des éléments Ni et Cr dans le cœur et la coquille externe et du Fe et Co dans la coquille intermédiaire *(Fig III-13).* Comme le faisceau est perpendiculaire et traverse toute l'épaisseur de l'échantillon, la détection d'une petite quantité de cobalt au centre des particules paraît raisonnable. La rugosité de surface des particules [42Cs] et leur forme non cubique expliquent les profils chimiques accidentés.

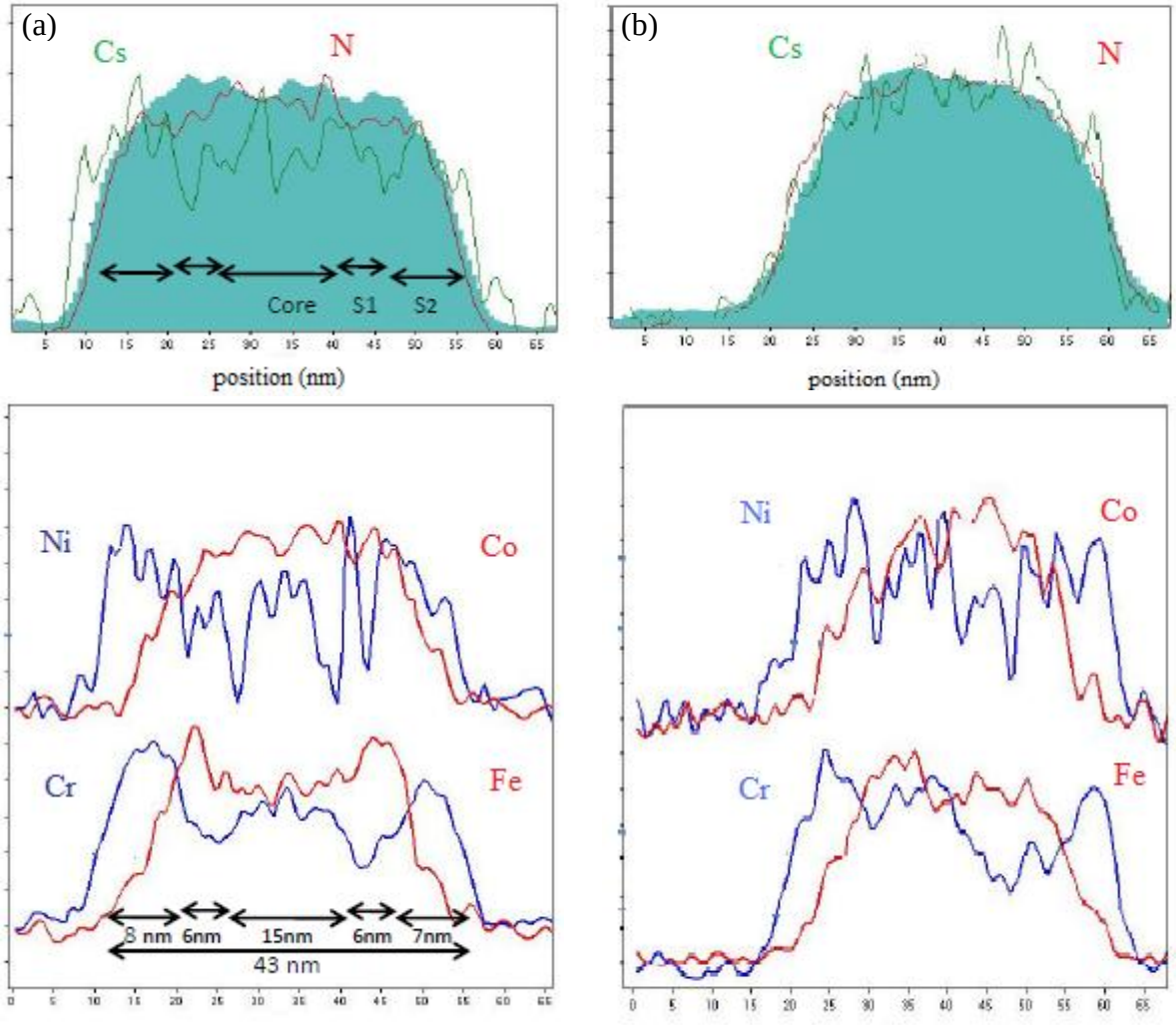


Figure III-13: Profil chimique des éléments Cs et N (haut), Ni, Cr, Co et Fe (bas) d'une particule CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42Cs] (a) et CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (b) réalisé par STEM-EELS

Seul le spectre du Césium présente une différence entre les deux objets. Alors que le signal s'étend sur toute la particule CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] confirmant l'insertion de l'alcalin uniformément dans l'objet, une discontinuité est observée pour le CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42]. Le spectre comporte des maximas au cœur **C** et dans la couronne extérieure $\mathbf{S_2}$ et des minimas au niveau de la première coquille $\mathbf{S_1}$, conformes aux conditions expérimentales (croissance de la couche CoFe sans alcalin). Ainsi, la quantité détectée hors de la zone contenant C et N peut être expliquée par l'excès de Cs^+ dans la coquille externe et qui tend à entourer la particule pour compenser sa charge négative.

III.3.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre:

La structure cristalline des nanoparticules cœur-coquilles a été confirmée par diffraction des rayons X sur poudre des particules des deux séries enrobées de CTA^+.

Les diffractogrammes des composés de la série **A** présentés dans la *figure III-14* confirment la présence des deux réseaux CsNiCr et CsCoFe avec une structure cubique à faces centrées. Le diffractogramme de l'échantillon [32Cs] ne présente qu'un seul pic pour chacune des réflexions avec un paramètre de maille moyen de 9,9 Å caractéristique de l'état Co^{III}-CN-Fe^{II} de la couche photomagnétique. Ceci confirme la valence du Co et du Fe liée à l'insertion du Cs^+. Aucune contribution du cœur CsNiCr 12 nm n'a été observée en raison de l'élargissement important attendu pour une longueur de cohérence de 12 nm.

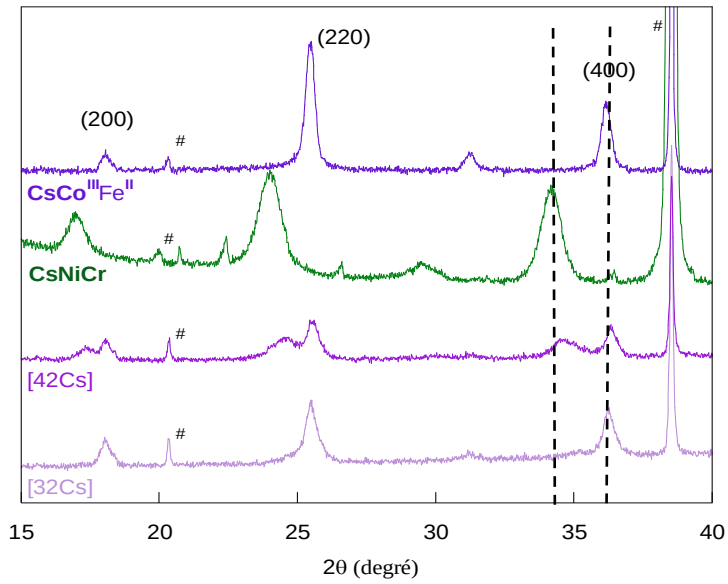


Figure III-14 : Diffractogrammes de poudre des particules cœur-coquilles de la série B CsNiCr@CsCoFe [32Cs] (mauve) et CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] (violet) comparé à celui du CsNiCr (vert) et $CsCo^{III}Fe^{II}$ (indigo) (# issus du support).

Deux pics distincts de diffraction sont observés systématiquement pour l'échantillon [42Cs] ce qui indique une structure biphasée. Les valeurs de paramètres de mailles calculées à partir

des raies de diffraction les plus intenses ((200), (220) et (400)) sont 9,94 Å et 10,47 Å correspondent respectivement aux $CsCo^{III}Fe^{II}$ et $CsNi^{II}Cr^{III}$.

Les diagrammes de poudre des composés CsNiCr@CoFe [32] et CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] ne présentent pas ce dédoublement de pics pour chaque réflexion en raison de la proximité des paramètres de mailles des deux réseaux (10,40 Å pour CsNiCr et 10,35 $Co^{III}Fe^{II}$) *(Fig III-15)*. Les valeurs *quasi* constantes (10,20 et 10,22 Å respectivement), sont proches de celle du réseau CoFe qui domine le signal (10,35 Å sans alcalin), en adéquation avec une faible teneur en Cs (10,35 Å dans le cas où presque aucun alcalin n'est inséré) et celle du CsNiCr (10,40 Å).

Comme pour l'échantillon [32Cs], les pics du composé [32] sont attribués à la coquille CoFe seule à cause de la faible contribution du CsNiCr. La formule de Scherrer appliquée au pic (400) donne une taille de 28 nm. La cristallinité de la coquille est très satisfaisante, la longueur de cohérence dominée par la plus grande largeur du domaine (32 nm). Par contre, la croissance de la coquille CsNiCr dans l'objet [42] conduit à une superposition des deux réseaux, ce qui se traduit par un élargissement asymétrique des pics. La largeur à mi-hauteur est alors faussée par ce chevauchement artificiel d'où une longueur de cohérence qui ne reflète pas la taille réelle de l'objet.

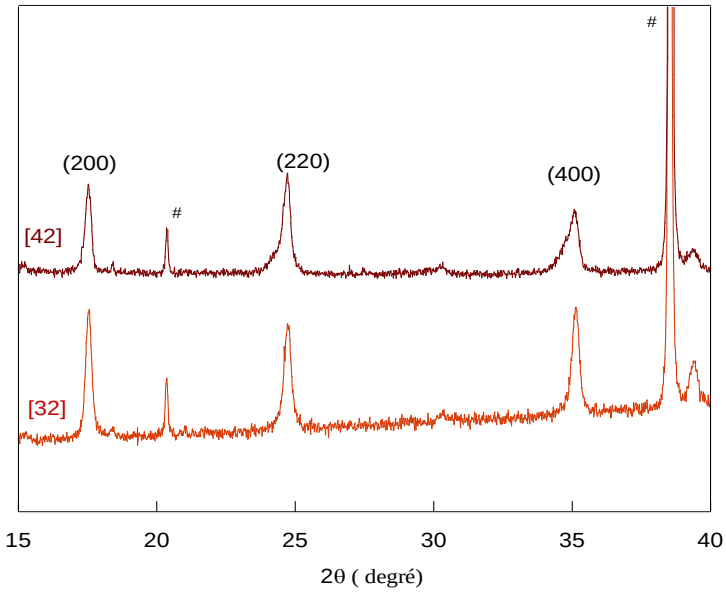


Figure III-15: Diffractogrammes de poudre des particules cœur-coquille de la série B CsNiCr@CoFe [32] (orange), CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (marron) et CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (rouge) (# issus du support).

Ces mesures montrent qu'une ségrégation des phases est obtenue et que la cristallinité de la coquille A_xCoFe_y est bonne. Elle confirme en outre l'état de valence de la coquille A_xCoFe_y de chaque série.

III.3.2.3. Microscopie électronique en transmission à haute résolution (HRTEM):

La cristallinité de la structure des nanoparticules cœur- coquille a été vérifiée par microscopie électronique en transmission à haute résolution. Les images des tricouches [42] et [42Cs] sont représentées dans la *figure III-16(a) et (b)* respectivement.

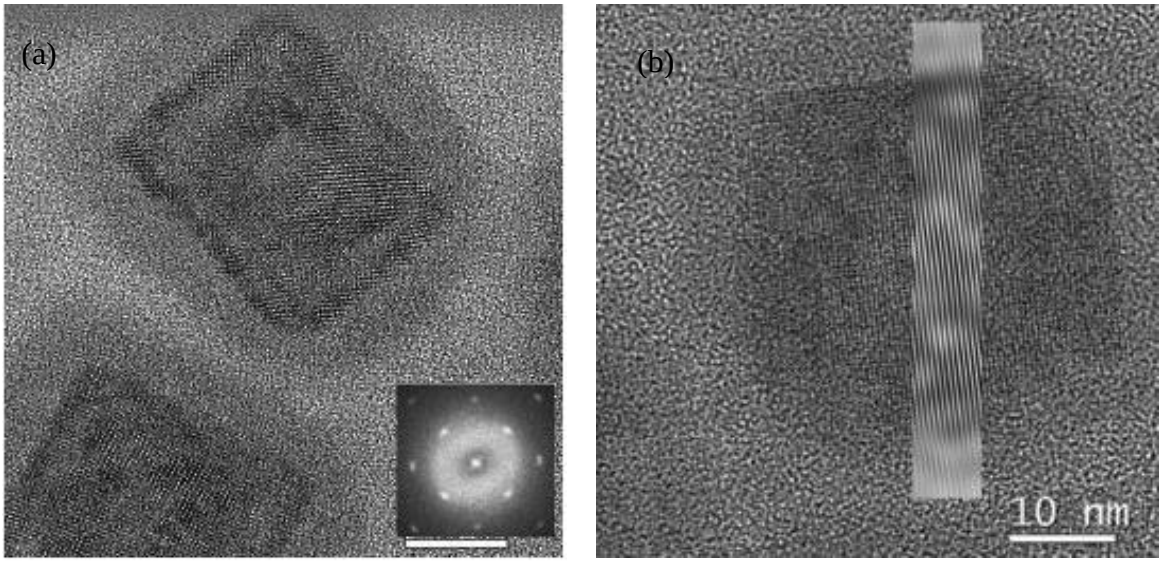


Figure III-16: Image HRTEM et cliché de diffraction d'une nanoparticule CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (a) et du CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] (b) (échelle 10 nm)

Les objets CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] de forme quasi cubique sont cristallins et facettés suggérant une bonne épitaxie entre les différentes couches. La différence de contraste entre la coquille CoFe et la couronne de CsNiCr est due à la déficience en césium ce qui est en accord avec les analyses EDX. Le cliché de diffraction électronique confirme la structure cubique du réseau et indique que les particules sont posées selon les faces {100}. Les plans atomiques sont bien visibles dans l'ensemble du cœur-coquille. La coquille externe semble plus amorphe en raison, sans doute, d'une plus grande fragilité sous le faisceau. Etant donné la faible épaisseur de cette coquille (CsNiCr 5 nm) et le bon contraste obtenu sur le réseau CoFe, d'épaisseur plus conséquente (10 nm), il est vraisemblable que l'on visualise ici la qualité de l'interface. Des dislocations et défauts sont présents à l'interface et peuvent être attribués à la présence d'une couche fine de 1 nm environ de CsNiFe. Les défauts présents en plus grand nombre que [42Cs] dans la particule peuvent être liés à une déshydratation partielle sous faisceau. Dans le cas des particules [42Cs], en dépit d'une morphologie cube-octaédrique et

d'une rugosité plus importante *(Fig.III-9 (d))*, la cristallinité des différentes composantes s'avère très bonne. En particulier l'interface présente peu de défauts, seules des dislocations sont présentes permettant d'accommoder la différence entre paramètres de maille à l'interface. Le meilleur contraste issu de la coquille CsCoFe permet de confirmer sa cristallinité, tandis que la présence des plans réticulés jusqu'aux faces de la particule confirme la cristallinité de la coquille externe (mis en évidence sur la zone claire). Ainsi, malgré la rugosité de ces particules plus importante que celle des [42], la cristallinité s'avère excellente.

III.3.3. Caractérisation Chimique des nanoparticules cœur-coquille :

III.3.3.1. Spectroscopie UV-visible:

La spectroscopie UV-visible permet de préciser l'état de valence des paires Co-NC-Fe de la couche photomagnétique. Les spectres enregistrés sur les suspensions colloïdales (à 1mM) des nanoparticules cœur-coquille à température ambiante sont représentés dans la *figure III-17*. Les échantillons [32Cs] et [42Cs] de couleur violette présentent une seule bande d'intervalence large vers 520 nm caractéristique de l'état Co^{III}-NC-Fe^{II} (Bas spin) accomplie par la présence du césium. Cette bande est attribuée au transfert d'électron métal-métal (MM'CT) du Fe^{II}(BS) ($t_{2g}^{6}e_g^{0}$) vers le Co^{III}(BS) ($t_{2g}^{6}e_g^{0}$).[18]

Les composés de la série B [32] et [42] sont couleur brune et la bande la plus intense apparait vers 390 nm. Cette dernière correspond au transfert de la charge ligand-métal (LMCT) du $Fe^{III}(CN)_6$ ce qui reflète la dominance de l'état Co^{II}-NC-Fe^{III} en absence d'alcalin.

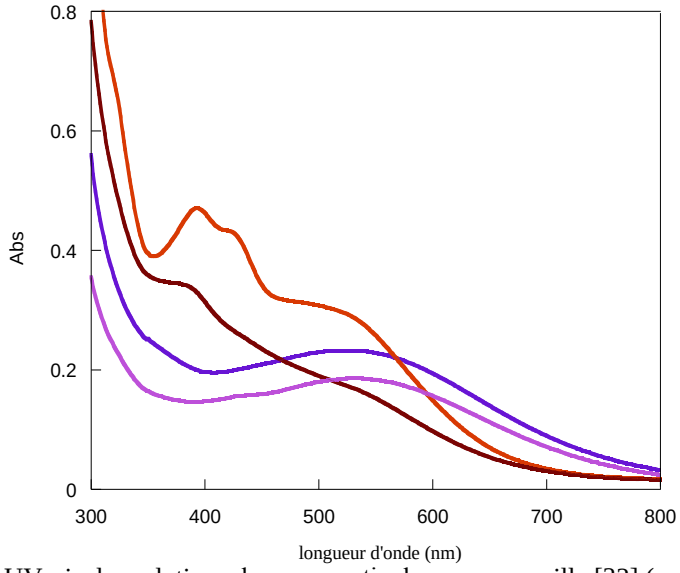


Figure III-17: Spectre UV-vis des solutions des nanoparticules cœur-coquille [32] (rouge), [42] (marron), [32 Cs] (violet) et [42Cs] (mauve)s

La croissance de la seconde couche ferromagnétique de CsNiCr s'accompagne d'un affaiblissement de l'intensité du signal d'absorbance (échantillons [42] et [42Cs]), lié à une dilution des nano-objets lors de cette phase de croissance.

III.3.3.2. Spectroscopie infrarouge :

La composition chimique ainsi que l'état d'oxydation des paires d'ions sont vérifiés par spectroscopie infrarouge effectuée sur les poudres des deux séries de nanoparticules récupérées au CTA *(Fig III-18)*. Les bandes situées dans la zone 2000-2500 cm^{-1} mettent en évidence les fréquences d'élongations asymétriques des groupements cyanures. Pour les composés [32Cs] et [42Cs], il s'agit d'une large bande à 2118 cm^{-1} caractéristique du Co^{III}-NC-Fe^{II} (BS). Cependant, deux bandes essentielles apparaîssent à 2158 cm^{-1} et 2100 cm^{-1} pour les composés [32] et [42]. La première correspond à l'état Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) majoritaire alors que la seconde décrit l'état Co^{II}-NC-Fe^{II} dont la formation n'a pas été supprimée malgré le contrôle du pH lors de la synthèse. La bande associée aux paires Co^{III}-NC-Fe^{II}, aussi présente au sein de ces objets mais en minorité, se superpose au signal très intense du Co^{II}-NC-Fe^{II} (coefficient d'extinction molaire élevé).[19] De même, la contribution des paires Ni^{II}-NC-Cr^{III} de faible coefficient d'absorption molaire par rapport aux ABP contenant des $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$, située à 2172 cm^{-1} ne peut être détectée finalement dans cette zone.[20]

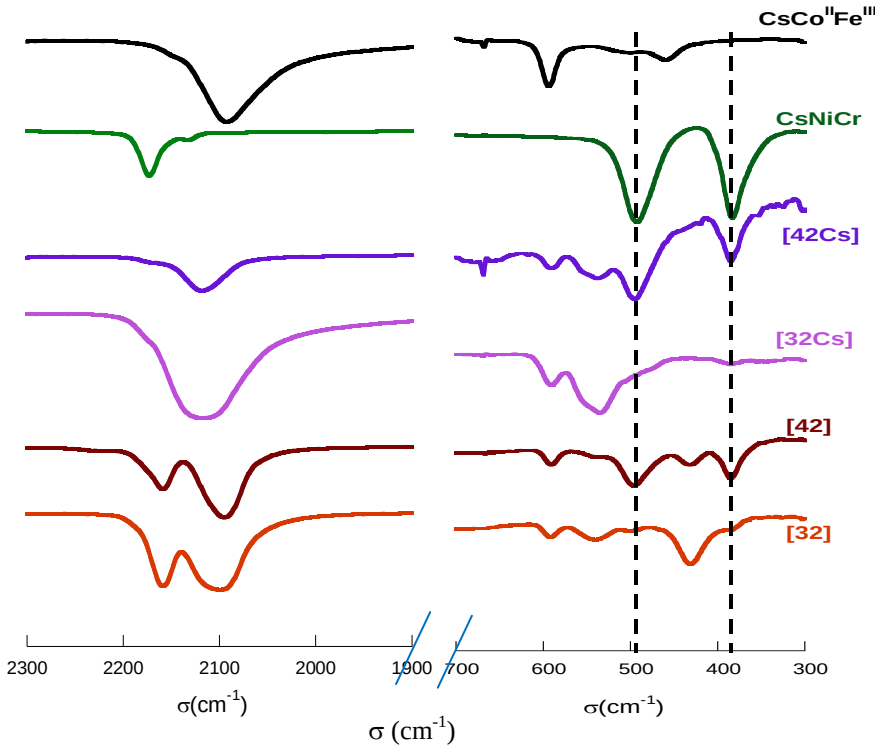


Figure III-18: Spectres infrarouge des nanoparticules cœur-coquilles [32] (orange), [42] (marron), [32Cs] (mauve), [42Cs] (violet) et des nanoparticules $CsNiCr(CN)_6$ (vert) et $CsCo^{II}Fe^{II}(CN)_6$ (noir)

En outre, les bandes de vibration de la liaison métal-carbone observées à basses fréquences (300-700 cm^{-1}) fournissent des informations complémentaires à la zone 2000-2500 cm^{-1}. La croissance du réseau CsNiCr ainsi que la valence des paires CoFe sont clairement mises en évidence dans cette zone. Les bandes situées à 385 cm^{-1} et 497 cm^{-1} caractéristiques de la vibration Cr^{III}-C deviennent plus intenses pour les composés [42] et [42Cs] ce qui prouve la croissance de la deuxième coquille de CsNiCr (lignes en pointillé).

Les composés [32] et [42] possèdent deux bandes à 430 cm^{-1} et 535 cm^{-1} qui correspondent à la vibration des liaisons Fe^{III}-C et Co^{III}-CN-Fe^{II} respectivement, confirmant ainsi la prépondérance de l'état Co^{II}-NC-Fe^{III} attendue en absence d'alcalin.

En ce qui concerne les composés [32Cs] et [42Cs], aucune vibration des ferricyanures n'est observée dans cette zone. Les deux bandes à 590 cm^{-1} et 533cm^{-1} sont attribuées aux Fe^{II}-C et Co^{III}-NC-Fe^{II} respectivement. Ceci confirme l'absence de paires Co^{II}-NC-Fe^{III} dans ces composés.

III.3.3.3. Analyse élémentaire :

Les formules chimiques des poudres précipitées au CTA^+ sont déterminées à partir des analyses EDS (energy dispersive X-Ray spectroscopy) des métaux couplées avec les analyses élémentaires des atomes C, H et N et reportées dans le *tableau III-3*. La formule chimique du cœur CsNiCr 12 nm est considérée équivalente pour tous les échantillons. Cette composition a été démontrée invariable en fonction de la taille avec un faible taux de lacune en chromicyanure ne dépassant pas 5 % [21] et qui est en bon accord avec la composition du massif.[16] Pour plus de précision, cette composition a été revérifiée sur un échantillon CsNiCr de 12 nm précipité au CTA^+.

Composé	Formule
[32Cs]	$Cs_{0,5}Ni[Cr(CN)_6]_{0,95}@(Cs_{0,49}Co[Fe(CN)_6]_{0,77})_{19}.\ CTA_{0,19}.H_2O_{59}$
[42Cs]	$Cs_{0,5}Ni[Cr(CN)_6]_{0,95}@(Cs_{0,49}Co[Fe(CN)_6]_{0,77})_{19}@$ $(Cs_{0,54}Ni[Fe_{0,15}Cr_{0,71}(CN)_6])_{24}.CTA_{0,76}.H_2O_{71}$
[32]	$Cs_{0,5}Ni[Cr(CN)_6]_{0,95}@(Cs_{0,09}Co[Fe(CN)_6]_{0,72})_{20}.\ CTA_{0,31}.H_2O_{82,9}$
[42]	$Cs_{0,5}Ni[Cr(CN)_6]_{0,95}@(Cs_{0,09}Co[Fe(CN)_6]_{0,72})_{20}@$ $(Cs_{0,54}Ni[Fe_{0,13}Cr_{0,69}(CN)_6])_{25}.CTA_{0,33}.H_2O_{169}$

Tableau III-3 : Unités formulaires des particules cœur-coquille proposées par les analyses élémentaires.

La composition chimique des coquilles CoFe et CsCoFe révèle un taux de lacunes en accord avec celle des massifs.[22] Une structure lacunaire à 28 % en ferricyanure est observée dans les échantillons [32] et [42] avec la détection d'une très faible proportion de césium inséré provenant de la synthèse des particules cœurs (rapport Co/Fe = 1,38). En revanche, l'addition du césium en grande proportion au sein de la couche photomagnétique des composés [32Cs] et [42Cs] n'a pas réduit ces lacunes. Le taux reste relativement important à 20% environ malgré l'insertion totale du césium introduit (rapport Cs/Co = 0,52 en bon accord avec la quantité introduite de 0,4 équivalent par rapport au $CoCl_2$). Cette composition est voisine de celle obtenue pour des nanoparticules CsCoFe, comme nous l'avons montré dans le chapitre II. Cette structure lacunaire peut être avantageuse dans le sens où elle permet une réponse photomagnétique plus efficace en maintenant une certaine flexibilité au réseau. Elle permet en outre d'obtenir une température de relaxation plus élevée. Toutefois, l'excès de ferricyanure résiduel en solution réagit avec le nickel introduit lors de la croissance de la deuxième coquille, pour former une fine couche de l'analogue CsNiFe d'épaisseur 1 nm et 1,5 nm respectivement pour les échantillons [42] et [42Cs].

Le rapport d'ions $n[Ni^{II}]/n[Co^{II}]$ calculé pour les échantillons [42] et [42Cs] sont 1,27 et 1,33 respectivement ce qui est en excellent accord avec les quantités introduites (1,34) lors de la croissance de la coquille externe.

Notons que la formation de ces couches d'interface peut être évitée en ajustant la stœchiométrie du ferricyanure à 0,8 équivalent par rapport à 1 équivalent de $CoCl_2$ lors de la synthèse de la couche photomagnétique, comme nous l'avons démontré plus récemment.

III.3.4. Conclusion :

Les informations retirées de l'ensemble des caractérisations chimiques et structurales mentionnées ci-dessus mettent en évidence une influence cruciale du césium sur la structure, la composition chimique et l'état de valence des nanoparticules cœur-coquilles. Les objets *modèles* [32] et [42] obtenus sont de beaux cubes avec une structure cœur-coquille cristalline cubique à faces centrées, de tailles bien contrôlées et dont la coquille intermédiaire est majoritairement formée des paires Co^{II} (HS)-NC-Fe^{III} (BS) ferrimagnétiques. La présence du césium, défavorable à l'hétéro-épitaxie, dans les objets [32Cs] et [42Cs] conduit à des nanostructures bien cristallines également mais accompagnées d'une plus grande rugosité de la surface à l'origine de la forme cubeoctaédrique des particules. La coquille CoFe est formée

en grande majorité de paires Co^{III}(BS)-NC-Fe^{III}(HS), démontrant ainsi le contrôle fin sur l'état de valence par notre voie de synthèse.

III.4. Autres Stratégies de synthèse :

Cherchant à obtenir une épitaxie plus importante tout en préservant une réponse photomagnétique optimale, plusieurs synthèses des objets $CsNiCr(CN)_6$@$ACoFe(CN)_6$ de 32 nm ont été effectuées en sondant l'influence de l'alcalin et du solvant sur la forme et la valence de la coquille photomagnétique.

III.4.1. Effet de l'alcalin :

Comme déjà mentionné, le transfert d'électron métal-métal à l'origine de l'effet photomagnétique de l'analogue CoFe dépend fortement de la nature de l'alcalin inséré dans les interstices tétraédriques du réseau. Ce phénomène était toujours observé à différents degrés d'efficacité en fonction de l'alcalin. C'est ainsi que les composés $K_xCo_y[Fe(CN)_{6z}].nH_2O$, $Na_xCo_y[Fe(CN)_{6z}].nH_2O$,[23] $Rb_xCo_y[Fe(CN)_{6z}].nH_2O$[18] et $Cs_xCo_y[Fe(CN)_{6z}].nH_2O$[24] restent depuis 1996 et jusqu'à présent l'objet de nombreuses études. Dans ce contexte, plusieurs stratégies supplémentaires ont été suivies au cours de ce travail.

III.4.1.1. Nature de l'alcalin :

La première stratégie consiste à préparer les nanoparticules bicouches $CsNiCr(CN)_6$@$ACoFe(CN)_6$ de 32 nm en utilisant le sodium et le potassium en tant qu'alcalin au sein de la coquille ACoFe, nommées respectivement [32Na] et [32K]. La préparation de ces objets suit la même voie de synthèse décrite au paragraphe II avec une stœchiométrie [alcalin]/[Co^{II}] = 2. Les solutions colloïdales obtenues sont limpides et de couleur marron ce qui donne une première indication sur l'état Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) de la coquille CoFe. Les particules sont ensuite récupérées au CTA^+ puis caractérisées chimiquement et structuralement par différentes techniques.

III.4.1.1.1.Caractérisation de la taille :

Les tailles des particules [32Na] et [32K] ont été vérifiées par DDL et par MET *(Fig. III-19)*. Bien que la DDL reflète une croissance de la coquille (sans nucléations parasites), les tailles obtenues sont supérieures aux tailles attendues tout comme pour l'échantillon [32] *(Tab. III-4)*.

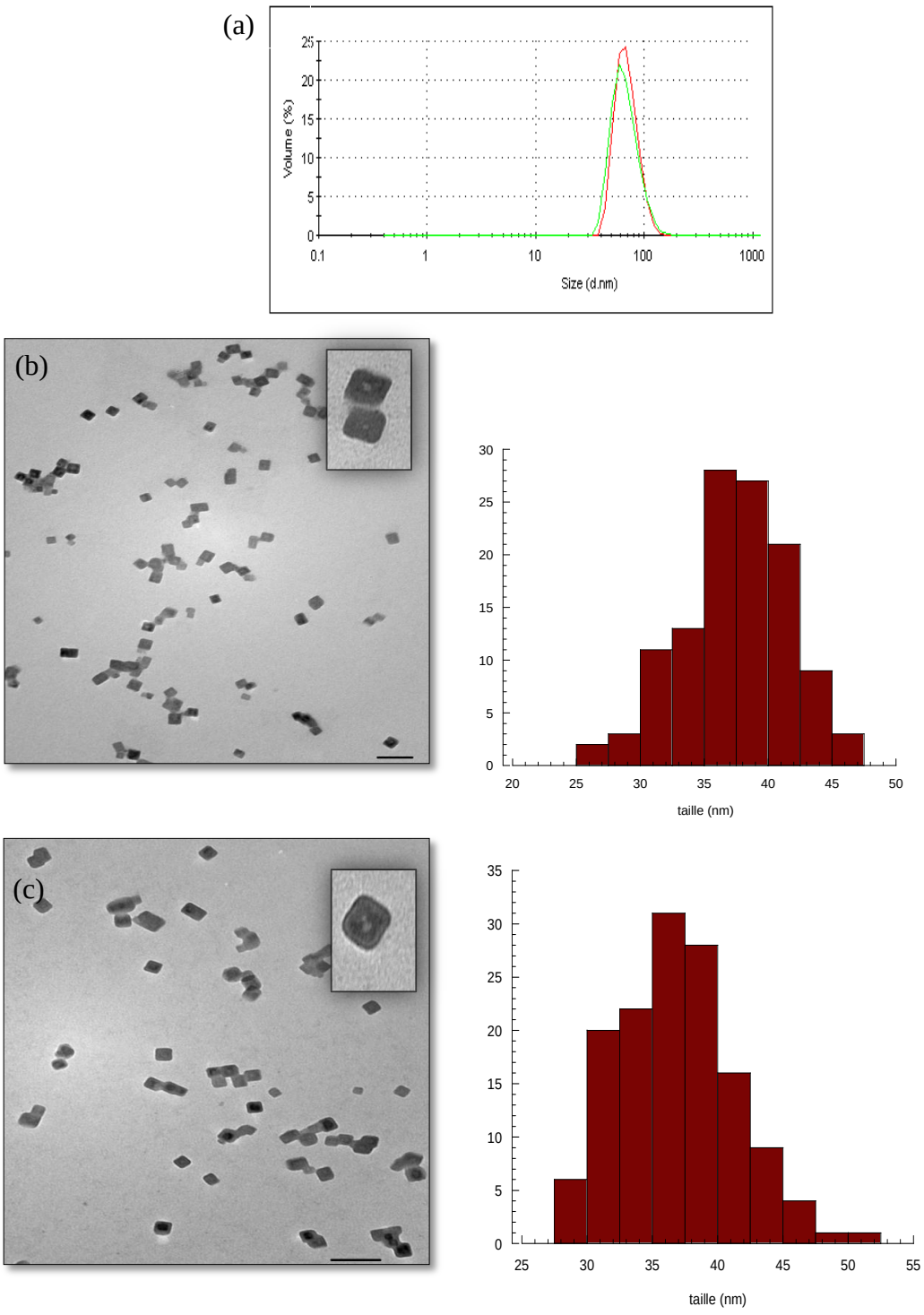


Figure III-19: (a) Distributions de taille des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@NaCoFe [32Na] (vert) et CsNiCr@KCoFe [32K] (rouge) obtenues en DDL sur les solutions aqueuses; (b) image MET des nanoparticules CsNiCr@NaCoFe [32Na] et (c) CsNiCr@KCofe [32K] (échelle 100nm)

Les micrographies obtenues par TEM montrent des nanocubes cœur-coquille bien facettés avec une taille moyenne aux alentours de 37 nm pour les deux échantillons légèrement supérieure à la taille attendue. La forme cubique bien facettée résulte de l'homo-épitaxie

favorisée par la faible différence de paramètres de maille de Δa_{max} = 0,08 Å et entre le réseau CsNiCr (10,40Å) et le réseau $NaCo[Fe(CN)_6]$ (10,32Å) et $KCo[Fe(CN)_6]$ (10,40 Å).

Taille (nm)	[32Na]	[32K]
DDL	58	58
MET	37,4 ± 4,3	36,8 ± 4,1

Tableau III-4: Tailles moyennes des nanoparticules CsNiCr@NaCoFe et CsNiCr@KCoFe retirée à partir de la DDL et de MET

La surestimation de la taille mesurée en DDL, par rapport au MET, est due à la présence de la couche de solvatation entourant les particules.

III.4.1.1.2. Caractérisation structurale et chimique :

La structure cristallographique des échantillons [32Na] et [32K] a été vérifiée par diffraction des rayons X sur poudre. Les diffractogrammes confirment la structure cubique à faces centrées avec un seul pic pour chacune des réflexions *(Fig. III-20)*. Les paramètres de maille calculés à partir du pic le plus intense (400) sont identiques a = 10,29 Å pour les deux composés.

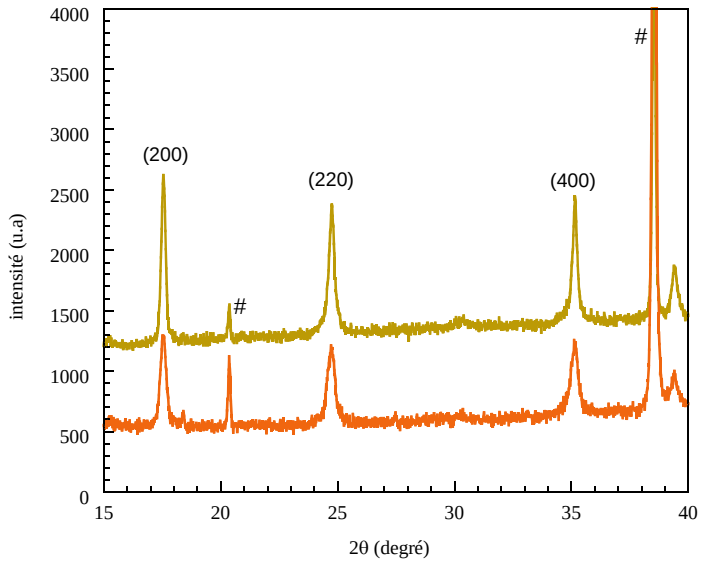


Figure III-20: Diffractogrammes de diffraction des rayons X sur poudre des nanoparticules cœur-coquille [32Na] (orange) et [32K] (moutarde) (les pics # sont issus du porte échantillon)

Les spectres infrarouge présentés dans la *figure III-21* montrent une similitude de la signature chimique des deux échantillons [32Na] et [32K]. Deux bandes caractéristiques apparaissent dans la zone située de vibration des ligands cyanures. La première étant large entre 2090 cm^{-1} et 2120 cm^{-1} englobe les contributions des deux états Co^{II}-NC-Fe^{II} et Co^{III}-NC-Fe^{II}

respectivement mais dominées par le fort coefficient d'absorption du $Co^{II}Fe^{II}$. La deuxième à 2120 cm^{-1} est caractéristique de l'état Co^{II}-NC-Fe^{III} majoritaire.

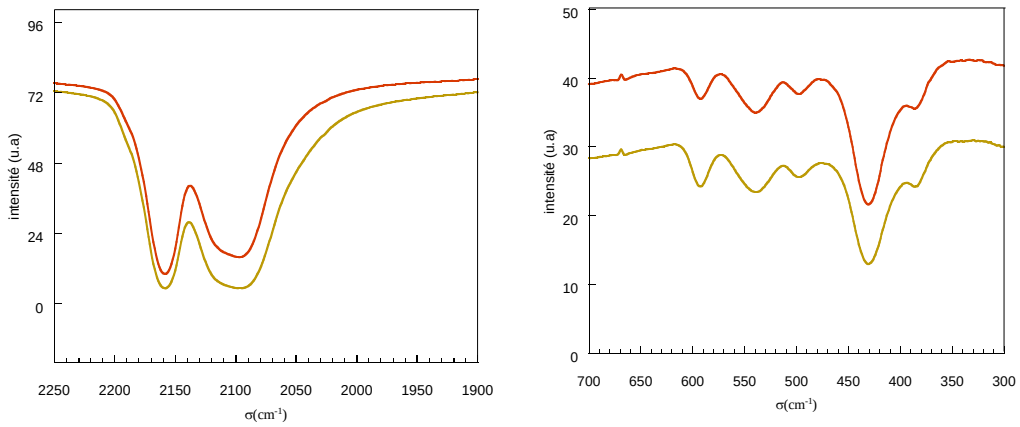


Figure III-21: Spectres Infrarouge des composés [32Na] (orange) et [42K] (vert) dans la zone à hautes fréquences (gauche) et à basses fréquences (droite)

Les bandes de vibration des liaisons métal-C observées à basses fréquences confirment la valence mixte des paires d'ions de la couche CoFe avec une bande intense à 430 cm^{-1} spécifique de la liaison Fe^{III}-C, une deuxième à 590 cm^{-1} caractéristique du Fe^{II}-C et une troisième à 530 cm^{-1} qui correspond aux paires Co^{III}-NC-Fe^{II}. L'"empreinte" du cœur CsNiCr est toujours marquée par la liaison Cr^{III}-C observée à 497cm^{-1}. Comparé au composé *modèle* [32] préparé sans alcalin, les données paraissent très similaires ceci fait poser la question sur le degré d'insertion de ces alcalins au sein du réseau.

Pour y répondre, les compositions chimiques de deux échantillons ont été déterminées par les données EDS (rapport Co^{II}/Fe^{III} et Ni^{II}/Cr^{III}) couplées aux analyses élémentaires C, H et N *(Tab. III-5)*.

Composé	Formule chimique
[32Na]	$Cs_{0,5}Ni[Cr(CN)_6]_{0,95}@(Na_{0,18}Co[Fe(CN)_6]_{0,73})_{17,9}.CTA_{0.14}.H_2O_{61,5}$
[32K]	$Cs_{0,5}Ni[Cr(CN)_6]_{0,95}@(K_{0,12}Co[Fe(CN)_6]_{0,72})_{16,5}.CTA_{0,36}.H_2O_{31,8}$

Tableau III-5 : Composition chimique des nanoparticules cœur-coquille [32Na] et [32K]

Les analyses montrent une très faible insertion de l'alcalin dans la coquille photomagnétique avec une structure lacunaire à 30 % bien identique à l'échantillon [32]. A cause de leur taille largement inférieure à celle des lacunes tétraédriques (1,92Å), les cations solvatés K^+ (1,38 Å) et Na^+ (1,02 Å)[25] sont plus difficilement piégés à l'intérieur des interstices du réseau cfc à ces faibles forces ioniques. Pour favoriser l'insertion et générer plus de paires Co^{III}-NC-Fe^{II}

photomagnétiques, un des moyens possibles est la concentration en alcalin au cours de la synthèse. Cependant, dans un milieu chargé en cations, la charge négative des particules à l'origine de leur stabilisation électrostatique dans l'eau est fortement compensée, ce qui conduit à l'agrégation des particules.

Ces résultats confirment bien les données infrarouge où la coquille CoFe est essentiellement formée des paires Co^{II}-NC-Fe^{III}. Indépendamment de la nature de l'alcalin utilisé, l'ensemble de ces caractérisations montre une grande similitude entre les échantillons [32Na] et [32K] et l'objet *modèle* [32], ce qui est dû à la faible insertion de l'alcalin au sein du réseau. Les mesures magnétiques des échantillons [32Na] et [32K] sous irradiation n'ont pas été effectuées à ce jour, dans la mesure où une proportion plus faible de paires photoactives est présente. En revanche, nous avons cherché à voir si un transfert d'électron thermo-induit pouvait être observé sur [32Na] mais le produit $\chi T = f(T)$ ne montre aucune variation indicative d'un tel transfert.

III.4.1.2. Echange de l'alcalin :

Nous avons employé deux autres stratégies pour favoriser une croissance épitaxiale et générer des paires photoexcitables :

- Post-insertion d'alcalin par immersion dans une solution concentrée de NaCl ou KCl des particules (entourées de CTA ou de PVP), comme cela a été mené sur film mince par Sato et al..[26]
- Synthèse en milieu MeOH puis traitement thermique. Entre temps, ce processus a été identifié comme générant des paires Co^{II}-NC-Fe^{II} et non Co^{III}-NC-Fe^{II} (Annexe III).

III.4.2. Conclusion :

Nous avons cherché à améliorer la synthèse des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@CsCoFe 32 nm d'une façon à avoir *(i)* des particules cubiques bien epitaxiées et *(ii)* un état de valence $Co^{III}Fe^{II}$ de la coquille (*a posteriori* par changement de température) indispensable pour la réponse photomagnétique. Dans tous les cas, l'état Co^{II}-NC-Fe^{III} domine la coquille ce qui favorise l'épitaxie des deux réseaux constituants l'objet (faible différence des paramètres de maille) et l'obtention de la forme cubique. Toutefois, l'ensemble des stratégies de synthèse visant à induire une cristallinité parfaite et à post-générer des paires

Co^{III}-NC-Fe^{II} n'ont pas mené aux résultats escomptés. Dans la suite de ce travail, les études photomagnétiques ont été menées sur les composés [32Cs] et [42Cs]

III.5. Etude des propriétés magnétiques et photomagnétiques des nanoparticules cœur-coquille :

III. 5.1. Propriétés magnétiques des objets modèles [32] et [42] :

Dans le but d'avoir une référence sur la réponse magnétique attendue après irradiation des hétérostructures ferro / photomagnétiques [32Cs] et [42Cs], les propriétés magnétiques des objets modèles [32] et [42] ont été étudiées et sont détaillées dans ce paragraphe.

III.5.1.1. Courbes FC / ZFC des nanoparticules cœur-coquille [32] et [42] :

Les mesures magnétiques des échantillons [32] et [42] ont été effectuées sur les poudres des nanoparticules entourées du CTA^+ immobilisées dans quelques gouttes d'eicosane diamagnétique ($C_{20}H_{42}$) pour éviter les effets d'orientations importants observés sur les poudres seules. Les courbes ZFC / FC enregistrées sous un champ de 30 Oe mettent en évidence la coexistence des comportements magnétiques des deux réseaux $Co^{II}Fe^{III}$ et $CsNi^{II}Cr^{III}$ au sein des ces objets hétérostructurés *(Fig. III-22)*. Alors que le composé [32] présente un large maximum vers 20 K, deux maxima sont observés pour le composé [42] : un faible maximum à 14 K et un autre plus intense et étroit vers 70 K.

Pour le premier composé [32], les fortes interactions dipolaires entre les coquilles externes CoFe induisent une légère augmentation de leur température d'ordre jusqu'à 20 K, cette valeur restant proche de celle du massif à 17 K. En outre, les nanoparticules de "cœur" monodomaine de CsNiCr 12 nm possèdent une température de blocage autour de 22 K. Cette valeur pour des nanoparticules CsNiCr de 12 nm diluées dans une matrice de PVP[13] montre que les interactions dipolaires entre les cœurs sont relativement faibles à travers la couche externe paramagnétique $Co^{II}Fe^{III}$ (les cœurs sont séparés par 2x10 nm de $Co^{II}Fe^{III}$). La superposition des deux températures explique l'élargissement du maximum de la ZFC au sein de ces objets.

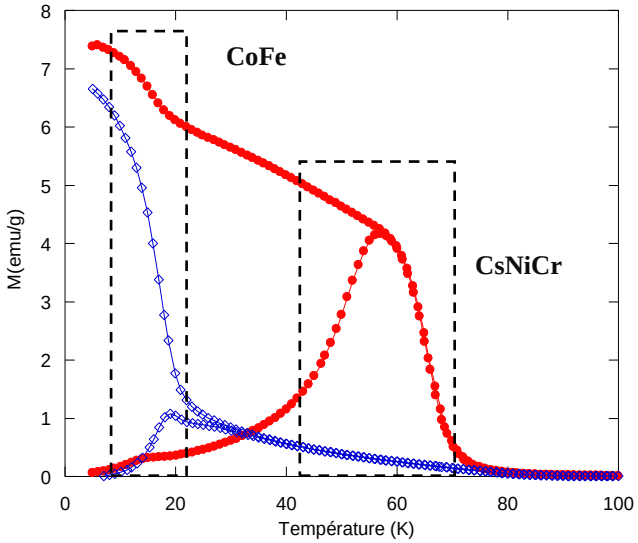


Figure III-22: FC et ZFC des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@CoFe [32] (bleu) et CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (rouge) (champ appliqué 30Oe)

La réponse magnétique du composé [42] est dominée par le comportement de la coquille externe ferromagnétique qui présente de surcroît de fortes interactions dipolaires interparticules, ce qui explique le décalage du maximum de la ZFC vers 57 K. Comparée à la température du Curie du "massif" à 90 K, cette température est faible. Ceci peut s'expliquer par le fait que cette coquille de 5 nm, qui correspond en quantité de matière à l'équivalent de particules "pleines" de 31 nm, présente une proportion de sites localisés à la surface et à l'interface qui réduit considérablement le nombre de voisins et par là-même la T_c attendue. Par ailleurs, la signature d'un ordre ferrimagnétique du Co^{II}-NC-Fe^{III} est toujours présente dans cet objet à 15 K, au sein de la coquille de 10 nm d'épaisseur.

III.5.1.2. Courbes d'aimantation des nanoparticules [32] et [42]

Les courbes d'aimantation en fonction du champ magnétique M=f(H) des nanoobjets hétérostructurés, enregistrées à 5K et entre -2T et 2T, sont représentées dans la *figure III-23*. L'allure des hystérèses met en évidence un couplage magnétique efficace entre le cœur ferromagnétique et la coquille ferrimagnétique qui se traduit par un renversement uniforme de l'aimantation (absence de marche dans le cycle). Ceci est caractéristique d'un comportement de type "spring magnet".[27]

Notons que l'analogue CsNiCr possède un faible champ coercitif (inférieur à 100 Oe) avec un moment magnétique important (interactions ferromagnétiques) et le Co^{II}-NC-Fe^{III} présente un large champ coercitif (800 Oe) et un faible moment magnétique (interactions antiferromagnétiques). L'assemblage de ces deux matériaux au sein du même nano-objet [32]

génère un comportement unique caractérisé par un large champ coercitif de 1500 Oe et un fort moment magnétique *(Tab. III-6).*

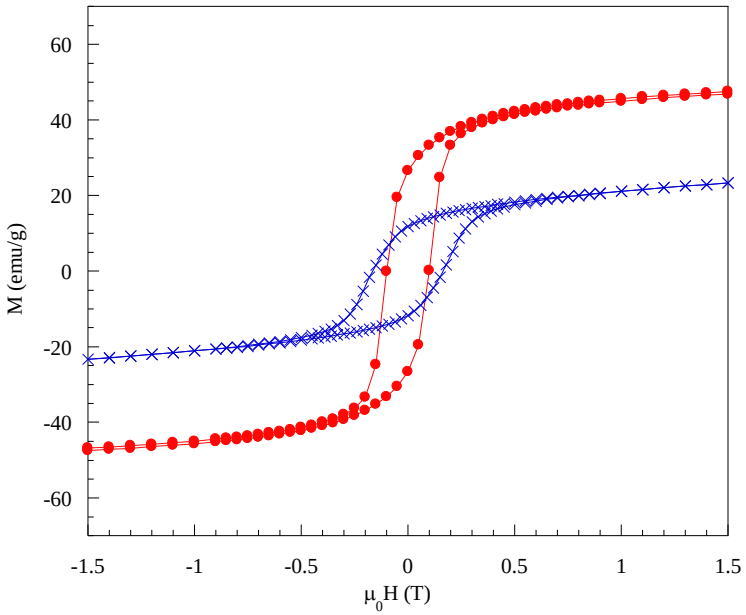


Figure III-23: Courbes d'aimantation à 5K des nanoparticules cœur- coquille CsNiCr@CoFe [32] (bleu) et CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42] (rouge)

	CsNiCr [12]	$Co^{II}Fe^{III}$	CsNiCr@CoFe [32]	CsNiCr@CoFe@CsNiCr [42]
H_c (Oe)	96	800	1500	1000

Tableau III-6 : Valeurs des champs coercitif des nanoparticules cœur-coquilles à 5K

La synergie des propriétés est ainsi confirmée dans les tricouches [42]. Une diminution modérée du champ coercitif à 1000 Oe et de la valeur de l'aimantation rémanente réduite sont induits par la croissance d'une deuxième couche de CsNiCr. La valeur d'aimantation à saturation à champ fort est également en bon accord avec l'augmentation de la proportion de CsNiCr.

III.5.2. Réponse photomagnétique des nanoparticules [32Cs] et [42Cs] *:*

Les propriétés magnétiques des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@CsCoFe [32Cs] et CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] ont été étudiées avant et après irradiation. Les mesures photomagnétiques ont été effectuées à l'ICMCB par Corine Mathonière. Tout comme pour les particules $CsCoFe(CN)_6$, la fixation de la poudre dans l'eicosane étant incompatible avec des mesures photomagnétiques, un procédé de mise en forme des échantillons consiste à étaler une petite quantité de la poudre entre deux couches de scotch fixées sur un support de carton.

L'irradiation des composés est réalisée sous un champ de 30 Oe à 10 K en utilisant une source laser de longueur d'onde 647 nm et de puissance 10 $mW.cm^{-2}$.

III.5.2.1. Les bicouches CsNiCr@CsCoFe [32Cs] :

La cinétique de la photo-transformation de la coquille CsCoFe de l'échantillon [32Cs] est représentée dans la *figure III-24*. L'aimantation augmente rapidement lors de l'éclairement puis tend à stagner au cours du temps. Cette augmentation reflète la régénération photo-induite des paires Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) (paramagnétique) à partir des paires diamagnétiques Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS). A l'interruption de l'irradiation, l'échauffement local de l'échantillon s'arrête et la valeur de l'aimantation est alors plus élevée. Préalablement aux mesures de la FC et ZFC, l'échantillon est amené au delà de la Tc, ceci étant nécessaire pour désorienter les domaines magnétiques du CsNiCr et CsCoFe responsable de l'apparition de l'état métastable RPI "Raw photo-induced state". [28]

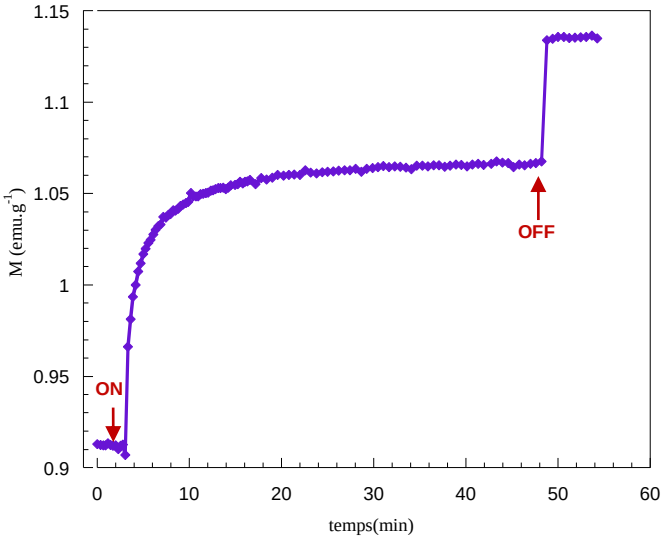


Figure III-24: Evolution de l'aimantation du composé CsNiCr@CsCoFe [32Cs] en fonction du temps.

Les courbes ZFC et FC sont ensuite enregistrées sous un champ de 30 Oe. Avant irradiation la ZFC présente un maximum unique vers 20 K qui résulte des interactions dipolaires entre cœurs CsNiCr monodomaines à travers la couche quasi-diamagnétique CsCoFe. Une étude de ces cœurs très dilués en matrice PVP a montré en effet un comportement monodomaine sous T=16.5 K. Un second maximum s'ajoute vers 19 K après irradiation et est dû à la contribution des paires Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) photogénérés. Notons que le comportement du [32Cs] après irradiation est bien conforme avec celui de l'objet *modèle* [32] *(Fig. III-25 (a) et Fig. III-22)*. Seule l'intensité du pic à 19 K diffère, liée à la photo-transformation incomplète du composé (mais suffisante pour générer l'ordre ferrimagnétique).

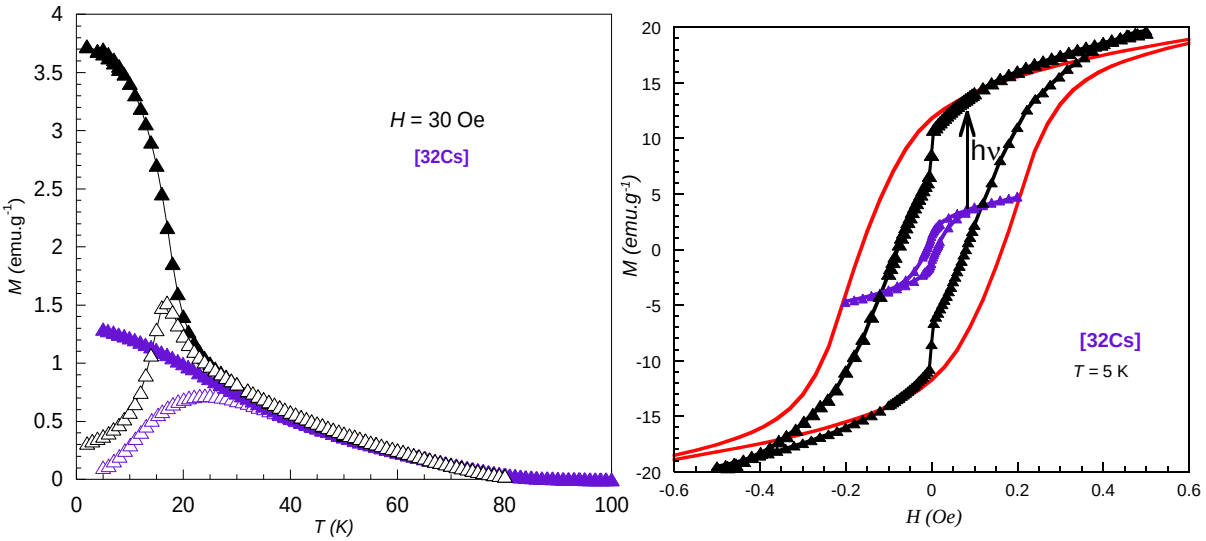


Figure III-25 : (a) Courbe ZFC / FC des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@CsCoFe [32Cs] avant (violet) et après irradiation (noir) ; (b) courbes d'aimantations avant (violet) et après irradiation et relaxation (noir) ; l'hystérèse en rouge correspond au composé modèle [32]

La comparaison des courbes d'aimantation M=f(H) avant et après irradiation montre des changements drastiques au niveau de l'allure de l'hystérèse. Avant irradiation, une faible ouverture de l'hystérèse est observée, avec un champ coercitif de l'ordre de 120 Oe. Cette valeur est légèrement supérieure à celle des particules cœurs CsNiCr seules (90 Oe). En l'absence de toute contribution des paires Co^{III}-NC-Fe^{II} diamagnétiques de la coquille externe, cette augmentation provient de la faible contribution des paires anisotropes $Co^{II}Cr^{III}$ générées à l'interface. Par ailleurs, la photo-régénération des paires Co^{II}-NC-Fe^{III} entraîne une augmentation du champ coercitif qui atteint la valeur de 850 Oe. Cette valeur reste inférieure à celle du composé *modèle* [32], ce qui est dû soit à une photo-transformation incomplète, soit aux orientations partielles toujours présentes (on devine une marche à champ nul). Cet effet gênant a déjà été vu sur les composés [32] et [42] non-fixés dans l'eicosane et n'a été évité que partiellement en bloquant la poudre entre deux scotchs. Il est à signaler que ce comportement est totalement réversible en chauffant l'échantillon au-dessus de 140 K. Enfin, il est possible d'évaluer le taux de photoconversion, de 42 % dans ce matériau, qui montre que la coquille de CoFe se transforme de manière comparable aux particules décrites dans le chap. II.

III.5.2.2. Tricouche CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] :

De la même manière, le comportement magnétique et photomagnétique du composé [42Cs] a été étudié avant et après irradiation. Pour bien éviter les effets d'orientations favorisés dans les particules enrobées de CTA^+, les mesures ont été effectuées sur des objets précipités avec du chlorure de zinc conduisant à des particules contenant des ions Zn^{2+} en tant que conter-ions. Il est à noter que des résultats similaires sont obtenus sur les particules enrobées du CTA, avec un effet d'orientation à champ nul (Annexe III).

Avant irradiation, les courbes ZFC / FC suggèrent un comportement magnétique global dominé par les fortes interactions dipolaires des coquilles externes de CsNiCr avec une température de mise en ordre sous 60 K, comme observé sur [42] *(Fig III-26).*

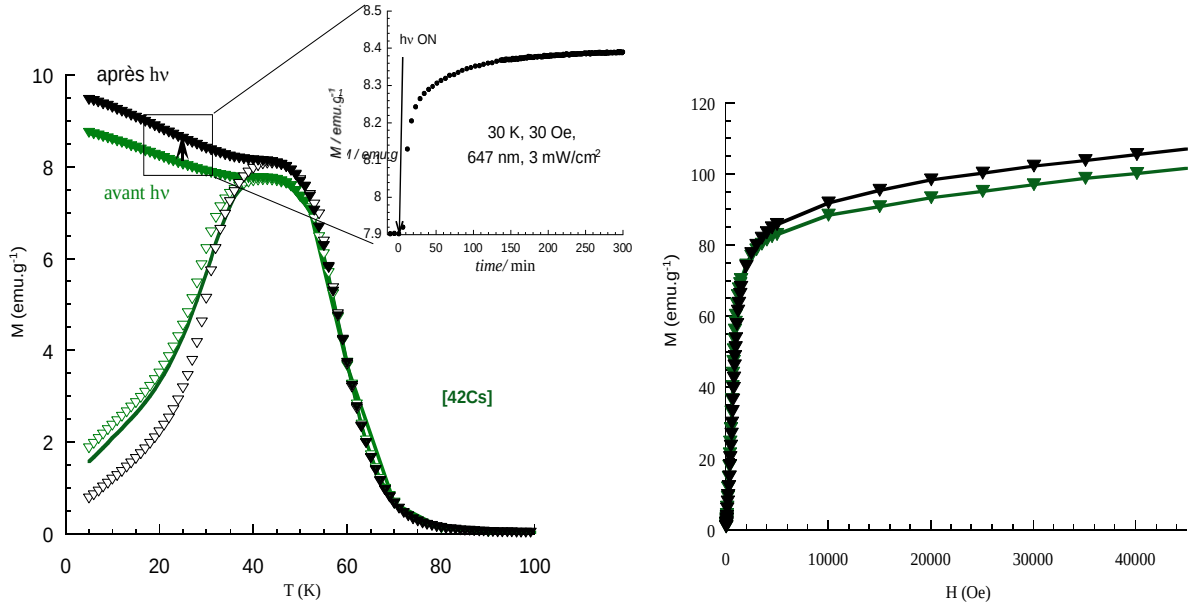


Figure III-26 : (a) Courbes ZFC / FC et de la cinétique de l'irradiation (b) courbes de la première aimantation des nanoparticules CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] avant (vert) et après (noir) irradiation à 30 Oe

Lors de l'irradiation (ici présentée à 30 K mais mesurée à 10 K également), le signal augmente pour atteindre un pallier au bout de 5 h. La première aimantation obtenue après irradiation ainsi que la FC montrent que des paires magnétiques ont été générées. Sachant que le rapport des contributions ferro (CsNiCr) / ferrimagnétiques (CsCoFe) est égale à 1,34, une augmentation de 24% doit être observée si la totalité des Co^{III} sont réduit en Co^{II}. Or, l'augmentation détectée est de 7% seulement ce qui correspond à une photo-transformation partielle. D'une part, la faible conversion des paires $Co^{III}Fe^{II}$ diamagnétiques peut s'expliquer par une excitation partielle qui ne transforme pas la totalité de l'échantillon. Le processus de la photo-excitation de l'analogue $Rb_{0,52}[CoFe(CN)_6]_{0,86}.2,3H_2O$ étant progressive comme

explique A. Goujon et al., la photo-transformation des Co^{III} en Co^{II} s'accomplit rapidement à la surface puis se poursuit lentement vers les couches les plus profondes du matériau.[29] De ce point de vue, la coquille de CsNiCr peut s'ajouter comme une limitation supplémentaire à la photo-transformation quoi qu'il absorbe faiblement dans le visible. D'autre part, C.Cartier Dit Moulin et al ont reporté que 50% des paires diamagnétiques de la surface $Rb_{0,8}[Co_4Fe(CN)_6]_{3,3}.13H_2O$ sont uniquement converties en paires paramagnétiques Co^{II}-NC-Fe^{III}.[30] D'après eux, moins le matériau est lacunaire, moins la structure est flexible et par conséquent seules les paires $Co^{III}Fe^{II}$ de la surface sont transformées. L'aimantation photo-induite résulte donc d'un compromis entre le nombre des paires diamagnétiques et le taux de lacunes au sein du matériau. Toutefois, nous avons observé une phototransformation satisfaisante dans le cas des particules de CsCoFe (chap. II) et du composé [32Cs] qui présente une composition similaire à [42Cs]. Une hypothèse plausible pour expliquer la différence de la phototransformation est que la contrainte exercée par la coquille de CsNiCr empêche la dilatation complète du réseau CsCoFe lors de la photo-conversion du Co^{III}-NC-Fe^{II} en Co^{II}-NC-Fe^{III}. Comparé au composé *modèle* [42], la photo-transformation incomplète de [42Cs] explique aussi l'absence d'un maximum prononcé à 19 K (température de mise en ordre des Co^{III}-NC-Fe^{II} observée sur [42]).

De manière remarquable, l'augmentation de l'aimantation observée sur la courbe FC après irradiation persiste jusqu'à la température de mise en ordre des couches ferromagnétiques (60 K). Cette observation s'oppose à la diminution persistante de l'aimantation (10-15%) reportée sur les films[31] et les nanoparticules hétérostructurés de grande taille[11] et sera discutée dans la suite de ce chapitre.

Les courbes d'hystérèses enregistrées à 5 K montrent des changements moins spectaculaires par rapport au [32Cs] *(Fig III-27)*. Avant irradiation, un champ coercitif de 400 Oe est mesuré, qui peut être lié à la présence d'une couche nanométrique de NiFe à l'interface de la première et la deuxième coquille. Après irradiation, cette valeur augmente jusqu'à 670 Oe, due à la photo-conversion partielle.

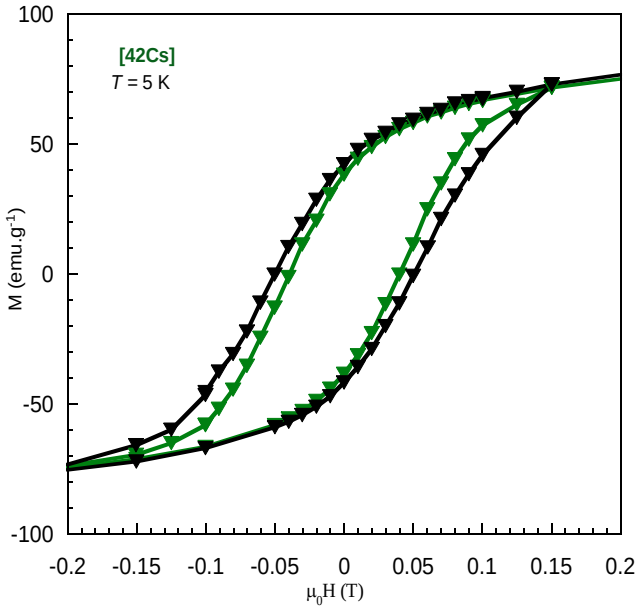


Figure III-27 : Courbes d'aimantations à 5K du CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr [42Cs] avant (vert) et après (noir) irradiation

Comme pour les objets *modèles*, l'échantillon [42Cs] présente un retournement uniforme de l'aimantation sans apparition des marches à champ nul (aucun d'effet d'orientation), cela met en évidence un couplage "exchange spring" combinant, à la fois, un aimant doux de CsNiCr d'importante aimantation à saturation Ms à un aimant dur $Co^{II}Fe^{III}$ de large coercivité.[32] Par conséquent, chaque particule présente un renversement uniforme à un champ coercitif bien supérieur à une particule de CsNiCr de même taille (84 Oe). Rappelons que ce système se relaxe après chauffage vers 140 K de manière totalement réversible. Ces effets devraient pouvoir être optimisés en maximisant la proportion de composé photoactif.

III.5.2.3. Discussion des résultats :

- Aimantation en fonction du champ :

Il apparait clairement que pour favoriser un comportement de type "exchange-spring" photo-induit, il est plus favorable de générer des hétérostructures présentant la coquille CsCoFe à l'extérieur afin de maximiser la photo-conversion ([32Cs]). On améliore ainsi la coercivité des objets CsNiCr tout en préservant une forte valeur de l'aimantation.

- Aimantation en fonction de la température :

Les effets observés sur nos systèmes cœur multicoquilles sont opposés à ceux décrits par l'équipe de D. Talham et M. Meisel.[11,33] Les systèmes sondés sont de tailles très nettement supérieures et diffèrents sur la composition (KNiCr@RbCoFe@KNiCr). Ces derniers ne

précisent pas la teneur en alcalin mais suggèrent que lors de la diminution en température, un transfert d'électron thermo-induit se produit dans la coquille RbCoFe. Le système est ainsi sensé se contracter (passage de 10,3 Å à 9,95 Å) puis sous excitation lumineuse se dilate à nouveau. Et c'est au final lors de la relaxation de la contrainte que la diminution globale de l'aimantation FC se produit. Encore à l'heure actuelle, le phénomène n'est pas bien compris, même si un *canting* au sein de la coquille CsNiCr sous pression est évoqué. Une hypothèse, formulée par L. Catala, est basée sur des études non publiées des particules CsNiCr sous pression et consiste à envisager l'isomérisation réversible de certains ponts CN sous pression issue de la photo-dilatation de la coquille RbCoFe. Les ions Ni^{II} passeraient pour certains à l'état diamagnétique, comme cela a déjà été observé sur certains composés.[34]

Quelle que soit l'origine des comportements observés sur leurs hétérostructures, ce que nous observons est totalement différent. Dans le cas de nos objets, les couches photoactives sont minces et les effets de contraintes peuvent être relaxés par une certaine flexibilité du réseau ABP. Nous attribuons l'augmentation persistante de la réponse, obtenue à bas champ, jusqu'à la température d'ordre (60 K) lors de la photo-dilatation sous irradiation par un alignement des ions paramagnétiques Co^{II} et Fe^{III} (au-delà de 20 K) sous l'effet du champ local généré par la coquille ferromagnétique CsNiCr. L'augmentation obtenue à bas champ après refroidissement sous champ est du même ordre de grandeur que l'augmentation observée après irradiation sur la première aimantation à 5 K. Il s'agit essentiellement d'un effet magnétique synergique entre paramagnétisme photo-induit et ferromagnétisme. L'intensité de cet effet pourra être optimisée en travaillant sur des coquilles photomagnétiques plus importantes, tout en maintenant une coquille externe de 5 nm de CsNiCr.

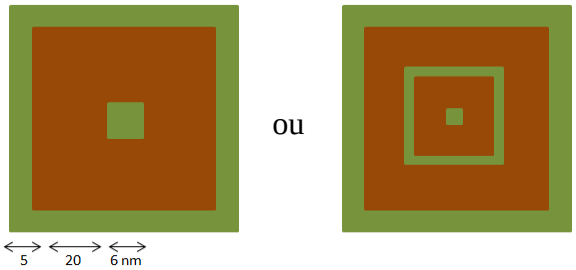
III.6.Conclusion :

Ce chapitre présente l'élaboration et l'étude des propriétés photomagnétiques des nanoparticules multicouches d'analogue de bleu de Prusse de moins de 50 nm formées par la combinaison du réseau $CsNiCr(CN)_6$ ferromagnétique au réseau $ACoFe(CN)_6$ photomagnétique. La croissance, effectuée dans l'eau sans surfactant ni polymère, mène à des nanocristaux hétéro-épitaxiés avec un excellent contrôle de la taille. Une influence cruciale du césium sur la morphologie et l'état de valence des hétérostructures a été mise en évidence par l'ensemble des caractérisations chimiques et structurales. Plusieurs essais visant à améliorer la morphologie des nanoparticules cœur-coquille ferro / photomagnétiques ont aussi été menés. Les stratégies de synthèse suivies reposent d'une part sur le changement de la nature de

l'alcalin au sein de la couche photomagnétique et d'autre part sur la nature du solvant respectivement. Toutefois, des cubes parfaitement facettés sont obtenus mais sans possibilité d'optimiser la proportion de Co^{III}-NC-Fe^{II}.

Sous éclairement, la réponse photomagnétique des ces objets est caractérisée par un retournement uniforme de l'aimantation, due aux interactions d'échange entre les deux matériaux couplés. Le comportement synergique des deux composants de différentes signatures magnétiques se manifeste par une augmentation du champ coercitif par rapport à celui des particules CsNiCr seules. Ces observations suggèrent que la synergie obtenue est fonction de la nature des analogues de bleu de Prusse couplés et l'épaisseur de la couche photoactive. Il s'agit ici de matériaux «exchange spring magnets» où l'une des phases couplées est photomagnétique.

Contrairement à la persistante diminution de l'aimantation référée ailleurs sur les films et les larges hétérostructures,[11,17] une augmentation photo-induite de l'aimantation FC est observée pour les tricouches et demeure jusqu'à la température de mise en ordre de la phase ferromagnétique (60 K). Ce phénomène résulte de l'alignement ferromagnétique des paires Co^{II}-NC-Fe^{III} photo-générées sous l'effet du champ local induit par les deux coquilles CsNiCr ferromagnétiques (intra-coquille et dipolaires inter-particules). Améliorer son amplitude est un objectif essentiel à atteindre. En optimisant l'épaisseur des composantes, il serait intéressant de préparer des hétérostructures où alterneraient des couches plus minces de CsNiCr et de CsCoFe plus épaisses pour avoir une augmentation photoinduite plus importante. Deux cas envisagés permettent d'augmenter la proportion de CsCoFe tout en maintenant une Tc à haute température.



CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr **CsNiCr@CsCoFe@CsNiCr@ CsCoFe@CsNiCr**

Dans le second cas, l'effet d'orientation locale des couches paramagnétiques pourra être optimal.

Enfin, cette stratégie de synthèse est extrapolable aux différents types d'analogue de bleu de Prusse. Ainsi, l'épitaxie d'autres coquilles photomagnétiques tels que $Rb_{0.88}Mn^{II}[Fe^{III}(CN)_6]_{0.96}.0.5H_2O$[35] ou $CsFe^{II}Cr^{III}(CN)_6$ [36] autour du cœur ferromagnétique peut être testée. Il est envisagé d'élaborer des cœur-coquilles associant une coquille d'un réseau ferrimagnétique de Tc plus élevées tels que $Cr^{II}Cr^{III}$ (Tc = 240 K)[37] ou $V^{II/III}Cr^{III}$ (T =320 K).[38,39]

Références bibliographiques :

(1) Pejakovoć, D. A.; Kitamura, C.; Miller, J. S.; Epstein, A. J. *Physical review letters* **2002**, *88*, 057202.

(2) Bousseksou, A.; Molnar, G.; Real, J. A.; Tanaka, K. *Coordination chemistry reviews* **2007**, *251*, 1822-1833.

(3) Sato, O.; Iyoda, T.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Science* **1996**, *272*, 704-705.

(4) Ohkoshi, S.; Einaga, Y.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1999**, *473*, 245-249.

(5) Osawa, H.; Iwazumi, T.; Tokoro, H.; Ohkoshi, S.; Hashimoto, K.; Shoji, H.; Hirai, E.; Nakamura, T.; Nanao, S.; Isozumi, Y. *Solid state communications* **2003**, *125*, 237-241.

(6) Yokoyama, T.; Ohta, T.; Sato, O.; Hashimoto, K. *Physical Review B* **1998**, *58*, 8257.

(7) Cafun, J. D.; Champion, G.; Arrio, M. A.; dit Moulin, C. C.; Bleuzen, A. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *33*, 11552-11559.

(8) Li, D.; Clérac, R.; Roubeau, O.; Harté, E.; Mathonière, C.; Le Bris, R.; Holmes, S. M. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 252-258.

(9) Koehler, F. H.; Lescouezec, R. *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 2571-2573.

(10) Lescouezec, R.; Vaissermann, J.; Ruiz-Pérez, C.; Lloret, F.; Carrasco, R.; Julve, M.; Verdaguer, M.; Dromzee, Y.; Gatteschi, D.; Wernsdorfer, W. *Angewandte Chemie International Edition* **2003**, *42*, 1483-1486.

(11) Dumont, M. F.; Knowles, E. S.; Guiet, A.; Pajerowski, D. M.; Gomez, A.; Kycia, S. W.; Meisel, M. W.; Talham, D. R. *Inorganic Chemistry* **2010**, *50*, 4295-4300.

(12) Catala, L.; Brinzei, D.; Prado, Y.; Gloter, A.; Stephan, O.; Rogez, G.; Mallah, T. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 183-187.

(13) Prado, Y.; Lisnard, L.; Heurtaux, D.; Rogez, G.; Gloter, A.; Stéphan, O.; Dia, N.; Rivière, E.; Catala, L.; Mallah, T. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 1051-1053.

(14) Brinzei, D.; Catala, L.; Louvain, N.; Rogez, G.; Stéphan, O.; Gloter, A.; Mallah, T. *Journal of Materials Chemistry* **2006**, *16*, 2593-2599.

(15) Zentková, M.; Arnold, Z.; Kamarád, J.; V., K.; Lukáčová, M.; Mat'aš, S.; Mihalik, M.; Mitróová, Z.; Zentko, A. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2007**, *19*, 266217.

(16) Gadet, V.; Mallah, T.; Castro, I.; Verdaguer, M.; Veillet, P. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 9213-9214.

(17) Pajerowski, D. M.; Andrus, M. J.; Gardner, J. E.; Knowles, E. S.; Meisel, M. W.; Talham, D. R. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 4058-4059.

(18) Sato, O.; Einaga, Y.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *Inorganic chemistry* **1999**, *38*, 4405-4412.

(19) Tricard, S., Paris-Sud 11, 2009.

(20) Tricard, S.; Costa-Coquelard, C.; Mazerat, S.; Riviére, E.; Huc, V.; David, C.; Miserque, F.; Jegou, P.; Palacin, s.; Mallah, T. *Dalton Transaction* **2012**, *41*, 4445-4450.

(21) Prado, Y., Paris sud 11, **2010**.

(22) Bleuzen, A.; Lomenech, C.; Escax, V.; Villain, F.; Varret, F.; Cartier dit Moulin, C.; Verdaguer, M. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 6648-6652.

(23) Shimamoto, N.; Ohkoshi, S.; Sato, O.; Hashimoto, K. *Inorganic chemistry* **2002**, *41*, 678-684.

(24) Xua, J. F.; Liua, H.; Liua, P.; Lianga, C. H.; Wanga, Q.; Fanga, J.; Zhaoa, J. H.; Shena, W. G. *journal of iranian chemical society* **2010**, *7*, 124-129.

(25) Rosseinsky, D.; Lim, H.; Jiang, H.; J., C. *Inorganic Chemistry* **2003**, *42*, 6015-6023.

(26) Sato, O.; Einaga, Y.; Iyoda, T.; Fujishima, A.; Hashimoto, K. *The Journal of Physical Chemistry B* **1997**, *101*, 3903-3905.

(27) Kneller, E. F.; Hawig, R. *Magnetics, IEEE Transactions on* **1991**, *27*, 3588-3560.

(28) Varret, F.; Goujon, A.; Bleuzen, A. *Hyperfine interactions* **2001**, *134*, 69-80.

(29) Goujon, A.; Roubeau, O.; Varret, F.; Dolbecq, A.; Bleuzen, A.; Verdaguer, M. *The European Physical Journal B-Condensed Matter and Complex Systems* **2000**, *14*, 115-124.

(30) Cartier dit Moulin, C.; Villain, F.; Bleuzen, A.; Arrio, M. A.; Sainctavit, P.; Lomenech, C.; Escax, V.; Baudelet, F.; Dartyge, E.; Gallet, J. J. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122*, 6653-6658.

(31) Pajerowski, D. M.; Gardner, J. E.; Frye, F. A.; Andrus, M. J.; Dumont, M. F.; Knowles, E. S.; Meisel, M. W.; Talham, D. R. *Chemistry of Materials* **2011**, *23*, 3045-3053.

(32) Meiklejohn, W. H.; Bean, C. P. *Physical Review* **1957**, *105*, 904.

(33) Knowles, E. S.; Dumont, M. F.; Peprah, M. K.; Meisel, M. W.; Li, C. H.; Andrus, M. J.; Talham, D. R. *condensed Matter (in press)* **2012**.

(34) Rebilly, J. N.; Catala, L.; Riviére, E.; Guillot, R.; Wernsdorfer, W.; Mallah, T. *Chemical communications* **2006**, 735-737.

(35) Tokoro, H.; Matsuda, T.; Nuida, T.; Moritomo, Y.; Ohoyama, K.; Dangui, E. D. L.; Boukheddaden, K.; Ohkoshi, S. *Chemistry of Materials* **2007**, *20*, 423-428.

(36) Papanikolaou, D.; Margadonna, S.; Kosaka, W.; Ohkoshi, S.; Brunelli, M.; Prassides, K. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 8358-8363.

(37) Mallah, T.; Thiebaut, S.; Verdaguer, M.; Veillet, P. *Science* **1993**, *262*, 1554.

(38) Ferlay, S.; Mallah, T.; Ouahes, R.; Veillet, P.; Verdaguer, M. *Nature* **1995**, *378*, 701-703.

(39) Entley, W. R.; Treadway, C. R.; Girolami, G. S. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **1995**, *273*, 153-166.

Chapitre IV

Nanoparticules de bleu de Prusse pour l'imagerie médicale

Chapitre IV : Nanoparticules de bleu de Prusse pour l'imagerie médicale

Après s'être intéressés, dans les chapitres précédents, aux propriétés magnétiques et photomagnétiques des analogues de bleu de Prusse dérivées des interactions des moments électroniques des ions les composant, ce chapitre focalise sur les propriétés de relaxivité issues des interactions avec les moments nucléaires des protons de l'eau. Nous nous sommes donc intéressés à synthétiser des nanoparticules de réseaux de coordination d'analogues de bleu de Prusse incorporant au sein de leur structure des ions paramagnétiques tels que les cations Fe^{III} ou Mn^{II} et qui peuvent être utilisés comme des agents de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique nucléaire. Cette catégorie de matériaux présente une influence sur la relaxation du moment magnétique nucléaire des protons de l'eau et offre plusieurs avantages par rapport aux agents de contrastes traditionnels (les complexes de Gd^{III} et les oxydes métalliques). D'une part, le fait d'augmenter la taille, en passant d'un complexe aux nanoparticules, confère au matériau une importante rigidité en empêchant tout mouvement local à l'origine d'une faible relaxivité. D'autre part, la structure microporeuse des réseaux de coordination conduit à la présence de molécules d'eau au cœur de la particule et de faire participer les ions paramagnétiques des couches internes pouvant conduire à une meilleure efficacité. En outre, même dans l'hypothèse d'une activité exclusive des ions paramagnétiques de la surface, les réseaux de coordination sont de bons candidats. A cause de leur faible densité métallique, la proportion de sites actifs en surface par rapport au nombre total d'ions est plus grand, comparée à un oxyde métallique de même taille. Ceci permet de limiter l'injection des métaux non localisés en surface et ne participant pas à la relaxivité et diminuer par la suite la toxicité des particules. Dans ce contexte, nous avons cherché à évaluer l'influence de la microporosité sur la participation des ions internes à la relaxation nucléaire par rapport à ceux de la surface en élaborant différentes tailles de nanoparticules et différentes architectures.

IV. 1. Introduction :

L'exploration de l'efficacité des réseaux de coordination, notamment les analogues de bleu de Prusse, en tant qu'agents de contraste pour les applications d'imagerie médicale est un phénomène très récent[1-3] mais qui a débuté dans notre laboratoire en 2006. Les méthodes principales de synthèse décrites dans la littérature pour l'élaboration de tels composés se sont basées sur l'utilisation de ligands ou de polymères biocompatibles (amidon, chitosan, dextran etc..). Bien qu'une taille nanométrique soit obtenue, l'utilisation de ces matrices qui se coordonnent aux ions de la surface, pourrait limiter l'échange des molécules d'eau entre le solvant et l'ion paramagnétique et par conséquence diminuer la relaxivité du système. De plus, certains réseaux de métallocyanures de Gd^{III} sont peu stables et présentent des risques de relargage de Gd^{III}. Pour éviter ces effets, l'utilisation de la méthode de stabilisation électrostatique dans l'eau était un choix bien adapté étant donné les nombreux avantages qu'elle présente. Après synthèse, les particules suspendues en solution sont facilement récupérables dans un polymère biocompatible et redispersable dans l'eau qui peut interagir. D'autre part, la possibilité de contrôler la croissance du même réseau ou d'un réseau de nature différente sur les particules initiales permet de concevoir des objets multimodaux assemblant à la fois des propriétés optiques et de relaxivité. De plus, elles peuvent être fonctionnalisées à terme par des petites molécules dans la perspective de vectorisation des médicaments ou de ciblage vers des organes précis.

La synthèse des nanoparticules de bleu de Prusse par cette méthode a débuté au cours de la thèse de Y. Prado. Dans un premier temps, le travail a été focalisé sur la synthèse des particules $GdFe(CN)_6.nH_2O$ et $MnFe(CN)_6.nH_2O$. Cependant, après de nombreux essais sans succès et l'apparition de certaines publications les concernant au cours de l'étude,[1] la synthèse de ces réseaux a été abandonnée vers des nanoparticules de bleu de Prusse et des alliages contenant des ions de Mn^{II} avec différents taux de dopage *(chap V)*, plus stables en milieux aqueux.

Une étude détaillée a été alors consacrée à la synthèse d'une série de nanoparticules de bleu de Prusse de différentes tailles récupérées au PVP et des nanoparticules cœur-coquille composées de quelques couches moléculaires de bleu de Prusse dans le but d'étudier leur potentialité en tant qu'agents de contraste. Néanmoins, une seule série de mesures n'était pas suffisante pour conclure sur l'origine de la relaxivité. Il était alors indispensable de confirmer

ces observations et tester la reproductibilité sur une deuxième série de nanoparticules, et d'aller au-delà par des tests *in vitro*.

Ce chapitre s'inscrit donc dans la continuité du travail déjà effectué de façon à élucider tous les points en suspens. Trois parties seront ainsi discutées :

- Synthèse et croissance contrôlée de nanoparticules de bleu de Prusse $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ de différentes tailles.
- Synthèse des nanoparticules $CsNi^{II}Co^{III}(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ à différentes tailles et étude de l'effet de la microporosité sur la relaxivité de ces objets.
- Internalisation des particules dans des cellules vivantes et étude préliminaire de leur toxicité.

IV.2. Nanoparticules de bleu de Prusse $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$ et cœur-coquilles $CsNi^{II}[Co^{III}(CN)_6]@KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$

Cette partie s'inscrit dans le cadre du développement et de la démonstration de l'utilité de bleu de Prusse en tant qu'agent de contraste de type T_1. Le choix de ce composé repose sur de nombreuses caractéristiques qui semblent être favorables à une relaxivité relativement élevée. Ce composé de coordination connu depuis le XVIII^{ème} siècle à valence mixte possède une formule générale $K_xFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_y.nH_2O$ (avec n =14-16).[4] Le taux de lacunes en ferrocyanures est géré par l'insertion des ions K^+ dans les sites tétraédriques du réseau cfc et l'on peut établir que y=(3+x)/4. Il existe deux formes de stœchiométries extrêmes, l'une soluble et non lacunaire $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$, et l'autre "insoluble" et lacunaire en ferrocyanure, $Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{3/4}$ *(Fig.IV-I)*. Ceci aboutit à une première sphère de coordination $Fe^{III}N_{6-z}O_z$ conférant aux ions Fe^{III} une configuration haut spin $(t_{2g})^3(e_g)^2$ (S=5/2) (caractère σ-donneur/faiblement π-donneur des atomes d'azote et d'oxygène des cyanures pontants et des molécules d'eau respectivement).[5] Ainsi, sa structure cubique à faces centrées est caractérisée par la présence des pores de l'ordre de 0.5 nm ce qui pourrait faciliter l'échange des molécules d'eau les plus profondes et la participation d'un nombre plus grand de centres paramagnétiques Fe^{III} de tout le réseau à la relaxivité. Par conséquent, la présence des ions

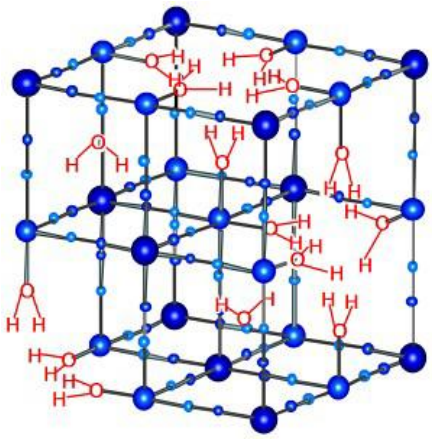


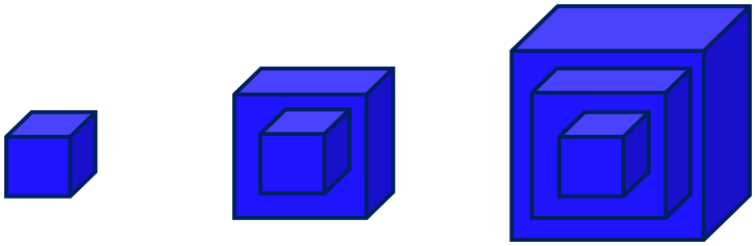
Figure IV-1 : Représentation schématique de la structure insoluble lacunaire du bleu de Prusse

paramagnétiques Fe^{III}, des molécules d'eau coordinées à ces ions et la microporosité font du bleu de Prusse des candidats bien adéquats pour l'imagerie à base d'agents de contraste de type T_1.

Concernant la cytotoxicité de l'utilisation des composés de coordination à ponts cyanures, le bleu de Prusse est bien connu comme étant non toxique. La toxicité d'une espèce est définie par sa réactivité avec son environnement biologique et gouvernée par la stabilité thermodynamique et cinétique. En se basant sur cette considération, le bleu de Prusse est extrêmement stable même à pH acide (constante de solubilité très faible $K_s = 10^{-84}$)[6] et peut être classé en tant qu'un composé non toxique. Une étude quantitative concernant la stabilité de bleu de Prusse à différents pH a montré que la quantité de cyanure relarguée est maximale à pH=1 (135 µg/g) pour une dose journalière de 17,5 g (21 µg/g). Cette valeur qui correspond à 1.6 mg, est trente fois plus faible que la dose minimale léthale de cyanure (d'environ 50 mg) et ne pose pas de problème de sécurité.[7] D'autre part, des capsules de bleu de Prusse "Radiogardase®" ont été administrées par voie orale (3g / jour) aux patients contaminés au ^{137}Cs et ^{134}Cs (tragédie de Goiânia au Brésil en 1987) sans présenter aucun effet secondaire.[8,9] En plus, l'utilisation orale sécurisée de bleu de Prusse comme antipoison à la contamination au césium radioactif et au thallium non radioactif a été récemment approuvée par l'administration américaine des aliments et de médicaments FDA (US Food and Drugs Administration).[10] Parallèlement et au cours de notre étude, des résultats récents ont été publiés sur des nanoparticules de bleu de Prusse d'environ 13 nm montrant leur efficacité comme agents de contraste T_1 non cytotoxiques pour IRM.[11] Ces résultats ont été limités à une taille unique obtenue en présence de citrate qui bloque l'accessibilité des molécules d'eau au fer, tandis que nos résultats concernent une série de nanoparticules de différentes tailles.

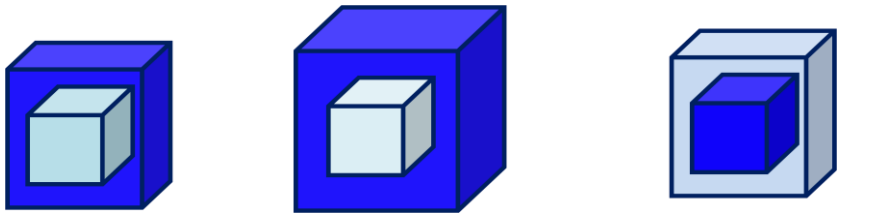
Dans ce contexte, deux catégories de nanoparticules ont été synthétisées :

- Des nanoparticules de bleu de Prusse de trois tailles différentes obtenues par la croissance contrôlée des coquilles du même réseau sur des particules cœur de 6 nm :



7 nm 13 nm 19 nm

- Des nanoparticules cœur-coquille d'épaisseur variable formées par la combinaison d'un réseau de faible relaxivité $CsNi^{II}Co^{III}(CN)_6$ et d'un réseau de bleu de Prusse :



$CsNiCo(CN)_6$@$KFeFe(CN)_6$ [6+2x1] nm | $CsNiCo(CN)_6$@$KFeFe(CN)_6$ [6+2x2] nm | $KFeFe(CN)_6$@$CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] nm

Alors que la première catégorie a été préparée dans le but d'étudier l'influence de la taille sur la relaxivité du bleu de Prusse, l'objectif du second type de particules est de tenter de discriminer entre la contribution exclusive des ions paramagnétiques de la surface et celle des ions des couches plus profondes à la relaxivité observée.

IV.2.1. Nanoparticules de bleu de Prusse : relaxivité *vs* taille

IV.2.1.1. Synthèse des nanoparticules de bleu de Prusse

- *Particules $K_xFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ de 7 nm*

Les nanoparticules de bleu de Prusse de 6 nm ont été synthétisées en suivant le même procédé de stabilisation spontanée des nanoparticules $CsNiCr(CN)_6$ de 6 nm. Pourtant, de légères modifications telles qu'une basse température de synthèse (2˚C) et une faible concentration en précurseurs (0.5 mM quatre fois plus petite que la concentration généralement utilisée) ont été effectuées dans le but d'obtenir des particules monodisperses.[12] Les précurseurs choisis pour le mélange sont $Fe^{III}(H_2O)^{3+}$ + $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$. Ce choix a été démontré plus adéquat par rapport à l'utilisation $Fe^{II}(H_2O)^{2+}$ + $Fe^{III}(CN)_6^{3-}$ qui ne favorise pas l'obtention des objets homogènes à cause de la forte labilité des complexes $Fe^{II}(H_2O)^{2+}$ ($\tau_M = 10^{-6}$).

Les particules ont été alors obtenues par un ajout rapide et sous forte agitation de la solution aqueuse de $Fe(NO_3)_3$ à 0.5 mM sur la solution de ferrocyanure $K_4Fe(CN)_6$ à 0.5 mM placé dans un bain de glace. Le mélange a été maintenu dans la glace et sous agitation pendant 30 min.

Un mécanisme global de formation de ces objets n'a toujours pas été formulé. Cependant, la petite taille obtenue (7 nm) peut être expliquée sur le plan cinétique par la faible labilité des complexes $Fe^{III}(H_2O)^{3+}$ ($\tau_M = 10^{-2}$) qui favorise une nucléation homogène. Ainsi, dans le cas du Fe^{III} la formation des germes est gouvernée par un mécanisme d'échange associatif ; la vitesse de formation du pont cyanure est probablement plus rapide que la vitesse d'échange des molécules d'eau ce qui engendre une nucléation différente à celle observée généralement pour les autres analogues de bleu de Prusse. Par ailleurs, la faible solubilité du bleu de Prusse ($K_s = 10^{-84}$) est un facteur majeur conduisant à la formation de particules de petites tailles suite à une nucléation "explosive" dès les faibles valeurs de concentrations en précurseurs, et la charge négative des particules évite toute agrégation.

- *Croissance contrôlée des nanoparticules de bleu de Prusse :*

La croissance des nanoparticules de bleu de Prusse à des tailles de 13 et 19 nm a été effectuée à partir des particules « cœur » de 6 nm. La solution colloïdale contenant les germes de départ a été préalablement diluée par deux dans l'eau et refroidie à 2˚C dans un bain de glace. Ces deux points étant nécessaires pour éviter toute éventuelle agrégation ou nucléation secondaire lors de l'ajout des précurseurs. Une solution acide de $Fe^{III}(NO_3)_3$ à 0.5 mM (HNO_3 ; pH= 1) et une solution aqueuse $K_4Fe^{II}(CN)_6$ à 0.375 mM y sont ensuite introduites goutte à goutte et simultanément. Apres l'ajout, les mélanges obtenus sont conservés à 2˚C pendant 30 min puis remontés à température ambiante. Le rapport des quantités à ajouter n_s / n_c sont 7 et 22 pour l'obtention des particules de taille 12 et 17 nm respectivement. La stœchiométrie $Fe^{III}/Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ égale à [4:3], identique à celle du massif, a été utilisée dans le but de minimiser l'excès de ferrocyanure Fe^{II} libre en solution. D'autre part, l'acidification de la solution contenant les ions Fe^{III} a été réalisée pour empêcher son évolution par formation de clusters oxo-hydroxo favorisée à forte dilution.[13] Notons que la présence d'un ligand hydroxo dans la première sphère de coordination du Fe^{III} engendre une augmentation de la constante d'échange ($\tau_M = 10^{-5}$), ce qui risque d'entraîner la formation de particules polydisperses par des phénomènes de nucléation et croissance moins contrôlés.

Les trois échantillons de particules de bleu de Prusse de 7, 13 et 19 nm, désignés par les symboles [7], [13] et [19], ont été ensuite récupérés dans un polymère biocompatible, le dextran $C_6H_{10}O_5$ *(Fig. IV-2),* en introduisant 25 équivalents de monomères par rapport à la concentration totale en Fe^{III}. Les particules enrobées sont précipitées en ajoutant 0.8 équivalent d'acétone par rapport au volume de la solution aqueuse (le dextran est insoluble dans l'acétone) puis centrifugées à 9000 tr/ min pendant 15 min. Le précipité obtenu est séché sous vide. L'interaction de ce polymère avec les particules se fait sans doute *via* des liaisons d'hydrogènes formées entre les cyanures non pontants de la surface et les groupements hydroxyle du dextran.

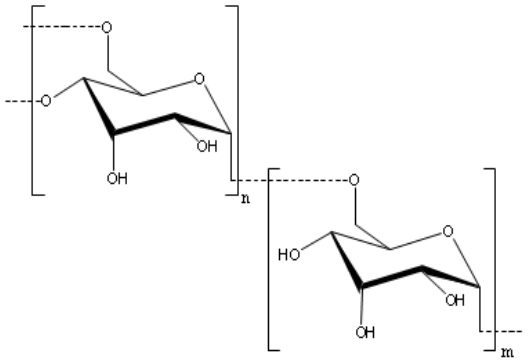


Figure IV-2 : Schéma représentant la structure chimique du dextran

Cette quantité de dextran à ajouter a été choisie de façon à assurer une bonne protection des particules vis à vis de l'agrégation et une bonne redispersion, tout en limitant la quantité de polymère libre en solution.

Après les caractérisations chimiques et structurales, les propriétés de relaxivité de ces trois échantillons seront exposées dans la suite.

IV-2.1.2. Caractérisations de la taille:

- *Diffusion dynamique de la lumière:*

L'évolution de la taille des particules de bleu de Prusse à été suivie par diffusion dynamique de la lumière des solutions colloïdales. Les diamètres hydrodynamiques mesurés sont 6.5, 15 et 22 nm respectivement pour les objets [7], [13] et [19] *(Fig. IV-3).*

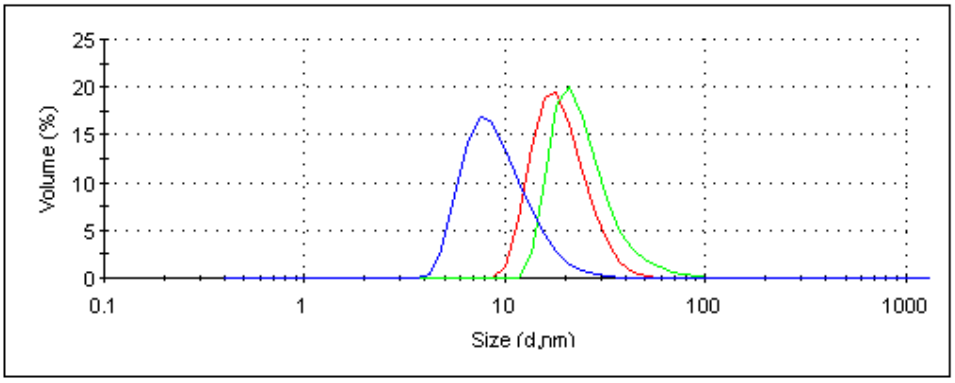


Figure IV-3 : Distributions de taille en volume des nanoparticules de bleu de Prusse [7] (bleu), [13] (rouge) et [19] (vert), obtenus par DDL

Ces résultats mettent en évidence la réussite de la croissance en l'absence de toute nucléation parasite confirmée par la présence d'un seul pic. La légère différence entre les tailles obtenues et celles attendues pourrait être expliquée par la modification du diamètre hydrodynamique des particules dans un milieu acide, qui apparait plus important qu'en milieu neutre, à cause de la chimisorption des protons à la surface des particules à l'origine de l'augmentation de la charge (positive) des objets en solution.[13]
Les solutions colloïdales restent stables en solution sur une longue durée (au moins un mois) sans évolution de la taille des particules à cause des répulsions électrostatiques entre les particules.

Le potentiel zêta des particules cœur [7] étant négatif (-34mV) dû à la présence des cyanures non pontants à la surface des particules et à la stœchiométrie du cœur. Cependant, les particules cœur-coquille [13] et [19] possèdent un potentiel zêta positif ayant comme origine la protonation des molécules d'eau liées au Fe^{III} de la surface (solution acide). Toutefois, l'agrégation des particules ne se produit pas vu que le point de charge nulle est rapidement dépassé.

Par ailleurs, les mesures DDL effectuées sur les redispersions des particules [7] et [13] entourées de dextran (à 10 mM dans 500 µL d'eau) présentent quasiment les mêmes tailles (7.5 et 22 nm respectivement) que celles obtenues directement après mélange mais avec une distribution plus large comme le montre la *figure IV-3*. Cette légère augmentation de la taille pourrait être due à la couronne de polymère qui génère une taille apparente plus grande. Seules les particules de plus grande taille [19] présentent deux distributions une homogène à 32 nm et une fraction minime de faible intensité vers 200 nm. Cette dernière peut être

expliquée par la présence d'agrégats de plusieurs particules entourées par la même chaîne polymérique à l'origine des agrégats de taille plus importante.

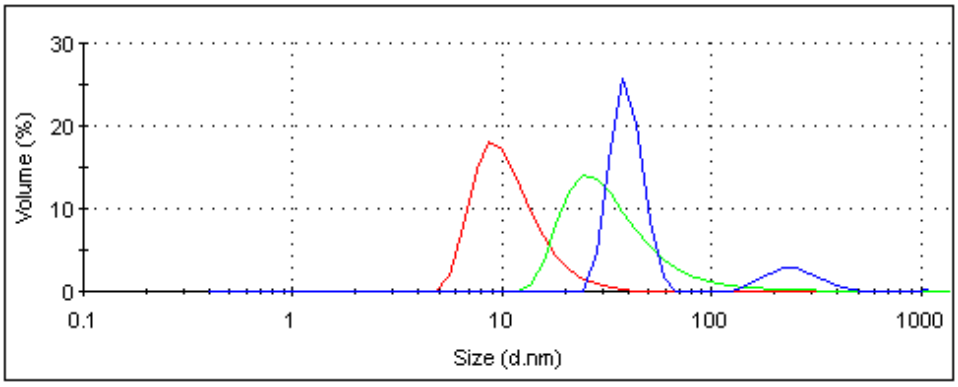


Figure IV-4 : Distributions de taille des nanoparticules de bleu de Prusse [7] (rouge), [13] (vert) et [19] (bleu) après redispersions à 10 mM dans l'eau

Ces résultats montrent la redispersabilité et la stabilité des objets à concentration élevée même après récupération ce qui est crucial pour toutes les applications envisagées par la suite.

- *Microscopie électronique à transmission (MET) :*

Les tailles des différents échantillons des nanoparticules de bleu de Prusse ont été vérifiées par MET effectuée sur les redispersions des objets entourés de dextran dans l'eau *(Fig. IV-5)*.

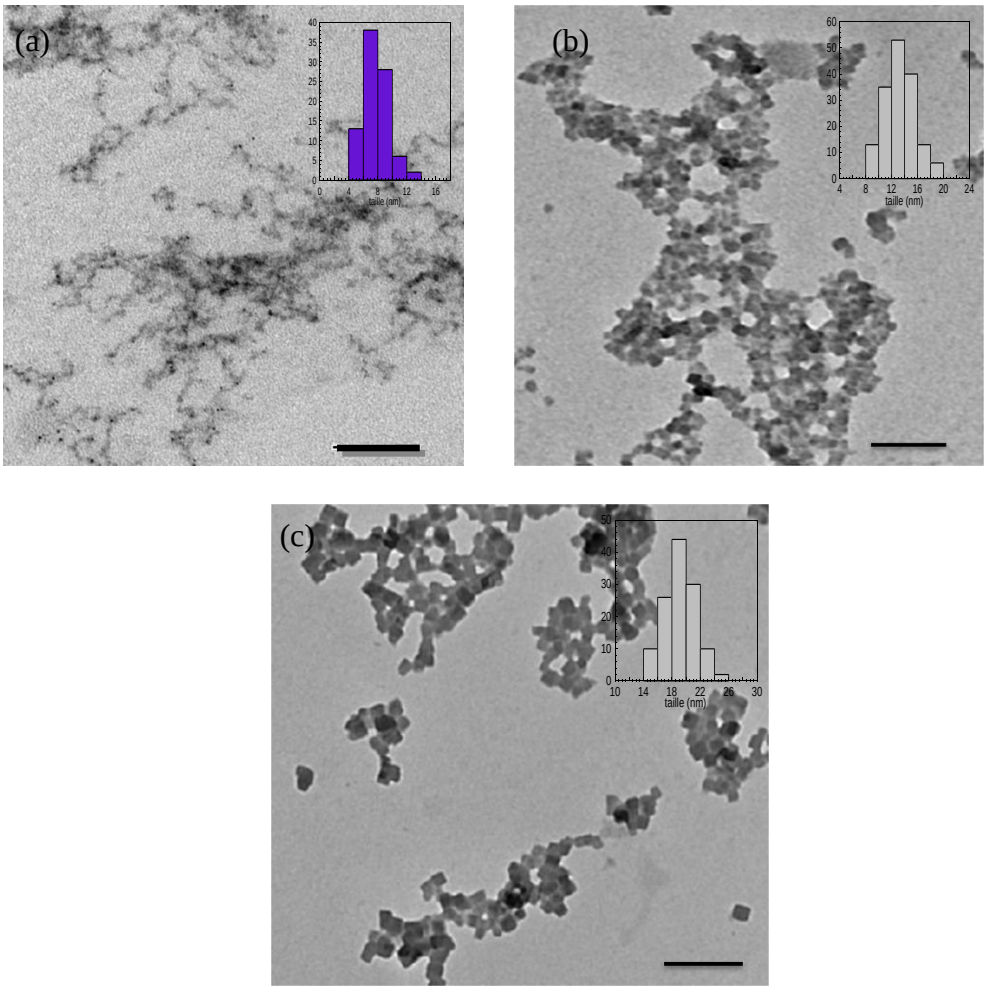


Figure IV-5 : Images MET des nanoparticules de bleu de Prusse [7], [13] et 19] entourées de dextran (échelle 100 nm)

Une forme cubique bien facettée apparaît clairement pour les particules [13] et [19], tandis qu'elle est difficilement définie pour les particules [7] en raison du faible contraste (faible densité métallique). Les tailles obtenues sont en bonne adéquation avec les tailles attendues avec une distribution de tailles de l'ordre de 10-15% (limité par la résolution pour les 7 nm) *(Tab IV-1).*

Echantillon	**[7]**	**[13]**	**[19]**
Taille (nm) par MET	7 ± 2	14 ± 2	19 ± 2

Tableau IV-1 : Distributions de taille des nanoparticules de bleu de Prusse issues des images MET

- *Diffraction des rayons X sur poudre (DRX) :*

Les diffractogrammes de poudre des nanoparticules [7], [13] et [19] entourées de dextran *(Fig. IV-6)* reflètent la bonne cristallinité des objets avec une structure cubique à faces

centrées (F*m*3*m*) de paramètre de maille moyen a = 10,12 Å pour les trois tailles de particules. Cette valeur est en bon accord avec celle du massif (a = 10,16 Å).[4]

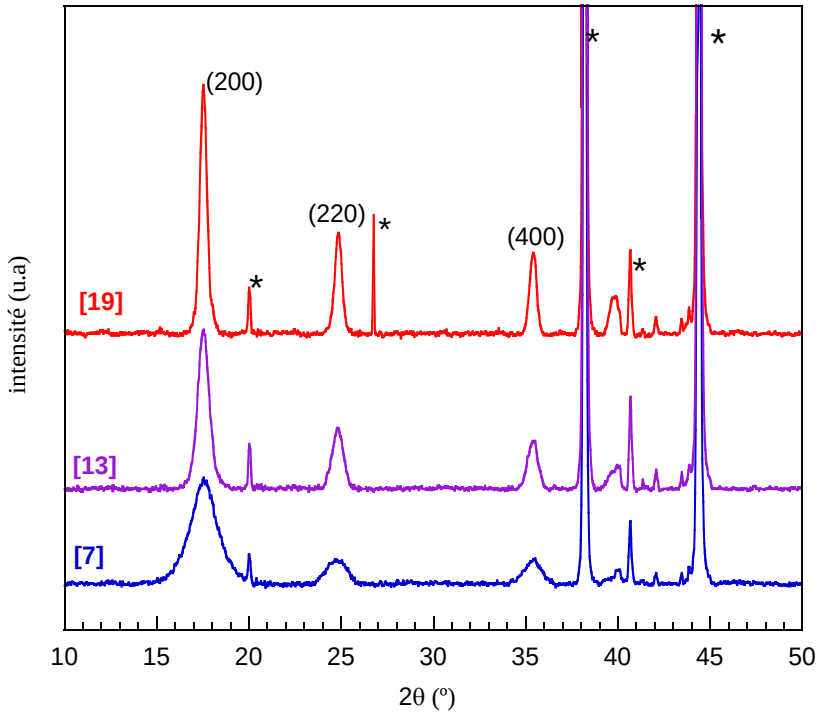


Figure IV-6 : Diffractogrammes de poudre des nanoparticules de bleu de Prusse [7] (bleu), [13] (violet) et [19] (rouge) (* correspond aux pics issus du support)

L'augmentation de la taille des particules est accompagnée par le rétrécissement de la largeur à mi-hauteur des pics de diffraction. Les tailles calculées par application de la formule de Scherrer sur la raie (400) sont de 5,5 nm, 11,3 nm et 17,4 nm respectivement pour les particules [7], [13] et [19]. Ces valeurs cohérentes avec les tailles obtenues par MET atteste l'efficacité de cette méthode de croissance contrôlée.

IV.2.1.3. Caractérisations chimiques:

- *Spectroscopie infrarouge* :

Les spectres infrarouge des nanoparticules [7], [13] et [19] présentent une bande large à 2090 cm^{-1} caractéristique de la vibration asymétrique des cyanures pontants du bleu de Prusse *(Fig. IV-7)*. Celle-ci englobe les bandes de vibration du ferrocyanure Fe^{II}-CN à 2077 et 2097 cm^{-1} et celle des cyanures non pontants caractérisés par une bande à 2085 cm^{-1}.

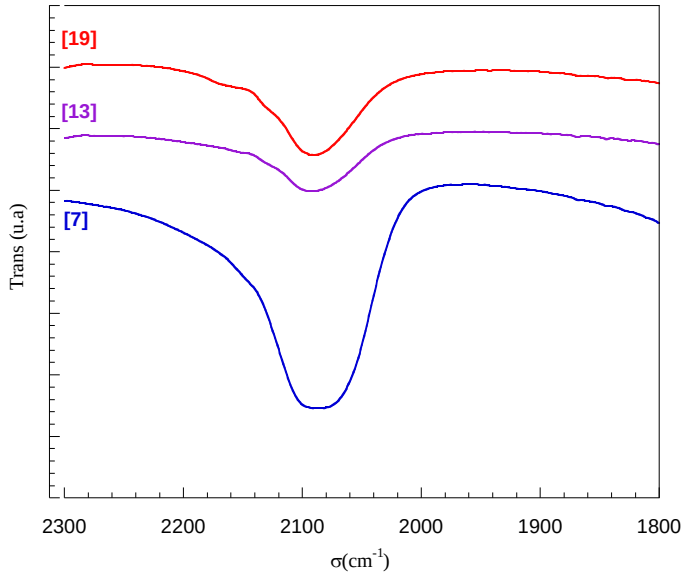


Figure IV-7 : Spectres infrarouges dans la zone 1800-2300 cm-1 des nanoparticules de bleu de Prusse [7] (bleu), [13] (violet) et [19] (rouge) récupérées au dextran

Aucune bande n'apparait à 2044 cm^{-1} ce qui confirme l'absence des complexes $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ libre dans les échantillons.

- *Analyse élémentaire :*

Les unités formulaires des nanoparticules de bleu de Prusse [7], [13] et [19] récupérées au dextran ont été déterminées à partir des analyses élémentaires des métaux % Fe et K (composition du cœur inorganique) et des éléments C, H et N (polymère) et sont regroupées dans le *tableau IV-2*.

[7]-dextran	$K_{0,58}Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,89}\ 30H_2O\ (Dext)_{31}$
[13]-dextran	$K_{0,19}Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,8}\ 21H_2O.(Dext)_{28}$
[19]-dextran	$K_{0,17}Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,79}\ 29H_2O\ (Dext)_{29}$

Tableau IV-2 : Unités formulaires des nanoparticules de bleu de Prusse de différentes tailles récupérées au dextran

Les formules proposées présentent une différence nette de taux de lacunes en ferrocyanure en fonction de la taille des particules. Alors qu'il est de presque 10% pour les particules [7] de très petite taille, ce taux est au voisinage de 20% pour les échantillons [13] et [19]. Ceci est en bon accord avec les quantités des précurseurs (Fe^{III} et $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$) introduites lors de la synthèse (le rapport $Fe^{III}/Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ utilisé est respectivement [4:4] pour les particules cœurs [7] et [4:3] pour la croissance des réseaux [13] et [19]). L'électroneutralité du système est

assurée par les ions potassium K^+ dont la localisation n'est pas exactement déterminée mais qui sont partiellement insérés dans les interstices tétraédriques du réseau.

IV.2.1.4. Mesures de relaxivité:

Dans le but d'étudier l'efficacité des dispersions de nanoparticules de bleu de Prusse comme agents de contraste pour l'IRM, des mesures de relaxivité ont été effectuées au Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (LPCML) de l'université de Lyon à l'aide d'un relaxomètre Minispec mq-60. Les temps de relaxation des spins nucléaires des protons de l'eau T_1 et T_2 ont été mesurés sous un champ de 1,6 T (60MHz) à 37 ˚C sur les redispersions de particules récupérées au dextran à différentes concentrations Les variations de l'inverse de temps de relaxation longitudinale ($1/T_1$) et transversale ($1/T_2$), des nanoparticules de bleu de Prusse de différentes tailles, en fonction de la concentration en Fe^{III} en mM, sont représentées dans la *figure IV-8*. Les points expérimentaux sont ajustés par régression linéaire et les valeurs de relaxivité moyenne longitudinale r_1 et transversale r_2, égale à la pente de ces droites, sont regroupées dans le *tableau IV-3*.

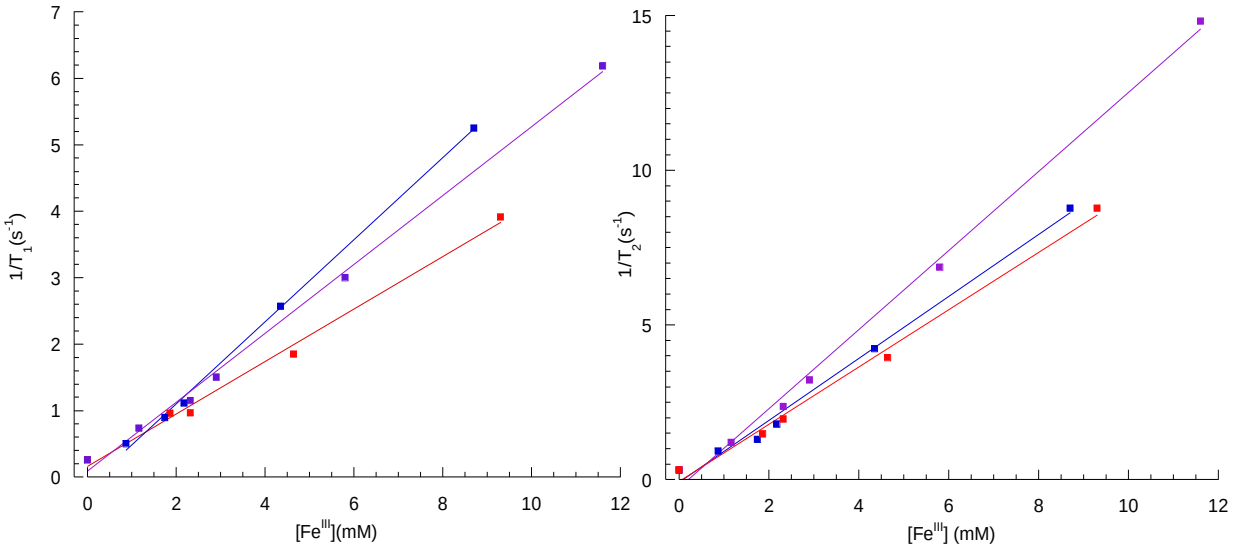


Figure IV-8 : Variation de l'inverse du temps de relaxation longitudinale T_1 et transversale T_2 du proton de l'eau en fonction de la concentration en Fe^{III} pour les nanoparticules de bleu de Prusse [7] (bleu), [13] (violet) et [19] (rouge) récupérées au dextran

	[7]	**[13]**	**[19]**
r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)	0,61	0,51	0,39
r_2 ($mM^{-1}.s^{-1}$)	1,00	1,27	0,92
r_2 /r_1	1,64	2,4	2,35

Tableau IV-3 : Valeurs de relaxivité longitudinale r_1, transversale r_2 et rapport r_2 / r_1 des nanoparticules de bleu de Prusse [7], [13] et [19] obtenus à 37°C et à 60 MHz

Indépendamment de la taille, les valeurs du rapport r_2/r_1 sont relativement faibles (proche de 2) et bien inférieures à celles trouvées typiquement pour la majorité des nanoparticules d'oxydes métalliques (r_2/r_1 = 10). Ces objets peuvent ainsi être classés comme agents de contraste positif T_1. Ceci est bien appuyé par le comportement paramagnétique de ce réseau à la température de mesure, 37 °C, bien supérieure à la température de mise en ordre ferromagnétique égale à 5,6 K.[14]

Les valeurs de relaxivité longitudinales r_1 obtenues sont relativement faibles (< à 1 $mM^{-1}.s^{-1}$), mais proches de celles extraites de la littérature pour les agents de contraste moléculaires à base de Fe^{III}.[15] Ces derniers sont généralement caractérisés par une faible relaxivité (1 à 3 $mM^{-1}.s^{-1}$ selon la nature du ligand complexant le Fe^{III}) gouvernés par le très court temps de relaxation électronique des ions Fe^{III}. Par ailleurs, Shokouhimeher et al. ont récemment reporté une relaxivité de 0,2 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 1,5 T et 0,079 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 11,7 T pour des nanoparticules de bleu de Prusse d'environ 13 nm.[16] Ces valeurs bien inférieures aux nôtres (0,51 $mM^{-1}.s^{-1}$ à 1,5 T pour les particules de même taille) sont probablement dues à la présence des molécules de citrate coordinées aux ions Fe^{III}, ce qui limite l'échange des molécules d'eau et diminue par conséquent l'efficacité de l'agent.

Certes, ces particules de bleu de Prusse présentent des valeurs de relaxivité très faibles par rapport à celles trouvées pour les agents de contraste T_1 commerciaux à base de Gd^{3+} (20 à 30 $mM^{-1}.s^{-1}$ selon l'environnement du Gd^{3+}),[17] mais elles sont comparables à celles d'oxydes de Mn^{II} ayant une relaxivité de 0,37 et 0,12 $mM^{-1}.s^{-1}$ respectivement pour des particules de 7 et 25 nm.[18]

IV.2.1.5. Discussion :

Les valeurs de cette série de particules entourées du dextran sont bien cohérentes avec celles trouvées par Y. Prado, dans le cadre de sa thèse, sur la même série des particules récupérées au PVP.[12] Ceci atteste la reproductibilité des résultats obtenus et confirme également que la rétention des molécules d'eau par le polymère est indépendante de la nature du polymère utilisé *(Fig IV-9)*.

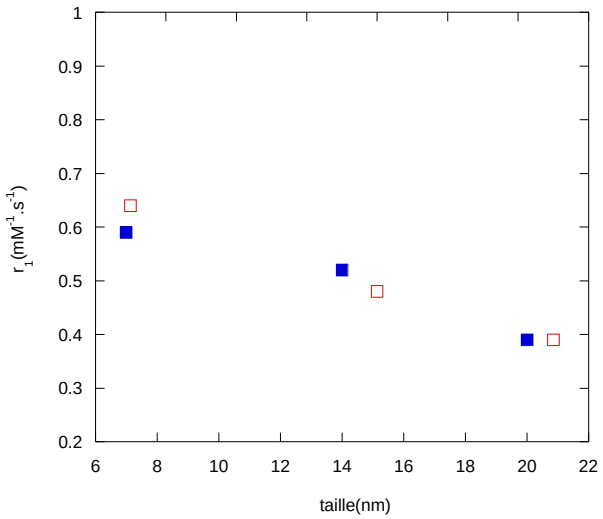


Figure IV-9 : Variation de la relaxivité longitudinale r_1 en fonction de la taille des nanoparticules de bleu de Prusse entourées de PVP (bleu) et de dextran (rouge)

En se basant sur la théorie de Solomon-Bloembergen-Morgan (SBM),[19] la relaxation longitudinale r_1 est essentiellement influencée par trois temps de corrélation : le temps de relaxation électronique du spin du cation paramagnétique, le temps d'échange de la molécule d'eau et le temps de corrélation rotationnel de l'agent de contraste (voir *chap. I*). La relaxivité longitudinale r_1 est gouvernée par le temps le plus court des trois.

Dans le cas du bleu de Prusse, si le temps de corrélation rotationnel τ_R était à l'origine de la relaxivité, une large variation des valeurs de relaxivité en fonction de la taille serait observée, ce qui n'est pas le cas. Dans le cas de composés à base de Fe^{III}, c'est le temps de relaxation électronique du Fe^{III} très court (10^{-3}-10^{-4} s) qui limite sans doute la relaxivité et ne permet pas d'effet visible du ralentissement de la rotation lié à la taille.

L'ensemble de ces résultats suggère que le bleu de Prusse, possédant des propriétés conformes aux applications biomédicales, offre un exemple intéressant d'agent de contraste T_1 peu onéreux et de relaxivité relativement élevée.

Dans ce qui suit, nous nous intéresserons au caractère T_1 des nanoparticules de bleu de Prusse. Pour mieux évaluer l'origine de la relaxivité observée et l'influence de la taille, une comparaison de valeurs de relaxivité en fonction de la taille, obtenues sur les deux séries de nanoparticules (entourées de dextran et PVP) a été représentée dans la *figure IV-9*.

Il apparaît clairement que la relaxivité diminue lorsque la taille des particules augmente, ce qui est probablement dû à la diminution du rapport surface/volume. Rappelons qu'une participation équivalente de tous les ions paramagnétiques (surface et volume) aurait conduit à une valeur de relaxivité indépendante de la taille. Néanmoins, si les ions de la surface contribuent plus efficacement que ceux du cœur, la relaxivité devrait diminuer avec l'augmentation de la taille, tout comme dans le cas d'une contribution exclusive de la surface. Cette dernière hypothèse a été démontrée sur des particules d'oxyde de Gadolinium Gd_2O_3[17] et de manganèse MnO.[18]

La participation importante de la totalité d'ions Fe^{III} à la relaxivité a été écartée et l'hypothèse d'une contribution exclusive des ions en surface a été explorée. Nous avons estimé pour ce faire la "relaxivité longitudinale de la surface r_1^{s1}" de trois différentes tailles de Bleu de Prusse en fonction du nombre d'atome de la surface. En considérant une structure cubique parfaite des bleus de Prusse, cette nouvelle relaxivité est calculée par la relation suivante :

$$r_1^{s1} = r_1 * (N_{at}^{tot} / N_{at}^{surf})$$

Avec : r_1 est la relaxivité moyenne par Fe^{III}, N_{at}^{surf} est le nombre d'ions de la surface pour une particule de côté n estimé par $N_{at}^{surf} = 12n^2 + 2$ et N_{at}^{tot} est le nombre d'ions total estimé par $N_{at}^{tot} = 4n^3 + 6n^2 + 3n + 1$ (la détermination de ces formules est détaillée dans l'Annexe IV.

Les valeurs obtenues sont regroupées dans le *tableau IV-4* et la *figure IV-10* représente la variation de la relaxivité de surface r_1^{s1} en fonction du nombre d'atomes de la surface des trois objets entourés de dextran.

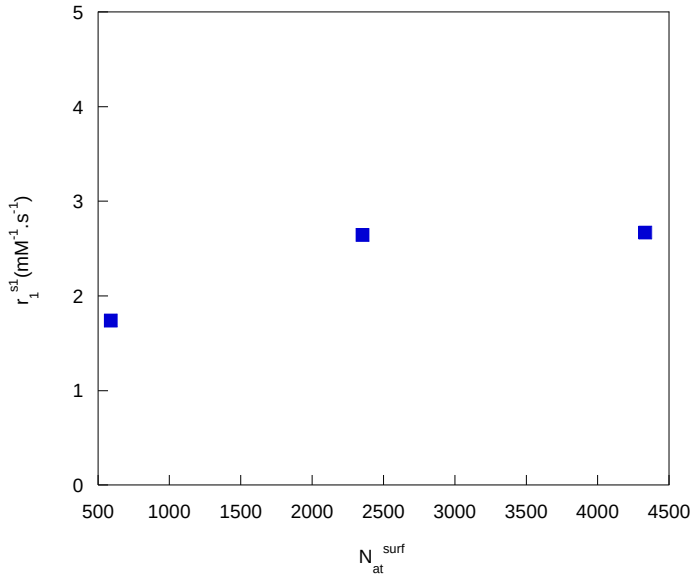


Figure IV-10 : Variation de la relaxivité longitudinale de la surface r^{s1} en fonction de nombre d'atome de la première couche des nanoparticules de bleu de Prusse [7], [13] et [19] entourées de dextran (bleu)

	Taille (nm)	**r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)**	**N_{at}^{tot}**	**N_{at}^{surf}**	**r_1^{s1} ($mM^{-1}.s^{-1}$)**
[7]	7	0,61	1688	590	1,740
[13]	14	0,51	12195	2354	2,640
[19]	19	0,39	29660	4334	2,669

Tableau IV-4 : Valeurs de la relaxivité de surface en fonction de taille des nanoparticules de bleu de Prusse [7], [13] et [19]

Si seuls les ions paramagnétiques de la surface contribuent à la relaxation nucléaire des protons de l'eau, une quasi-invariance de la relaxivité de la surface devrait être obtenue. A l'exception des particules [7], la relaxivité de surface des bleu de Prusse est presque constante (d'environ 2,6 $mM^{-1}.s^{-1}$) en fonction du nombre d'atomes de la surface, confirmant la contribution exclusive des Fe^{III} de la surface, quelle que soit la taille de particules. La plus faible valeur par rapport aux autres tailles (1,83 $mM^{-1}.s^{-1}$), observée pour les particules [7], est justifiée par la différence de composition chimique. Rappelons que le taux de lacunes en ferrocyanure trouvé est de l'ordre de 10% pour les particules [7] (0,6 molécule d'eau par Fe^{III}) et de 20 % pour les autres tailles (1,2 molécules d'eau par Fe^{III}). La structure plus lacunaire des particules de plus grande taille pourrait être à l'origine d'une porosité plus importante, favorisant un échange plus aisé des molécules d'eau à travers la première couche. D'autre part, si seuls les Fe^{III} de la surface contribuent à la relaxivité des protons dans les particules [7], une contribution probable des Fe^{III} des premières couches internes pourrait être à l'origine

de la relaxivité plus élevée des autres tailles. Cette hypothèse sera commentée plus précisément dans la partie suivante.

Ainsi, bien que la majorité des agents de contraste à base de complexe de Fe^{III} présentent une relaxivité de l'ordre de 1 $mM^{-1}.s^{-1}$,[15] dans le cas des nanoparticules de bleu de Prusse, une valeur allant jusqu'à 2,6 $mM^{-1}.s^{-1}$ est obtenue en ne considérant que la contribution des ions paramagnétiques de la surface. Cette valeur est particulièrement élevée et nous a fait considérer une contribution supplémentaire des couches internes dans la suite.

IV.2.2. Nanoparticules cœur-coquille : Contribution des couches internes ?

Afin de sonder l'effet des couches situées sous la surface, une étude complémentaire concernant des nanoparticules cœur-coquilles a été effectuée. En effet, deux objets ont été préparés en faisant croître une coquille de bleu de Prusse d'épaisseur 1 nm et 2 nm respectivement autour d'un cœur $CsNiCo(CN)_6$ de 6 nm de faible relaxivité. Sachant que la distance séparant les deux centres métalliques d'un réseau d'analogue de bleu de Prusse est égale à 0.5 nm, ces coquilles correspondent donc à 2 et 4 couches moléculaires respectivement. Un troisième objet formé d'une coquille de $CsNiCo(CN)_6$ de 1 nm construite sur un cœur $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ de 6 nm a été aussi élaboré. Ces objets sont désignés respectivement par $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1], [6+2x2] et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] *(Fig. IV-11)*. L'étude de relaxivité de ces objets et la comparaison avec celle des particules de bleu de Prusse permet de déterminer l'épaisseur critique au dessus de laquelle la contribution des ions paramagnétiques n'est plus significative.

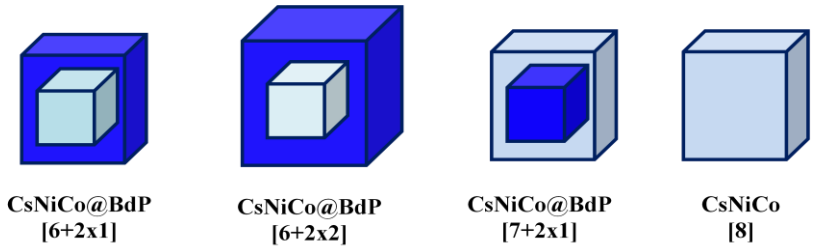


Figure IV-11 : Schéma représentatif des nanoparticules cœur-coquilles de différentes tailles

IV.2.2.1. Synthèse de nanoparticules cœur-coquille :

- $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$

Tout comme pour les particules $CsNiCr(CN)_6$, les particules $CsNiCo(CN)_6$ de 6 nm sont stabilisées en présence d'excès d'ions alcalins (2 équivalent de Cs^+ par rapport au métal divalent). Or, la formule chimique $Cs_{0.56}Ni[Co(CN)_6]_{0.81}$, déduite des analyses élémentaires, a montré que l'incorporation de l'alcalin inséré dans ces particules n'est que partielle (25 %). L'excès de Cs^+ libre, restant en solution, pourrait alors s'incorporer dans la coquille construite et affecter la relaxivité des nanoparticules cœur-coquille. Pour éviter cet effet indésirable, il était indispensable de minimiser la quantité de Cs^+ introduite lors de la synthèse des cœurs sans affecter la taille. Ce compromis a été réalisé en utilisant 0,5 équivalents de Cs^+, tout en gardant la concentration de $NiCl_2.6H_2O$ et $K_3[Co(CN)_6]$ à 2 mM.

Les nanoparticules cœur-coquille ont été ensuite obtenues en ajoutant, goutte à goutte et simultanément, deux volumes égaux d'une solution aqueuse de $Fe(NO_3)_3$ à 1mM et de $K_4[Fe(CN)_6]$ à 1 mM sur la solution des particules-cœurs $CsNi[Co(CN)_6]$ de 6 nm préalablement diluée dans l'eau et refroidie à 2°C. Les solutions des précurseurs n'ont pas été acidifiées pour éviter l'agrégation des objets. Pourtant pour éviter la formation des espèces oxo-hydroxo favorisée à pH neutre, la solution de Fe^{III} a été systématiquement préparée fraîchement. Les quantités de matière utilisées sont telles que n_s / n_c = 1,4 et 3,6 respectivement pour les objets [6+2x1] et [6+2x2].

- $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1]

Ces objets sont obtenus à température ambiante à partir des particules de bleu de Prusse de 7 nm, préparées comme déjà décrit au paragraphe IV.2.1.1 et diluées dans l'eau, par ajout lent et simultané d'une solution aqueuse de $NiCl_2.6H_2O$ à 0,5 mM et CsCl à 0,25 mM et d'une solution aqueuse de $K_3Co(CN)_6$ à 0,5 mM. Les quantités ajoutées sont n_s / n_c = 1,4 pour obtenir des objets de 8 nm.

Afin de les caractériser et mesurer leurs relaxivités, les nanoparticules cœur-coquilles sont isolées dans 25 équivalents de dextran par rapport à la somme des ions divalents Ni^{II} et Fe^{III}.

IV.2.2.2. Caractérisations de la taille:

- *Diffusion dynamique de la lumière:*

Le suivi de la croissance des coquilles par DDL sur les solutions colloïdales révèle des tailles qui sont en bon accord avec celles attendues *(Fig. IV-12)*.

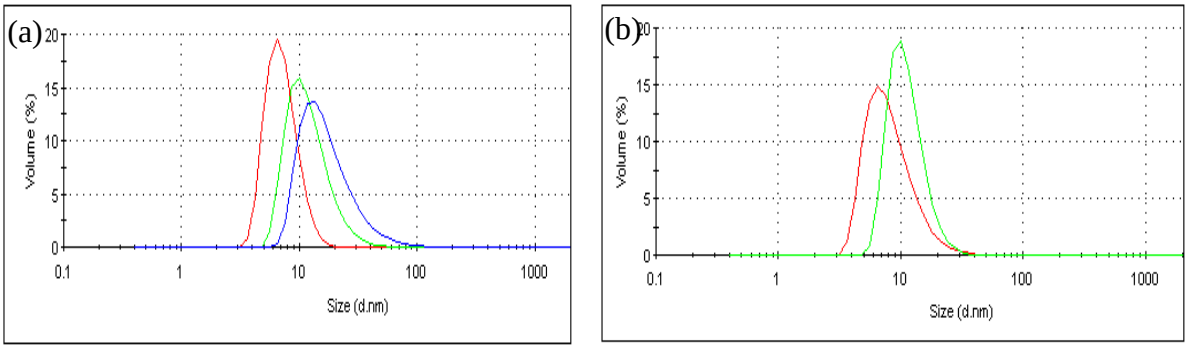


Figure IV-12 : Distributions de tailles (a) des nanoparticules $CsNiCo(CN)_6$ [6](rouge), $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1] (Vert) et [6+2x2] (bleu) et (b) des $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [7](rouge) et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] (vert) obtenues par DDL

Les tailles moyennes mesurées sont respectivement 10 nm et 13 nm pour les particules $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1] et [6+2x2] et 10 nm pour les $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1]. La croissance d'une coquille de CsNiCo autour du cœur de bleu de Prusse apparaît mieux contrôlée que le cas inverse.

Le potentiel zêta négatif des particules obtenues explique leur stabilité en solution pendant plusieurs semaines. Les diamètres hydrodynamiques mesurés sur les redispersions de ces objets entourés de dextran en solution aqueuse sont en excellent accord avec ceux obtenus en solutions colloïdales (10, 13 et 10 nm respectivement) *(Fig. IV-13)*.

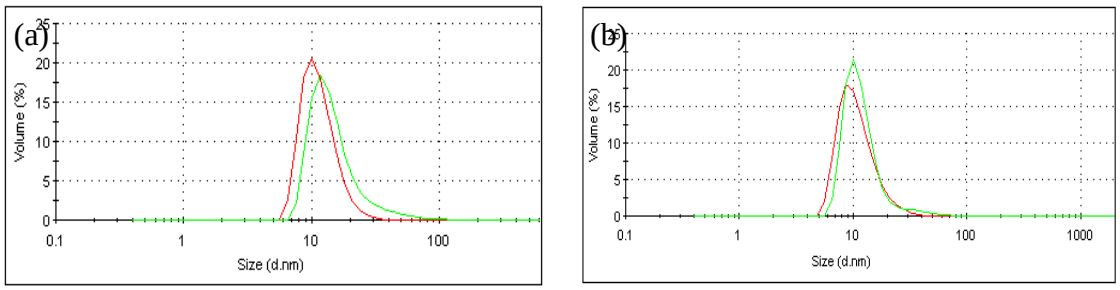


Figure IV-13 : Distributions de tailles obtenues sur les redispersions (a) des nanoparticules cœur-coquille $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1] (rouge) et [6+2x2] (vert) et (b) des $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [7](rouge) et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+ 2x1] (vert) entourées de dextran

- *Microscopie électronique en transmission:*

Les clichés MET obtenus sur les redispersions des particules cœur-coquille entourées de dextran montrent des objets clairement définis et de taille homogène *(Fig. IV-14)*. Etant de faibles dimensions, il est toutefois difficile de repérer une forme cubique bien facettée.

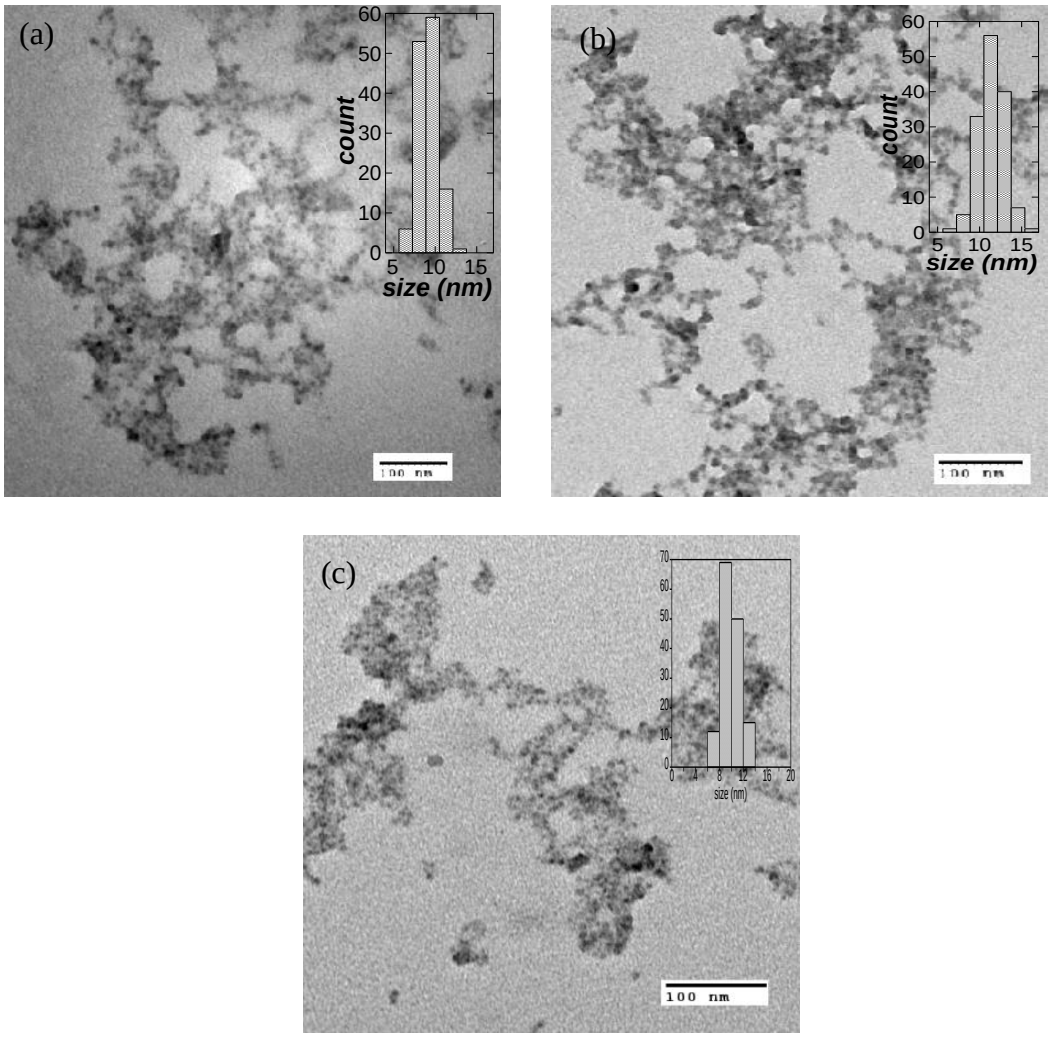


Figure IV-14 : Images MET des nanoparticules cœur-coquille (a) $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1], (b) [6+2x2] (bleu) et (c) $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] (vert) entourées de dextran

Les tailles moyennes estimées sont respectivement 9 ± 1, 12 ± 1 et 10 ± 1.4 nm pour les nanoparticules $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1], [6+2x2] et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1]. Ces valeurs sont toujours en bon accord avec les tailles attendues confirmant un excellent contrôle de taille des particules cœur-coquille dans les deux cas.

- *Diffraction des rayons X sur poudres :*

Les diffractogrammes des nanoparticules cœur-coquilles sont représentés dans la *figure IV-15*. L'utilisation du dextran, polymère organique de structure amorphe, est à l'origine de l'aspect bruiteux des diffractogrammes. Les trois objets $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1], [6+2x2] et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] sont indexés dans la structure cubique à faces centrées avec un paramètre de maille de a = 10,11 Å, 10,12 Å et 10,16 Å respectivement. Ces valeurs étant du même ordre que des paramètres de maille du réseau de bleu de Prusse (a= 10,12 Å) et de CsNiCo (a=10,22 Å). Dans le cas d'une coquille de bleu de Prusse construite autour du cœur de CsNiCo, le paramètre de maille moyen du cœur-coquille est plus proche de celui de bleu de Prusse alors qu'il est intermédiaire dans le cas inverse, ce qui est cohérent avec les proportions plus importantes de bleu de Prusse.

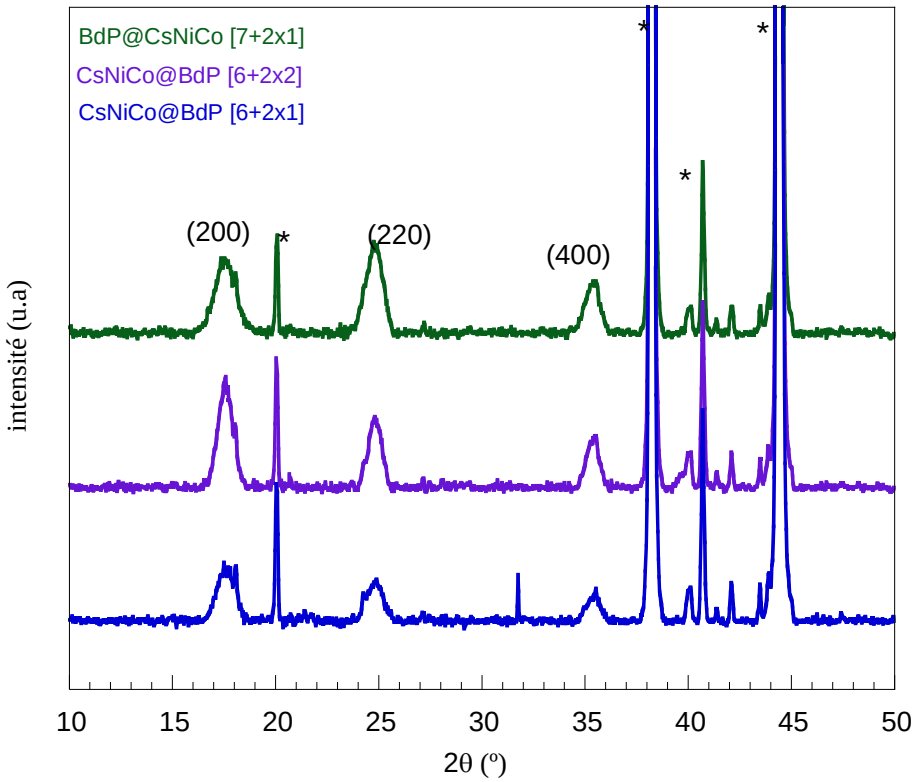


Figure IV-15 : Diffractogrammes de poudre des particules cœur-coquilles $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1] (bleu), [6+2x2] (violet) et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] (vert) entourées de dextran

Les tailles calculées en appliquant la formule de Scherrer sur la raie (220) sont 7,7 nm, 10 nm et 8,4 nm respectivement pour les nanoparticules cœur-coquille $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1], [6+2x2] et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1]. Concernant les objets [6+2x1], la largeur à mi-hauteur varie peu quelle que soit la nature de la coquille CsNiCo ou $KFe^{III}Fe^{II}$, car les deux réseaux ont des paramètres de maille proches. Il est à rappeler toutefois que la taille extraite correspond en réalité à la convolution de deux

contributions légèrement différentes, qui peut induire une sous-estimation de la taille moyenne.

IV.2.2.3. Caractérisations chimiques :

- *Spectroscopie infrarouge :*

En raison de leur signature spectrale différente, la présence des deux réseaux $CsNi[Co(CN)_6]$ et $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$ au sein des particules est clairement confirmée par spectroscopie infrarouge *(Fig. IV-16)*. Les deux bandes distinctes observées à 2180 cm^{-1} et 2090 cm^{-1} correspondent aux vibrations asymétriques des cyanures pontants du réseau $CsNiCo(CN)_6$ et $KFe^{II}Fe^{III}(CN)_6$ respectivement.

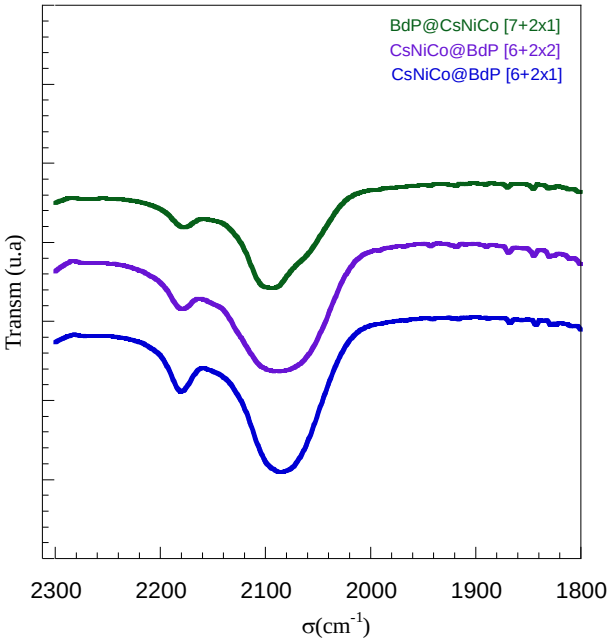


Figure IV-16 : Spectres infrarouge en transmition des nanoparticules cœur-coquilles $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+ 2x1] (bleu), [6+2x2] (violet) et $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] (vert) entourées de dextran

Bien que les rapports Fe^{III}/Ni^{II} introduits sont relativement faibles (1,4 et 3,6), l'intensité du pic caractéristique du réseau $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ est largement plus forte que celle du réseau $CsNiCo(CN)_6$ à cause de la grande valeur du coefficient d'extinction molaire du bleu de Prusse.

- *Analyse élémentaire :*

Les formules chimiques des objets cœur-coquilles récupérés au dextran, et du CsNiCo [6] et [8] obtenus à partir des analyses élémentaires, sont reportées dans le *tableau IV-5*.

CsNiCo@BdP [6+2x1]	$K_{0,14}Cs_{0,2}Ni^{II}_{0,35}Fe^{III}_{0,65}[Co^{III}(CN)_6]_{0,25}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,6}.(H_2O)_{31}.(Dext)_{33}$
CsNiCo@BdP [6+2x2]	$K_{0,17}Cs_{0,1}Ni^{II}_{0,2}Fe^{III}_{0,8}[Co^{III}(CN)_6]_{0,11}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,7}.(H_2O)_{36}.(Dext)_{33}$
BdP@CsNiCo [7+2x1]	$K_{0,33}Cs_{0,44}Ni^{II}_{0,6}\ Fe^{III}_{0,4}[\ [Co^{III}(CN)_6]_{0,3}\ Fe^{II}(CN)_6]_{0,48}.(H_2O)_{19}.(Dext)_{27}$
CsNiCo [6]	$Cs_{0,56}Ni[Co(CN)_6]_{0,81}.(H_2O)_8.(PVP)_{10}$
CsNiCo [8]	$Cs_{0,46}Ni[Co(CN)_6]_{0,85}\ (H_2O)_6.(PVP)_9$

Tableau IV-5 : Composition chimique des nanoparticules cœur-coquilles et des particules CsNiCo

Le rapport Fe^{III}/Ni^{II} est égal à 1,85 et 4 respectivement pour les objets CsNiCo@BdP [6+2x1] et [6+2x2]. Ces valeurs sont proches des rapports des quantités introduites lors de la synthèse (1,4 et 3,6). Le taux de lacunes en hexacyanométallate est de l'ordre de 20 % ce qui est en accord avec la structure des analogues de bleu de Prusse. Concernant l'objet BdP@CsNiCo le rapport Ni^{II}/Fe^{III} est égal 1,56 proche du rapport des quantités introduites (1,4). Pourtant la structure est relativement plus lacunaire à 30 %.

L'écriture des formules d'une autre manière permet de montrer la composition du cœur et de la coquille :

CsNiCo@BdP [6+2x1] : $Cs_{\mathbf{0,55}}\{Ni^{II}[Co^{III}(CN)_6]_{\mathbf{0,70}}@(K_{0,21}Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,86})_{1,84}\}$

CsNiCo@BdP [6+2x1] : $Cs_{\mathbf{0}}{}_{,49}\{Ni^{II}[Co^{III}(CN)_6]_{\mathbf{0,58}}@(K_{0,21}Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,85})_{4,0}\}$

BdP@CsNiCo [6+2x1] : $K_{0,33}Fe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,96}@(Cs_{0,72}Ni^{II}[Co^{III}(CN)_6]_{0,29})_{1,57}$

Dans le cas des objets CsNiCo@BdP, les cœurs $CsNi^{II}Co^{III}$ [6] possèdent une stœchiométrie proche de celle du massif préparé sans alcalin (Ni^{II}/Co^{III} est de [3 :2]) ce qui leur confère une charge quasiment nulle. Le potentiel zêta mesuré sur la solution de ces particules est faiblement négatif (-6 mV), confirmant cette stœchiométrie. La majorité des ions Cs^+ ne sont pas localisés dans les interstices du réseau mais restent plutôt en solution, pouvant conduire à une éventuelle insertion de cet alcalin dans la coquille de bleu de Prusse. Or, si le césium était inséré dans la coquille, une structure moins lacunaire devrait être obtenue ce qui n'est pas le cas (le taux de lacunes en ferrocyanure est de 15 %, en accord avec celui généralement obtenu

pour les bleus de Prusse). Par conséquent, les ions césium(I) ne sont pas localisés dans le réseau mais sûrement autour des particules cœur-coquilles pour assurer l'électroneutralité de leurs surfaces.

Pour le cas inverse de BdP@CsNiCo, le cœur possède une stœchiométrie compatible avec celle de bleu de Prusse alors que la coquille est largement lacunaire en cobalticyanure. A faibles concentrations, les paires Co^{III}-CN-Fe^{III} sont difficilement formées,[20] ce qui peut expliquer le taux élevé de lacunes.

IV.2.2.4. Relaxométrie :

Les mesures de relaxivité des nanoparticules cœur-coquille ont été effectuées dans les mêmes conditions que les nanoparticules de bleu de Prusse. L'inverse des temps de relaxations longitudinales et transversales des trois objets a été exprimé en fonction de la concentration en $\{Fe^{III} + Ni^{II}\}$ *(Fig IV-17)* et les valeurs de relaxivité obtenues sont regroupées dans le *tableau IV-6*. Nous avons également vérifié la relaxivité des particules $CsNi[Co(CN)_6]$ à 6 nm et 8 nm.

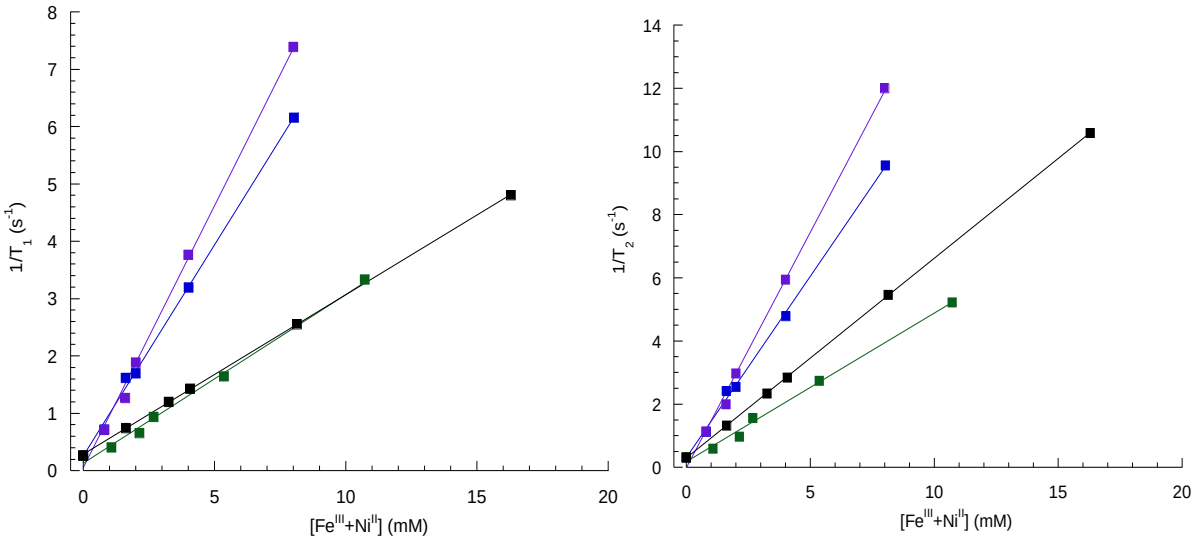


Figure IV-17 : Variation de l'inverse de temps de relaxation longitudinale (gauche) et transversale (droite) du proton de l'eau en fonction de la concentration en Ni^{II}+Fe^{III} des nanoparticules cœur-coquilles $CsNiCo(CN)_6$@$KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1] (bleu), [6+2x2] (violet), $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$@$CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] (vert) et $CsNiCo(CN)_6$ [6] (noir) entourées de dextran

	CsNiCo@BdP [6+2x1]	**CsNiCo@BdP [6+2x2]**	**`BdP@CsNiCo [7+2x1]**	**CsNiCo [6]**	**CsNiCo [8]**
$\mathbf{r_1}$ **($mM^{-1}.s^{-1}$)**	0,73	0,91	0,49	0,28	0,27
$\mathbf{r_2}$ **($mM^{-1}.s^{-1}$)**	1,14	1,49	0,96	0,63	0,48
$\mathbf{r_2/r_1}$	1,56	1,63	1,95	2,33	1,77

Tableau IV-6 : Valeurs des relaxivités longitudinale et transversale des nanoparticules cœur-coquilles et des nanoparticules CsNiCo de 6 et 8 nm

Contrairement à ce qui était attendu, les relaxivités longitudinale et transversale obtenues pour les particules CsNiCo [6] et [8] sont non négligeables (r_1=0,27 $mM^{-1}.s^{-1}$). La valeur relativement élevée comparée à la plupart des complexes chélates, pourrait être due à la présence d'un nombre important de molécules d'eau coordinées au Ni^{II}, favorisée par la structure lacunaire en cobalticyanure.[21] Ce résultat montre que les ions Ni^{II}, de temps de relaxation électronique court (10^{-10}s) et de faible moment magnétique (S=1), influencent relativement peu la relaxation du moment nucléaire des protons de l'eau comparativement aux particules de bleu de Prusse de même taille (r_1=0,69 $mM^{-1}.s^{-1}$).[21]

La relaxivité longitudinale, r_1, des particules $CsNi^{II}Co^{III}@KFe^{III}Fe^{II}$, exprimée par rapport à la totalité des ions $\{Fe^{III}+Ni^{II}\}$ est respectivement de 0,73 $mM^{-1}.s^{-1}$ pour les objets [6+2x1] et 0.91 $mM^{-1}.s^{-1}$ pour les [6+2x2]. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues pour les particules de bleu de Prusse, surtout que le taux de lacunes de ces composés est presque constant (15 %) et du même ordre de grandeur que les particules de 7 nm. Une relaxivité relativement plus faible (r_1=0,449 $mM^{-1}.s^{-1}$) est observée pour l'objet $KFe^{III}Fe^{II}@CsNi^{II}Co^{III}$ [7+2x1] et qui est supérieure à celle des particules CsNiCo [8] de taille identique.

Pour expliquer ces observations, nous avons tout d'abord émis de l'hypothèse d'une contribution exclusive des ions de la surface. La relaxivité de surface r_1^{s1} a été calculée de manière analogue aux particules de bleu de Prusse, et représentée en fonction du nombre d'atomes de surface (*Fig.IV-18 et Tab IV-7).*

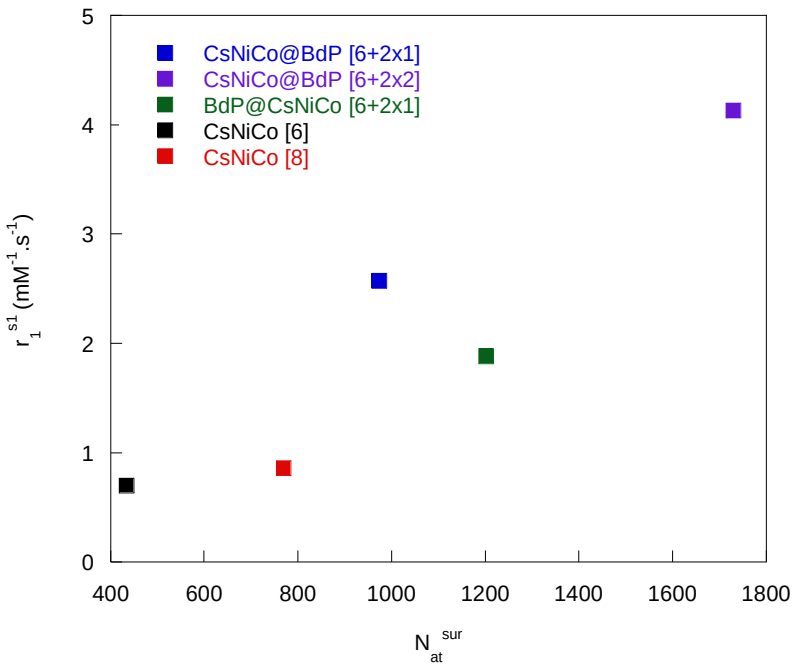


Figure IV-18 : Variation de la relaxivité longitudinale de la surface en fonction du nombre d'atomes de la première couche moléculaire des nanoparticules $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$ [6+2x1] (bleu), [6+2x2] (violet), $KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6@CsNiCo(CN)_6$ [7+2x1] (vert) et $CsNiCo(CN)_6$ [6] () et [8] () entourées de dextran

	CsNiCo@BdP [6+2x1]	**CsNiCo@BdP [6+2x2]**	**`BdP@CsNiCo [7+2x1]**	**CsNiCo [6]**	**CsNiCo [8]**
r_1^{s1} ($mM^{-1}.s^{-1}$)	2,57	4,71	1,88	0,7	0,86

Tableau IV-7 : Valeurs de relaxivité longitudinale des nanoparticules cœur-coquilles et CsNiCo

Les valeurs de relaxivité des ions Ni^{II} de surface présentées par les nanoparticules $CsNiCo(CN)_6$ [6] et [8] sont très proches (0,7 $mM^{-1}.s^{-1}$ et 0,86 $mM^{-1}.s^{-1}$ respectivement) ce qui tend à indiquer une participation exclusive des ions de la surface.

Concernant les objets $CsNiCo(CN)_6@KFe^{III}Fe^{II}(CN)_6$, un résultat particulier a été observé. La relaxivité de surface n'est pas constante mais au contraire elle augmente avec la taille des particules (r_1^{s1} = 2,35 $mM^{-1}.s^{-1}$ et 4,13 $mM^{-1}.s^{-1}$ pour les objets [6+2x1] et [6+2x2] respectivement). D'une part, cette augmentation est incohérente avec une participation exclusive des ions Fe^{III} de la surface contrairement au cas des particules de bleu de Prusse. Et d'autre part, les valeurs obtenues sont considérablement élevées comparées à celles généralement obtenues pour les ions Fe^{III} (aux alentours de 1 $mM^{-1}.s^{-1}$).

L'origine de ces observations n'est pas encore claire et pourrait découler de différentes contributions :

(i) L'état de la surface de la coquille. En raison de la solubilité des paires Co^{III}-NC-Fe^{III} à l'interface, la croissance n'est pas aussi contrôlée et engendre une rugosité de la coquille à cette interface. L'accessibilité des molécules d'eau à ces ions devient alors plus importante ce qui permet d'obtenir des valeurs de relaxivité plus grandes.

(ii) La participation des ions Fe^{III} présents dans les premières couches internes, soit deux à quatre couches moléculaires correspondant à une coquille de 1 et 2 nm respectivement.

Une indication allant dans le sens de la seconde hypothèse est donnée par la comparaison de la relaxivité des particules $KFe^{III}Fe^{II}$@$CsNi^{II}Co$ de 1.88 $mM^{-1}.s^{-1}$ bien supérieure à celles des particules CsNiCo de 8 nm (0,86 $mM^{-1}.s^{-1}$). Ceci met en évidence une contribution supplémentaire que l'on pourrait attribuer aux ions Fe^{III} des couches plus internes. Cependant, la coquille CsNiCo étant fortement lacunaire, elle peut favoriser une diffusion plus aisée des molécules d'eau que dans le cas des coquilles $KFe^{III}Fe^{II}$ sur cœur CsNiCo. L'hypothèse *ii)* sera discutée plus amplement dans le paragraphe suivant.

IV.3.Discussion :

Les nanoparticules de bleu de Prusse présentent une relaxivité satisfaisante montrant leur efficacité en tant qu'agent de contraste positif T_1. Cette efficacité a été attribuée dans un premier temps à l'activité des ions Fe^{III} localisés à la surface des particules. Pourtant, la croissance d'une coquille de bleu de Prusse de 1 et 2 nm respectivement autour d'un cœur *a priori* de faible relaxivité présente des valeurs de relaxivité de surface trop élevées pour des ions Fe^{III}. Une hypothèse consiste à considérer la participation des sites paramagnétiques des premières couches localisées sous la surface. Pour pouvoir déterminer l'épaisseur critique en dessous de laquelle cette contribution n'est plus efficace, nous avons estimé la relaxivité moyenne du Fe^{III} par couche moléculaire, allant de la première jusqu'à la quatrième couche incluse. Cette relaxivité, que nous désignerons par r_1^{Cn} avec Cn qui désigne les *n* couches moléculaires considérées, est obtenue par la relation suivante :

$$r_1^{Cn} = r_1 * (N_{at}^{tot} / N_{at}^{Cn})$$

Où N_{at}^{tot} est le nombre d'atome Fe^{III} total pour une taille donnée et N_{at}^{Cn} est le nombre d'atome présents dans les couches d'indice n. Les valeurs obtenues pour les particules de bleu de Prusse et les cœur-coquilles sont regroupées dans les *tableaux IV-8 et IV-9* respectivement.

	Taille (nm)	$\mathbf{r_1}$	$\mathbf{r_{1/particule}}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_1}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_{1+2}}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_{1+2+3}}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_{1+2+3+4}}$
[7]	7	0,61	1030	1,74	1,01	0,77	0,67
[13]	14	0,51	622	2,64	1,36	1,01	0,82
[19]	19	0,39	1156	2,66	1,37	0,98	0,78

Tableau IV-8 : Valeurs de relaxivité longitudinale des ions Fe^{III} (en $mM^{-1}.s^{-1}$) par couche moléculaire r_1^{Cn} des nanoparticules de bleu de Prusse

	Taille (nm)	$\mathbf{r_{1/particule}}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_1}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_{1+2}}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_{1+2+3}}$	$\mathbf{r_1^{C}{}_{1+2+3+4}}$
CsNiCo@BdP [6+2x1]	9	2503	2,6	1,4	1	0,9
CsNiCo@BdP [6+2x1]	12	7110	4,1	2,2	1,6	1,3
BdP@CsNiCo [6+2x1]	10	2269	1,88	1	0,8	0,6
CsNiCo [8]	8	663	0,92	0,52	0,39	0,34
CsNiCr [6]	6	308	0,7	0,4	0,3	0,3

Tableau IV-9 : Valeurs de relaxivité longitudinale par couche moléculaire r_1^{Cn} du Fe^{III} (en $mM^{-1}.s^{-1}$) des nanoparticules cœur-coquilles et de CsNiCo [8]

Les *figures IV-19 et IV-20* représentent la variation de la relaxivité d'ions Fe^{III} par couche moléculaire en fonction de la taille des particules de bleu de Prusse et des cœur-coquilles respectivement.

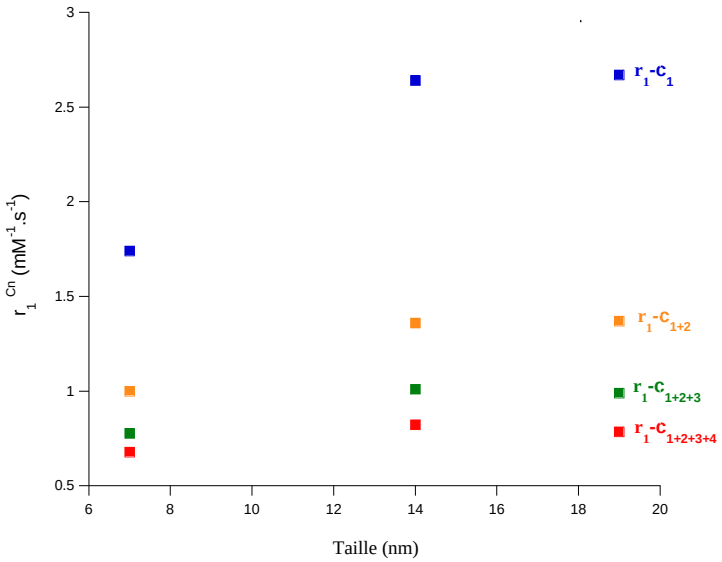


Figure IV-19 : Variation de la relaxivité longitudinale des ions Fe^{III} par couche moléculaire r_1^{Cn} des nanoparticules de bleu de Prusse [7], [13] et [19] (avec n=1 (bleu) ; n=1+2 (orange) ; n=1+2+3 (vert) et n=1+2+3+4 (rouge)

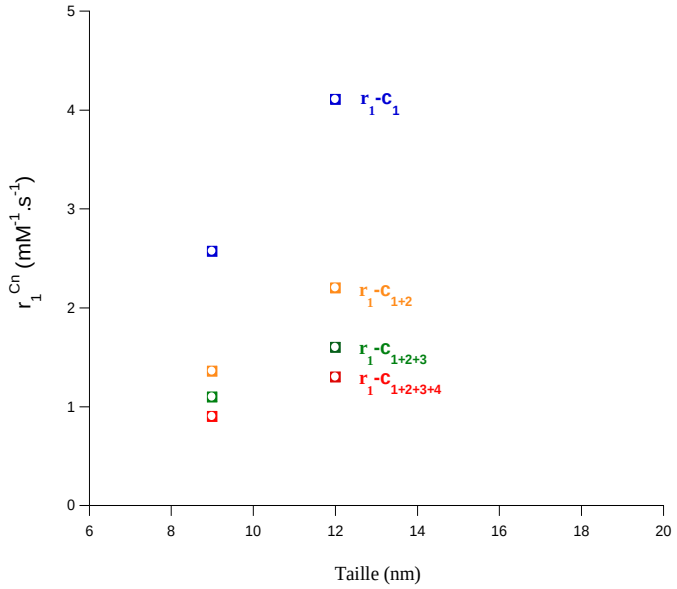


Figure IV-20 : Variation de la relaxivité longitudinale des ions Fe^{III} par couche moléculaire r_1^{Cn} des nanoparticules cœur-coquilles CsNiCo@BdP [6+2x1] (●), [6+2x2] (●) (avec n=1 (bleu) ; n=1+2 (orange) ; n=1+2+3 (vert) et n=1+2+3+4 (rouge)

La relaxivité longitudinale, exprimée par rapport à la participation des ions paramagnétiques des 4 premières couches moléculaires, présente la même tendance pour les nanoparticules de bleu de Prusse et les cœur-coquilles. En effet, les valeurs diminuent progressivement en passant de la contribution unique des atomes de la surface à celle des trois premières couches moléculaires sous la surface, et tendent à devenir constante indépendamment de la taille. Bien évidemment, cette hypothèse prend en compte une activité moyenne. Un ion Fe^{III} localisé à la surface d'une particule contribuant plus efficacement à la relaxation des protons qu'un Fe^{III}

présent à l'intérieur du réseau, en raison du nombre plus important de molécules d'eau coordinées et un accès aisé aux molécules d'eau. Par conséquent, en tenant compte de la participation des ions paramagnétiques présents dans les quatre premières couches moléculaires, ce qui équivaut à 2 nm d'épaisseur, la relaxivité longitudinale atteint une valeur quasi-constante, de l'ordre de 1 $mM^{-1}.s^{-1}$, quelle que soit la taille des particules. Des valeurs plus cohérentes sont ainsi retrouvées dans le cas des objets cœur-coquilles CsNiCo@KFeFe.

La *figure IV-21* représente une comparaison des valeurs de relaxivité longitudinale $r_1^{C1+2+3+4}$, estimées en considérant la participation de quatre premières couches, en fonction de la taille. La relaxivité moyenne par Fe^{III} est assez constante indépendamment de la taille et la structure des objets, avec un intervalle de valeurs bien cohérent avec celles reportées pour les agents de contraste à base de Fe^{III}.

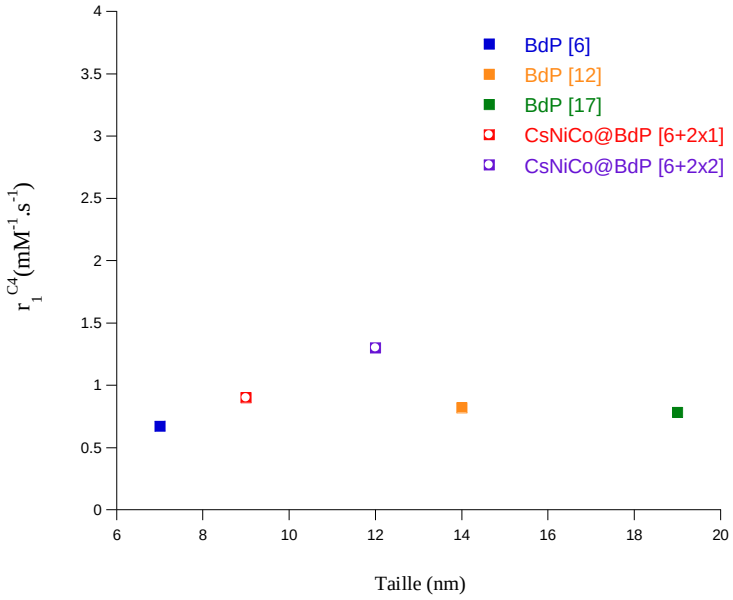


Figure IV-21 : Variation de la relaxation longitudinale $r_1^{C1+2+3+4}$ des nanoparticules de bleu de Prusse [7] (bleu), [13] (orange), [19] (vert) et des cœurs-coquilles CsNiCo@BdP [6+2x1] (rouge) et[6+2x2] (violet) en fonction de la taille

Ce résultat suggère une participation efficace des ions paramagnétiques, pour les bleu de Prusse ayant cette composition, voisine de 4 couches moléculaires (2 nm). Bien entendu, cette conclusion sera à étayer par *(i)* des nanoparticules cœur-coquilles constituées de quelques couches de bleu de Prusse autour d'un cœur $KInFe(CN)_6$ totalement diamagnétique et n'ayant aucune contribution à la relaxivité ou *(ii)* au contraire d'un cœur de bleu de Prusse entouré d'une coquille diamagnétique et peu lacunaire ($AInFe(CN)_6$, $AGaFe(CN)_6$).

En revanche, les couches profondes du cœur des particules de réseau de coordination ne contribuent pas significativement à la relaxation des protons de l'eau qui y sont coordinées.

Ceci est justifié par la faible dimension des pores entravant la diffusion des molécules d'eau entre le cœur de la particule et le milieu extérieur et aux liaisons hydrogène entre molécules d'eau. Une telle influence de la taille des pores sur la relaxivité a été déjà reportée dans la littérature sur des ions de Gd^{3+} confinés dans une zéolithe de NaY. Une diminution drastique des valeurs de relaxivité a été observée pour ces objets, essentiellement attribuée à la circulation ralentie des molécules d'eau limitée par la petite taille des pores.[22]

Au final, l'ensemble des résultats converge vers une relaxivité du Fe^{III} de l'ordre de 1 $mM^{-1}.s^{-1}$ et a pour origine la participation des ions paramagnétiques d'environ quatre couches moléculaires. Malgré l'utilisation du Fe^{III} (d'efficacité moindre que le Mn^{II} et Gd^{III}) et la faible densité en ions métalliques du réseau de bleu de Prusse (1.78 $g.cm^{-3}$ contre 5 $g.cm^{-3}$ des oxydes)[4,23] les nanoparticules de réseau de coordination offrent une alternative intéressante aux agents de contraste positifs T_1. La forte proportion d'atomes localisés en surface permet d'optimiser l'efficacité de l'agent de contraste tout en minimisant la quantité d'ions (et donc la toxicité) introduits *in vivo.*

IV.4. Images "fantômes" des nanoparticules de bleu de Prusse :

Les valeurs de relaxivité obtenues pour les différentes tailles des nanoparticules de bleu de Prusse permettent de les classer en tant qu'agents de contraste pour l'IRM. Pour vérifier leur influence sur l'amélioration du contraste, des images "fantômes" ont été enregistrées au sein du laboratoire du Pr. Robert Muller à l'Université de Mons en Belgique.

La *figure IV-22* représente une comparaison des contrastes obtenus sur les solutions de nanoparticules de bleu de Prusse de différentes tailles (7, 13 et 19) à 4 mM. Une solution de Gd-DOTA à 1mM (agent de contraste T_1 commercial) et de l'eau ont été utilisées comme références. L'appareil utilisé fonctionne à 300 MHz, à bien plus haut champ (7T) que les valeurs de relaxivité (60 MHz, 1.5 T). Ceci induit une valeur r_2 bien plus élevée qu'à 60 MHz et par conséquent tend à diminuer l'efficacité des nanoparticules en tant qu'agents de contraste T_1 et renforce le contraste en T_2. Ceci est visible sur les profils relaxométriques en fréquence qui montrent une diminution de moitié de r_1 à hautes fréquences (*Fig.IV-23).*

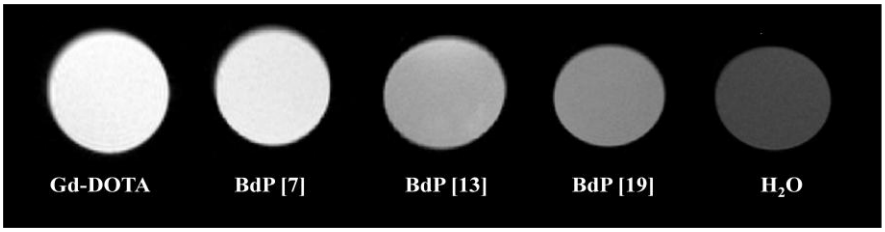


Figure IV-22 : Images pondérées en T1 à TR=1000 ms des nanoparticules de bleu de Prusse de différentes tailles à 4mM, comparées à celle du Gd-DOTA et de l'eau

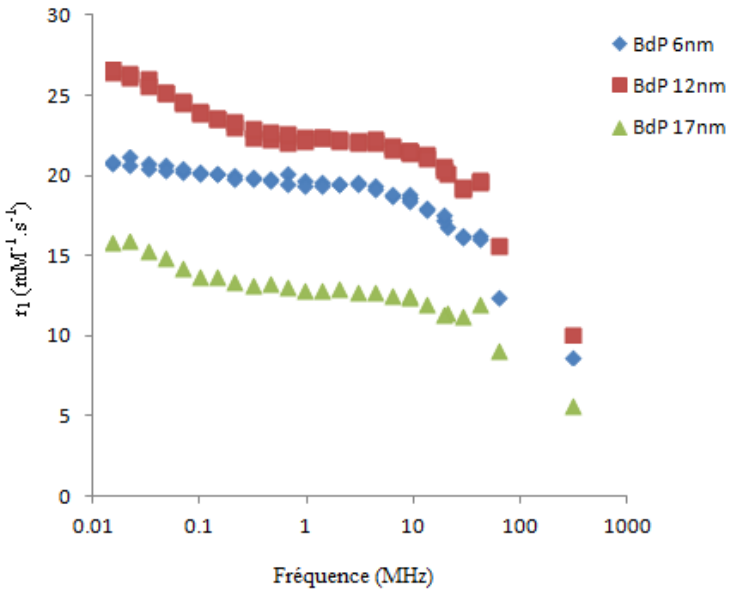


Figure IV-23 : Profils de la relaxivité longitudinale r_1 en fonction de la fréquence pour les nanoparticules de bleu de Prusse [7] (bleu), [13] (rouge) et [19] (vert)

Il apparait clairement que les nanoparticules de bleu de Prusse de 7 nm améliorent considérablement le contraste positif de l'image à des temps de récupération (time recovery) acceptables (T_R = 1000 ms) et approchent celui du Gd-DOTA. Ces contrastes sont particulièrement intéressants pour des systèmes à base de Fe^{III}. Des mesures faites à plus fortes concentrations (20 mM) pour toutes les tailles induisent un contraste bien plus faible qu'à 4 mM, à la différence des contrastes observés sur des particules enrobées de citrate.[24] Ceci est lié à une forte diminution des valeurs de r_1 à plus fortes concentrations. Ainsi, il est possible que des concentrations plus faibles que 4 mM aboutissent à un contraste plus fort. Par ailleurs, en travaillant sur un spectromètre à 60 MHz (1.5 T), conventionnellement employé dans le milieu médical, le contraste sera nettement plus important.

Enfin, la variation du contraste en fonction de la taille des particules (pour une concentration en ion Fe^{III} fixe) corrobore les évolutions observées en relaxivité. Les nanoparticules les plus petites offrent le meilleur contraste, proche de celui du Gd-DOTA à 1 mM. L'injection d'une seule nanoparticule de BdP de 7 nm a un effet comparable à 245 molécules de Gd-DOTA. Le

bon contraste obtenu avec nos nanoparticules de bleu de Prusse peut s'expliquer par cet effet de concentration locale en ions paramagnétiques. Ces résultats montrent le potentiel de telles particules en terme de contraste pour une toxicité moindre.

IV.5. Internalisation cellulaire des nanoparticules de bleu de Prusse [7]:

La capacité d'une particule à pénétrer dans les cellules est un pré-requis essentiel à réaliser pour les applications d'imagerie cellulaire. De ce point de vue, il était intéressant de tester et suivre l'internalisation des nanoparticules de bleu de Prusse dans les cellules vivantes. Le choix s'est porté sur les particules $KFe^{II}Fe^{III}(CN)_6$ de 7 nm ayant la taille la plus petite et la relaxivité la plus élevée.

IV.5.1. Synthèse des nanoparticules $KFe^{II}Fe^{III}(CN)_6$ [7] et fonctionnalisation avec du dextran-TRITC

Pour pouvoir suivre leurs internalisations dans les cellules par microscopie confocale, il était indispensable de fonctionnaliser les particules par une molécule fluorophore. Un protocole d'enrobage des nanoparticules avec un dextran marqué au TRITC (1 % de TétraméthylRhodamineIsoThioCyanate) a été alors mis au point. Le TRITC est un fluophore dérivé de la Rhodamine dont la structure chimique est présentée dans la *figure IV-24*. Excitée à une longueur d'onde de 540 nm, cette molécule fluoresce dans la zone située entre 550 et 700 nm avec un maximum de fluorescence observée à 580 nm.

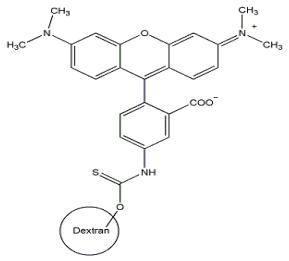


Figure IV-24: Structure chimique du dextran-TRITC

Les particules de bleu de Prusse [7] ont été préparées comme déjà mentionné ci-dessus. Pourtant, en suivant le même protocole de récupération utilisé avec le dextran non marqué (ajout de 0,8 équivalent d'acétone par rapport au volume totale), il était beaucoup plus difficile de récupérer les particules avec du dextran-TRITC en raison de sa grande solubilité par rapport au dextran non marqué. Un autre protocole a été alors optimisé et qui consiste tout

d'abord à l'ajout de 25 équivalents de dextran-TRITC par rapport aux ions Fe^{III} pour favoriser l'interaction polymère-particule. Ensuite, 25 équivalents de dextran normal ont été ajoutés pour permettre la précipitation des particules entourées de dextran-TRITC avec 1,2 équivalent d'acétone. Les objets découlant de cette synthèse seront désignés par la suite par [7]-TRITC.

IV.5.2. Etude des redispersions :

IV.5.2.1. DDL :

Comme déjà montré précédemment, les particules de bleu de Prusse entourées de dextran normal ont été bien redispersables dans l'eau. Pour verifier que l'enrobage avec le dextran-TRITC ne présente aucune influence sur les objets, la redispersibilité des particules [7]-TRITC à 10mM a été testée par DDL *(Fig. IV-25).*

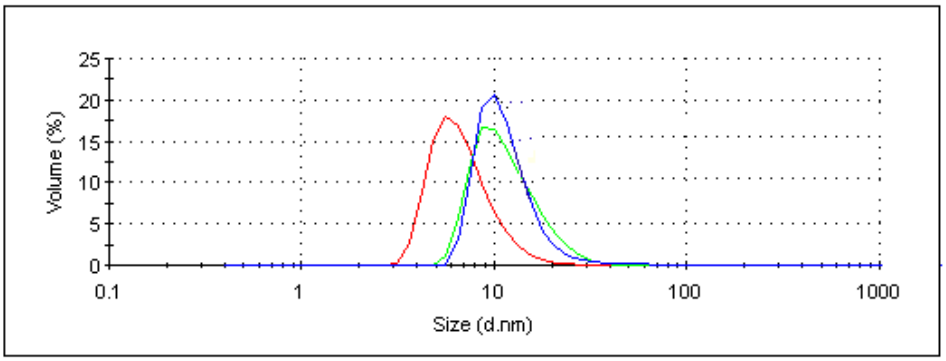


Figure IV-25 : Taille des particules de bleu de Prusse [7]-TRITC : après synthèse en solution aqueuse (rouge), redispersion dans l'eau à 10mM (bleu) comparé à la dispersion à 10 mM des particules [7] entourés du dextran non marqué (vert)

La taille obtenue en DDL pour les particules [7]-TRITC est de 10 nm bien identique à celle obtenue pour les particules [7] entourées de dextran seul. L'augmentation de 2 nm par rapport aux particules non enrobées est expliquée par la présence de la couche de dextran qui les entoure.

IV.5.2.2. Spectroscopie de fluorescence :

Pour confirmer la fonctionnalisation des particules par le fluophore, l'excitation et l'émission des particules [7]-TRITC a été suivie par spectroscopie de fluorescence. La solution colloïdale contenant les particules a été diluée de sorte à avoir une absorbance proche de celle du dextran-TRITC à 1 mM, ce qui permet de comparer l'émission des deux solutions pour une même quantité de photons. A cette concentration, l'absorbance mesurée à 543 nm étant faible et aux alentours de 0.1, évitant la saturation du signal de fluorescence. Les spectres d'absorption et d'émission des particules [7]-TRITC sont présentés dans la *figure IV-26.*

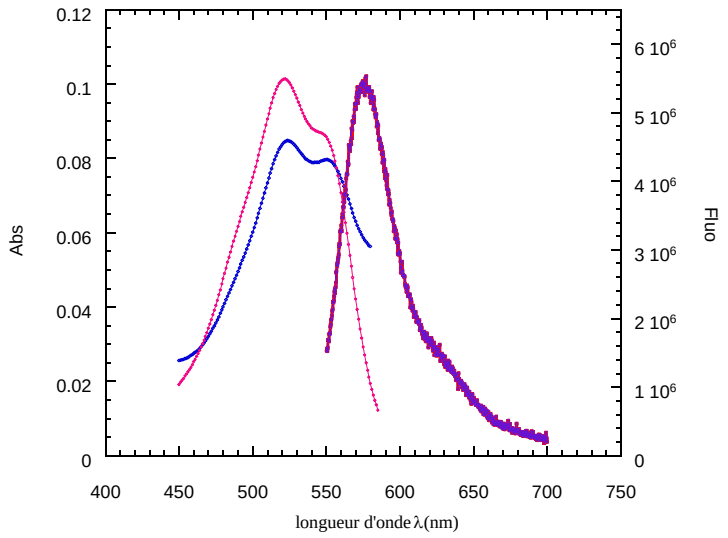


Figure IV-26 : Spectres d'absorption et d'émission des particules [7]-TRITC (Absorbance (bleu) et fluorescence (rouge)) et du dextran TRITC seul à 1mM (Absorbance (rose) et fluorescence (violet))

Les spectres de fluorescence des particules [7]-TRITC et du dextran-TRITC seul à 1mM sont superposables, pourtant l'absorbance du dextran-TRITC seul est légèrement supérieure à celle des particules de bleu de Prusse. Ceci met en évidence un léger *quenching* de la fluorescence dû au transfert d'énergie de type FRET entre le TRITC et le bleu de Prusse. Ceci appuie le fait que le polymère se trouve en interaction avec la particule.

IV.5.3. Suivi de l'internalisation cellulaire par microscopie confocale :

Apres avoir vérifié la redispersibilité et la préservation de l'émission de fluorescence des particules [7]-TRITC, l'étape suivante était de tester et suivre leur internalisation dans des cellules vivantes par microscopie confocale de fluorescence. Cette partie du travail a été effectuée par Lucie SANCEY au laboratoire de Physico-chimie des Matériaux luminescents (LPCML) de l'Université Lyon 1. Les cellules utilisées pour l'internalisation sont des carcinomes murins mammaires. Les particules fluorescentes ont été redispersées dans l'eau à une concentration de 0,5 mM puis injectées dans le milieu de culture cellulaire. Apres 30

minutes d'incubation, le milieu extracellulaire contenant les particules n'ayant pas pénétré dans les cellules a été retiré puis remplacé par un autre contenant des éléments essentiels à la survie des cellules. Les particules ayant pénétré dans les cellules ont été ensuite visualisées à différents temps par microscopie confocale dans le but de suivre leur internalisation au sein des cellules *(Fig. IV-27)*. L'émission de fluorescence a été recueillie entre 550 et 695 nm.

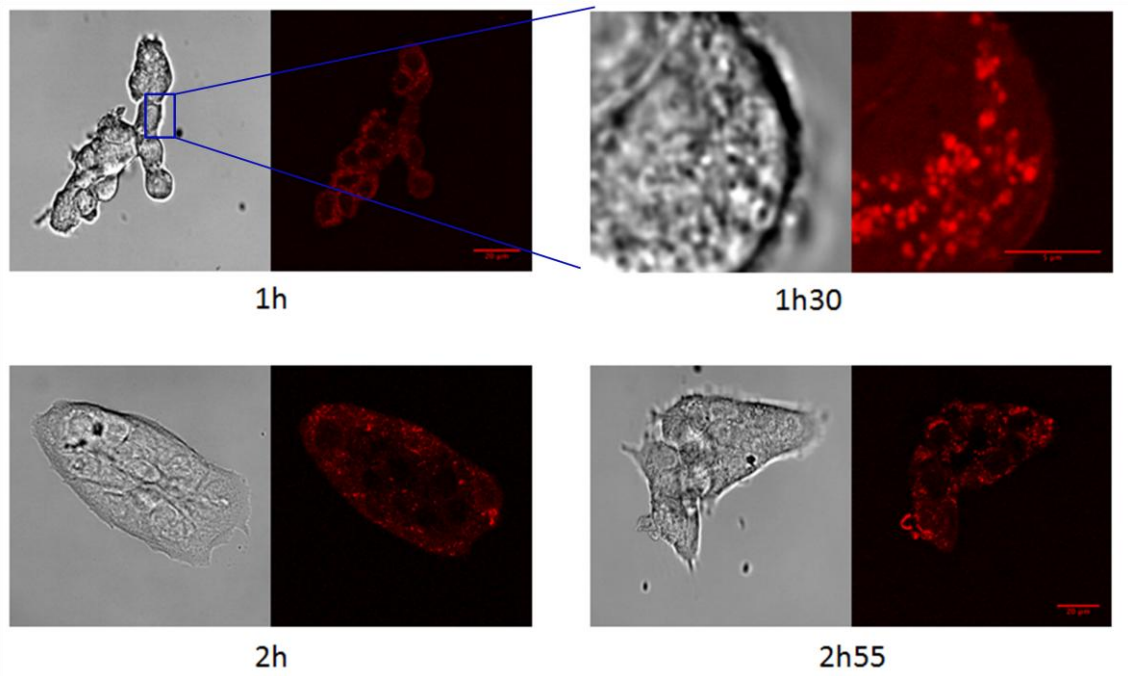


Figure IV-27 : Suivie cinétique de l'internalisation des nanoparticules [7]-TRITC dans les cellules: Images de Microscopie en transmission (gauche) et en émission de fluorescence (droite)

30 minutes après l'injection, un signal fluorescent non négligeable a été observé à l'intérieur des cellules, mettant en évidence une internalisation efficace et rapide des particules [7]-TRITC. Au delà d'une heure, il apparaît clairement que les particules se sont réparties dans le cytoplasme de la cellule mais sans pénétrer dans le noyau. Concernant le mécanisme d'internalisation, les images montrent que les particules sont rassemblées dans des vésicules, suggérant un mécanisme d'endocytose ou de macropinocytose. Des études antérieures effectuées sur des nanoparticules inorganiques telles que des oxydes de Fer et nanoparticules d'or, de tailles voisines, ont montré qu'elles peuvent facilement entrer par les cellules par endocytose.[25] L''internalisation des nanoparticules de bleu de Prusse dans des cellules mammaires suit probablement un mécanisme similaire.

IV.5.4. Etude de toxicité :

La toxicité des particules de bleu de Prusse est faible et a fait l'objet de certaines études.[7,24] Nous avons tenté une étude sur les particules de 7 nm enrobées de dextran-TRITC mais les mesures ont été perturbées par la coloration du TRITC et du bleu de Prusse (Annexe IV). D'autres études sont envisagées à l'Université de Lyon I.

IV.6. Conclusion :

Cette partie a été consacrée à la synthèse contrôlée des nanoparticules de bleu de Prusse de différentes tailles et des cœur-coquilles formées par la croissance de quelques couches moléculaires de bleu de Prusse. Après leurs caractérisations chimiques et structurales, nous nous sommes intéressés à tester l'efficacité de ces objets en tant d'agents de contraste pour l'imagerie à résonance magnétique.

Bien qu'étant à base de Fe^{III}, les valeurs de relaxivité obtenues pour ces particules sont intéressantes et du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les agents de contraste T_1 à base de Mn^{II}. L'ensemble de ces résultats est cohérent si l'on considère la contribution des ions paramagnétiques localisés dans les quatre premières couches moléculaires du réseau, résultant en une valeur moyenne de 1 $mM^{-1}.s^{-1}$. Bien évidemment, les ions localisés en surface ont une valeur plus élevée et cette valeur moyenne ne reflète pas la relaxivité variable et décroissante lorsqu'on passe de la surface aux trois couches internes. Cette hypothèse d'une relaxivité non nulle pour les ions des trois premières couches internes est renforcée par la valeur élevée obtenue sur des cœurs de bleu de Prusse enrobés par une coquille CsNiCo. Les valeurs de relaxivité non nulles reportées dans la littérature sur des particules de bleu de Prusse comportant des citrates bloquant l'accès des molécules d'eau à la surface sont également en accord avec nos résultats.

Par ailleurs, des études d'internalisations et de cytotoxicité effectuées sur les particules de 7 nm ont montré qu'elles sont rapidement internalisées dans des cellules vivantes. A cette petite taille, elles peuvent être facilement éliminées de l'organisme *via* le système rénal.[26]

Cette étude représente l'un des premiers essais à la conception des composés de coordination en tant qu'une nouvelle génération d'agents de contraste, peu explorée dans la littérature.

En perspective, les ions paramagnétiques du cœur non actifs en terme de relaxivité peuvent être remplacés par d'autres présentant des propriétés optiques tout en ouvrant la voie à la conception d'une nouvelle génération de particules multimodaux. Un exemple a été donné dans la littérature,[3] mais les propriétés de relaxivité sont faibles en raison de la structure

alliage du système. Dans notre cas, la structure cœur-coquille permettrait de profiter de la relaxivité de quatre couches de bleu de Prusse et d'autres propriétés du cœur (luminescence, scintigraphie).

Références bibliographiques :

(1) Guari, Y.; Larionova, J.; Corti, M.; Lascialfari, A.; Marinone, M.; Poletti, G.; Molvinger, K.; Guérin, C. *Dalton Transactions* **2008**, 3658-3660.

(2) Huang, S. D.; Soumitra, B.; Khitrin, A. K.; Shokouhimehr, M.; Soehnlen, E. S.; publication, U. S. P. A., Ed., **2010**; Vol. US 20100215587 A1.

(3) Chelebaeva, E.; Larionova, J.; Guari, Y.; Ferreira, R. A. S.; Carlos, L. D.; Trifonov, A. A.; Kalaivani, T.; Lascialfari, A.; Guérin, C.; Molvinger, K. *Nanoscale* **2011**, *3*, 1200-1210.

(4) Buser, H. J.; Schwarzenbach, D.; Petter, W.; Ludi, A. *Inorganic Chemistry* **1977**, *16*, 2704-2710.

(5) Verdaguer, M.; Girolami, G. S. *Magnetism: Molecules to Materials V* **2005**, 283-346.

(6) Meeussen, J. C. L.; Keizer, M. G.; Van Riemsdijk, W. H.; De Haan, F. A. M. *Environmental science & technology* **1992**, *26*, 1832-1838.

(7) Yang, Y.; Brownell, C.; Sadrieh, N.; May, J.; Del Grosso, A.; Place, D.; Leutzinger, E.; Duffy, E.; He, R.; Houn, F. *Clinical Toxicology* **2007**, *45*, 776-781.

(8) Faustino, P. J.; Yang, Y.; Progar, J. J.; Brownell, C. R.; Sadrieh, N.; May, J. C.; Leutzinger, E.; Duffy, E. P.; Houn, F.; Loewke, S. A. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* **2008**, *47*, 114-125.

(9) Thompson, D. F.; Church, C. O. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* **2001**, *21*, 1364-1367.

(10) www.fda.gov/drugs/Emergencyprepardness/BioterrorismanDrugPrepardness/ucm130334.htm *FDA source for radiogardase* **2009**.

(11) Shokouhimehr, M.; Soehnlen, E. S.; Khitrin, A.; Basu, S.; Huang, S. D. *Inorganic Chemistry Communications* **2010**, *13*, 58-61.

(12) Prado, Y., Paris sud 11, **2010**.

(13) Jolivet, J. P.; Henry, M.; Livage, J. *DE LA SOLUTION A L'OXYDE*; L'Editeur: EDP Sciences, 1994.

(14) Herren, F.; Fischer, P.; Ludi, A.; Hälg, W. *Inorganic Chemistry* **1980**, *19*, 956-959.

(15) Richardson, N.; Davies, J. A.; Raduchel, B. *Polyhedron* **1999**, *18*, 2457-2482.

(16) Shokouhimehr M.; Soehnlen E.; Hao J.; Griswold Mark; Flask Chris ; Fan Xudong; Basilion P. James ; Soumitra, B.; Songping, a. H. D. *journal of materials chemistry* **2012**, *20*, 5251-5259.

(17) Bridot, J. L.; Faure, A. C.; Laurent, S.; Rivière, C.; Billotey, C.; Hiba, B.; Janier, M.; Josserand, V.; Coll, J. L.; Vander Elst, L. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 5076-5084.

(18) Na, H. B.; Lee, J. H.; An, K.; Park, Y. I.; Park, M.; Lee, I. S.; Nam, D. H.; Kim, S. T.; Kim, S. H.; Kim, S. W. *Angewandte Chemie* **2007**, *119*, 5493-5497.

(19) Bloembergen, N.; Morgan, L. O. *The Journal of Chemical Physics* **1961**, *34*, 842-850.

(20) Itaya, K.; Uchida, I. *Inorganic chemistry* **1986**, *25*, 389-392.

(21) Lauffer, R. B. *Chemical Reviws* **1987**, *87*, 901-927.

(22) Platas-Iglesias, C.; Vander Elst, L.; Zhou, W.; Muller, R. N.; Geraldes, C. F. G. C.; Maschmeyer, T.; Peters, J. A. *Chemistry-A European Journal* **2002**, *8*, 5121-5131.

(23) Cornell, R. M.; Schwertmann, U. *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*; Wiley-vch, **2003**.

(24) Shokouhimehr M.; Soehnlen E.; Hao J.; Griswold Mark; Flask Chris ; Fan Xudong; Basilion P. James ; Soumitra, B.; Songping, a. H. D. *journal of materials chemistry* **2010**, *20*, 5251-5259.

(25) Raynal, I.; Prigent, P.; Peyramaure, S.; Najid, A.; Rebuzzi, C.; Corot, C. *Investigative radiology* **2004**, *39*, 56-63.

(26) Longmire, M.; Choyke, P. L.; Kobayashi, H. *Nanomedicine* **2008**, *3*, 703-717.

Chapitre V

Nanoparticules $K_zMn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$: agents de contraste T_1 pour IRM

Chapitre V : Nanoparticules $K_zMn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$: agents de contraste T_1 pour IRM

L'efficacité de nanoparticules de bleu de Prusse en tant qu'agents de contraste, démontrée dans le chapitre précédent, nous a encouragé à aller plus loin dans l'exploration de la relaxivité dans d'autres analogues de réseau de coordination. Ce chapitre est dédié à la synthèse des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse trimétallique à base de Mn^{II}, $K_zMn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$, à différentes fractions molaires et à l'étude de la relaxivité de ces objets en fonction de la taille et du taux de manganèse inséré au sein du réseau.

V.1. Introduction :

La majeure partie des travaux réalisés dans le but d'augmenter l'efficacité des agents de contraste a consisté à modifier la taille de l'édifice contenant l'ion paramagnétique en vue d'augmenter le temps de corrélation rotationnel. Cette modification peut-être réalisée de différentes façons soit en incorporant des complexes dans un édifice de taille plus importante (polymères, protéines, ou nanoparticules),[1,2] soit en chargeant les ions paramagnétiques dans des structures poreuses (les zéolithes),[3] soit en utilisant des matériaux nanométriques incorporant au sein de la structure les ions paramagnétiques[4-7](voir Chap. I). Dans le chapitre précédent, nous avons adopté cette dernière stratégie, très peu explorée,[5,8] pour démonter l'efficacité des nanoparticules de bleu de Prusse à base de Fe^{III} comme des agents de contraste T_1. Dans le même but, ce chapitre focalise sur l'étude de la relaxivité des nanoparticules de réseaux de coordination à base de Mn^{II}.

Le Mn^{II} est en configuration électronique $(t_{2g})^3$ $(e_g)^2$ (S=5/2) d'où son caractère paramagnétique approprié aux agents de contraste T_1 de nos particules. Il présente certains avantages notables en comparaison au Gd^{III} tel que le temps de relaxation électronique plus long que celui du Gd^{III} et l'échange des molécules s'effectue d'une façon plus rapide.[9] Ainsi récemment, plusieurs équipes de recherche se sont tournées vers l'utilisation de cet ion, pourtant Les exemples de nanoparticules à base de Mn^{II} décrites dans la littérature sont encore restreints (nanoparticules d'oxydes de Mn^{II} [10-12] et quantum dots cœur-coquilles dopés au Mn^{II}, $CdSe@Zn_{1-x}Mn_xS$).[13]

De notre part, nous nous sommes intéressés à l'élaboration des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse à base de Mn^{II}. Un avantage de l'utilisation d'un réseau tridimensionnel est sa stabilité permettant aux cations Mn^{II} d'avoir dans leur sphère de coordination plus d'une molécule d'eau, tout en limitant le relargage des ions en solution.

Toutefois, pour des raisons liées aux phénomènes de nucléation et croissance (vitesse d'échange élevée, constantes de formation du réseau faibles et mécanisme d'échange associatif), il n'a pas été possible de contrôler la taille des nanoparticules de l'analogue $Mn^{II}Fe^{II}(CN)_6$ par stabilisation électrostatique dans l'eau.
Néanmoins, au cours de son travail de thèse, Y. Prado a démontré que l'insertion des ions In^{III} (ions diamagnétiques de configuration électronique d^{10}) au sein du réseau $Mn^{II}FeCN)_6$ induit leur stabilisation dans l'eau à une taille nanométrique. Ainsi, une série des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse tri-métallique $Mn^{II}{}_xIn^{III}{}_{(1-x)}Fe(CN)_6$ a été synthétisée avec des différentes fractions molaires en Mn^{II} de 0.25, 0.5, 0.75 et 0.9. La taille et la relaxivité de ces objets étaient fortement dépendantes du taux des ions Mn^{II} incorporés et de leur localisation au sein de la particule. L'explication des valeurs élevées de la relaxivité observées pour ces objets a été confrontée et discutée sur la base de deux hypothèses : *i)* une structure alliage avec une répartition aléatoire des ions Mn^{II} au sein de la particule ou *ii)* une structure cœur-coquille avec une répartition privilégiée de ces ions à la surface. Toutefois, une conclusion complète n'a pu être tirée à l'issue de ces premiers résultats et des travaux complémentaires ont été nécessaires pour mener à fin cette étude et déterminer la structure exacte de ces objets.

L'objectif de ce chapitre consiste donc à synthétiser une nouvelle série des nanoparticules d'analogues du bleu de Prusse à base de Mn^{II}, $K_{4y-3+x}Mn^{II}{}_xIn^{III}{}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_{y,}nH_2O$ (avec x allant de 0.07 à 0.6) et à évaluer l'influence de ce taux sur la relaxivité des systèmes. Ce travail a été effectué dans le cadre du stage M2 de Mlle G. Paul. Les nanoparticules obtenues ont été caractérisées d'un point de vue chimique et structural. L'étude des propriétés de relaxivité de ces objets a également été réalisée et la localisation des Mn^{II} au sein de la particule a été discutée sur la base de ces résultats. Une troisième partie a été consacrée à l'internalisation des particules dans des cellules vivantes. Enfin, l'analyse des résultats et les perspectives découlant de ce travail seront abordées.

V.2. Synthèse et caractérisations chimiques et structurales des particules

V.2.1. Synthèse des particules

Les nanoparticules $K_{4y-3+x}Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y, nH_2O$, à différentes fractions molaires en Mn^{II} (avec x= 0.07, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 et 0.60), ont été synthétisées par stabilisation spontanée dans l'eau, tout en suivant les mêmes conditions opératoires des nanoparticules de bleu de Prusse (basse température de 2˚C et en milieu dilué ($[Fe^{II}(CN)_6]$ et de $[Mn^{II}+In^{III}]$ = 0.5 mM). Ainsi, par ajout rapide d'une solution contenant des sels de $MnCl_2$ et $InCl_3$ à 0,5mM dans une autre solution contenant un sel de $K_4Fe(CN)_6$ à 0,5 mM, placée sous vive agitation, des particules stables en solutions sont obtenues. Avant l'ajout rapide, chacune des solutions est placée dans la glace pour atteindre la température de 2°C. Suite à l'ajout, le mélange résultant est laissé à 2°C pendant 30 minutes puis ensuite mis à température ambiante pendant 30 minutes. Le protocole expérimental de synthèse des particules est décrit plus en détails en Annexe V. Selon la fraction molaire en Mn^{II}, ces particules seront désignées par la suite par les symboles $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [7], [10], [20], [30], [40] et [60].

A noter que la synthèse a été effectuée sans alcalin de sorte à générer des lacunes en hexacyanoferrate. Ces lacunes ont pour but d'augmenter la microporosité du réseau afin de permettre aux molécules d'eau contenues dans l'organisme d'accéder aux ions Mn^{II} non localisés en surface.

Les particules ont été récupérées avec le dextran, selon le même protocole utilisé pour les particules de bleu de Prusse (25 équivalents de dextran sont ajoutés par rapport aux ions Mn^{II} et In^{III}). Les fluctuations sont ensuite précipitées avec 0,8 équivalents d'acétone puis centrifugées et séchées sous vide.

Ces échantillons seront utilisés pour les mesures de relaxivité et permettront leur caractérisation par spectroscopie Infrarouge (IR), Diffraction des Rayons X sur poudre (DRX) et Analyses Elémentaires (AE).

V.2.2 Caractérisations structurales et de taille des particules

V.2.2.1. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

La diffusion dynamique de la lumière des solutions colloïdales de ces objets montre que le diamètre hydrodynamique des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ augmente avec la fraction molaire

de Mn^{II}, *x*. La taille moyenne des particules évolue de 6,5 à 15,7 nm pour des particules de composition comprise entre 7 et 90%. Sur la *figure V-1* sont présentées quelques distributions de taille obtenues par DDL pour les échantillons [7], [25], [50], [75] et [90]. La distribution est mieux contrôlée sur les faibles pourcentages de Mn^{II}.

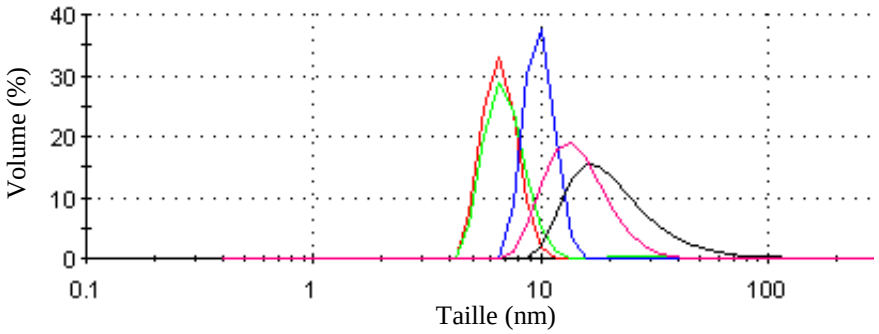


Figure V-1 : Distribution de taille en volume des particules $Mn^{II}_x\ In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [7], [25], [50], [75], [90], obtenues par DDL en solution aqueuse à température ambiante

Les tailles extraites des distributions en volume des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ pour les différentes fractions molaires en Mn^{II} sont regroupées dans le tableau ci-dessous *(Tab. V-1)*.

	[7]	**[15]**	**[20]**	**[25]**	**[40]**	**[50]**	**[60]**	**[75]**	**[90]**
Taille (nm)	7	7	6,5	7	7,5	9	10	11	16

Tableau V-1 Taille des particules $Mn^{II}_x\ In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ issues des distributions obtenues par DDL en solution aqueuse, à température ambiante

Pour un taux de Mn^{II} compris entre 40 et 90% la taille des particules augmente avec le taux de Mn^{II}. En effet, la taille évolue de 7,5 à 16 nm dans cette gamme de dopage. En revanche, pour un taux de Mn^{II} compris entre 7 et 40%, la taille des particules est quasi-constante et se situe aux alentours de 7nm.

Par ailleurs, les redispersions de ces particules entourées de dextran en solution aqueuse présentent des tailles en DDL en accord avec les tailles obtenues après mélange (de 6,5 à 16 nm) selon la fraction molaire en Mn^{II}. Sur la *figure V-2* sont présentées, à titre d'exemple, les redispersions des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [20] et [25].

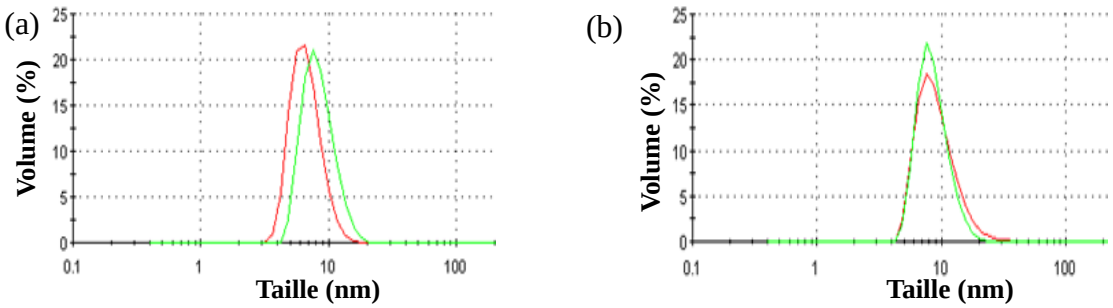


Figure V-2 : Distributions de taille des particules $Mn^{II}_x In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ obtenues 30 minutes après mélange à température ambiante (rouge) et après redispersion à 10mM dans l'eau (vert). (a) [20] ; (b) [25]

Les distributions de taille en DDL des redipersions des particules à 10 mM sont en parfait accord avec les tailles obtenues en solution colloidale. De plus l'étendue des distributions est constante montrant une bonne stabilité des nanoparticules synthétisées. Ce même résultat a été obtenu pour les différentes particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ entourées de dextran, ayant été synthétisées.

V.2.2.2. Diffraction des rayons X sur poudre (DRX)

Les diffractogrammes de poudre des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ entourées de dextran mettent en évidence la structure cubique à faces centrées des objets synthétisés. Les diffractogrammes obtenus pour les particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [7], [20], [40] et [60] sont présentés dans la *figure V-3* avec l'indexation des pics de diffraction.

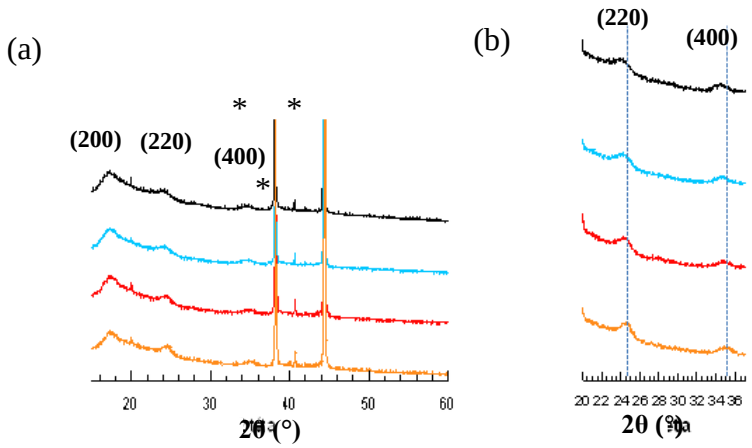


Figure V-3 : (a) Diffractogrammes des $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ entourées de dextran [7], [20], [40] et [60], (* pics issus du porte échantillon) et (b) Zoom sur les raies (220) et (400)

Les tailles et paramètres de maille des différentes particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ sont calculés par application de la loi de Bragg et de la formule de Scherrer aux raies (220) et (400). La *figure V-3(b)* montre que plus le taux de Mn^{II} augmente plus les pics de diffraction se décalent vers les valeurs élevées de 2θ. D'après la loi de Bragg, plus la valeur de 2θ est grande plus la

distance interréticulaire est faible d'où une diminution du paramètre de maille avec l'augmentation du taux de Mn^{II}. D'autre part, plus la fraction molaire en Mn^{II} augmente, plus les pics de diffraction s'affinent conduisant à une diminution de la largeur à mi-hauteur, $\beta_{1/2}$. Ceci traduit une augmentation de la taille des nanoparticules avec l'augmentation du taux de Mn^{II}.

Les valeurs de tailles et de paramètres de maille obtenues par DRX pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ synthétisées sont regroupées dans le *tableau V-2*.

	[7]	**[15]**	**[20]**	**[25]**	**[40]**	**[50]**	**[60]**	**[75]**	**[90]**
a (Å)	10,40	10,36	10,35	10,28	10,25	10,22	10,22	10,16	10,13
Taille (nm)	5,1	5,2	5,4	5,2	5,4	6,4	6,7	9	13,4

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

Ces différentes valeurs, nous permettent de tracer l'évolution de la taille des domaines diffractants et du paramètre de maille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$, obtenues par DRX, en fonction de la fraction molaire en Mn^{II} *(Fig V-4).*

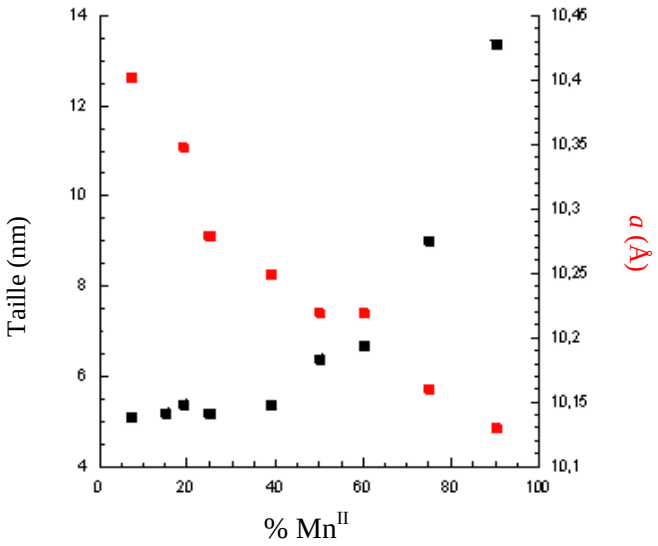


Figure V-4 : Tailles et paramètres de maille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de $Mn^{II,}$ obtenus par DRX

Une diminution quasi-linéaire du paramètre de maille est observée avec l'augmentation du taux de Mn^{II}. Cette diminution du paramètre de maille s'explique par la substitution des ions In^{III} par des ions de diamètre plus faible, les ions Mn^{II}. Cette évolution prouve l'insertion des

ions Mn^{II} au sein du réseau cristallographique, et écarte une éventuelle adsorption ou coprécipitation des Mn^{II}. Concernant la taille des particules, elle augmente pour des taux de Mn^{II} croissants et compris entre 40 et 90%. Pour des taux de Mn^{II} compris entre 7 et 40%, la taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ n'évolue pas. La tendance est donc en accord avec les tailles des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$, obtenues en solutions colloidales par DDL.

V.2.2.3.Microscopie électronique en transmission (MET)

Les nanoparticules entourées de dextran ont été observées par microscopie électronique en transmission. Les images obtenues pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [7], [25], [40] et [60] sont présentées *figureV-5*.

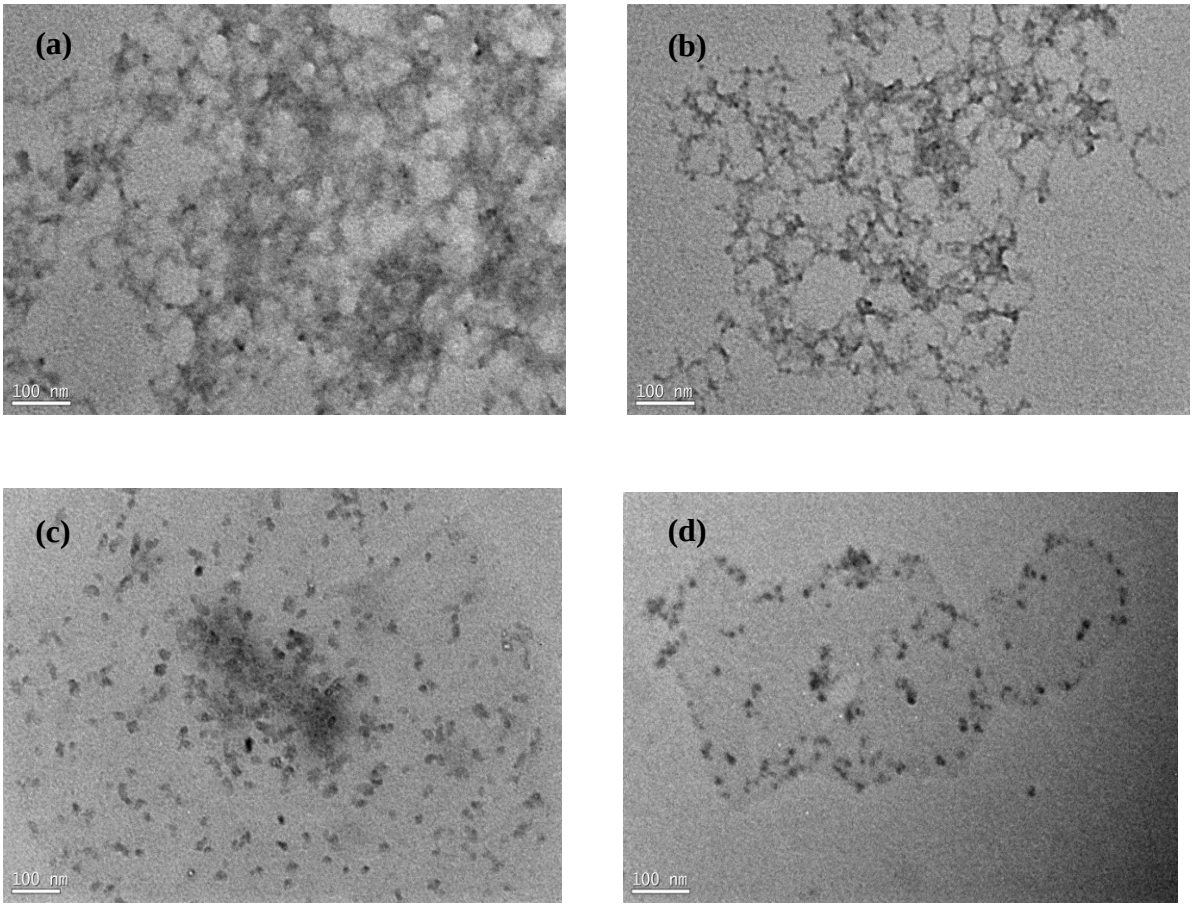


Figure V-5 : Images MET des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ (a) [7], (b) [25], (c) [40] et (d) [60] entourées de dextran. (échelle 100nm, grossissement x30 000)

La taille des nanoparticules dopées à 7 et 25% en Mn^{II} n'a pas pu être estimée. En effet, le contraste est faible en raison de la faible densité métallique des objets (~ 822 atomes) pour des particules de réseaux de si petite taille. Qualitativement, la tendance semble bonne puisque les nanoparticules présentent une taille plus importante à mesure que le taux de Mn^{II} augmente. D'autre part sur les images (c) et (d) sont observé des particules facettées et

cubiques, ce qui est en accord avec un réseau cristallographique de type analogue du bleu de Prusse. Les distributions de taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [40] et [60] sont présentées dans la *figure V-6*.

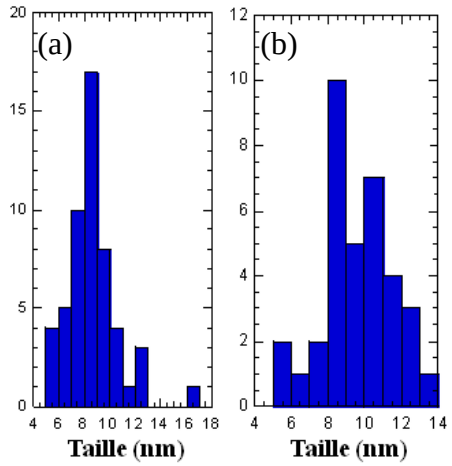


Figure V-6 : Distribution de taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ (a) [40] et (b) [60]

Les tailles moyennes sont 8,6 ± 2,0 nm et 9,4 ± 1,9 nm pour les particules [40] et [60] respectivement. La tendance est bonne puisque la taille obtenue pour les particules [40] est supérieure à celle des particules [60]. La mesure est toutefois difficile compte tenu des limites peu contrastées, qui font comptabiliser préférentiellement les particules les plus visibles donc de tailles élevées. Ces particules seront observées par microscopie en champ sombre (STEM) ce qui permettra d'augmenter le contraste des particules pour mieux les visualiser et ainsi mieux estimer leur distribution de taille.

V.2.2.4. Discussion :

Pour conclure sur la caractérisation de taille des particules , la *figure 7* regroupe les résultats de taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de Mn^{II}, obtenus par DDL et DRX. Les images de microscopie électronique en transmission, n'ayant pu confirmer que l'ordre de grandeur des particules, d'où les tailles obtenues par MET n'ont pas été introduites.

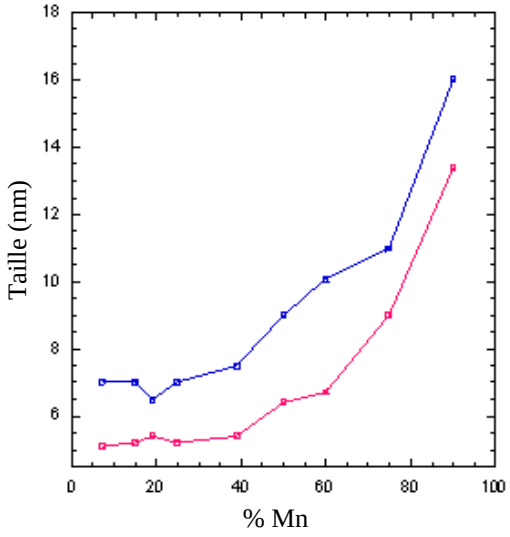


Figure V-7 : Tailles des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de Mn^{II}, obtenus par DRX (rouge) et DDL (bleu)

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

Pour un taux de Mn^{II} compris entre 40 et 90% la taille des particules augmente avec le taux de Mn^{II}. En revanche, pour un taux de Mn^{II} compris entre 7 et 40%, la taille des particules est quasi-constante. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la croissance des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ serait contrôlée par la nucléation du réseau $In^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$. La différence de solubilité entre les réseaux $Mn^{II}_2Fe^{II}(CN)_6$ et $In^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ peut expliquer que la nucléation soit dominée par le plus insoluble, ici le réseau $In^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ (pKs ($In^{III}Fe^{II}$)=33,8 et pKs ($Mn^{II}Fe^{II}$)=12,1). Ainsi, les germes seraient plus riches en In^{III} et les ions Mn^{II} seraient localisés en surface de la particule, ce qui est caractéristique d'une structure de type cœur-coquille. L'augmentation de taille des particules pour un dopage en Mn^{II} compris entre 40 et 90 % pourrait alors s'expliquer par le fait que plus la sursaturation en In^{III} diminue moins les germes $In^{III}Fe^{II}$ sont nombreux. De cette façon, les ions Mn^{II}, présents en plus grande quantité dans les particules [40] à [90], s'incorporent sur moins de germes que dans le cas des particules [7] à [40] menant alors à des particules de plus grande taille. Les mesures de relaxivité permettront d'infirmer ou de confirmer cette hypothèse.

V.2.3. Caractérisations chimiques des particules

V.2.3.1. Analyse élémentaire

Les unités formulaires des particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ synthétisées ont été déterminées par la corrélation des résultats obtenus en analyses élémentaires (% de C, H et N) et en EDS (rapports Mn^{II}/Fe^{II}, In^{III}/Fe^{II} et Mn^{II}/In^{III}). Nous nous sommes donc basés sur le rapport Mn/Fe pour établir la composition du cœur inorganique. La teneur en C, H et N permet de déterminer la proportion de dextran. La teneur en potassium est calculée en respectant l'électroneutralité du composé *(Tab. V-3)*. L'hypothèse d'un taux constant de lacunes en ferrocyanure a été posée compte tenu de la faible variation de taille pour des taux de 7 à 60% en Mn^{II}.

%Mn	**Unités formulaires des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$**
[7]	$K_{0,66}Mn^{II}_{0,06}In^{III}_{0,94}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,92}49H_2O$ (dext)$_{48}$
[10]	$K_{0,73}Mn^{II}_{0,15}In^{III}_{0,85}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,91}55H_2O$ (dext)$_{49}$
[20]	$K_{0,76}Mn^{II}_{0,27}In^{III}_{0,73}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,91}65H_2O$ (dext)$_{40}$
[30]	$K_{0,94}Mn^{II}_{0,30}In^{III}_{0,70}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,91}22H_2O$ (dext)$_{28}$
[40]	$K_{1,03}Mn^{II}_{0,39}In^{III}_{0,61}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,91}34H_2O$ (dext)$_{41}$
[50]	$K_{0.93}Mn^{II}_{0,53}In^{III}_{0,47}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,85}19H_2O$ (dext)$_{26}$
[60]	$K_{1.16}Mn^{II}_{0,58}In^{III}_{0,42}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,91}27H_2O$ (dext)$_{34}$
[75]	$K_{1,09}Mn^{II}_{0,77}In^{III}_{0,23}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,83}22H_2O$ (dext)$_{23}$
[90]	$K_{1,11}Mn^{II}_{0,91}In^{III}_{0,09}[Fe^{II}(CN)_6]_{0,80}22H_2O$ (dext)$_{23}$

Tableau V-3 : Unités formulaires des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ dans le dextran déduites des analyses élémentaires et de l'EDS

Les taux de Mn^{II} incorporés correspondent aux taux introduits initialement en solution en dehors des pourcentages inférieurs à 30%, pour lesquels la quantité de Mn^{II} insérée est double. Les synthèses à bas taux de Mn^{II} (de 7 à 40%) ont été répétées et la reproductibilité de ces résultats a été démontrée. D'autre part, au-delà de 60%, le taux de ferrocyanure diminue lorsque la fraction molaire en Mn^{II} augmente. Cette évolution traduit que la substitution d'ions trivalents par des ions divalents induit une augmentation du taux de lacunes en ferrocyanure. Ceci peut-être lié aux différences de stœchiométries des réseaux massifs $In^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ [4:3] et $Mn^{II}_2[Fe^{II}(CN)_6]$ [2:1], qui présentent un taux de lacunes en hexacyanoferrate différent.

L'exacte localisation des ions K^+ (dans les interstices tétraédriques du réseau ou en solution comme contre-cation) peut être confirmée par des analyses complémentaires. En procédant à l'enrobage des particules non pas au dextran mais au CTAB, celui-ci substituera les contre-cations K^+. En comparant pour chaque échantillon la proportion de CTA avec la proportion de K^+ dans les échantillons récupérés au dextran, la proportion des K^+ insérés dans le réseau pourrait être calculée par une simple soustraction. Ces analyses sont en cours.

V.2.3.2. Spectroscopie Infrarouge

Les spectres infrarouge en transmission, concernant la vibration asymétrique des cyanures pontants, pour les particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ synthétisées sont représentés sur la *figure V-8*.

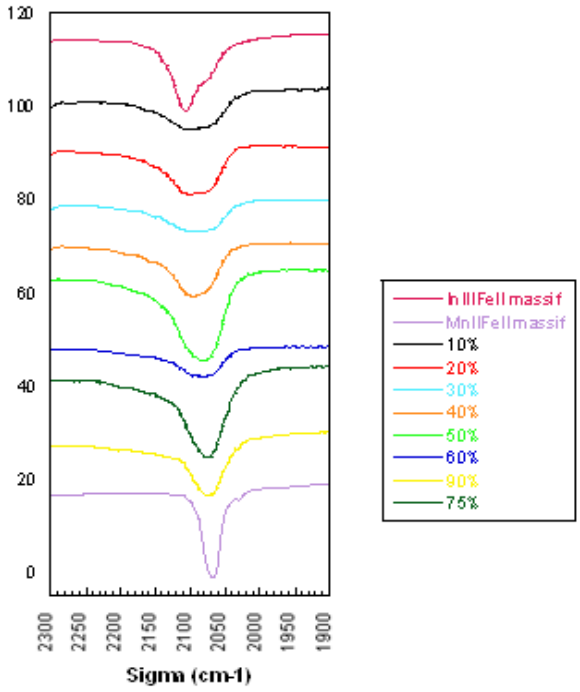


Figure V-8 : Spectres infrarouge dans la zone 1900-2300 cm^{-1} pour les particule de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction de la fraction molaire en Mn^{II}, x

La bande de vibration des cyanures pontants présente une évolution en fonction de la fraction molaire *x* en Mn^{II}. En effet, plus le taux de Mn^{II} augmente plus la bande de vibration des cyanures non pontants se déplace vers les basses fréquences. Elle varie de 2097 cm^{-1} pour un taux de 10 % de Mn^{II} à 2069 cm^{-1} pour un taux de 90%. Cette tendance est en accord avec la vibration des bandes du réseau $In^{III}_4[Fe^{II}(CN)_6]_3$ (2108 cm^{-1}) et du réseau $Mn^{II}_2Fe^{II}(CN)_6$ (2067 cm^{-1}). Pour les taux faibles de Mn^{II}, deux types d'enchaînements, Mn^{II}-NC-Fe^{II} et In^{III}-NC-Fe^{II}, sont observés en raison du plus fort coefficient d'absorption du $Mn^{II}Fe^{II}$ par rapport au réseau $In^{III}Fe^{II}$ (vérifié sur les spectres en absorbance). La présence d'un épaulement dans

la bande de vibration des cyanures pontants du massif $In^{III}Fe^{II}$ est probablement liée aux cyanures non pontants. Cette bande est certainement présente sur les spectres des particules mais est décalée par rapport à celle des ponts Mn^{II}-NC-Fe^{II}.

Cette diminution de la fréquence de vibration des cyanures pontants avec l'augmentation du taux de Mn^{II} prouve l'insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau cristallographique.

V.3. Mesures de relaxivité et discussion

V.3.1. Relaxométrie

Les propriétés de relaxivité ont été étudiées sur des redispersions de particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ entourées de dextran, à l'Université Lyon 1. La *figure V-9* représente l'inverse du temps de relaxation longitudinal T_1 des protons de l'eau en fonction de la concentration en Mn^{II} pour les particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ suivantes : [10], [20], [30], [40] et [60]. Deux autres mesures ont été réalisées afin de s'assurer que les valeurs de relaxivité obtenues n'étaient pas dues à du Mn^{II} libre en solution aqueuse ou à du Mn^{II} libre en solution aqueuse en présence de dextran. Dans l'échantillon Mn^{II} + dextran, la quantité de dextran introduite en solution a été déterminée de sorte que la stœchiométrie Mn/dextran soit identique à celle obtenue par les analyses élémentaires pour la particule $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [10].

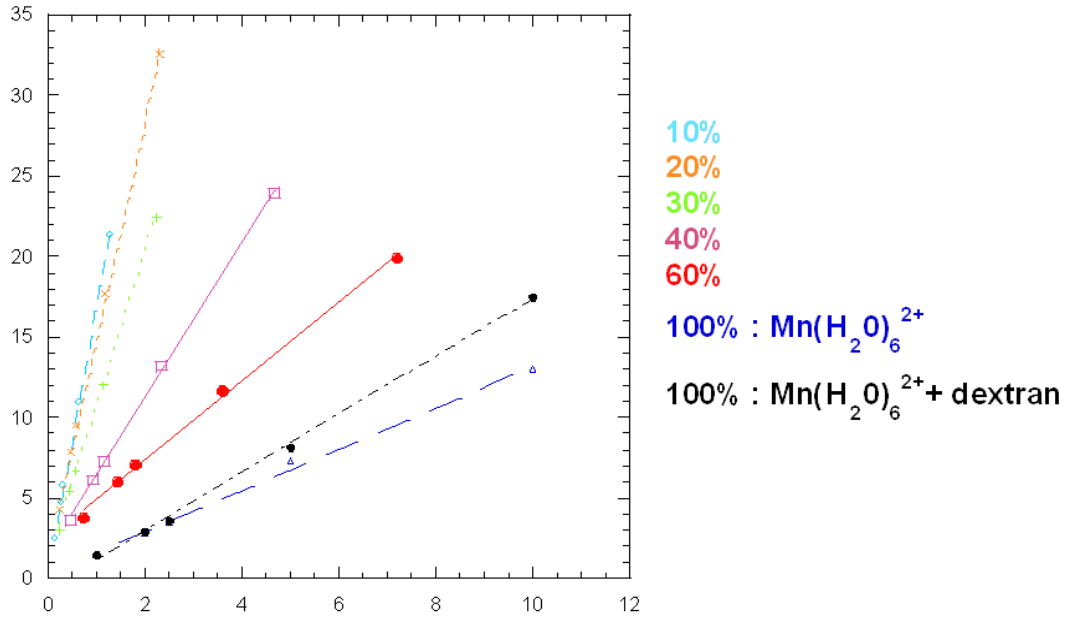


Figure V-9 : Variation de l'inverse du temps de relaxation longitudinal T_1 du proton de l'eau en fonction de la concentration en Mn^{II} pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [10], [20], [30], [40], [60], [100] $Mn(H_20)_6^{2+}$et [100] $Mn(H_20)_6^{2+}$+ dextran

Les valeurs de relaxivité r_1 moyenne par Mn^{II} sont regroupées dans le *tableau V-4*, ci-dessous. A ces valeurs ont été ajoutées les relaxivités moyennes par Mn^{II} des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [50], [75] et [90].

	[10]	**[20]**	**[30]**	**[40]**	**[50]**	**[60]**	**[75]**	**[90]**	**Mn^{II} libre**	**Mn^{II} + dextran**
r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)	16,44	13,56	9,52	4,81	3,41	2,45	1,62	1,18	1,28	1,81

Tableau V-4 : Valeurs de relaxivité longitudinale des nanoparticules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [10], [20], [30], [40], [50], [60], [75], [90], du Mn^{II} libre et du Mn^{II} libre + dextran

Des valeurs de relaxivité bien élevées sont obtenues pour les particules [10], [20] et [30]. Celles-ci ne sont ni dues à la présence de Mn^{II} libre en solution aqueuse ni à une éventuelle interaction entre les ions Mn^{II} et le dextran. En effet, le Mn^{II} et le Mn^{II} + dextran présentent de faibles valeurs de relaxivité r_1. Ces deux expériences écartent tout effet de Mn^{II} libre en solution qui pourrait être présent initialement ou relargué lors de la redispersion.

L'évolution de la relaxivité moyenne par Mn^{II} des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction de la concentration en Mn^{II} au sein de chaque particule, est présentée *figure V-10*.

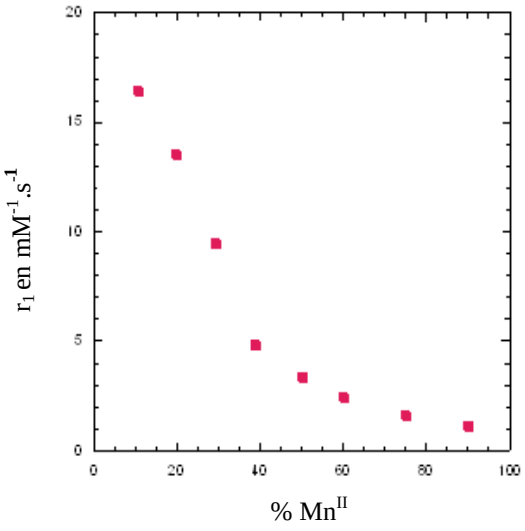


Figure V-10 : Variation de la relaxivité moyenne par Mn^{II} en fonction du taux de Mn^{II} pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [10], [20], [30], [40], [50], [60], [75] et [90]

La relaxivité moyenne par Mn^{II}, des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de Mn^{II}, diminue à mesure que le taux de Mn^{II} augmente. Ceci s'explique par un enfouissement progressif des ions Mn^{II} au cœur de la particule à mesure que le taux de Mn^{II} augmente. Ceci est cohérent avec une activité moindre des Mn^{II} situés au cœur de la particule que ceux situés en surface. Plus le taux de Mn^{II} est élevé, plus grande est la fraction d'ions inactifs et plus la

valeur moyenne de la relaxivité est affaiblie. Afin de mieux comprendre cette évolution, il etait important de considérer la répartition des ions Mn^{II} au sein de la particule : la répartition des ions Mn^{II} est-elle homogène ou inhomogène ? En d'autres termes, les particules présentent-elles plutôt une structure de type alliage, avec une répartition statistique des Mn^{II} dans la particule, ou bien une structure de type cœur-coquille, avec une localisation des Mn^{II} essentiellement en surface de la particule ?

V.3.2. Modèle d'alliage

Dans un premier cas, une répartition statistique des ions Mn^{II} a été considérée. Ainsi, la relaxivité de surface des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ a été calculée, en tenant compte d'une contribution exclusive des ions Mn^{II} de la surface. Pour simplifier les calculs, la contribution des quatre premières couches n'a pas été considérée. Le nombre d'atomes de Mn^{II} en surface (Mn^{II}_s) en fonction de la taille de la particule et de la proportion de Mn^{II} introduite au sein du réseau ainsi que les valeurs de relaxivité obtenues sont présentées dans le *tableau V-5*.

% Mn	r_1 ($mM^{-1}.s^{-1}$)	Taille (nm)	N_{at}^{tot}	N_{at}^{sur}	$N_{at}\,Mn^{II}$	Mn^{II}_s en surface si alliage
10	16,44	5,4	822	352	87	37
20	13,56	5,4	822	352	162	70
30	9,52	5,4	822	352	240	103
40	4,81	5,4	822	352	321	137
50	3,41	6,2	1203	463	602	229
60	2,45	6,65	1426	532	856	308
75	1 ,62	9	3430	974	2573	720
90	1,18	13	9842	2030	8858	1860

Tableau V-5 : Nombre d'atomes de Mn^{II} en surface des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction de la taille de la particule et du pourcentage de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure alliage

Le nombre total d'atomes pour une particule de côté n est : $N_{at\ total}= 4n^3+6n^2+3n+1$. D'autre part, le nombre total d'atomes de surface pour une particule de côté n est : $N_{at\ surface}= 12n^2+2$. (Annexe IV).

Le nombre d'atomes de Mn^{II} est obtenu en multipliant le nombre d'atomes total par le taux de Mn^{II}. D'autre part, le nombre de Mn^{II} situés en surface de la particule est calculé en multipliant le nombre total d'atomes de Mn^{II} par le rapport N_{at} surface/ N_{at} total qui dépend de

la taille de l'objet. Connaissant le nombre d'atomes de Mn^{II} en surface des particules et la relaxivité moyenne par Mn^{II} pour ces particules *(cf. Tab.V-4)*, la relaxivité r_1 par particule ainsi que la relaxivité par Mn^{II} de surface sont alors calculées et les valeurs obtenues sont présentées dans le *tableau V-6*.

% Mn	**10**	**20**	**30**	**40**	**50**	**60**	**75**	**90**
r_1/particule ($mM^{-1}.s^{-1}$)	1430	2197	2285	1544	2053	2097	4168	10452
r_1/Mn^{II}_s si alliage ($mM^{-1}.s^{-1}$)	38,7	31,4	22,2	11,3	9,0	6,8	5,8	5,6

Tableau V-6 : Relaxivité par particule et par Mn^{II} de surface (Mn^{II}_s) en fonction du taux de Mn^{II} dans les hypothèses d'une structure alliage ou cœur-coquille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$

La relaxivité par particule s'obtient en multipliant le nombre total d'atomes de Mn^{II} dans la particule par la relaxivité moyenne par Mn^{II}, obtenue précédemment *(Fig. V-11)*. La relaxivité par atome de Mn^{II} de surface est calculée en divisant la relaxivité par particule par le nombre d'atomes de Mn^{II} situés en surface de la particule (ligne 2 du tableau 6). Nous pouvons ainsi tracer l'évolution de la relaxivité par atome de Mn^{II} de surface (**Mn^{II}_s**) en fonction du taux de Mn^{II}.

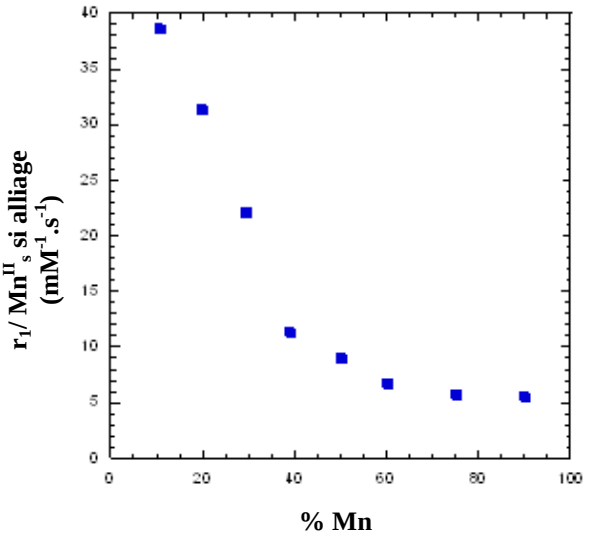


Figure V-11 : Relaxivité par Mn^{II} de surface (Mn^{II}_s) en fonction du taux de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure de type alliage des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$

En ayant considéré une participation exclusive des atomes de Mn^{II} de surface à la relaxivité, la relaxivité moyenne par Mn^{II} de surface devrait donc être constante quel que soit le taux de Mn^{II} dans les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$. La *figure V-11* montre que ceci n'est pas le cas pour une structure de type alliage. En effet, de 90 à 40% en Mn^{II}, la valeur de la relaxivité double.

De plus, à faible taux de Mn^{II} les valeurs de relaxivité sont extrêmement élevées et notamment supérieures aux valeurs reportées dans la littérature. Ceci traduit que le nombre de Mn^{II} localisés en surface est probablement sous-estimé par ce modèle et qu'un enrichissement en Mn^{II} de la surface est à prendre en compte.

V.3.3. Modèle cœur-coquille

Un autre modèle est de considérer une répartition des ions Mn^{II} à la périphérie de la particule : il s'agit du modèle cœur-coquille avec un cœur riche en $In^{III}Fe^{II}$ et une coquille en $Mn^{II}Fe^{II}$. Le nombre d'atomes de Mn^{II} en surface de la particule dans ce modèle, est indiqué dans le *tableau 7* (colonne 4).

% Mn	**N_{at} total de surface**	**N_{at} Mn^{II}**	**$Mn^{II}s$ en surface si cœur-coquille**	**$Mn^{II}s$/ N_{at} total de surface**	**r_1/Mn^{II}_s si cœur-coqille ($mM^{-1}.s^{-1}$)**
10	352	87	87	0,25	16.44
20	352	162	162	0,46	13.56
30	352	240	240	0,68	9.52
40	352	321	321	0,91	4.81
50	463	602	463	1	4.43
60	532	856	532	1	3.94
75	974	2573	974	1	4.28
90	2030	8858	2030	1	5.15

Tableau V-7 : Nombre d'atomes de Mn^{II} en surface (Mn^{II}_s) des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction de la taille de la particule et du $\%Mn^{II}$ dans l'hypothèse d'une structure cœur-coquille.

Comme dans le cas du modèle alliage, la relaxivité par atome de Mn^{II} de surface, dans l'hypothèse d'une structure cœur-coquille, est calculée. Pour cela, il suffit de diviser la relaxivité par particule par le nombre d'atomes de Mn^{II} situés en surface des particules dans le cas du modèle cœur-coquille. Les valeurs de r_1 obtenues par Mn^{II} de surface dans ce modèle sont représentées sur la *figure V-12*.

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

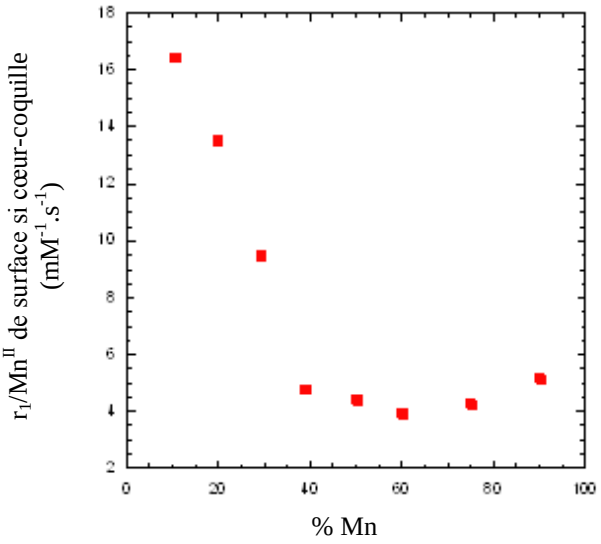


Figure V-12 : Relaxivité par Mn^{II} de surface (Mn^{II}_s) en fonction du taux de Mn^{II} dans l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$

Dans ce cas, la valeur de la relaxivité r_1 par Mn^{II} est quasi-constante pour un taux de Mn^{II} égal et supérieur à 40% (entre 4 et 5 $mM^{-1}.s^{-1}$). Par ailleurs, en dessous de 40%, la relaxivité n'est pas constante et augmente fortement jusqu'à 16,5 $mM^{-1}.s^{-1}$ par Mn^{II} de surface pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [10]. En calculant le rapport du nombre d'atomes de Mn^{II} en surface sur le nombre total d'atomes de surface (cf. colonne 5 du tableau 7), la proportion d'atomes de Mn^{II} situés en surface des particules peut être calculée. En ce qui concerne les particules ayant des fractions entre [50] et [90], la surface est saturée en Mn^{II} alors qu'en dessous de ces fractions la surface de la particule n'est pas saturée en Mn^{II}.

Cette différence de relaxivité par Mn^{II} de surface, selon la gamme de dopage, pourrait être due à l'influence des interactions dipolaires plus fortes pour les taux élevés de Mn^{II}. Ces interactions dipolaires entraînent une accélération du temps de relaxation électronique du spin du Mn^{II} et par conséquent diminuent la relaxivité pour les particules [40], [50], [60], [75] et [90], où la surface est complètement saturée en Mn^{II}.[14] Le nombre du premier et second voisins Mn^{II} seraient donc identique pour ces taux de Mn^{II}, avec 5 voisins Mn^{II} à la distance a et 8 voisins Mn^{II} à la distance $(a\sqrt{2})/2$, favorisant les interactions dipolaires entre les ions Mn^{II}, présents à la surface d'une même particule. En dessous de 40%, la surface n'est pas saturée en Mn^{II} ce qui signifie une diminution du nombre moyen de Mn^{II} voisins et des interactions dipolaires. Ceci peut expliquer l'augmentation de la relaxivité à faible taux de Mn^{II}. Des expériences de RPE sont prévues pour conforter ces hypothèses.

Ces représentations de la relaxivité r_1 par Mn^{II} de surface montrent donc que l'hypothèse d'une structure cœur-coquille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ est plus probable que celle d'une

structure de type alliage. De plus, l'hypothèse d'une structure cœur-coquille est en accord avec les évolutions obtenues par DDL et DRX, qui suggèrent la nucléation de germes $In^{III}Fe^{II}$ et l'incorporation du réseau $Mn^{II}Fe^{II}$ sur ces particules d'$In^{III}Fe^{II}$.

Pour confirmer cette hypothèse, une expérience supplémentaire a été effectuée, et qui consiste à synthétiser des nanoparticules dopées à 90% en Mn^{II} mais sans ajout d'In^{III} ($Mn^{II}_{0,90}[Fe^{II}(CN)6]_y$). La taille des ces objets obtenue par DDL directement après l'ajout brutale à 2°C, de la solution aqueuse de Mn^{II} à la solution aqueuse de ferrocyanure sous vive agitation est présentée *figure 13*.

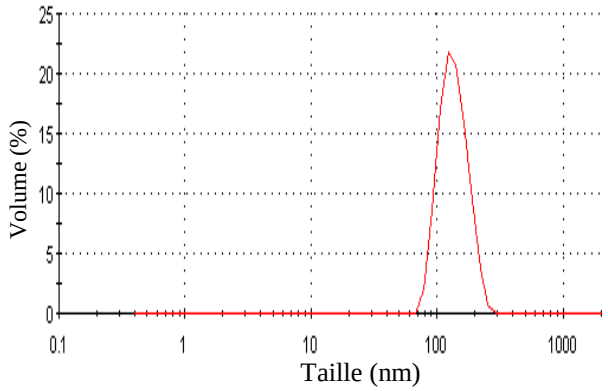


Figure V-13 : Taille des particules $Mn^{II}_{0,90}[Fe^{II}(CN)6]_y$ issues de la distribution en volume obtenue par DDL, en solution aqueuse à 2°C.

A 2°C et directement après l'ajout, les particules de $Mn^{II}_{0,90}[Fe^{II}(CN)6]_y$ présentent une taille en DDL égale à 122 nm, très supérieure à celle des particules $Mn^{II}_{0,90}In^{III}_{0,10}[Fe^{II}(CN)6]_y$, de 16 nm en solution aqueuse. Quelques minutes après l'ajout, les particules $Mn^{II}_{0,90}[Fe^{II}(CN)6]_y$ ont précipité. Cette expérience vient donc appuyer l'hypothèse d'une germination contrôlée par le réseau $In^{III}Fe^{II}$. Les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ présentent donc une structure de type cœur-coquille résultant d'une croissance contrôlée par la nucléation des germes $In^{III}Fe^{II}$ et d'une localisation des ions Mn^{II} en surface de la particule. Il est clair que ce modèle ne prend pas en compte de gradient de concentration qui pourrait également engendrer ce type d'évolution.

V.3.4. Relaxivité optimale

Etant donné qu'elle est à l'origine de l'efficacité d'un agent de contraste, la relaxivité totale par particules a été calculée pour les différents taux de Mn^{II}. Les valeurs obtenues sont données dans le *tableau 6*. Cette estimation est cependant faussée pour les taux élevés de Mn^{II} qui correspondent à de grandes tailles de particules. En effet, l'énorme proportion d'ions Mn^{II}

en surface des particules [50], [60], [75] et [90] compense la faible relaxivité par Mn^{II} que présentent ces objets. Une particule de 16 nm^3 (~90% en Mn^{II}) contient autant d'atomes que 27 particules de 5,3 nm^3(~10% en Mn^{II}), comme illustré *figure 14*.

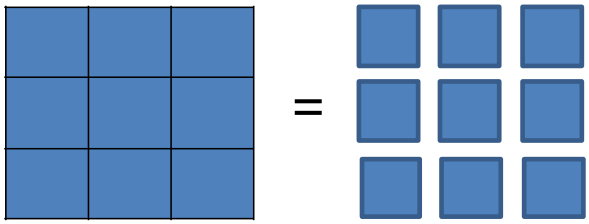


Figure V-14 : Face d'une particule de 16nm^3 (a) contenant autant d'atomes que 9 particules de 5,3nm^3(b)

Or, le contraste issu de l'injection de 27 particules de 5,3nm^3 peut s'avérer bien supérieur à l'injection d'une particule de 16nm^3. Afin de déterminer l'objet présentant la relaxivité optimale, il faut donc considérer un même nombre total d'atomes. Dans cette étude, nous avons considéré 822 atomes au total d'où une taille de particule égale à 5,4 nm indépendamment du taux de Mn^{II}. Les résultats sont présentés dans le *tableau 8*.

% Mn	N_{at}^{tot}	N_{at} Mn^{II}	r_1/particule pour une taille donnée
10	822	87	1430
20	822	162	2197
30	822	240	2285
40	822	321	1544
50	822	411	1402
60	822	493	1208
75	822	617	1000
90	822	740	873

Tableau V- 8 : Relaxivité par particule $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ en fonction du taux de Mn^{II}, en considérant un même nombre total d'atomes (822 atomes)

La relaxivité par particule en fonction de la taille et du taux de Mn^{II} et d'autre part la relaxivité par particule en fonction du taux de Mn^{II} en considérant une même taille de particule (5,4 nm), indépendamment du taux de Mn^{II}, sont représentées dans la *figure 15*.

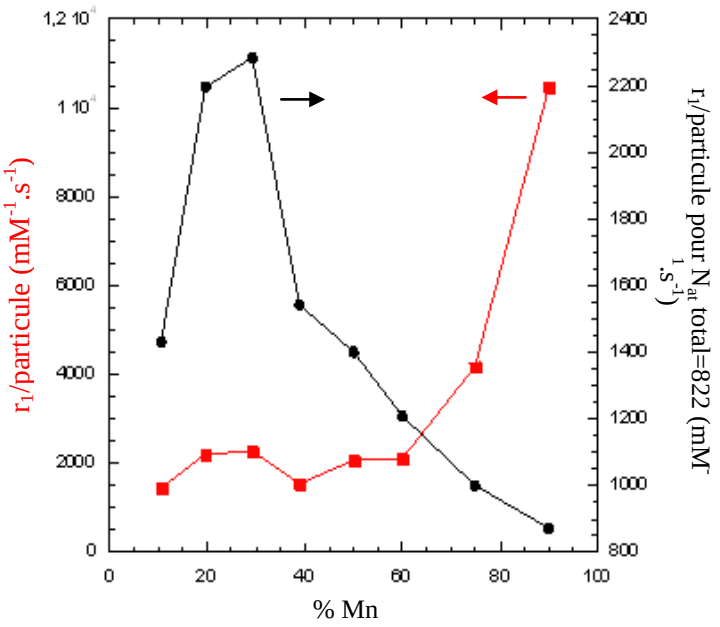


Figure V-15 : Relaxivité par particule en fonction de la taille et du taux de Mn^{II} (rouge) et relaxivité par particule en fonction du taux de Mn^{II} pour une taille fixée à 5,4nm (noire)

D'après les valeurs de relaxivité par particule rapportées à un même nombre d'atomes total, nous constatons que la relaxivité optimale (2285 $mM^{-1}.s^{-1}$) est obtenue pour les particules dopées à 30% en Mn^{II}.

V.4. Internalisation cellulaire des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [30]

Pour aller plus loin dans les applications, les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [30] ayant la relaxivité optimale ont été choisies pour tester leur internalisation dans des cellules vivantes, tout comme les nanoparticules de bleu de Prusse [6].

V.4.1. Synthèse des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [30] enrobées de dextran-TRITC

Pour pouvoir imager et suivre leur internalisation dans des cellules, les particules de $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ dopées à 30% en Mn^{II} ont été enrobées par le dextran fonctionnalisé au TRITC, tout en suivant le même protocole expérimental que lors de l'enrobage des nanoparticules de bleu de Prusse [6]. Les objets résultant de cette synthèse seront appelés par la suite [30]-TRITC. Quelques informations supplémentaires sur cette synthèse sont données dans l'annexe V.

V.4.2. Etude des redispersions

- *DDL :*

La stabilité des redispersions au cours du temps des particules [30]-TRITC a été caractérisée par DDL. Les résultats sont présentés *figure V-16*.

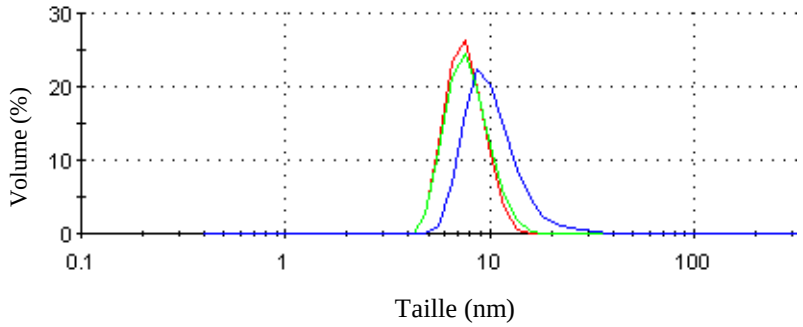


Figure V-16 : Taille des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [30] -TRITC : 30minutes à température ambiante en solution aqueuse (rouge), redispersion dans l'eau à 10mM (vert) et redispersion à 0,5mM dans l'eau,10 jours après la synthèse (bleu).

Après mélange des solutions (à 30 minutes), les particules [30]-TRITC présentent une taille de 7 nm ce qui est accord avec la taille obtenue par DDL pour les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}Fe^{II}_y$ [30] enrobées de dextran. Ces particules sont bien redispersables à 10 mM en solution aqueuse, en effet aucune évolution de taille n'est observée jusqu'à 24h. Après 10 jours, la redispersion à 0,5 mM des particules [30]-TRITC nous prouve la stabilité de ces objets. En effet, la taille se situe aux alentours de 8nm.

- *Spectroscopie de fluorescence*

Pour évaluer l'émission de fluorescence, la solution colloïdale des particules [30]-TRITC a été diluée de sorte à avoir une absorbance proche du dextran-TRITC à 1mM. Ceci nous permettra par la suite de comparer l'émission du dextran-TRITC seul et du dextran-TRITC enrobant la particule pour une même quantité de photons absorbés. Tout comme dans le cas de bleu de Prusse, le dextran-TRITC a été sondé à 1 mM car son absorbance à 543 nm se situe aux alentours de 0,1 évitant ensuite la saturation du signal de fluorescence. Les caractéristiques spectrales des particules [30]-TRITC et du dextran-TRITC à 1mM sont présentées *figure V-17.*

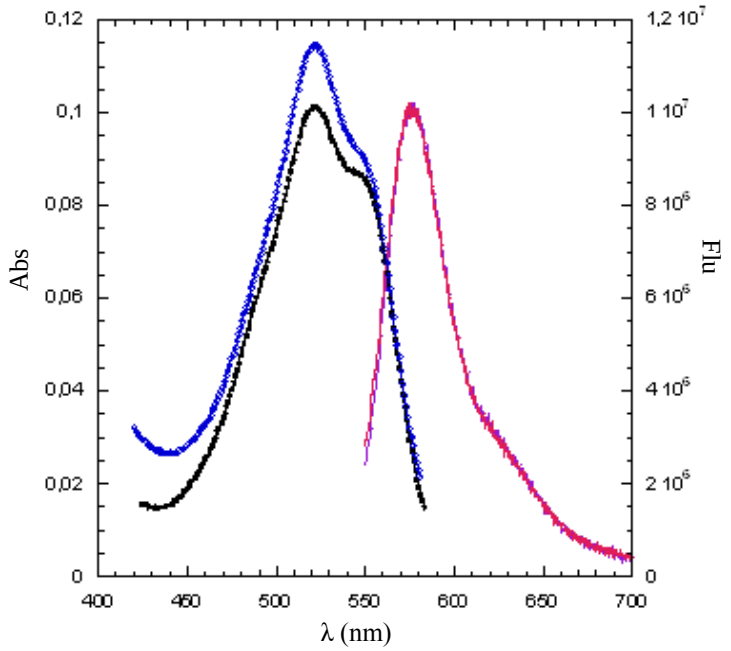


Figure V-17 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence : Absorbance(noir) et fluorescence(violet) du dextran-TRITC seul à 1mM et absorbance(bleu) et fluorescence(rose) des particules [30] -TRITC

Les spectres de fluorescence des particules [30]-TRITC ainsi que du dextran-TRITC à 1mM se superposent exactement alors que l'absorbance de la particule est légèrement supérieure à celle du dextran-TRITC seul. Ceci montre donc l'existence d'une faible inhibition de la fluorescence du TRITC en présence de la particule en comparaison avec le TRITC seul.

L'ensemble de ces resultats montrent que les particules [30]-TRITC sont redispersables, stables et présentent une émission de fluorescence préservée.

V.4.3. Suivi de l'internalisation cellulaire des particules par imagerie confocale de fluorescence

L'internalisation des particules [30]-TRITC dans des cellules carcinomes murins mammaires a été suivie par microscopie confocale de fluorescence. Cette partie d'internalisation cellulaire a été réalisée au Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (LPCML) de l'Université Lyon1.

Les particules ont été injectées dans le milieu extracellulaire tout en suivant le même protocole utilisé dans le cas des particules de bleu de Prusse [6] (chap. IV) et les cellules ont ensuite été observées à différents temps par microscopie confocale à fluorescence *(Fig. V-18).*

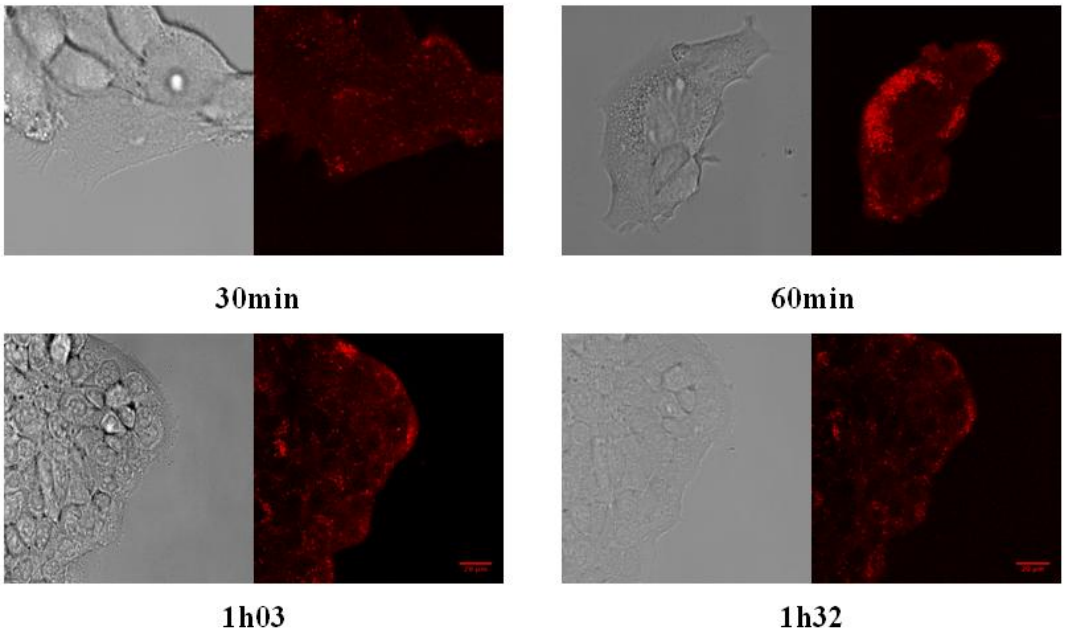


Figure V-18 : Images en transmission (à gauche) et en émission de fluorescence (à droite) des particules [30]-TRITC au cours du temps.

Ces observations mettent en évidence que les particules sont internalisées rapidement puisque 30 minutes après l'injection, un nombre non négligeable de particules est présent dans les cellules. D'autre part, les particules sont internalisées dans des vésicules, visibles sur les images de fluorescence, ce qui suggère un mécanisme d'internalisation des particules par endocytose ou macropinocytose, tout sans pénétrer dans le noyau.

V.4.5. Etude de toxicité

Les études de toxicité des particules internalisées ont été menées au LPCML par Lucie SANCEY. Les résultats obtenus sont détaillés dans l'annexe V.

Par ailleurs, une ultrafiltration a été effectuée sur une redispersion de ces objets à Mons. L'analyse du filtrat (relaxométrie, test d'identification) ont demontré l'absence de Mn^{2+} libre et atteste de la stabilité des particules.

V.5. Conclusion et perspectives

Ce chapitre s'est inscrit dans la synthése des nanoparticules de réseau de coordination à base de Mn(II), comme agent de contraste de type T_1 pour l'imagerie médicale.

L'étude s'est focalisée sur la synthèse des nanoparticules d'analogue du bleu de Prusse $K_zMn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ avec différentes fractions molaires en ions Mn^{II}. A ce jour, peu d'exemples de nanoparticules à base de cet ion sont décrits dans la littérature, et le choix de ce

réseau s'est basé sur de nombreux avantages qu'il présente (grande proportion de sites de surface, bonne stabilité, microporosité), allant en faveur d'une meilleure relaxivité des objets.

La synthèse a été effectuée en faisant varier le taux de Mn^{II} de 7 à 90% afin d'évaluer l'influence du taux de Mn^{II} sur la relaxivité de ces nano-objets. Ces nouveaux nano-objets, enrobés au dextran, ont été caractérisés du point de vue de leur taille, leur cristallinité ainsi que d'un point de vue chimique. Les résultats, obtenus par DDL que par DRX, ont montré que la taille des ces objets est dépendante du taux de Mn^{II} inséré ; alors qu'elle n'évolue pas pour un taux de Mn^{II} compris entre 7 et 40%, elle augmente progressivement pour un dopage compris entre 40 et 90%. Ces résultats suggèrent que la croissance des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ est contrôlée par la nucléation de germes riches en In^{III} et que les ions Mn^{II} sont localisés en surface des particules ce qui est caractéristique d'une structure de type cœur-coquille. D'autre part, l'évolution observée en DRX ainsi qu'en spectroscopie IR, confirme la bonne insertion des ions Mn^{II} au sein du réseau. En effet, une diminution du paramètre de maille et de la fréquence de vibration des cyanures pontants avec l'augmentation du taux de Mn^{II} a été observée.
Les valeurs de relaxivité par Mn^{II} de surface ont permis de déduire une structure de type cœur-coquille de ces objets avec une localisation des ions Mn^{II} en surface des particules. Ainsi, les valeurs de la relaxivité par particule rapportée à un même nombre total d'atomes, ont montré que les particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ dopées à 30% présentent une relaxivité optimale par particule égale à 2285 $mM^{-1}.s^{-1}$. Ces valeurs sont élevées et pourront être encore augmentées à champ plus haut. Ces mesures seront faites dans l'équipe de R. Muller à l'université de Mons en Belgique.

Pour sonder le comportement in vitro, les particules les plus efficaces ont été enrobées par un polymère fluorescent. L'internalisation de ces particules a été suivie par microscopie confocale de fluorescence, qui montrait leur rapide pénétration dans le cytoplasme des cellules par endocytose. De plus, la toxicité des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ dopées à 30% en Mn^{II} a été étudiée.

De ce travail découlent de nombreuses études. Il serait intéressant d'observer les particules par microscopie en champ sombre. Ceci permettrait d'augmenter le contraste et ainsi de mieux estimer la taille des particules en fonction du taux de Mn^{II}, dans le but de confirmer la tendance de taille obtenue par DDL et DRX. D'autre part, les particules synthétisées seront sondées par spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS), au LPS d'Orsay, afin de

connaître l'exacte localisation des ions au sein de la particule et de confirmer l'hypothèse d'une structure de type cœur-coquille. Par ailleurs, cette hypothèse sera corroborée par la synthèse de nanoparticules cœur-coquille, par voie séquentielle développée au laboratoire.

Concernant les applications biologiques, il faudrait internaliser et étudier la toxicité des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$ dopées à 30% en Mn^{II}, dans d'autres types de cellules.

Enfin, la suite de ce travail consisterait à synthétiser un agent diagnostic, obtenu par fonctionnalisation de la surface des particules $Mn^{II}_xIn^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y$, par des folates par exemple, dans le but d'adresser ces nouveaux nano-objets à un organe ou à un type de cellule bien précis. Une autre perspective importante pour ces particules est de les utiliser comme systèmes multimodaux que l'on pourrait imager par IRM, fluorescence ou encore par scintigraphie en utilisant les ions $^{111}In^{III}$ comme traceurs. [16]

Références Bibliographiques:

(1) Clarkson, R. B. **2002**, *221*, 201.

(2) Kim, J. S.; Rieter, W. J.; Taylor, K. M. L.; An, H.; Lin, W.; Lin, W. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 8962-8963.

(3) Platas-Iglesias, C.; Vander Elst, L.; Zhou, W.; Muller, R. N.; Geraldes, C. F. G. C.; Maschmeyer, T.; Peters, J. A. *Chemistry-A European Journal* **2002**, *8*, 5121-5131.

(4) Bridot, J. L.; Faure, A. C.; Laurent, S.; Rivière, C.; Billotey, C.; Hiba, B.; Janier, M.; Josserand, V.; Coll, J. L.; Vander Elst, L. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 5076-5084.

(5) Chelebaeva, E.; Larionova, J.; Guari, Y.; Ferreira, R. A. S.; Carlos, L. D.; Trifonov, A. A.; Kalaivani, T.; Lascialfari, A.; Guérin, C.; Molvinger, K. *Nanoscale* **2011**, *3*, 1200-1210.

(6) Wan, J.; Chen, K. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 13500-13505.

(7) Xu, W.; Kattel, K.; Park, J. Y.; Yongmin, C.; Kim, T. j.; Lee, G. H. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 12687-12700.

(8) Shokouhimehr M.; Soehnlen E.; Hao J.; Griswold Mark; Flask Chris ; Fan Xudong; Basilion P. James ; Soumitra, B.; Songping, a. H. D. *journal of materials chemistry* **2010**, *20*, 5251-5259.

(9) Bertini, I.; Luchinat, C.; Aime, S. *Coordination Chemistry Reviews* **1996**, *150*, 77-108.

(10) Shin, J.; Anisur, R. M.; Ko, M. K.; Im, G. H.; Lee, J. H.; Lee, I. S. *Angewandte Chemie International Edition* **2009**, *48*, 321-324.

(11) Kim, T.; Momin, E.; Choi, J.; Yuan, K.; Zaidi, H.; Kim, J.; Park, M.; Lee, N.; McMahon, M. T.; Quinones-Hinojosa, A. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133*, 2955.

(12) Létourneau, M.; Tremblay, M.; Faucher, L.; Rojas, D.; Chevallier, P.; Gossuin, Y.; Lagueux, J.; Fortin, M. A. *The Journaol of Physcal Chemistry B* **2012**, *116*, 13228-13238.

(13) Wang, S.; Jarrett, B. R.; Kauzlarich, S. M.; Louie, A. Y. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 3848-3856.

(14) Toth, E.; Helm, L.; Merbach, A. E.; Hedinger, R.; Hegetschweiler, K.; Janossy, A. *Inorganic chemistry* **1998**, *37*, 4104-4113.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le travail présenté dans cette thèse s'est inscrit dans le cadre de l'élaboration de nanoparticules multicouches de réseaux de coordination présentant différentes propriétés magnétiques adaptées aux applications biomédicales et au stockage de l'information. Les analogues de bleu de Prusse de formule générale $A_xM[M'(CN)_6]_y.nH_2O$ ont été choisis comme constituants de ces nano-objets en raison des nombreuses propriétés qu'ils présentent par simple variation des ions métalliques qui les composent.

L'élégante voie de synthèse mise au point au laboratoire a permis de stabiliser, dans l'eau et en absence de tout agent stabilisant, des nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse $CsCoFe(CN)_6$ de très petite taille et de contrôler parfaitement leur croissance jusqu'une taille désirée tout en conservant leur réponse photomagnétique. Des monocouches auto-assemblées sur HOPG ont été obtenues.

D'autre part, tout en appliquant le même procédé de contrôle de taille, des nanoparticules cœur-coquilles hétérostructurées de moins de 50 nm ont été synthétisées par l'assemblage d'un réseau ferromagnétique de $CsNiCr(CN)_6$ à un réseau photomagnétique $ACoFe(CN)_6$. Un contrôle fin de la taille, de la composition et de la valence des ions cobalt et fer a été démontré. En dépit de la forte différence de paramètre de maille, des nanocristaux ont été obtenus y compris en présence de Cs^+. Une augmentation persistante jusqu'à la température de mise en ordre de l'aimantation photo-induite ainsi qu'un renversement uniforme de l'aimantation ont été mis en évidence, notamment dans les tricouches, résultant de la synergie des deux propriétés. En outre, un effet de l'alcalin sur la morphologie et la composition chimique de ces objets a été aussi discuté.

Enfin, les nanoparticules de bleu de Prusse ont présenté des valeurs de relaxivité très encourageantes pour du Fe^{III}, comparables à celles obtenues pour des nanoparticules de MnO. Bien que la porosité de ces réseaux n'ait pas été assez suffisante pour faciliter l'échange des molécules d'eau au cœur de l'objet, une participation efficace de premières couches moléculaires de la surface a été revelée. Par ailleurs, une relaxivité significativement plus intéressante a été observée pour les nanoparticules trimétalliques $KMn_xIn_{1-x}Fe(CN)_6$ et démontrée fortement dépendante de la localisation des ions Mn^{II} au sein de l'objet . Ces résultats étant prometteurs, ils ouvrent la voie à l'utilisation de composés de coordination en

tant qu'une nouvelle génération d'agents de contraste T_1 pour imagerie à résonance magnétique.

En perspective, la synthèse bien maitrisée de nanoparticules cœur-coquilles couplée à la diversité de propriétés magnétiques, optiques, photomagnétiques ou électrochimiques des analogues de bleu de Prusse ouvre la voie à la conception des nano-objets hybrides dans le domaine de l'électronique moléculaire ou la nanomédecine.

De point de vue magnétique, deux stratégies sont toutefois envisageables : l'étude de l'influence de la variation de la taille dans les nanoparticules cœur-coquille formées d'un même réseau ou de la synergie des propriétés dans des combinaisons de réseaux de natures différentes. La première permettra de déterminer "l'empreinte magnétique" (taille critique monodomaine et constante d'anisotropie) des réseaux d'analogue de bleu de Prusse tel que $CsCoCr(CN)_6$, $CsCoFe(CN)_6$ ou $CsNiFe(CN)_6$ etc.. D'autre part des hétérostructures à "*exchange spring*" ou "*exchange biais*", obtenues respectivement par l'assemblage des deux réseaux ferromagnétiques doux et dur ou d'un réseau ferromagnétique et d'un autre antiferro- ou ferrimagnétique, peuvent être conçus en suivant la deuxième stratégie. De tels effets peuvent être obtenus sous irradiation si l'un de ces composants est photomagnétique, comme montré au cours de cette thèse. Les effets d'augmentation persistante jusqu'à la température d'ordre du matériau pourront être sondés aves des analogues de bleu de Prusse de plus hautes *Tc* tels que $CsCoFe@V^{II}Cr^{III}$ (Tc=320 K) ou $CsCoFe@Cr^{II}Cr^{III}$ (Tc=240 K). La mise en forme sur un support ou l'adressage de tels objets est indispensable au développement de dispositifs destinés aux applications de stockage de l'information. Les résultats obtenus sur les particules CsCoFe sur HOPG ouvrent la voie en particulier à des dispositifs modèles à base de graphène ou la modulation d'un courant de spin pourrait être obtenue par irradiation lumineuse.

Concernant les applications biomédicales, concevoir de nouveaux objets multimodaux pour imagerie médicale à base de nanoparticules bimétalliques à ponts cyanure pourrait être intéressant, tout en joignant à l'échelle nanométrique un réseau de relaxivité importante à base de Gd^{III} ou Mn^{II} à un autre luminescent à base de Tb^{III} ou Eu^{III} (imagerie optique et IRM). Par ailleurs, de tels objets peuvent être ciblés vers certains organes ou cellules spécifiques par fonctionnalisation de leurs surfaces. Pour des applications plus avancées de vectorisation de médicaments, l'incorporation de principes actifs en surface de ces particules est envisagée.

Outre leur efficacité en relaxivité, les ^{157}Gd sont connus par leur grande capacité à capturer les neutrons et peuvent être de bonnes alternatives pour la thérapie à capture de neutrons (neutron-capture therapy). Le développement des nanoparticules de type $KGd^{III}Fe(CN)_6$ serait donc prometteur en combinant une double modalité de diagnostique et de traitement contre les tumeurs. Dans la même idée, à la suite de nos études sur les particules MnInFe, il est envisagé de préparer des équivalents contenant un cœur à base d'^{111}In utilisé en scintigraphie.

Annexes

Annexe 1

Techniques expérimentales utilisées

I. Caractérisation de la taille

- ***Diffusion Dynamique de la Lumière***

La DDL est une technique expérimentale permettant de mesurer le diamètre hydrodynamique (=diamètre de la particule + couche d'ions diffus + couche de solvatation) d'un objet en solution. La mesure du diamètre hydrodynamique est à l'origine de l'obtention d'une taille supérieure à la taille réelle des objets. Cette technique est rapide et simple d'utilisation ce qui permet de suivre l'évolution de taille de particules au cours d'une synthèse ou d'obtenir à la fin de chaque manipulation, la première confirmation expérimentale de la réussite de la synthèse, directement en solution aqueuse. Au laboratoire, l'appareil utilisé pour les mesures de taille des particules par DDL est un zetasizer fourni par l'entreprise Malvern. Cette technique nous informe sur la taille des particules mais également sur leur état de dispersion.

- ***Diffraction des Rayons X sur poudre : détermination du paramètre de maille et de la taille des domaines diffractants***

Cette technique expérimentale permet de déterminer le paramètre de maille ainsi que la structure cristallographique (ici cubique à faces centrées) des nanoparticules. Les mesures de diffraction des rayons X ont été effectuées en utilisant un diffractomètre Panalytical PW3040/60 X'Pert Pro (θ - 2θ). Cet appareil utilise un rayonnement monochromatique, Kα1 du cuivre tel que λ = 1.54059 Å. Expérimentalement, un diffractogramme est obtenu : il s'agit de la représentation graphique de l'intensité des pics de diffraction en fonction de 2θ. L'étape suivante consiste à indexer les pics c'est-à-dire associer à chaque pic la famille de plans atomiques hkl responsables de la diffraction observée. De plus, connaissant la position 2θ des pics de diffraction ainsi que la longueur d'onde incidente, il est facile de déterminer la distance interréticulaire des plans atomiques de l'échantillon analysé par l'application de la loi de Bragg, donnée ci-dessous :

$$\mathbf{2d\sin\theta = n\lambda}$$

avec : θ = angle entre le rayonnement incident et le plan atomique responsable de la diffraction

λ = longueur d'onde incidente

d = distance interréticulaire

n = un entier

Enfin connaissant la distance interréticulaire d et les plans atomiques hkl, le paramètre de maille a du composé synthétisé peut être déterminé, par application de la formule suivante, valable uniquement pour les composés à structure cubique :

$$a = d.\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$$

avec : a= paramètre de maille exprimé en Å

d= distance interréticulaire exprimée en Å

h,k,l= indices de Miller des plans atomiques

La largeur des pics à mi-hauteur, $\beta_{1/2}$, d'un diagramme de poudre est liée à la taille des domaines diffractant, D, du composé étudié tel que :

$$D = \frac{k\lambda}{\beta_{\frac{1}{2}} cos\theta}$$

k est une constante liée à la forme du domaine. Une valeur de k=0,9, utilisée traditionnellement pour des domaines sphériques ou isotropes, a été considérée pour tous les diagrammes de poudre présentés par la suite. Cette équation appelée formule de Scherrer permet de déterminer la taille des nanoparticules et elle est valide pour des domaines diffractant entre 20 Å < D < 3000 Å.

Ces hypothèses sont tout à fait correctes dans le cas d'une structure cœur-coquille et d'une structure de type alliage.

- ***Microscopie électronique en transmission***

Cette technique permet de visualiser les nanoparticules d'analogue de bleu de Prusse synthétisées, au moyen d'un faisceau d'électrons accéléré sous une tension de 120 kV. En

effet, les métaux sont concentrés en électrons c'est pourquoi ils dévieront le faisceau d'électrons incident conduisant à un contraste noir. Plus le numéro atomique Z du métal est élevé plus le contraste et donc l'image obtenue seront meilleurs. Les observations des particules de nanoparticules par MET ont été menées au sein de la plateforme *Imagif* située à l'Institut des Sciences Végétales du CNRS de Gif-sur-Yvette.



Figure 1 : Photographie *du dispositif expérimental de microscopie électronique en transmission au sein de la plateforme Imagif : microscope électronique en transmission de 120 kV JEOL 1400*

Pour rendre cette observation possible, quelques gouttes de la solution colloidale de particules de nanoparticules sont déposées sur une grille avant l'enrobage au dextran puis sur une seconde grille après l'enrobage au dextran. L'enrobage au dextran des nanoparticules permet de mieux les visualiser au MET car elles sont plus séparées les unes des autres.

II. Caractérisations chimiques des nanoparticules

- ***Analyses élémentaires (AE)***

Les analyses élémentaires permettent de connaître les proportions de carbone, d'hydrogène et d'azote présentes dans les nanoparticules synthétisées. Cette analyse permet de remonter à la quantité de molécules de polymère ou surfactant organiques présentes autour des particules. Les analyses élémentaires sont effectuées à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles situé au sein du CNRS de Gif-sur-Yvette.

- ***Energy Dispersive Spectroscopie (EDX)***

Cette technique de spectroscopie faite au sein d'un microscope électronique à balayage permet de déterminer les proportions de métaux au sein des nanoparticules. Un rayonnement X (faisceau d'électrons) est envoyé à l'échantillon, conduisant à l'éjection d'un électron et donc à la création d'une lacune électronique. Un électron d'une couche énergétique supérieure viendra combler cette lacune et son excédant d'énergie sera libérée sous forme d'un photon. L'énergie du photon détecté permettra de caractériser l'élément chimique sondé.

- ***Spectroscopie infrarouge (IR)***

Les nanoparticules à l'état de poudre sont caractérisées par spectroscopie IR. L'échantillon (1mg) est dilué dans une matrice de KBr (transparent aux rayonnements ; 99 mg) sous forme d'une pastille qui sera analysée en IR. Les spectres IR sont enregistrés de 200 à 4000 cm^{-1}, et permettent dans notre cas de visualiser la vibration du cyanure pontant située entre de 2100 - 2200 cm^{-1}.

- ***Mesures de relaxivité***

Les mesures de relaxivité ont été effectuées au Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (LPCML) de l'Université de Lyon1. L'appareil permettant la mesure du temps de relaxation T_1 des spins nucléaires des protons de l'eau est un relaxomètre. Cet appareil génère un champ magnétique de 1,6T. Les nanoparticules à l'état de poudre sont redispersées à 10 mM dans 500µL d'eau. Cette solution est ensuite diluée à différentes concentrations (5, 2.5, 2 et 1mM) et 300µL de chacune de ces dilutions est versée dans un tube adapté au relaxomètre et placée dans un bain thermostaté à 37°C. Pour chacune des dilutions, une mesure du temps T_1 est effectuée. Une courbe de variation des $1/T_1$ en fonction de la concentration en ions paramagnétiques $[M^{n+}]$ au sein de la particule est tracé et les points obtenus expérimentalement sont ensuite ajustés par régression linéaire et la pente de la droite est égale à la relaxivité du système.

Annexe II

Calcul des quantités de précurseur à ajouter

Les analogues de bleu de Prusse présentent une structure cubique à faces centrées dont le paramètre de maille varie peu ; la densité de la structure peut alors être considérée constante, d'où :

$$\frac{N_c}{V_c} = \frac{N_{cs}}{V_{cs}}$$

Où N_c et N_{cs} correspondent au nombre d'atome présent dans le cœur et le cœur-coquille respectivement, et V_c et V_{cs} le volume du cœur et du cœur-coquille. Puisque le nombre d'atome dans le cœur-coquille est égal à la somme du nombre d'atome contenu dans le cœur, N_c, et dans la coquille, N_{cs}, cette expression peut s'écrire :

$$\frac{N_c}{V_c} = \frac{N_c + N_s}{V_{cs}}$$

Cela conduit :

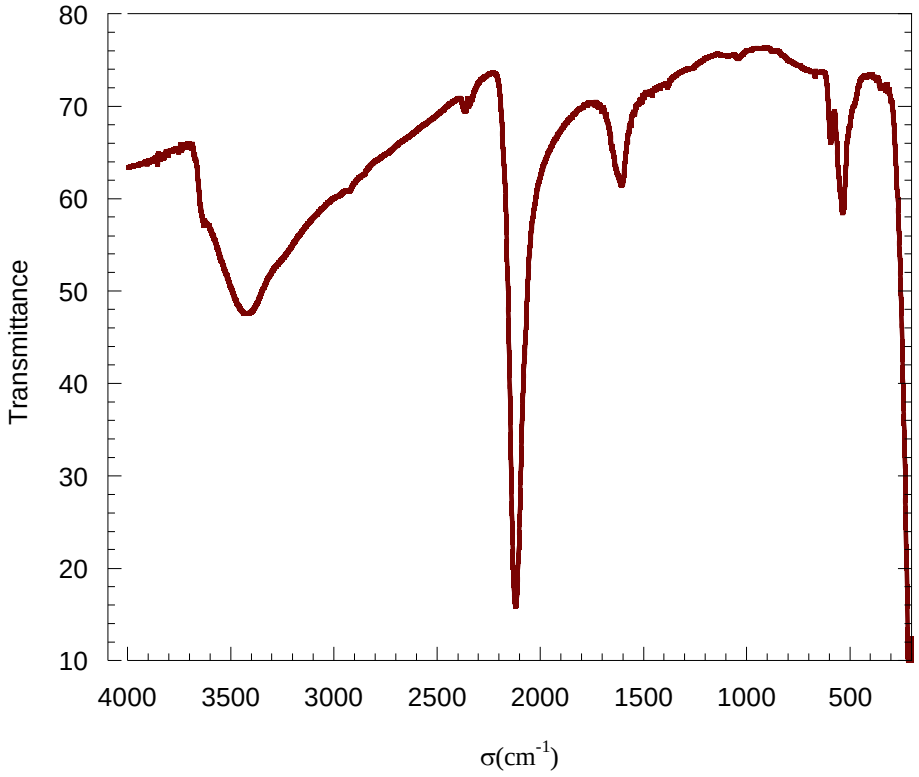
$$\frac{N_s}{N_c} = \frac{V_{cs}}{V_c} - 1$$

Cette équation peut être écrite de façon à faire apparaitre la taille d'un cœur cubique de côté a_c, et la taille d'un cœur-coquille cubique de côté a_{cs} ; d'autre part, le rapport du nombre d'atome est égal au rapport des quantités de matière, n_s/n_c, si tous les ions ajoutés s'insèrent dans les particules, d'où :

$$\frac{n_s}{n_c} = \left(\frac{a_{cs}}{a_c}\right)^3 - 1$$

Ainsi, connaissant la quantité n_c de précurseurs contenue dans la solution colloidale de particules, la taille de ces objets, a_c, et la taille de cœur- coquille, a_{cs}, il est possible de calculer la quantité de précurseur à ajouter, n_s.

- spectre infrarouge des nanoparticules $CsCoFe(CN)_6$ de 25 nm



Annexe III

Echange d'alcalin :

Une possibilité d'induire un changement réversible du Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) vers Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) consiste à échanger l'alcalin comme indique Sato et al.. L'immersion d'un film mince de $Na_{0,4}Co_{1,4}Fe(CN)_6$ dans une solution concentrée de K^+ (1 mol.L^{-1}), pendant 5s et à 313K, est suffisante pour accomplir le transfert d'électron. L'échange cationique des Na^+ par des K^+ fait basculer l'état électronique et de spin de l'analogue CoFe par échange d'alcalin comme indique Sato et al. Les auteurs expliquent que la présence d'alcalin induit un changement réversible du Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS) vers Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS). [26]
Cherchant à avoir le même effet, nous avons essayé de forcer l'insertion d'alcalin dans l'objet CsNiCr@CoFe[32]. La poudre des particules récupérées au CTA a été redispersée dans le MeOH puis immergée pendant 2 heures dans des solutions aqueuses de NaCl, KCl et CsCl à 1 mM. Quelle que soit la nature de l'alcalin, aucun changement n'a été détecté.

Effet du solvant :

La nature du solvant influence significativement l'état électronique de l'analogue CsCoFe. Alors que dans l'eau et l'acétone est accompli le transfert de l'électron induit par le césium, une faible proportion de méthanol (16%) est démontrée suffisante pour le bloquer.
La synthèse des nanoparticules CsNiCr@CsCoFe de 32 nm a été testée dans un mélange eau-MeOH [5 :1] (formées essentiellement de Co^{II}-NC-Fe^{III}) suivie d'un traitement thermique pour évaporer le méthanol et déclencher un transfert thermique de l'électron du Co^{II} vers le Fe^{III}.

La même voie de synthèse que les cœur-coquilles CsNiCr@CsCoFe a été suivie sauf que, cette fois-ci, les sels des précurseurs à la croissance de la coquille photomagnétique (CsCl, $CoCl_2$ et $K_3Fe(CN)_6$) sont dissouts dans un mélange eau-MeOH (avec V_{eau} / V_{MeOH} = 5). Les particules obtenues sont cubiques bien facettées avec un excellent contrôle de taille.

Le changement d'état de valence est repéré par spectroscopie infrarouge sur la poudre des particules récupérée au CTA^+ *(Figure III)*. Avant chauffage, les trois bandes à 2160 cm^{-1}, 2114 cm^{-1} et 2090 cm^{-1} mettent en évidence les contributions Co^{II}(HS)-NC-Fe^{III}(BS), Co^{III}(BS)-NC-Fe^{II}(BS) et Co^{II}-NC-Fe^{II} respectivement.

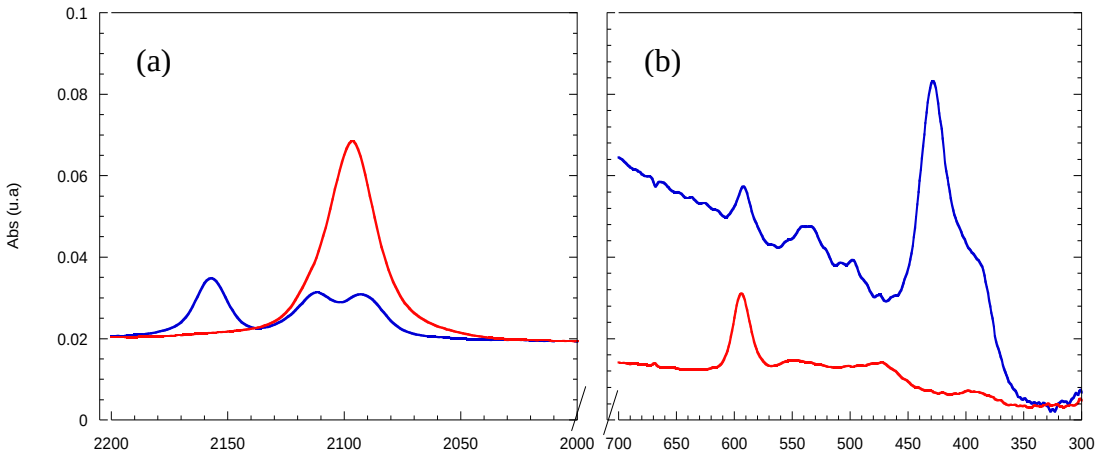


Figure III-1 : Spectre infrarouge des nanoparticules cœur-coquille CsNiCr@CsCoFe 32 nm préparées dans un mélange eau-MeOH avant (bleu) et après chauffage (rouge) dans la zone des hautes fréquences (a) et basses fréquences (b)

Le chauffage provoque la disparition de la bande de vibration de ferricyanure à 2160 cm^{-1} à la faveur d'une large bande à 2098 cm^{-1} (bande de vibration de ferrocyanure).
Encore vérifiée dans la zone des basses fréquences, la vibration de la liaison Fe^{III}-C à 430 cm^{-1} disparait totalement alors que celle du Fe^{II}-C devient plus intense. Pourtant, cette réduction ne peut pas être expliquée par le transfert de charge entre les deux centres métalliques Co et Fe vu que la bande de la vibration de la liaison Co^{III}-NC-Fe^{II} à 530 cm^{-1} se rétrécit au lieu de pousser. Le méthanol, à haute température, induit alors la réduction du Fe^{III} en Fe^{II} au lieu de déclencher le transfert d'électron.

Ni l'évaporation par chauffage à 40˚C, ni la pression sous vide à basse température (2˚C) n'ont permis de limiter l'effet réducteur du méthanol. Ceci suggère que la synthèse dans le méthanol aboutit au final à une coquille $Co^{II}(t_{2g}^{3}e_g^{2})$-NC-$Fe^{II}(t_{2g}^{6}e_g^{0})$ inactif magnétiquement.

Annexe IV

Calcul du nombre d'atomes total et de surface contenu dans une particule cubique de côté n

Soit une particule d'analogue du bleu de Prusse $CA^{II}B^{III}(CN)_6$ de forme cubique et de côté *n*, *n* étant normalisé par le paramètre de maille du réseau cubique à faces centrées, proche d'1 nm.

- ***Nombre d'ions contenus dans une particule cubique de côté n***

Le décompte du nombre d'atome A^{II} contenu dans une particule peut s'effectuer en considérant un assemblage de maille, auquel sont ajoutées les fractions d'atomes présents à la surface des particules qui ne sont pas comptabilisés dans les mailles.

La maille d'un réseau cubique à faces centrées est constituée de 4 atomes au total. Un objet de côté *n* est constitué de n^3 mailles, soit un nombre d'atomes de $4n^3$.

Le nombre d'atomes à la surface de la particule peut être exprimé en fonction de *n* en décomposant les sites de surface selon 4 catégories *(Fig. IV-1)*.

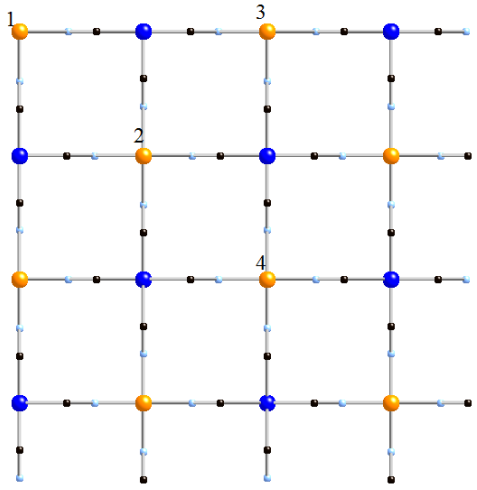


Figure VI-1 : Représentation d'une partie de la surface d'une particule de taille n (distance entre 2 sphères de même couleur) d'analogue du bleu de Prusse $CA^{II}B^{III}(CN)_6$ avec B^{III} (sphères bleues) et A^{II} (sphères oranges)

Les ions numérotés *(1)* sont aux sommets de la particule, et correspondent à 7/8 de l'atome, l'autre partie étant déjà comptabilisée dans la maille. Au total, ils sont au nombre de :

$$\frac{7}{8} \times 8 = 7$$

Les ions labélisés *(2)* sont au centre des faces de la maille. Il y a n^2 faces de maille par face de particule et les ions sont comptés pour moitié, leur nombre est donc :

$$\frac{1}{2} \times 6 \times n^2 = 3n^2$$

Les ions numérotés *(3)* sont situés sur les 12 arêtes de la particule, qui comptent chacune *(n-1)* ions de ce type. Ces ions sont comptés pour 3/4, tel que leur nombre est égal à :

$$\frac{3}{4} \times 12 \times (n-1) = 9(n-1)$$

Enfin, les ions labélisés *(4)* sont présents sur les 6 faces de la particule, à l'intersection des faces de 4 mailles. Ils sont comptés pour moitié et sont au nombre de :

$$\frac{1}{2} \times 6 \times (n-1)^2 = 3(n-1)^2$$

Ainsi, le nombre total d'atome N_T^A inscrit dans une particule cubique de côté *n* du réseau cubique à faces centrées est alors :

$$N_T^A = 4n^3 + 6n^2 + 3n + 1$$

Dans le cas d'un analogue du bleu de Prusse, de formule unitaire $CA^{II}B^{III}(CN)_6$, ce nombre correspond aux atomes A^{II} uniquement. Le nombre d'ions B^{III} diffère du nombre d'ions A^{II} d'une unité tel que :

$$N_T^B = 4n^3 + 6n^2 + 3n$$

- ***Nombre d'ions disposés à la surface d'une particule de côté n***

La quantité d'ions présents à la surface correspond aux ions numérotés précédemment de *(1)* à *(4)*, sans tenir compte des fractions (atomes entiers).
Au total, le nombre N_S d'ions A^{II} inscrit en surface d'une particule de côté *n* est :

$$N_S = 12n^2 + 2$$

La variation du nombre d'atome de surface N_S, total N_T^A ainsi que le rapport N_S / N_T^A sont reportés sur la *figure IV-2*.

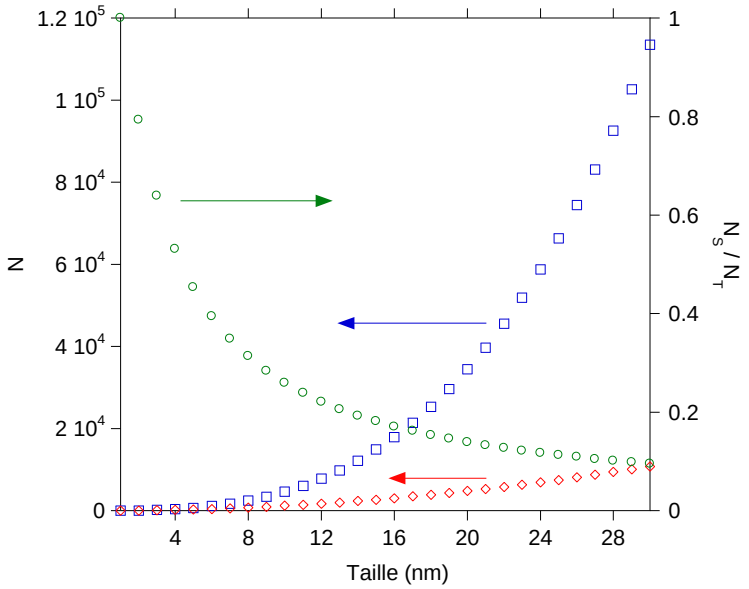


Figure IV-1 : Variation du nombre d'atome total N_T (bleu), du nombre d'atome de surface N_S (rouge) et du rapport N_S / N_T (vert) en fonction de la taille

Etude de toxicité :

La nature non toxique du bleu de Prusse est évidemment bien connue. Son administration par voie orale en tant qu'antidote à l'intoxication au césium et thallium radioactif a été déjà approuvée pour les êtres humains (capsule de Radiogardase®), avec une dose quotidienne qui peut atteindre 3g sans provoquer d'effets secondaires. Une étude de la toxicité *in vitro* des particules internalisées [7]-TRITC a été effectuée au LPCML par Lucie SANCEY.

Un test de prolifération cellulaire dans le MTT a été réalisé. Ce procédé est basé sur la réduction, accomplie par les mitochondries, du sel de bromure de 3-[4,5-di-methylthiazol-2yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium (MTT) de couleur jaune en un autre sel de Formazan de couleur bleu pourpre. Ce dernier est solubilisé dans l'eau puis quantifié par spectroscopie d'absorption à 570 nm. L'étude a été réalisée sur 50000 cellules carcinome murin mammaires implantées dans des plaques à 97 puits, et sur lesquels sont ajoutées les particules [7]-TRITC à différentes concentrations (de 0.1µM à 10mM) pendant 1h et 48h. L'absorbance a été ensuite mesurée sur les solutions du Formazan solubilisé et les valeurs obtenues ont été comparées à celles mesurées sur des cellules non exposées aux nanoparticules puis converties en pourcentage de viabilité. Les résultats de toxicité sont présentés dans la *figure IV-24*.

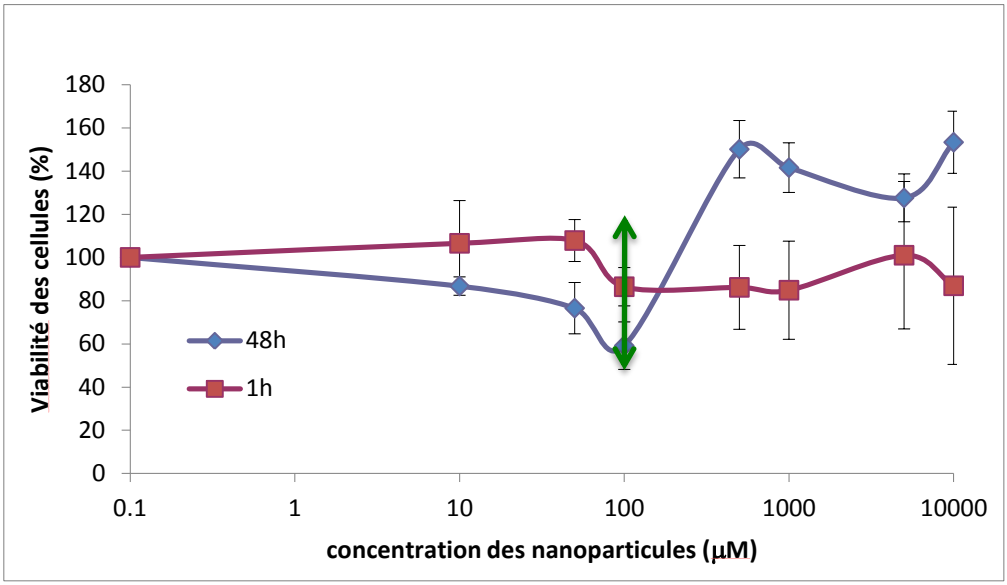


Figure IV-3: Analyses de cytotoxcicité des particules de bleu de Prusse [7]-TRITC internalisées dans les carcinomes murins mammaires après injections

Après 1h d'incubation des particules dans les cellules, la viabilité des cellules est presque invariable jusqu'à 50 µM puis diminue légèrement vers 80% à des concentrations plus élevées en particules. Pourtant après 48h, la toxicité devient plus importante vers une concentration de 50 µM. Cette toxicité pourrait être due à la présence du TRITC entourant les particules. A partir d'une concentration de 100 µM (représenté par le flèche vert), la coloration intense de bleu de Prusse s'interfère avec la couleur du sel ce qui fausse les valeurs obtenues (pourcentage de viabilité des cellules > 100%). De ce fait, seules les valeurs obtenues en dessous de 100 µM sont fiables. Ces résultats mettent en évidence un comportement non toxique des particules de bleu de Prusse jusqu'une concentration de 100 µM. Des études de toxicité des particules enrobées du dextran seul, sans TRITC, seront testées. D'autre part, les tests de toxicité au MTT sont limités par la coloration bleue des particules, il serait donc intéressant de retenter leur cytotoxicité par d'autres méthodes plus compatibles.

Annexe V

Synthèse des nanoparticules d'analogue du bleu de Prusse

- ***Synthèse des nanoparticules de formule $K_{4y-3+x}Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}[Fe^{II}(CN)_6]_y, nH_2O$***

Trois solutions mères de $MnCl_2$, $InCl_3$ et $K_4Fe(CN)_6$ à 10^{-2}M dans 20ml d'eau sont préparées. Les synthèses ont été réalisées dans un volume total de 200ml. Pour cela nous avons ajouté une solution aqueuse de 100ml contenant des ions In^{III} et Mn^{II} à une concentration totale de 0,5mM dans une autre solution aqueuse de 100ml contenant des ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ également à 0,5mM. Nous calculons pour chaque pourcentage en Mn^{II} et In^{III}, le volume de solution mère à ajouter pour obtenir une concentration égale à 0,5mM puis nous complétons avec de l'eau jusqu'à un volume total de 100mL. Le même calcul est effectué pour les ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$. Les volumes de solutions mères utilisés pour chacune des synthèses sont présentés ci-dessous, tableau V-1.

% Mn^{II}	5	10	15	25	50
$[Mn^{II}]$ mM	**0,025**	**0,05**	**0,075**	**0,125**	**0,250**
$V_{mère}$ $MnCl_2$ (mL)	**0,250**	**0,500**	**0,750**	**1,25**	**2,5**
% In^{III}	**95**	**90**	**85**	**75**	**50**
$[In^{III}]$ mM	**0,475**	**0,450**	**0,425**	**0,375**	**0,250**
$V_{mère}$ $InCl_3$ (mL)	**4,75**	**4,5**	**4,25**	**3,75**	**2,5**
V_{H20}	**95**	**95**	**95**	**95**	**95**

Tableau V-1 : *Calculs des volumes de solutions mères à ajouter pour les différentes synthèses en fonction du taux de Mn^{II}.*

Indépendamment du taux de Mn^{II}, les ions $[Fe^{II}(CN)_6]^{4-}$ sont à 0,5 mM pour un volume de solution mère égal à 5 mL. Le volume d'eau est donc de 95 mL.

Les synthèses à 5, 10 et 15% en Mn^{II} ont conduit à des taux réels de 10, 20 et 30% respectivement, comme précisé dans le chapitre V (V.2.3.1. Analyse élrmentaire).

- ***Enrobage des particules au dextran et précipitation à l'acétone***

Il s'agit d'un polymère biocompatible qui interagit avec les particules au travers de liaisons hydrogène qui s'établissent entre les cyanures non pontant de la surface et les groupements hydroxyle du dextran. Le dextran étant insoluble dans l'acétone, la deuxième étape consiste à ajouter 0,8 équivalents d'acétone par rapport au volume de solution aqueuse contenant les nanoparticules en suspension. La solution devient trouble. Cette solution est ensuite centrifugée pendant 10 minutes à 8000 tours.min^{-1}, et le surnageant est soigneusement éliminé. La phase visqueuse restante est séchée sous vide au moins pendant 3 heures.

- ***Redispersion des particules en solution***

Il s'agit de remettre en suspension dans l'eau, les particules à l'état de poudre et enrobées de dextran : on parle de redispersion. Cette étape est cruciale car elle se montre indispensable pour toutes applications envisagées par la suite. Les particules sont redispersées à une concentration de 10mM dans 500µL d'eau. La solution obtenue est placée dans un bac à ultra-sons pendant 5 minutes afin de détruire les agrégats éventuellement formés lors de la mise en solution des particules à l'état de poudre. La taille des particules est ensuite contrôlée par DDL afin de s'assurer que leur taille est identique à celle des particules lors de la synthèse c'est-à-dire avant l'enrobage au dextran et la précipitation à l'acétone.

Internalisation cellulaire des particules $Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_{y}$ [30]

- ***Enrobage des nanoparticules par du dextran-TRITC***

25 équivalents de dextran-TRITC par rapport aux ions Mn^{II} et In^{III} ont été ajoutés, afin de favoriser l'interaction entre ce polymère et les particules. Ensuite 25 équivalents de dextran non marqué ont été ajoutés permettant la précipitation des nanoparticules entourées de dextran-TRITC avec 1,2 équivalents d'acétone par rapport au volume total de solution.Afin d'aller plus loin dans les applications, nous avons voulu imager les nanoparticules par fluorescence afin de pouvoir suivre leur internalisation dans des cellules vivantes. Pour cela, nous avons enrobé les nanoparticules avec du dextran-TRITC.

Il s'agit d'un dextran fonctionnalisé par un fluorophore, le TRITC. Pour 100 motifs dextran on compte un motif TRITC. Ce polymère est commercial et nous a été fourni par Sigma Aldrich.

Le TRITC donne une couleur rose intense à la solution contenant les nanoparticules en suspension. Cette solution a été centrifugée une première fois pendant 45 minutes à 2°C puis une deuxième fois pendant 30 minutes à 2°C tout en veillant que le surnageant ne soit plus rose afin de s'assurer du bon enrobage des particules par ce polymère fluorescent.

- ***Internalisation cellulaire***

Les nanoparticules enrobées de dextran-TRITC ont été internalisées dans des cellules vivantes et leur internalisation a pu être suivie par microscopie confocale de fluorescence. Ces internalisations ont été réalisées au Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents de l'Université Lyon 1. L'internalisation des nanoparticules fluorescentes a été effectuée dans des carcinomes murins mammaires. Les nanoparticules enrobées de TRITC ont été redispersées dans l'eau puis injectées dans le milieu de culture cellulaire à une concentration de 1mM. Les nanoparticules ont été incubées pendant 30 minutes puis le milieu de culture a été retiré afin d'éliminer l'excès de nanoparticules n'ayant pas pénétré dans les cellules. Nous avons ensuite visualisé par microscopie confocale de fluorescence les nanoparticules ayant pénétré dans les cellules au cours du temps.

Dans le cadre de cette étude, le microscope utilisé est en épifluorescence inverse : il s'agit d'un microscope confocal Leica TCS SP5 équipé d'un objectif à immersion à huile avec un grossissement x63 et doté de quatre lasers continus (2lasers Ar et 2 lasers He-Ne) délivrant 9 raies de longueurs d'ondes différentes (351, 364, 458, 476, 488, 496, 514, **543**, 633 nm).

L'excitation a été réalisée à 543nm et l'émission de fluorescence a été collectée de 550 à 695nm.

- ***Spectroscopie UV-visible***

Lors de la synthèse des particules enrobées par le dextran TRITC, le chromophore TRITC confère une couleur rose intense à la solution colloïdale de particules de $Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_{y}$ dopées à 30% en Mn^{II}. Nous avons cherché à évaluer les proportions de dextran-TRITC, sur les particules n'ayant pas été récupérées lors de la précipitation de celles-ci. L'étude a porté sur la redispersion des particules [30]-TRITC et sur le surnageant après précipitation. Pour cela, une droite d'étalonnage a été établie afin de déterminer précisément le coefficient

d'extinction molaire du dextran-TRITC. Cette droite étalon a été tracée à 543 nm correspondant à la longueur d'onde utilisée par la suite pour le suivi de l'internalisation des particules dans des cellules vivantes. La figure V-1 représente les spectres d'absorption UV-visible, centrés aux alentours de 543nm, obtenus pour différentes concentrations en dextran-TRITC ainsi que pour les particules [30] -TRITC et le surnageant résultant de cette synthèse.

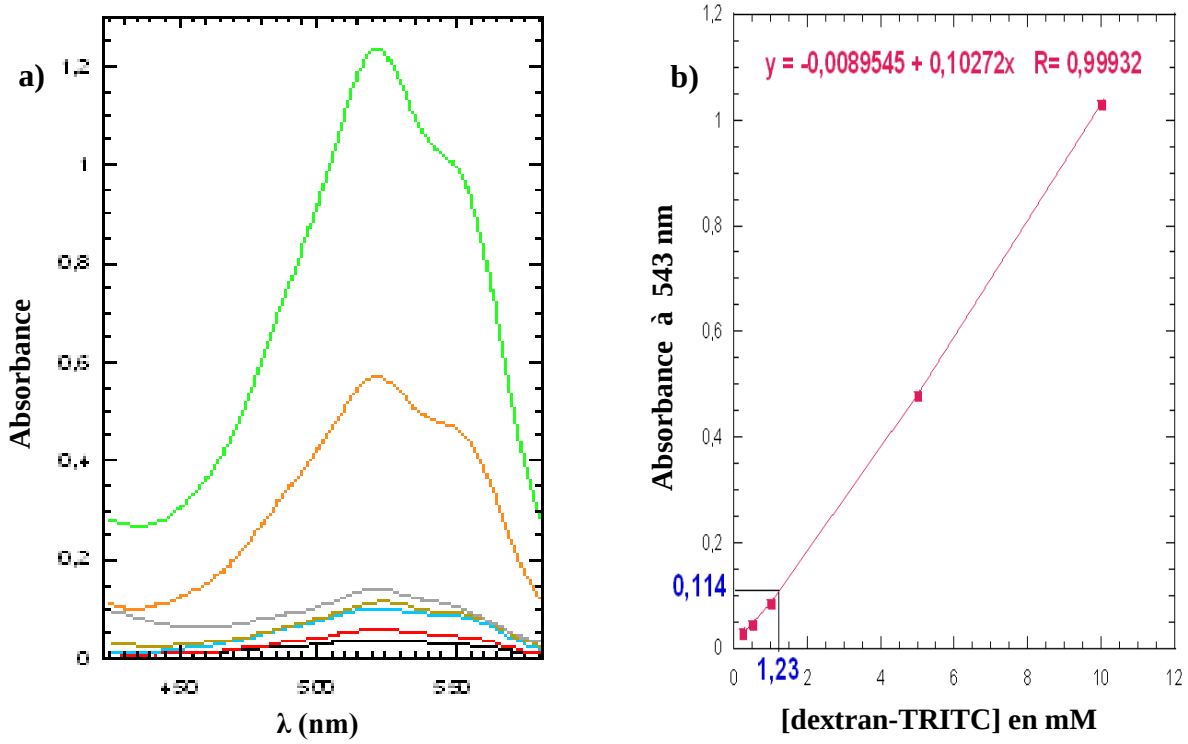


Figure V-1 : (a) Spectres d'absorption en fonction de la concentration en dextran-TRITC : à **10mM**, **5mM**, **1mM**, **0,5mM**, **0,25mM**. et spectre d'absorption de la particule $Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_{y}$ [30] à 0,07mM (marron) ainsi que du surnageant résultant (gris). (b) Droite d'étalonnage : absorbance du dextran-TRITC à 543nm en fonction de la concentration en dextran-TRITC en mM

Le coefficient d'extinction molaire correspondant à la pente de la droite est obtenu par régression linéaire. Il est de 102,7 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ par monomère dextran-TRITC. Sachant que le coefficient d'extinction molaire du TRITC est de 100 000 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$, ceci correspond à 0,1% de motifs porteurs du fluorophore, et correspond bien à la valeur indiquée par le fournisseur (0,1-0,8%).

En analysant le surnageant, qui présente une absorbance à 543nm de 0,114, une concentration de 1,20mM est déduite à partir du coefficient précédemment déterminé. La valeur de la concentration a également été confirmée graphiquement. La concentration initiale en dextran-TRITC étant de 6,25mM, ceci signifie que 81% du dextran-TRITC a été récupéré avec les

particules. Ceci ne signifie pas qu'il est libre dans le surnageant, il peut être associé à de petites particules n'ayant pas précipité.

Par ailleurs, la redispersion des particules [30]-TRITC a été étudiée par spectroscopie UV-visible à 0,25mM en unité formulaire, $K_{0,48}Mn_{0,28}In_{0,72}[Fe(CN)_6]_{0,8}.(H_20)_{35}.(dext)_{47}$, déterminée par EDS et analyse élémentaire. L'absorbance mesurée à 543 nm est de 0,53, ce qui correspond à une concentration en dextran-TRITC de 5,2 mM. Si 100% du dextran enrobant les particules était du dextran-TRITC, cette concentration serait de 11,75mM (0,25mM x 47 éq.). Ceci signifie que sur les 47 équivalents de dextran enrobant les particules, 21 équivalents correspondent à du dextran-TRITC. Ceci est proche des proportions introduites initialement (25 équivalents de chaque dextran).

Le protocole d'étude de toxicité est basé sur la transformation d'un sel de tétrazolium (MTT) par les mitochondries qui transforment ce sel en un colorant bleu. Ce composé est alors solubilisé et l'absorbance à 570nm est mesurée. Ces études ont été réalisées sur 97 puits contenant chacun 50 000 cellules de carcinome murin mammaire, et étudiées 1h et 48h après incubation. Ces valeurs sont comparées à celles obtenues sur des cellules sans exposition aux nanoparticules.

- ***Toxicité***

Les résultats de toxicité obtenus sont présentés figure V-2, ci-dessous.

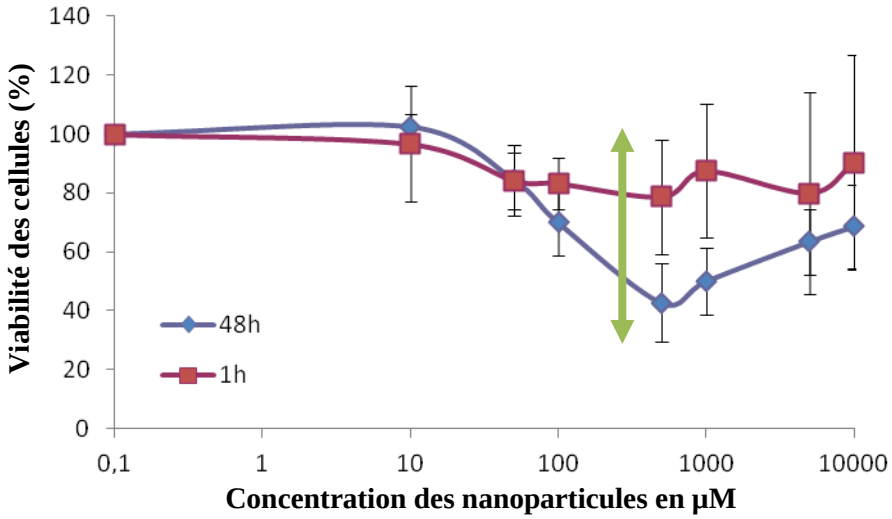


Figure V-2 : Etude de toxicité sur des caracinomes murins mammaires après injection des particules $Mn^{II}_{x}In^{III}_{1-x}Fe^{II}_{y}$ [30]-TRITC.

Les nanoparticules ont été internalisées à des concentrations variables, de 0,1µM à 10mM. A 1h d'incubation des particules dans les cellules, nous retrouvons peu de toxicité des particules. En effet, plus de 80% des cellules sont viables quelle que soit la concentration en particules. En revanche, à 48h, les particules commencent à être toxiques à partir de 100µM. A partir de 500µM (symbolisé par la flèche verte), la coloration des nanoparticules (due au dextran-TRITC) interfère avec le test et fausse les valeurs. Il faut donc se fier uniquement aux valeurs obtenues pour des concentrations en particules inférieures à 500µM. Selon ce test, la dose à partir de laquelle 50% des cellules meurent (DL50) se situe aux alentours de 392 µM. Des tests de toxicité en absence de TRITC seront réalisés.