

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



BADJI MOKHTAR - ANNABA
UNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR
ANNABA

جامعة باجي مختار
- عنابة -

Faculté des Sciences

Année : 2021

Département de Chimie

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT en Sciences**

**Synthèse et caractérisation de matériaux hybrides de
structure cœur-couronne :
Applications pour le relargage de principe actif**

Option
Chimie Physique

Par
FODIL CHERIF Nawal

DIRECTEUR DE THÈSE : BECHIRI Ouahiba Professeure U.B.M. ANNABA

Devant le jury

PRESIDENT : AOUF Nouredine Professeur U.B.M. ANNABA

EXAMINATEURS : TIFOUTI Lakhdar Professeur U.B.M. ANNABA

MEROUANI Slimane Professeur U. Constantine 3

CHIKHI Mustapha Professeur U. Constantine 3

BENGUERBA Yacine Professeur U. Sétif

MEMBRE INVITE : TAVIOT-GUEHO Christine Professeure I.C.C.F. France

A la mémoire de mon père Boualem, toujours vivant dans mon cœur

A ma mère Khadidja que Dieu la bénisse et la protège de tout mal

A mes chères sœurs

A la mémoire de mon ami et frère : Sofiane Zaghina

تسمح بنية هيدروكسيدات مزدوجة الطبقات (HDL) بالاحتجاز الفعال للمكونات النشطة (PA) بفضل هيكلها ثنائي الأبعاد وتوافقها البيولوجي وخصائصها الفيزيوكيميائية القابلة للتبادل الأيوني. ومن ثم، فإن هذه الأطروحة المتعددة التخصصات، التي تشكل جزءاً من مجال الطب الحيوي والمواد النانو مترية، تهدف إلى ما يلي: (1) التصميم، في ظل ظروف كيميائية عذبة، لمواد حيوية هجينة وهيكل هرمية مخصصة لاستخدامها في مجال توصيل الأدوية، و(2) تشخيص خصائصها الفيزيوكيميائية. هذه المواد الغير عضوية التي تتكون من هيدروكسيدات مزدوجة الطبقات والفريتات المغناطيسية، ارتبطت لاحقاً بأنواع مختلفة من المكونات النشطة. لذلك تهدف هذه الدراسة إلى إتقان الارتباطات الموجودة بين المكونات المختلفة للمركبات الهجينة، والتي من شأنها أن تسمح لنا بتطوير هيكل هرمية جديدة ذات إمكانيات عالية موجهة لتطبيقات طبية حيوية.

في هذا السياق فإنه و في مرحلة أولى ، تمحور جزء كبير من هذا العمل من دراسة عمليات تحميل الادوية داخل هيدروكسيدات مزدوجة الطبقات. وبالتالي، فإن أول المكونات النشطة الذي تم تحميلها هو السيبروفلوكساسين (CIP)، وهو مضاد حيوي من عائلة الفلوروكينولون. ابتداءً من أملاح CIP المختلفة، تم الحصول على شكلين منقسمين عن طريق الترسيب المشترك في هيدروكسيدات مزدوجة الطبقات من نوع Zn_2Al . كما تم تحديد آليات التكوين والتركيب الكيميائي وترتيب جزيئات CIP في الفراغ الموجود بين الهيدروكسيدات مزدوجة الطبقات وأيضاً تحديد خصائص سطح الشكلين اللذين تم الحصول عليهما. بينت دراسة تحرير CIP في وسط PBS آلية الانتشار عن طريق التبادل لكن مع اختلاف المعدلات وحركية التفاعل اعتماداً على البنية الكيميائية، مما يجعل من الممكن محاكاة الوسائط البيولوجية. بعد ذلك، تم تنفيذ تحميل حمض ألفا ليبويك، أحد مضادات الأكسدة، بطريقتين: الترسيب المشترك والترسيب المشترك متبوعاً بالمعالجة الحرارية المائية. لهذا، تم استخدام HDL من النوع Zn_2Al ، Mg_2Al ، Cu_2Al و Zn_2Ga كمصفوفات حاضنة (مضيفة). وهكذا تم إثبات أن الشكل الأنويوني لحمض ألفا ليبويك قد تم إقحامه بالفعل في الفراغ الموجودة بين الهيدروكسيدات مزدوجة الطبقات. بالإضافة إلى ذلك، تم تحسين إقحام الشكل الأنويوني لحمض ألفا ليبويك من أجل تحديد ظروف تصنيع المستحلبات.

وفي مرحلة ثانية، ولأجل تطوير الجسيمات النانومترية الهجينة التي تفتح المجال لاستراتيجيات جديدة للعلاج والتشخيص الطبي، تم تطوير البنات الهرمية، المكونة من قلب مغناطيسي من نوع الفريت (الذي يلعب غالباً دور عامل التباين في التصوير بالرنين المغناطيسي وكذلك محفز الحرارة). إضافة إلى إعداد هيدروكسيدات مزدوجة الطبقات من ال HDL لتغليف وحماية المواد النشطة. تم تحضير جسيمات نانومترية لـ $MgFe_2O_4$ و لـ Fe_3O_4 بطرق مختلفة: طريق ال HDL وطريقة استعمال المذيبات بالتأثير الحراري (السولفوترمال). بعد ذلك، تم تمييز بنية وشكل وحجم ومغناطيسية هذه الجسيمات. بعدها، تم دمج القلب المغناطيسي مع بنية ال HDL عن طريق الترسيب المشترك. أخيراً، تم الحصول على هيكل من نوع $coeur@HDL-PA$ بنجاح من خلال طريقة الترسيب المشترك. تم استخدام نوعين من مضادات الالتهاب غير الستيرويدية كجزيئات نموذجية بما في ذلك: فلوريبيروفين وإيبوبروفين. أيضاً، تم استخدام تقنيات مختلفة من أجل تشخيص الخصائص الفيزيوكيميائية النهائية لهيكل $coeur@HDL-PA$ ، وهي: الخصائص البنيوية والمغناطيسية ودرجات التحرر. أخيراً، تمت دراسة هذا العامل الأخير تحت تأثير الحافز الأكثر وضوحاً في حالة تطبيقات تحرير المادة الفعالة الخاضعة للرقابة، أي الرقم الهيدروجيني (7.4-7.5 pH).

الكلمات المفتاحية: توجيه المادة الفعالة، هيدروكسيدات مزدوجة الطبقات، الفريت المغناطيسي، المواد الهجينة الحيوية الهرمية، الإقحام، حركية تحرير المادة الفعالة.

Les structures d'hydroxydes doubles lamellaires (HDL) permettent un confinement efficace de principes actifs (PA) grâce à leur structure bidimensionnelle, leur biocompatibilité, et leurs propriétés physico-chimiques favorables à l'échange ionique. Ainsi, ces travaux de thèse pluridisciplinaires, se situant à l'interface des domaines du biomédical et des nanomatériaux, ont pour objectifs : *i*) la conception dans des conditions de chimie douce, de matériaux biohybrides et de structures hiérarchisées destinés à la vectorisation de PA, et *ii*) à leurs caractérisations physico-chimiques. Ces matériaux inorganiques étant constitués d'HDL et de ferrites magnétiques ont été par la suite associés à différents types de PA. L'objectif étant la maîtrise des associations entre les différents composants des hybrides qui permettrait ainsi l'élaboration de nouvelles structures hiérarchisées à fort potentiel pour des applications biomédicales.

Dans un premier temps, une grande partie du travail a consisté en l'étude des processus d'intercalation des PA dans les matrices HDL. Ainsi, le premier PA à avoir été intercalé est la ciprofloxacine (CIP), un antibiotique de la famille des fluoroquinolones. En partant des différents sels de CIP, deux formes intercalées ont été obtenues après synthèse par coprécipitation dans une matrice HDL de type Zn_2Al . Aussi, le mécanisme de formation, la composition chimique, l'arrangement des molécules de CIP dans l'espace interlamellaire et les propriétés de surfaces des deux formes obtenues ont été déterminées. L'étude de la libération de la CIP en milieu PBS permettant de mimer les milieux biologiques, a mis en évidence un mécanisme de diffusion par échange, avec cependant des taux et des cinétiques de libération différents en fonction de la structure. Ensuite, l'immobilisation de l'acide α -lipoïque, un antioxydant, a été réalisée par deux méthodes : la coprécipitation et la coprécipitation suivie d'un traitement hydrothermal. Pour cela, des HDL de type Zn_2Al , Mg_2Al , Cu_2Al et Zn_2Ga ont été utilisés comme matrices hôtes. Il a été ainsi mis en évidence que la forme anionique de l'acide α -lipoïque a bien été intercalée dans l'espace interlamellaire des phases HDL. De plus, l'intercalation de l'anion lipoate a ensuite été optimisée afin de déterminer les conditions de fabrication des suspensions colloïdales.

Dans un deuxième temps et dans l'optique de développer de nanoparticules (NPs) hybrides offrant de nouvelles stratégies pour la thérapie et le diagnostic médical, l'élaboration de structures hiérarchisées, constituées d'un cœur magnétique de type ferrite (jouant généralement le rôle d'agent de contraste en IRM et d'inducteur de chaleur par hyperthermie), et d'une couronne d'HDL permettant d'encapsuler des PA, a été entreprise. Ainsi, les NPs de $MgFe_2O_4$ et les NPs de Fe_3O_4 ont été synthétisées par différentes méthodes : la voie HDL et la méthode solvothermale. Puis, la structure, la forme, la taille et le magnétisme de ces NPs ont été caractérisés. Par la suite, le cœur magnétique a été combiné aux phases HDL par coprécipitation. Enfin, des structures cœur@HDL-PA ont été obtenues avec succès par la méthode de coprécipitation. Divers anti-inflammatoires non stéroïdien ont été utilisés comme molécules modèles dont : le flurbiprofène et l'ibuprofène. Aussi, différentes techniques de caractérisation ont été utilisées afin d'élucider les propriétés physico-chimiques finales des structures cœur@HDL-PA, à savoir : des caractérisations structurales, magnétique et de libération. Enfin, ce dernier paramètre a été étudié sous l'influence du stimulus le plus évident en cas d'applications de libération contrôlée, c'est-à-dire le pH (pH 7,4- 7,5).

Mots clés : vectorisation de principe actif, hydroxyde double lamellaire, ferrite magnétique, matériaux biohybrides hiérarchisés, intercalation, cinétique de libération.

Layered double hydroxide (LDH) structures are an efficient container for active principles (APs) due to their 2D structure, their good biocompatibility, and their physicochemical properties favorable to ion exchange. Thus, these multidisciplinary thesis works, located at the interface of the biomedical and nanomaterials fields, aims to: *i*) the design under mild chemistry conditions, biohybrid materials and hierarchical structures for the delivery of APs, and *ii*) their physicochemical characterization. These inorganic materials, consisting of LDH and magnetic ferrites, have been subsequently associated with different types of APs. The objective being the control of the associations between the various components of the hybrids which would thus allow the elaboration of new hierarchical structures with high potential for biomedical applications.

Initially, a large part of the work consisted in studying the processes of intercalation of APs in LDH host carrier. Thus, the first AP have been intercalated is ciprofloxacin (CIP), an antibiotic member of the fluoroquinolone family. Starting from the different salts of CIP, two intercalated forms were obtained after synthesis by coprecipitation in a Zn_2Al LDH. Also, the formation mechanism, chemical composition, the interlayer arrangement of CIP molecules and surface properties of the two obtained forms were determined. The study of CIP release in PBS medium, which allows to mimic biological media, has shown a diffusion mechanism by exchange, with however different release rates and kinetics depending on the structure. Subsequently, the immobilization of α -lipoic acid, an antioxidant, was carried out following two different methods: coprecipitation and fast coprecipitation followed by hydrothermal treatment. This, Zn_2Al , Mg_2Al , Cu_2Al and Zn_2Ga LDH were used as host carrier. It was demonstrated that the anionic form of α -lipoic acid was indeed intercalated successfully in the interlayer space of the LDH phases. In addition, the intercalation conditions of the lipoate anion were then optimized to obtain carriers with controlled size with high degree of dispersion in physiological media.

In a second step, and with the aim to develop hybrid nanoparticles offering new strategies for medical therapy and diagnosis, the preparation of hierarchical structures, consisting of a ferrite-like magnetic core (generally can play the role of contrast agent for MRI as well as hyperthermia heat inducer), and LDH shell allowing the encapsulation of APs, was undertaken. Thus, $MgFe_2O_4$ NPs and Fe_3O_4 NPs were synthesized by different methods: the LDH pathway and the solvothermal method. Then, the structure, shape, size and magnetism of these NPs were characterized. Subsequently, the magnetic core was combined with the LDH phases by coprecipitation. Finally, core@LDH-AP structures were successfully obtained by the coprecipitation method. Various non-steroidal anti-inflammatory drugs were used as model molecules including: flurbiprofen and ibuprofen. Also, different characterization techniques were used to elucidate the final physicochemical properties of the core@LDH-AP structures, namely: structural, magnetic and release characterizations. Finally, the latter parameter was studied under the influence of the most obvious stimulus in controlled release applications, *i.e.*, pH (pH 7.4- 7.5).

Key words: vectorization of active principle, layered double hydroxide (LDH), magnetic ferrite, hierarchical biohybrid materials, intercalation, release kinetics.

Remerciements

Je souhaiterais exprimer mes sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette thèse de doctorat et pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer ce travail de recherche. Je pense notamment à M. *Noureddine Aouf*, Professeur à l'Université Badji Mokhtar de Annaba, qui me fait l'honneur d'être le président de jury ; à M. *Lakhdar Tifouti*, Professeur à l'Université Badji Mokhtar de Annaba ; à MM. *Slimane Merouani* et *Mustapha Chikhi*, Professeurs à l'Université de Constantine 3, et à M. *Yacine Benguerba*, Professeur à l'Université de Sétif, d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs.

Dans la mesure où cette thèse a été domiciliée à l'Université Badji Mokhtar de Annaba et que les travaux de recherche ont été effectués au sein de trois laboratoires différents, à savoir : le laboratoire de « Chimie des Matériaux » du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (C.R.A.P.C) de Bou-Ismaïl (Tipaza, Algérie), le laboratoire « Matériaux Avancés pour la Catalyse et la Santé » de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier (France) et enfin, le laboratoire de la thématique « Hydroxydes Doubles Lamellaires » de l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (France), il me semble ainsi légitime d'exprimer dans les quelques lignes qui suivent mes sincères remerciements à un grand nombre de personnes dont la contribution, de près ou de loin, à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail durant ces quelques années de doctorat est inestimable.

Tout naturellement, je me dois de remercier très chaleureusement, mon directeur de thèse, M. *Oualid Hamdaoui*, Professeur à l'Université Badji Mokhtar de Annaba. *Oualid*, merci de m'avoir accueillie à Annaba et de m'avoir parlé, au détour d'une assiette composée, des traits caractéristiques d'un chercheur et des obstacles auxquels il serait amené à être confronté et de comment les surmonter avec sérénité. Je te remercie aussi pour l'intérêt et la confiance que tu as su m'accorder tout au long de ces années particulières de thèse.

J'aimerais également mentionner l'implication de Mme *Ouahiba Bechiri*, Professeur à l'Université Badji Mokhtar de Annaba. *Ouahiba*, je te remercie d'avoir accepté d'être mon encadreur afin de me permettre de soutenir ma thèse. Je n'oublierai jamais votre geste à mon égard. Vous avez toute ma gratitude.

Je souhaite également remercier M. *Khaldoun Bachari* et *Redouane Chebout*, Directeur et Directeur-adjoint du C.R.A.P.C., sans lesquels ce projet de thèse n'aurait pas vu le jour.

Mes sincères remerciements vont à M. *Didier Tichit*, Directeur de Recherche émérite au CNRS, qui m'a chaleureusement accueillie durant de multiples séjours au sein de l'équipe

Remerciements

M.A.C.S. de l'I.C.G.M. Cher *Didier*, merci pour ta disponibilité, ton soutien, ta gentillesse et surtout pour ton amitié sincère. J'ai beaucoup appris à tes côtés, tant sur le plan scientifique qu'humain. Je tiens également à te remercier pour m'avoir permis de faire la connaissance de Mme *Sylvie Bégu*, Maître de conférences/HDR, à la Faculté de pharmacie de de l'I.C.G.M. et de travailler avec elle. *Sylvie*, merci de m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire, d'avoir pris le temps de m'initier à plusieurs techniques de libération de principes actifs. Je remercie également M. *Thomas Cacciaguerra* et Mme *Géraldine Layrac* pour leur disponibilité et leur aide.

Je tiens à remercier plus particulièrement et à exprimer mon extrême reconnaissance à Mme *Christine Taviot-Guého*, Professeur à l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand qui a accepté le co-encadrement de cette thèse dans le cadre du Programme National Exceptionnel (PNE) du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (M.E.S.R.S.). *Christine*, j'ai beaucoup appris à vos côtés. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous pendant presque deux années et qui m'ont permis de finaliser ma thèse. Je tiens également à vous remercier pour votre confiance et pour votre patience. Vous m'avez offert le cadre idéal et les outils nécessaires afin de me réaliser en tant que chercheuse. En somme, je vous dois beaucoup alors merci, tout simplement !

C'est d'ailleurs grâce à vous qu'une partie de cette thèse a été menée dans le cadre de deux programmes de recherche internationaux : le « Pack Ambition International région AURA » et le « PRC programme de recherche conjoint Franco-brésilien CNRS-FAPESP ». Ce dernier m'a ainsi permis de travailler avec Mme *Vera Regina Leopoldo Constantino*, Professeur à l'Université de Sao Paulo (Brésil). *Vera*, je vous adresse ma gratitude et je vous remercie, pour votre aide, votre gentillesse, et pour l'intérêt constant que vous m'avez porté durant mon séjour à l'I.C.C.F.

De plus, durant ce séjour, j'ai également eu l'opportunité et l'immense honneur de travailler avec M. *Fabrice Leroux*, Directeur de Recherche au CNRS et Directeur de l'I.C.C.F. *Fabrice*, je vous remercie pour votre soutien, votre écoute, tous vos conseils et votre aide précieuse et pour m'avoir initiée à la RMN du solide. *Fabrice*, avec *Christine* vous m'avez chaleureusement ouvert les portes de l'I.C.C.F.

Je ne pouvais rêver d'un meilleur cadre que la thématique HDL pour réaliser ma thèse. Ce fut par ailleurs un honneur de travailler aux côtés des membres permanents de l'équipe HDL qui sont : M. *Claude Forano* Professeur, Mme *Vanessa Prévot* Directrice de Recherche CNRS, Mme *Christine Mousty* Directrice de Recherche CNRS, Dr *Cendrine Renaudin* et le M. *Guillaume Renaudin* Professeur. J'adresse une mention toute particulière à ceux avec qui j'ai

Remerciements

partagé « **le** » bureau : *Abdel, Hanane, Marie, Qian, Ali* et *Tiziri*. J'ai aussi côtoyé durant ces 18 mois et avec un grand plaisir et je pense notamment à : *Hani, Cedric, Céline, Marwa, Ghizlen, Alexandra, Charles, et Vagner*. Avec un clin d'œil particulier à *Marwa* pour son affection. Merci également aux autres membres permanents de l'I.C.C.F. et plus particulièrement à *Nathalie Caperaa, Rodolf Thirouard, Elodie Petit, Lawrence Frezet, Muriel Joly et Stéphanie Bonnefoy*.

Et puis il y a eu une vie en dehors du laboratoire où grâce à *Laurent, Jocelyn, Elyan, Marie, Alexandre* et *Bérénice*, un cadre amical et familial fort présent a naturellement trouvé sa place.

Durant mes parcours universitaire et professionnel, j'ai eu la chance et l'opportunité de rencontrer de nombreuses personnes qui sont devenues de véritables amies, et qui n'ont pas manqué à l'appel durant mes années de thèse. Chers amis, vous avez su me faire rire et être simplement là quand le besoin s'en est fait sentir. Merci à : *Rafik Benrabaa, Aissat Fares, Souad Touati, Souad Hazam, Sara Belmiri, Safia Zemmach, Souhila Djema, Amel Kaced* et *Yacine Laichi*.

Je remercie également Mme *Djahida Lerari*, Directrice de Recherche au C.R.A.P.C., et Directrice de la « Division Chimie des Matériaux ». *Djahida*, merci pour ton aide mais surtout pour l'amitié que nous partageons depuis fort longtemps.

Je souhaiterais adresser mille *merci* si ce n'est plus à Mme *Jamila Nait Abdallah*, Maître de Recherche A au C.R.A.P.C., pour la relecture complète du manuscrit ainsi que les corrections qu'elle a apportées. *Jamila*, depuis que nous avons rejoint le C.R.A.P.C., ton amitié sincère, est un baume pour le cœur et pour le moral. Merci pour ton soutien indéfectible durant toute la période de cette *seconde thèse*, pour ta présence lors de la rédaction, qui fut pour moi la période du confinement lié au COVID-19.

Il me semble maintenant indispensable de m'adresser à ma famille. Je remercie mes sœurs : *Karima, Soumaya, Samira, Akila, Ghozlane* et *Khira*. Ces quelques lignes ne suffiront jamais à vous exprimer toute ma gratitude, mon amour et mon affection. Aussi, *big hugs* à ma sœur *Ghozlane* pour le temps qu'elle a consacré à lire et à améliorer le contenu du manuscrit...merci.... Mes adorables et chers neveux et nièces : *Marwa, Ayoub, Adem, Abdelmalek, Safa, Adel, Habib, Nouh, Riadh* et *Abdallah*. Vous avez été le rayon de soleil durant cette période.

...et le meilleur pour la fin, je remercie ma très chère maman, *Khadidja*, pour m'avoir soutenue dans tous mes choix et ce depuis toujours. J'ai également une pensée toute particulière pour mon père qui, bien que disparu pour certains, ne m'a jamais quittée.

Remerciements

*Every one you meet is fighting a battle you know nothing about.
Be kind.*

Always.

Ian Maclaren (3 November 1850 – 6 May 1907)

Avant - Propos

Les travaux de cette thèse ont été réalisés dans le cadre d'une bourse ministérielle du programme national exceptionnel (PNE 2018-2019). Ces travaux ont donné lieu aux publications et communications suivantes :

Publication

N. Fodil Cherif, V. R. L. Constantino, O. Hamdaoui, F. Leroux, C. Taviot-Guého. "*New insights on two intercalated ciprofloxacin arrangements into layered double hydroxide carrier material*". *New Journal of Chemistry* 44 (2020) 10076-10086.

Communications orales

N. Fodil Cherif, V. R. L. Constantino, F. Leroux, C. Taviot-Guého. "*Caractérisation multi-échelles de l'hybride ciprofloxacine/hydroxydes doubles lamellaires*". Journée Scientifique Axe Chimie pour le Vivant – ICCF 19 décembre 2019.

N. Fodil Cherif, V. Prévot, O. Hamdaoui, F. Leroux, V. R. L. Constantino, C. Taviot-Guého. "*Layered double hydroxides @Fe₃O₄ nanoparticles for drug release of ciprofloxacin*". International Conference on Clay Science and Technology (Euroclay 2019) 1-5 juillet 2019, Paris France.

N. Fodil Cherif, J. Nait Abdallah, R. Chebout, S. Hazam, D. Lerari, K. Bachari, S. Bégu, O. Hamdaoui, D. Tichit. "*Elaboration, characterization and in vitro release studies of composite materials based on spray dried diclofenac-layered double hydroxides*". International Conference on Nanomaterials and Applications (ISyMC 2018). 19 mars au 21 mars 2018. Université M'Hamed Bougara Boumerdes–Algérie.

Communications par affiche

N. Fodil Cherif, V. R. L. Constantino, F. Leroux, C. Taviot-Guého. "*Layered double hydroxides for drug release of ciprofloxacin*". International Symposium on Intercalation Compounds (ISIC 2019), 4-6 juin 2019 Campinas Brésil.

N. Fodil Cherif, V. Prévot, O. Hamdaoui, K. Bachari, F. Leroux, V. R. L. Constantino, C. Taviot-Guého. "*Hydroxydes doubles lamellaires pour des applications médicales : étude du vecteur M₂Al-ciprofloxacine (M : Zn²⁺, Mg²⁺)*". Réunion annuelle du Groupe Français d'Etude des Composés d'Insertion (GFCEI 2019). 25-28 mars 2019 - Obernai -France.

N. Fodil Cherif, J. Nait Abdallah, R. Chebout, A. Hannafi, D. Lerari, K. Bachari, S. Bégu, O. Hamdaoui, D. Tichit. "*Structure and in vitro release studies of spray dried hybrid materials based on anti-inflammatory drug encapsulated layered double hydroxide*". International Conference on Nanomaterials and Applications (nanoMat 2017). 29 avril au 01 mai 2017. Hammamet– Tunisie.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale	1
Références Bibliographiques.....	4
Chapitre 1 - Revue bibliographique sur les systèmes de vectorisation de principes actifs	
1.1. La vectorisation de médicaments : Quel intérêt ?.....	5
1.2. Les principales propriétés d'un système de vectorisation.....	6
1.3. La nanotechnologie comme plate-forme pour le développement de nanovecteurs.....	7
1.3.1. Les principales architectures utilisées en vectorisation.....	8
1.3.1.1. Les nanovecteurs organiques.....	8
1.3.1.2. Les nanovecteurs inorganiques.....	12
1.4. Les nanovecteurs Hydroxydes Doubles Lamellaires.....	17
1.4.1. Structure et propriétés des hydroxydes doubles lamellaires.....	18
1.4.2. Synthèse des HDL et les différentes stratégies d'intercalation.....	20
1.4.2.1. La coprécipitation.....	21
1.4.2.2. L'échange anionique.....	23
1.4.2.3. La calcination/reconstruction.....	23
1.4.2.4. Délamination/réempliment.....	24
1.4.2.5. Intercalation par l'intermédiaire de tensioactifs.....	25
1.4.3. Contrôle de la taille et de la morphologie des HDL pour des applications biomédicales.....	25
1.4.3.1. Hydrolyse de l'urée.....	26
1.4.3.2. Coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal.....	26
1.4.4. Les bio-applications des HDL.....	27
1.4.4.1. Les HDL comme principes actifs.....	28
1.4.4.2. Implication des HDL en thérapie génique.....	28
1.4.4.3. Amélioration de la biodisponibilité des PAs hydrophobes.....	29
1.4.4.4. Diminution des effets secondaires des PAs.....	31
1.4.4.5. Des vecteurs HDL comme agents antimicrobiens.....	32
1.4.4.6. Cytotoxicité et biocompatibilité des HDL.....	33
1.5. Intérêt des nanoparticules de ferrites pour des applications biomédicales.....	40
1.5.1. La structure spinelle.....	40
1.5.2. Magnétisme de l'état métallique.....	42
1.5.3. Applications des nanoparticules magnétiques.....	46
1.5.4. Méthodes d'obtention des nanoparticules magnétiques.....	47
1.5.5. Cytotoxicité et devenir des nanoparticules magnétiques.....	48
1.6. Les structures hiérarchisées multifonctionnelles pour la vectorisation.....	49
1.6.1. Les structures hiérarchisées à base d'HDL.....	50
1.6.2. Synthèse et applications des structures hiérarchiques magnétiques à base d'HDL.....	52
1.6.3. Libération du PA en réponse à un stimulus.....	56

1.6.3.1. Le pH comme stimulus interne.....	57
1.6.3.2. Les stimuli externes.....	58
1.7. Contexte et hypothèses du travail de recherche.....	60
Références Bibliographiques.....	63

Chapitre 2 - Matériel et Méthodes

2.1. Description des méthodes de synthèse des matériaux.....	71
2.1.1. Préparation des phases hybrides@HDL par coprécipitation : les différents montages.....	71
2.1.2. Préparation des phases hybrides@HDL par coprécipitation rapide associée à un traitement hydrothermal.....	74
2.1.3. Préparation des phases hybrides PA@HDL par échange anionique.....	75
2.1.4. Méthodes de synthèses des cœurs magnétiques.....	76
2.1.4.1. La méthode solvothermale.....	76
2.1.4.2. Synthèse du ferrites $MgFe_2O_4$ par la voie HDL.....	77
2.1.5. Stratégie de préparation des hybrides de type cœur@HDL-PA.....	79
2.2. Les expériences de libération <i>in vitro</i>	80
2.3. Techniques de caractérisation des matériaux obtenus.....	81
2.3.1. Diffraction des rayons X.....	81
2.3.2. La spectroscopie vibrationnelle.....	85
2.3.3. Spectroscopie à résonance magnétique nucléaire (RMN) du ^{13}C à l'état solide.....	88
2.3.4. Spectroscopie UV-Visible.....	90
2.3.5. Analyses thermiques.....	92
2.3.6. Les analyses chimiques.....	94
2.3.7. Caractérisation morphologique des matériaux.....	95
2.3.8. Analyse texturale des matériaux.....	97
2.3.9. Diffusion dynamique de la lumière.....	98
2.3.10. Charge de surface.....	100
2.3.11. Magnétométrie à échantillon vibrant.....	101
Conclusion sur les méthodes de caractérisation.....	103
Références Bibliographiques.....	103

Chapitre 3 - Caractérisations multi-échelles de l'hybride ciprofloxacine / hydroxydes doubles lamellaires

Introduction.....	105
3.1. Matériel et méthodes.....	106
3.1.1. Réactifs.....	106
3.1.2. Synthèses.....	107
3.1.3. Analyses élémentaires.....	108
3.1.4. Caractérisations structurale et morphologique.....	108
3.1.5. Etude de la cinétique de libération.....	110
3.2. Résultats.....	110
3.2.1. Synthèses et caractérisation des nanohybrides HDL@CIP.....	110
3.2.2. Etude de la cinétique de libération de la CIP.....	120

3.3. Discussion.....	123
Conclusions.....	127
Références Bibliographiques.....	128

Chapitre 4 - Intercalation de l'acide α -lipoïque par des structures HDL

Introduction.....	131
4.1. Matériel et méthodes.....	133
4.1.1. Synthèse des matériaux HDL et des hybrides Lip@HDL.....	133
4.1.1.1. Produits chimiques et réactifs.....	133
4.1.1.2. Intercalation de l'anion lipoate par coprécipitation.....	133
4.1.1.3. Préparation des suspensions colloïdales Lip@HDL.....	135
4.1.2. Caractérisation des matériaux élaborés.....	135
4.2. Résultats et discussion.....	136
4.2.1. Caractérisation physico-chimique des hybrides.....	136
4.2.1.1. Etude structurale des hybrides par diffraction des rayons X.....	136
4.2.1.2. Etude structurale des hybrides par Infrarouge à transformée de Fourier-Nature des interactions avec le feuillet HDL.....	141
4.2.1.3. Etude de la stabilité thermique par analyse thermogravimétrique ATG et analyse enthalpique différentielle DSC.....	143
4.2.2. Préparation des suspensions colloïdales : Modulation de la taille des hybrides Lip@Mg ₂ Al.....	146
4.2.2.1. Les suspensions précurseurs HDL Mg ₂ Al@X (avec X = Cl ⁻ , NO ₃ ⁻).....	146
4.2.2.2. Les suspensions colloïdales Lip@Mg ₂ Al.....	148
Références Bibliographiques.....	155

Chapitre 5 - Synthèse et caractérisation de nanostructures magnétique@HDL comme réservoirs de flurbiprofène : étude préliminaire

Introduction.....	158
5.1. Matériel et Méthodes.....	159
5.1.1. Réactifs.....	159
5.1.2. Elaboration des matériaux.....	159
5.1.2.1. Synthèse du ferrite MgFe ₂ O ₄ par la voie HDL.....	159
5.1.2.2. Synthèse des hybrides MgFe ₂ O ₄ @Mg ₂ Al-Flurbiprofène.....	160
5.1.3. Caractérisations des matériaux synthétisés.....	160
5.2. Résultats et discussion.....	161
5.2.1. Caractérisation des phases HDL Mg ₂ Fe précurseur pour la synthèse de ferrite.....	161
5.2.1.1. Analyse par diffraction des rayons X.....	161
5.2.1.2. Analyse vibrationnelle par spectroscopie IRTF.....	164
5.2.1.3. Analyse de la morphologie des matériaux.....	165
5.2.1.4. Propriétés texturales des matériaux.....	167
5.2.2. Caractérisation du ferrite MgFe ₂ O ₄	168
5.2.2.1. Etude préliminaire du comportement thermique des phase HDL par analyse thermogravimétrique.....	168
5.2.2.2. Etude structurale du ferrite MgFe ₂ O ₄	170

5.2.2.3. Analyse vibrationnelle par spectroscopie IRTF.....	173
5.2.2.4. Etude de la morphologie des ferrites.....	173
5.2.3. Caractérisation des hybrides $MgFe_2O_4@Mg_2Al$ -Flurbiprofène.....	174
5.2.3.1. Analyse structurale par DRX.....	175
5.2.3.2. Analyse vibrationnelle par spectroscopie IRTF.....	177
5.2.3.3. Analyse thermogravimétrique des hybrides.....	179
5.2.3.4. Mesures magnétiques.....	179
Références Bibliographiques.....	183

Chapitre 6 - Synthèse de nanostructures magnétiques@HDL de type multi-cœurs-couronne et application comme nanovecteurs pour l'Ibuprofène

Introduction.....	185
6.1. Matériel et Méthodes.....	186
6.1.1. Réactifs.....	186
6.1.2. Elaboration des matériaux.....	186
6.1.2.1. Synthèse des NPs de magnétites par la méthode solvothermale.....	186
6.1.2.2. Assemblage des NPs $Fe_3O_4@Mg_2Al$ -Ibuprofène.....	187
6.1.3. Caractérisations des matériaux synthétisés.....	188
6.2. Résultats et discussion.....	188
6.2.1. Caractérisation structurale des NPs de magnétite.....	188
6.2.2. Caractérisation structurale des hybrides $Fe_3O_4@Mg_2Al$ -Ibu.....	191
6.2.2.1. Caractérisation par diffraction des rayons X.....	191
6.2.2.2. Caractérisation par microscopie électronique en transmission.....	193
6.2.2.3. Détermination de la composition chimique des matériaux.....	194
6.2.2.4. Caractérisations vibrationnelles par IRTF.....	195
6.2.2.5. Caractérisations magnétiques.....	197
6.2.3. Etude de la cinétique de libération de l'Ibu par la méthode de centrifugation.....	199
6.2.3.1. Cinétique de libération de l'Ibu proprement dite.....	199
6.2.3.2. Modélisation des mécanismes de libération de l'Ibu.....	201
Références Bibliographiques.....	206
Conclusion générale et perspectives.....	208

Annexes

Annexe A. Publication.....	213
Annexe B. Résultats supplémentaires du chapitre 3.....	224

Liste des figures

Chapitre 1

Figure 1.1 : Schéma illustrant la zone thérapeutique et ses limites lors de : (a) l'administration multiple d'un PA conventionnel, et (b) l'administration unique du PA au moyen d'un système de vectorisation de médicaments.....	5
Figure 1.2 : Schéma représentant un système efficace de vectorisation d'un PA.....	6
Figure 1.3 : Le liposome. (a) Illustration montrant la structure tridimensionnelle d'un liposome. (b) Micrographies obtenues par cryo-microscopie électronique en transmission de liposomes associés à une molécule d'origine biologique : l'ADN.....	9
Figure 1.4 : Les micelles. (a) Schéma illustrant une micelle contenant un PA (en rouge). (b) Micrographies de certaines morphologies de micelles communément rapportées dans la littérature, obtenues par Microscopie Electronique en Transmission (MET). (1) Sphères, (B) toroïdes, (C) vermiculaire et (D) vésicules.....	10
Figure 1.5 : Les nanocapsules. (a) Représentation schématique d'une nanocapsule (en orange) contenant, en son cœur un PA (triangle jaune). b) Micrographie d'une nanocapsule de pilocarpine chargée dans du Poly(ϵ -caprolactone), généralement utilisée dans le traitement du glaucome, obtenue par MET.....	11
Figure 1.6 : Les dendrimères. (a) Structure générale. (b) Micrographie d'un dendrimère observé par MET.....	12
Figure 1.7 : Micrographies de différents types de NPs inorganiques observées par microscopie électronique : (a) nanoparticule métallique d'or, (b) NPs de magnétite, (c) NPs de silice creuse et (d) nanotube de carbone.....	12
Figure 1.8 : Les argiles naturelles cationiques. Représentation schématique de la structure d'une montmorillonite.....	16
Figure 1.9 : Les Hydroxydes doubles lamellaires. (a) Représentation schématique de la structure 3D d'un HDL. (b) Micrographie d'une forme hexagonale des plaquettes d'HDL observées au Microscope Electronique à Balayage (MEB).....	18
Figure 1.10 : Schéma regroupant les différentes voies de synthèse des matériaux HDL et d'intercalation des molécules d'intérêt. (a) Coprécipitation. (b) Echange anionique. (c) Reconstruction. (d) Exfoliation-réempilement, (e) Principe de l'adsorbubilisation.....	21
Figure 1.11 : Micrographies des phases HDL de type (a) Mg_3Al-Cl et (b) Mg_3Al-CO_3 préparées par coprécipitation, à pH constant et observées par MEB.....	22
Figure 1.12 : Images des hybrides HDL avant et après délamination/reconstruction obtenues par micrographies électroniques.....	24
Figure 1.13 : Micrographies d'une phase HDL préparée par hydrolyse de l'urée et observée par MEB.....	26
Figure 1.14 : Coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal. (a) Distribution granulométrique, et (b) micrographie d'une suspension colloïdale d'HDL synthétisée à 100 °C pendant 18 h, observée par MET.....	27

Figure 1.15 : Facteurs influençant la toxicité des HDL. Le schéma illustrant la corrélation entre la composition chimique, la taille et la stabilité chimique des particules HDL et leur niveau de cytotoxicité.....	38
Figure 1.16 : Biocompatibilité des HDL <i>in vivo</i>	40
Figure 1.17 : Structure Spinelle inverse. Schéma illustrant la structure cristalline la plus simple d'une ferrite : la magnétite Fe ₃ O ₄	42
Figure 1.18 : Schéma illustrant l'arrangement des moments magnétiques des matériaux magnétiques en présence et en absence de champ magnétique.....	43
Figure 1.19 : Courbes d'aimantation des matériaux (a) paramagnétique, (b) ferromagnétique et (c) superparamagnétique d'après Pankhurst <i>et al.</i>	45
Figure 1. 20 : Cycle d'hystérésis des matériaux magnétiques dits doux (courbe en bleu) et durs (courbe en noir).....	46
Figure 1. 21 : Schéma représentant le principe du ciblage magnétique de médicament pour le traitement de certain cancer.....	47
Figure 1. 22 : Images MET de ferrites synthétisées par divers procédés : (a) Fe ₂ O ₃ / coprécipitation, (b) Fe ₃ O ₄ / microémulsion, (c) Fe ₃ O ₄ /décomposition thermique, (d) Fe ₃ O ₄ / synthèse hydrothermale, et (e) Fe ₃ O ₄ /synthèse solvothermale.....	47
Figure 1.23 : Schéma représentant une nanoparticule aux fonctionnalités multiples pour une application dans le domaine de la vectorisation.....	50
Figure 1.24 : Micrographies de différentes structures hiérarchisées à base d'HDL : (a), (b) et (c) SiO ₂ @HDL, (d) zéolithe@HDL (e) NTC@HDL(f) HDL @ SiO ₂ , observées par MET.....	51
Figure 1. 25 : Synthèse des nanocomposites Fe ₃ O ₄ @HDL-PA par coprécipitation. (a) Représentation schématique du processus de synthèse avec PA : diclofénac (Dic). (b) Micrographie de Fe ₃ O ₄ @HDL-Dic observées par MET.....	52
Figure 1. 26 : Synthèse des nanocomposites Fe ₃ O ₄ @HDL-PA par calcination-reconstruction. (a) Schéma résumant le principe général de la synthèse. (b) Micrographie de particules de Fe ₃ O ₄ @C@HDL observées par MEB. (c) Micrographie de particules de Fe ₃ O ₄ @ HDL-DFUR observées par MET.....	53
Figure 1. 27 : Les différents stimuli utilisés pour le déclenchement de la libération d'un PA.....	56
Figure 1. 28 : (a) Cinétique de libération du diclofénac à partir du Fe ₃ O ₄ @HDL-Dic dans un tampon PBS pH = 7,45 ■ Fe ₃ O ₄ @HDL-Dic, ● HDL-Dic, △ Dic+HDL (= mélange physique des deux entités), ★ Dic+HDL (CM On), ▼ Fe ₃ O ₄ @HDL-Dic (CM On) ; (b) Mécanismes de diffusion du PA par stimuli magnétique de type on/off et les différentes voies de libération.....	58
Figure 1. 29 : Libération du méthotrexate en réponse à un stimulus externe. (a) Image MET Fe ₃ O ₄ @MTX-HDL/Au NPs. (b) Profil de libération du MTX dans un tampon PBS = 7,45 en présence et en absence d'un champ magnétique. (c) Comparaison des tests de viabilité cellulaire au contact de NPs de Fe ₃ O ₄ @MTX-HDL/Au en présence et en absence d'irradiation infrarouge.....	59

Figure 1. 30 : Evolution des matériaux HDL à visée médicale.....	61
--	----

Chapitre 2

Figure 2.1 : Photographie du montage automatisé et assisté par ordinateur utilisé pour la synthèse des hybrides HDL par coprécipitation (I.C.C.F.).....	71
Figure 2.2 : Montage utilisé pour la synthèse des hybrides de type cœur@HDL-PA à l'I.C.G de Montpellier.....	73
Figure 2.3 : Dispositif expérimental pour la synthèse des composés HDL utilisé au C.R.A.P.C.....	74
Figure 2.4 : Schéma simplifié regroupant les principales étapes de la préparation d'une suspension colloïdale d'HDL.....	75
Figure 2.5 : Echange anionique $\text{NO}_3^- \leftrightarrow \text{PA}$ en solution aqueuse sous flux d'azote.....	76
Figure 2.6 : Schéma simplifié regroupant les étapes de synthèse des particules magnétiques par la méthode solvothermale.....	77
Figure 2.7 : Diagramme pour la synthèse de ferrites MgFe_2O_4	78
Figure 2.8 : Représentation schématique des étapes de synthèse suivies pour la préparation des hybrides de type cœur@HDL-PA.....	79
Figure 2.9 : Représentation schématique des différents modes de libération du PA et des allures des cinétiques de libération correspondantes.....	80
Figure 2.10 : Tests <i>in vitro</i> de libération de PA en utilisant la roue d'agitation.....	81
Figure 2.11 : Diffraction des rayons X pour des matériaux à base d'HDL. (a) Diffractogramme X d'une phase HDL $\text{Mg}_2\text{Al@CO}_3$ obtenue par coprécipitation. (b) Représentation de la maille hexagonale constituée de l'empilement de trois feuillets/interfeuillets, dans le groupe d'espace $R\bar{3}m$	82
Figure 2.12 : Diffractogramme X d'une phase hybride Flurbiprofène@ Mg_2Al	83
Figure 2.13 : Diffractogramme X typique de la magnétite.....	85
Figure 2.14 : Les domaines d'absorption bandes correspondant aux principales vibrations des phases hybrides HDL déterminées par spectroscopie IRTF.....	86
Figure 2.15 : Les informations fournies par la spectroscopie Raman d'une phase $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ contenant des anions Cl^- : (a) comparaison entre les techniques IRTF et Raman entre 100 et 1100 cm^{-1} et (b) 3000 et 4000 cm^{-1}	88
Figure 2.16 : Principe de la spectroscopie RMN. (a) Orientation du rotor selon l'axe formant l'angle magique avec le champ magnétique statique B_0 . (b) Séquence de transfert de polarisation CP sous rotation à l'angle magiques des spins I abondant vers les spins S rares.....	89
Figure 2.17 : Spectres d'absorption UV-Vis de la ciprofloxacine (a) en solution, (b) A l'état solide.....	91
Figure 2.18 : Courbe d'étalonnage de la ciprofloxacine dans un tampon phosphate pH 7.5.....	91
Figure 2.19 : Thermogramme ATG-DTG d'une phase $\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$	93
Figure 2.20 : Principe de fonctionnement d'un ICP-AES.....	94
Figure 2.21 : Images de phases HDL observées par (a) MEB et (b) MET.....	95
Figure 2.22 : Schéma simplifié de la formation d'une image en microscopie électronique en transmission.....	96

Figure 2.23 : Schéma du principe de la DLS.....	99
Figure 2.24 : Magnétomètre à échantillon vibrant. (a) principe. (b) Cycle d'aimantation en fonction du champ appliqué pour un matériau ferro/ferrimagnétique massif.....	102

Chapitre 3

Figure 3.1 : Diffractogrammes des rayons X des échantillons Zn ₂ Al-CIP et Mg ₂ Al-CIP préparés par coprécipitation en utilisant (a) CIP/Al = 0,5 et (b) CIP _{HCl} /Al = 1,0.....	111
Figure 3.2 : Structure moléculaire de la ciprofloxacine extraite de la structure cristalline de la forme hydrochlorée 1,34 hydrate.....	112
Figure 3.3 : Analyse de profil du diffractogramme DRX de Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0} : diagramme expérimental (cercle), calculé (ligne continue), positions des réflexions de Bragg (tirets) et la différence entre les deux profils expérimental et calculé.....	113
Figure 3.4 : Images MET-HR de (a) Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0} (la barre d'échelle indique 20 nm) (b) Zn ₂ Al-CIP _{HCl@0.5} (la barre d'échelle indique 10 nm).....	114
Figure 3.5 : Structure chimique de la CIP _{HCl} avec les labels atomiques utilisés pour attribuer les spectres RMN ¹³ C CP MAS (à gauche). Spectres RMN ¹³ C des sels CIP et les échantillons intercalés Zn ₂ Al-CIP (à droite).....	118
Figure 3.6 : Spectres UV-Vis des échantillons Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0} et Zn ₂ Al-CIP _{HCl@0.5} préparés sous forme de dépôts avec une solution aqueuse de CIP _{HCl} à pH 10,5 (1.10 ⁻⁴ mg.mL ⁻¹).....	120
Figure 3.7 : (a) Cinétique de libération cumulée de la CIP réalisée dans du PBS à pH = 7,50 et à partir des échantillons Zn ₂ Al-CIP. (b) Images MEB de Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0} (à gauche), Zn ₂ Al-CIP _{HCl@0.5} (à droite).....	121
Figure 3.8 : Schéma représentant la disposition des molécules de CIP dans l'espace interlamellaire de l'échantillon Zn ₂ Al-CIP _{zw@0.5} représentatif de tous les échantillons préparés avec CIP/Al = 0,5.....	125
Figure 3.9 : Modèle structural de Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0} déduite à partir de : (a) la courbe de densité électronique projeté suivant l'axe d'empilement c. (b) La carte de Patterson sommée entre 0 et 1 suivant l'axe b.....	126

Chapitre 4

Figure 4.1 : Structure chimique de l'acide α-lipoïque.....	131
Figure 4.2 : Acide α-lipoïque. (a) Structure chimique et dimensions de la molécule d'ALA, (b) Diagramme de spéciation de l'ALA.....	134
Figure 4.3 : Diffractogrammes X des échantillons (A) : (a) Zn ₂ Al@Cl, (b) Zn ₂ Ga@Cl et (c) Cu ₂ Al@Cl. (B) : (d) Lip@Zn ₂ Al (e) Lip@Zn ₂ Ga et (f) Lip@Cu ₂ Al.....	138
Figure 4.4 : Représentation d'un feuillet HDL contenant du lipote.....	140
Figure 4.5 : Spectres IRTF (a) ALA, (b) Lip@Cu ₂ Al, (c) Lip@Zn ₁ Cu ₁ Al et (d) Lip@Zn ₂ Al.....	141
Figure 4.6 : Différentes types d'interactions possibles entre un groupement carboxylique et un ion métallique.....	142
Figure 4.7 : Agrandissement dans la zone 1700- 1200 cm ⁻¹ pour les échantillons ((b) Lip@Cu ₂ Al, (c) Lip@Zn ₁ Cu ₁ Al et (d) Lip@Zn ₂ Al.....	143
Figure 4.8 : Résultats de l'analyse DSC de l'ALA, Lip@Zn ₂ Ga et Lip@Zn ₁ Cu ₁ Ga.....	144

Figure 4.9 : Analyse thermogravimétrique réalisée sur (a) l'ALA, (b) les hybrides Lip@Zn ₂ Ga et Lip@Zn ₁ Cu ₁ Ga.....	144
Figure 4.10 : Analyse thermogravimétrique réalisée sur les hybrides intercalés et les précurseurs de composition (a) Zn/Ga (b) ZnCu/Ga.....	145
Figure 4.11 : Suspension colloïdale de NPs du précurseur Mg ₂ Al@Cl obtenue après 16 h à 100°C. (a) photographie de la suspension colloïdale, (b) Diffractogramme X, (c) Micrographie des NPs observées par MET.....	147
Figure 4.12 : Diffractogrammes X de la phase Lip@Mg ₂ Al obtenue (a) avant et (b) après TH à 100°C pendant 16 h.....	149
Figure 4.13 : Spectre IRTF de la phase Lip@Mg ₂ Al obtenue après TH à 100°C pendant 16 h.....	150
Figure 4.14 : Suspension colloïdale de la phase Lip@Mg ₂ Al. (a) Suspension fraîchement préparée, (b) suspension diluée. (c) Distribution de taille en intensité de la suspension mesurée en milieu dilué.....	151
Figure 4.15 : Diffractogrammes X des phases Lip@Mg ₂ Al obtenues après TH à 100°C pendant 16 h avec un rapport ALA/Al = 1, 2 et 4.....	152
Figure 4.16 : Diffractogrammes X des phases Lip@Mg ₂ Al obtenus après TH à 100°C pendant 5, 8, 16 et 19 h avec un rapport ALA/Al =2.....	153
Figure 4.17 : Photographies des phases Lip@Mg ₂ Al obtenues après TH à 100°C (a) rapport ALA/Al = 1 pendant 16 h. (b) rapport ALA/Al = 2 durant 19 h, observées par MEB à deux grossissements différents.....	154
Figure 4.18 : Comparaison de la taille des nanoparticules Lip@Mg ₂ Al (ALA/Al =1) (a) suspension fraîchement préparée, (b) après 10 j.....	155

Chapitre 5

Figure 5.1 : Le Flurbiprofène. (a) Structure chimique et, (b) dimensions du Flur.....	159
Figure 5.2 : Diffractogrammes RX des phases Mg ₂ Fe@NO ₃ préparées en présence de (a) 0 %, (b) 0,5 % (c) 2 % et (d) 5 % de PEG.....	162
Figure 5.3 : Spectres IRTF des phases Mg ₂ Fe@NO ₃ préparées en en absence de PEG (a), et en présence de 0,5 % PEG (b) 2 % PEG (c) et enfin 5 % PEG.....	164
Figure 5.4 : Micrographies des phases Mg ₂ Fe@NO ₃ préparées en (a) absence de PEG et en présence de (b) 0,5 % PEG ; (c) 2 % PEG et (d) 5 % PEG, obtenues par MEB.....	166
Figure 5.5 : Isothermes adsorption-désorption d'azote de l'échantillon référence Mg ₂ Fe@NO ₃ (0 % PEG).....	167
Figure 5.6 : Schéma représentant le processus de l'évolution thermique de l'HDL vers le spinelle.....	168
Figure 5.7 : (A) Résultats des analyses thermogravimétriques effectuées sur les HDL Mg ₂ Fe@NO ₃ (a) 0,5 % PEG, (b) 2 % PEG, et (c) 5 % PEG. (B) Thermogramme ATG/DTG de l'échantillon Mg ₂ Fe@NO ₃	169
Figure 5.8 : Diffractogrammes DRX des NPs MgFe ₂ O ₄ (a) 0 % PEG, (b) 0,5 % PEG, (c) 2 % PEG (d) 5 % PEG.....	170
Figure 5.9 : Spectres IRTF des NPs MgFe ₂ O ₄ préparées en présence de (a) 0,5 %, (b) 2 % et (c) 5 % de PEG dans un domaine spectral (A) 4000-400 cm ⁻¹ et (B) 1000-400 cm ⁻¹	173

Figure 5.10 : Micrographies des NPs $MgFe_2O_4$. (a) 0 % PEG ; (b) 2 % PEG, observées par MEB. (c) Micrographies de NPs $MgFe_2O_4$ (2 % PEG) observées par MET.....	174
Figure 5.11 : Diagramme de spéciation du Flur.....	175
Figure 5.12 : Diffractogrammes RX des échantillons préparés par coprécipitation. (a) $Mg_2Al@NO_3$, (b) $Mg_2Al@Flur$ et (c) $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$	175
Figure 5.13 : Spectres IRTF du Flur, $Mg_2Al@NO_3$, $Mg_2Al@Flur$ et $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$	177
Figure 5.14: Spectres IRTF des hybrides $Mg_2Al@Flur$ et $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$ dans la zone 2000-1000 cm^{-1}	178
Figure 5.15 : Thermogrammes ATG des échantillons (a) Flur, (b) $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flu$, (c) $Mg_2Al@Flur$ et (d) $Mg_2Al@NO_3$	179
Figure 5.16 : Courbes d'aimantation M(H) des NPs (a) $MgFe_2O_4$ et, (b) $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$	180
Figure 5.17 : Clichés de l'hybride $MgFe_2O_4@HDL-Flur$, observés par MET.....	182

Chapitre 6

Figure 6.1 : Structure chimique et dimension de la molécule d'ibuprofène.....	185
Figure 6.2 : Diffractogrammes RX des NPs de Fe_3O_4 préparées dans différentes conditions. En présence d'AcNa (a) à 200°C/24h, (b) à 210°C/24h ou en présence d'urée (c) à 200°C/12h et, (d) à 200°C/24h.....	189
Figure 6.3 : Caractérisation de la magnétite élaborée en présence d'AcNa à 200°C/24 h par (a) MEB et par (b) MET.....	190
Figure 6.4 : Spectre IRTF des NPs de Fe_3O_4 préparées en présence d'AcNa à (a) 200°C/24 h et (b) 210°C/24 h.....	191
Figure 6.5 : Diffractogrammes RX des phases (a) $Mg_2Al@HDL$, (b) $Fe_3O_4@Mg_2Al$, (c) $Mg_2Al@Ibu$ et, (d) $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$	191
Figure 6.6 : Micrographie caractéristique d'une structure multi cœurs-couronne de l'échantillon $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$, observée par MET.....	194
Figure 6.7 : Spectres IRTF enregistrés dans le domaine 400-4000 cm^{-1} (à gauche) et le domaine 2000-1000 cm^{-1} (à droite) des échantillons (a) Ibu pur, (b) $Mg_2Al@Ibu$ et (c) $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$	195
Figure 6.8 : Courbes d'aimantation M(H) des NPs $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$	197
Figure 6.9 : Cartographies des éléments Mg, Al, Fe, C et O dans $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$	199
Figure 6.10 : Droite d'étalonnage représentant l'absorbance à 265 nm en fonction de la concentration d'Ibu, réalisée en solution PBS à pH 7,4.....	199
Figure 6.11 : Comparaison des profils de libération de l'Ibu à partir des hybrides dans un tampon PBS à pH 7,4.....	200
Figure 6.12 : Représentations graphiques des cinétiques de libération selon les modèles (a) Ordre 0, (b) Ordre 1, (c) Higuchi et (d) Korsmeyer Peppas.....	203

Conclusion générale & perspectives

Figure 7.1 : Schéma illustrant la démarche et les principaux résultats de cette thèse.....	209
--	-----

Liste des tableaux

Chapitre 1

Tableau 1.1. Exemples d'évaluation <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> de la toxicité de quelques hybrides obtenus par différentes méthodes.....	37
Tableau 1.2. Principales caractéristiques des méthodes de synthèses des NPs magnétiques.....	48
Tableau 1.3. Quelques nanocomposites magnétiques de type cœur@HDL-PA et leurs propriétés tels que décrits dans la littérature.....	55

Chapitre 2

Tableau 2.1. Bandes IR caractéristiques de la magnétite et la maghémite.....	87
Tableau 2.2. Méthodologie pour la caractérisation des hybrides cœur@HDL-PA.....	103

Chapitre 3

Tableau 3.1. Analyses chimiques et formules proposées des échantillons intercalés par la CIP.....	117
Tableau 3.2. Constantes cinétiques de libération du CIP à partir des phases hôtes HDL dans un milieu PBS.....	123

Chapitre 4

Tableau 4.1. Paramètres de synthèse utilisés pour la préparation des HDL.....	134
Tableau 4.2. Paramètres de maille pour les précurseurs chlorures et les phases intercalées.....	139
Tableau 4.3. Attributions des bandes observées sur les spectres IRTF.....	142
Tableau 4.4. Formules chimique théorique proposées pour les phases HDL et les hybrides.....	146
Tableau 4.5. Taille des particules et potentiel zêta des phases HDL précurseurs en fonction des conditions de synthèse.....	148
Tableau 4.6. Paramètres de maille des phases Lip@Mg ₂ Al TH à 100°C pendant 16 h aux différents rapports ALA/Al.....	152
Tableau 4.7. Paramètres de maille des phases Lip@Mg ₂ Al préparés à 100°C avec un rapport ALA/Al = 2:1.....	153
Tableau 4.8. Récapitulatifs des conditions de synthèses et des résultats de mesure DLS des suspensions Lip@Mg ₂ Al.....	154

Chapitre 5

Tableau 5.1. Propriétés structurales des phases HDL Mg ₂ Fe@NO ₃	163
Tableau 5.2. Propriétés texturales de quelques phases Mg ₂ Fe@NO ₃	167
Tableau 5.3. Paramètres de maille et taille des particules des NPs MgFe ₂ O ₄	171
Tableau 5.4. Propriétés des NPs MgFe ₂ O ₄ obtenus par différentes voies de synthèses.....	172
Tableau 5.5. Distances réticulaires et paramètres de maille des échantillons préparés.	176
Tableau 5.6. Valeurs des paramètres des mesures magnétiques.....	180
Tableau 5.7. Comportement magnétique et taille des NPs MgFe ₂ O ₄ synthétisées par diverses méthodes.....	181

Chapitre 6

Tableau 6.1. Paramètres de synthèses des NPs de magnétite par voie solvothermale.....	187
Tableau 6.2. Caractéristiques des phases préparées.....	192
Tableau 6.3. Composition et formules chimiques des matériaux préparés.....	194
Tableau 6.4. Bandes d'absorption IRTF caractéristiques de l'Ibu et des hybrides préparés.....	196

Tableau 6.5. Valeurs des paramètres des mesures magnétiques.....	197
Tableau 6.6. Caractéristiques des modèles mathématiques appliqués.....	201
Tableau 6.7. Coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres cinétiques obtenus selon les modèles appliqués dans les trois zones du profiles de libération.....	204

Conclusion générale & perspectives

Tableau 7.1. Quantité maximale de CIP encapsulée dans quelques vecteurs particuliers.....	210
---	-----

Acronymes et Symboles

Principes actifs

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
ALA	Acide alpha lipoïque
ASA	Acide acétylsalicylique
CIP	Ciprofloxacine
CIP _{ZW}	Ciprofloxacine zwitterion
CIP _{HCl}	Chlorhydrate de ciprofloxacine
DFUR	Doxifluridine
Dic	Diclofenac
Dox	Doxorubicine
5-FU	5 fluorouracile
Flur	Flurbiprofène
Ibu	Ibuprofène
MTX	Méthotrexate
Lip	Anion lipoate
PA (s)	Principe (s) actif (s)
L-dopa	Lévodopa
PE	Périndopril erbumine

Techniques de caractérisation

ATG	Analyse thermogravimétrique
ATG /DSC	Analyse thermogravimétrique Analyse thermogravimétrique couplée à Analyse thermique différentielle
ATG /DSC/SM	Analyse thermogravimétrique Analyse thermogravimétrique couplée simultanément à Analyse thermique différentielle et à un détecteur de masse
ATG /SM	ATG couplée à un détecteur de masse
ATR	Réflexion Totale Atténuée (Attenuated Total Reflection)
BET	Brunauer, Emmett et Teller
BJH	Barrett, Joyner et Halenda
CHNS	Analyse élémentaire chimique
CPMAS	Polarisation croisée et rotation à l'angle magique
DSC	Analyse thermique différentielle (Differential Scanning Calorimetry)
DLS	Diffusion Dynamique de Lumière (Dynamic Light Scattering)
DRX	Diffraction des rayons X
DTG	Dérivée d'une courbe thermogravimétrique
EDS	Energy Dispersive X-rays Spectrometry
FEG	Canon à émission de champ (Field Emission Gun)
ICP-AES	Spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif
IRTF	Infra-Rouge à Transformée de Fourier
IRM	Imagerie par résonance magnétique
MS	Spectrométrie de masse
MI	Microscopie électronique
MEB	Microscopie électronique à balayage
MET	Microscopie électronique à transmission

MET-HR	Microscopie électronique en transmission à haute résolution
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
UV-Vis	Ultraviolet-visible
VSM	Magnétométrie à échantillon vibrant (Vibrating sample magnetometer)

Lettres grecques

λ	Longueur d'onde
ξ	Potentiel zêta
θ	Angle
Δ	Ecart
ν	Vibration
δ	Degré d'inversion
δ	Déviation par rapport à la stœchiométrie en oxygène
μ	Moment magnétique
μ_0	Perméabilité du vide
χ	Susceptibilité magnétique

Unités

Å	Angström
H	Champ magnétique
h	Heures
Hz	Hertz
min	Minutes
m/z	Masse/charge
mL/min	Millilitre par minute
mEq	Milli-équivalent
nm	Nanomètre
Oe	øersted
pKa	pKa = - log ₁₀ Ka, Ka : constante d'acidité
pH	Potentiel hydrogène
ppm	Partie par million
rpm	Rotor par minute
M	Aimantation
Mr	Aimantation rémanente
Ms	Aimantation à saturation

Acronymes

A ⁿ⁻	Anion intercalé
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ARNsi	Petit acide ribonucléique interférant
AgNPs	Nanoparticules d'argent
AuNPs	Nanoparticules d'or
c.e.a.	Capacité d'échange anionique
CMC	Concentration micellaire critique
DDS	Système de délivrance de PA (Drug delivery system)
EDTA	Ethylènediaminrtétraacétique
ISO	Organisation internationale de normalisation

2D	Bidimensionnel
3D	Tridimensionnel
FITC	Isothiocyanate de fluorescéine
Fe ₂ O ₃	Maghémite
Fe ₃ O ₄	Magnétite
FDA	Food and Drug Administration
GSH	Glutathion
HDL	Hydroxydes Doubles Lamellaires
HLS	Hydroxydes Lamellaires Simples
ICSD	Inorganic crystal structure database
IONP	Iron oxide nanoparticles
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée (International Union of Pure and Applied Chemistry)
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
M ²⁺	Cation métallique divalent
M ³⁺	Cation métallique trivalent
MTT	Bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium
MW	Moléculaire weight (masse molaire)
Mt	Massz molaire totale
NP (s)	Nanoparticule (s)
NTA	Nitrilotriacétique
NTC	Nanotube de carbone
NaAc	Acétate de sodium
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Oh	Site octaédrique
O	Couche octaédrique
PBS	Solution saline tamponnée au phosphate / Tampon phosphate solution
PEG	Polyéthylène glycol
PEO	Polyéthylène oxyde
PLGA	Acide poly lactique-co-glycolique
P.O.	Postopératoire
PVA	Poly (alcool vinylique)
Réf (s)	Référence (s)
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SPIO NPs	Nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques (Superparamagnetic iron oxide nanoparticles)
Sym	Symétrique
Asym	Antisymétrique
TH	Traitement hydrothermal
Td	Site tétraédrique
T	Couche tétraédrique
x	Densité de charge
Zave	Z-Average

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

Les matériaux hybrides à caractère inorganique-organique permettent, grâce à leurs propriétés nouvelles associées à leur multifonctionnalité, l'émergence d'applications industrielles innovantes dans des domaines extrêmement variés. Un domaine très prometteur, mais qui nécessite encore un fort investissement en recherche fondamentale, concerne les vecteurs thérapeutiques intelligents et l'imagerie biomédicale.^[1,2] L'utilisation des nanotechnologies a permis la formulation de nano-objets intelligents de taille comparable à celle des constituants élémentaires du vivant, pouvant franchir nombre de barrières biologiques et ainsi s'insérer au cœur des cellules en y important leurs propriétés physiques et chimiques.^[3] Administrés dans l'organisme, ces nano-objets peuvent servir à la fois de traceurs pour l'imagerie médicale, de vecteurs pour transporter un médicament jusqu'à sa cible, de nano-robots à l'intérieur des cellules ou encore de sources locales de chaleur pour brûler les cellules malignes.^[4] Les nanotechnologies ont également permis d'imaginer des systèmes d'administration de médicaments (en anglais : Drug Delivery System) capables de modifier la pharmacocinétique et la biodistribution de principes actifs (PA), pour fonctionner comme des réservoirs/vecteurs de médicament, ou les deux à la fois, et devraient avoir la capacité d'améliorer plusieurs propriétés des médicaments telles que la solubilité, la stabilité, la réduction ou l'élimination des lésions tissulaires, la protection des médicaments, ou l'amélioration de leur efficacité.

Parmi les nano-objets envisagés pour la vectorisation de médicaments, on retrouve les composés inorganiques biocompatibles^[5] tels que le phosphate de calcium,^[6] les silices mésoporeuses organisées^[7] les argiles et les Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDL).^[8] Ces derniers, font d'ailleurs l'objet de nombreuses études à l'heure actuelle dont celle-ci. Dans le domaine biomédical, les nanoparticules (NPs) d'oxydes de fer (magnétite ou maghémite) connaissent aussi un fort développement. En effet, en présence d'un champ magnétique, ces NPs sont assimilables à des nano-aimants. Ainsi, cette propriété peut être mise à profit pour une utilisation dans les traitements par hyperthermie magnétique et également comme agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM).^[9,10] Par ailleurs, l'exploitation des propriétés magnétiques des NPs d'oxyde de fer, associées à la fonctionnalisation de surface par des molécules spécifiques, permet aussi d'envisager leur utilisation comme agents théranostiques *i.e.* des agents dotés d'une double fonctionnalité de diagnostique (biomarqueur, sonde d'imagerie) et thérapeutique (vecteur de médicament).^[11]

Ainsi, ces « *nanothéragnostiques* » ouvrent des perspectives nouvelles dans le domaine de la médecine personnalisée. En effet, des matériaux nanocomposites peuvent être élaborés en associant des composés de différentes natures. Comme exemple, nous pouvons citer l'incorporation de NPs magnétiques dans des particules d'HDL couplées à des molécules biologiques, qui permet de conférer des propriétés mixtes déjà largement mises à profit dans les systèmes de vectorisation d'ADN, de protéines, de cellules ou encore dans les immuno-essais magnétiques.^[12,13] Néanmoins, l'utilisation de matériaux dans des applications touchant au domaine de la vectorisation, exige certaines propriétés dont : *i)* les caractères biocompatible et biodégradable, *ii)* la capacité à encapsuler des molécules à visées pharmacologiques, *iii)* la capacité à délivrer la substance active en un temps prédéfini et, dans certains cas, *iv)* la capacité à délivrer la substance active vers un type particulier de cellules. En ce qui concerne les aspects liés aux propriétés d'insertion/intercalation, les matériaux HDL occupent une place importante. L'insertion faisant référence au phénomène d'entrée d'une entité chimique entre les feuillettes de la structure. Par ailleurs, le caractère bidimensionnel de ces matériaux permet un ajustement de la séparation interlamellaire en fonction de la géométrie de la molécule insérée et donc d'accéder à une grande diversité de composés d'intercalation.^[14]

La conception d'objets nanostructurés pour des applications en nanomédecine est un processus très complexe qui nécessite en amont la maîtrise et la compréhension de la synthèse des assemblages, leur propriétés structurales et leur comportement physico-chimiques. C'est ce que nous nous sommes proposés d'étudier dans le cadre de cette thèse qui a pour objectifs : *i)* l'élaboration de nano-hybrides lamellaires dérivés de phases de type HDL et incorporant des PA d'origine synthétique, *ii)* l'évaluation du potentiel de tels composés pour la libération contrôlée des PA par des expérimentations *in vitro*, *iii)* le développement de propriétés multifonctionnelles combinant d'une part le transport et la libération du PA mais également le ciblage grâce à l'élaboration d'hétérostructures HDL incorporant de NPs magnétiques. Le manuscrit de thèse se décline en 6 chapitres distincts qui permettent, d'aborder l'ensemble de ces points :

- Le chapitre 1 correspond à une revue bibliographique permettant de restituer la problématique de ce travail dans son contexte scientifique tout en se basant sur les données de la littérature et en présentant les principaux systèmes de vectorisation particuliers existants. Une attention particulière est portée aux matériaux HDL et leurs composites magnétiques. De plus, les propriétés particulières des NPs magnétiques et les contraintes en synthèse pour l'obtention d'objets de forme, de structure et de propriétés magnétiques bien contrôlées, sont également abordés ;

- Le chapitre 2 correspond à la partie expérimentale dans laquelle sont exposés les dispositifs et les méthodes de synthèses utilisés tout au long de ce travail. Les différentes techniques de caractérisation utilisées y sont également présentées ;

Les chapitres 3 et 4 décrivent pour *la première fois* et successivement, l'incorporation de la ciprofloxacine (CIP), un antibiotique de faible biodisponibilité orale et de l'acide alpha-lipoïque (ALA), un antioxydant utilisé comme agent thérapeutique et comme complément alimentaire dans des phases HDL : *Il est important de le préciser.*

- Dans le cas de la CIP, les résultats de ce travail sont décrits dans la publication réalisée dans la revue scientifique *The New Journal of Chemistry*. L'optimisation des conditions expérimentales d'insertion de la CIP au sein des phases HDL, les caractérisations physico-chimiques des matériaux et des expériences de libération de la CIP *in vitro*, sont détaillés et discutés dans le chapitre 3 ;

- Afin d'améliorer la solubilité aqueuse, la stabilité et la biodisponibilité de l'ALA, une étude de la vectorisation de l'ALA par des HDL de différentes composition a été réalisée. De plus, une partie des travaux est consacrée à la préparation des suspensions colloïdales, obtenues par des méthodes de synthèse permettant un contrôle précis de la nucléation des particules, évitant ainsi les phénomènes d'agglomération de celles-ci ;

- Le chapitre 5, correspond à l'étude préliminaire réalisée sur les structures magnétiques hiérarchisées *i.e.* des composites constitués d'HDL intercalés par du flurbiprofène (Flur) et chargés avec des NPs de ferrite de magnésium. Le Flur étant une molécule bien connue pour ses effets anti-inflammatoires mais qui est néanmoins, dotée d'une faible solubilité aqueuse et donc d'une mauvaise biodisponibilité. L'aspect de l'assemblage de ces structures, par voie de chimie douce, et, la description de leurs propriétés physico-chimiques qui en découlent, y sont détaillés et discutés. Dans ce chapitre, un intérêt tout particulier a été porté à la préparation de la ferrite de magnésium par la voie HDL ;

- Le chapitre 6 renferme la description de la stratégie employée pour l'élaboration de composites magnétiques à base d'HDL intercalés par l'ibuprofène (Ibu), un anti-inflammatoire non stéroïdien. Le chapitre est principalement axé sur l'élaboration d'une structure cœur-couronne par la méthode de coprécipitation *in situ*. Une fois leur principale propriété physico-chimique élucidée, l'étude de la libération de l'ibuprofène à partir de structures magnétiques hiérarchisées a été réalisée puis discutée.

Références bibliographiques

- [1] V. Sokolova, M. Epple. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (2008) 1382-1395.
- [2] N. Sanvicens, M.P. Marco. *Trends. Biotechnol.* 26 (2008) 425-433.
- [3] D.A. LaVan, T. McGuire, R. Langer. *Nat. Biotechnol.* 21 (2003) 1184-1191.
- [4] X. Yu, Y. Zhang, C. Chen, Q. Yao, M. Li. *Biochim. Biophys. Acta - Reviews on Cancer* 1805 (2010) 97-113.
- [5] P.R. Gil, D. Hühn, L.L. del Mercato, D. Sasse, W.J. Parak. *Pharm. Res.* 62 (2010) 115-125.
- [6] M. Zhang, K. Kataoka. *Nano Today* 4 (2009) 508-517.
- [7] J.L.V. Escoto, I.I. Slowing, B.G. Trewyn, V.S.Y. Lin. *Small* 6 (2010) 1952-1967.
- [8] D.H. Park, S.J. Hwang, J.M. Oh, J.H. Yang, J.H. Choy. *Prog. Polymer Sci.* 38 (2013) 1442-1486.
- [9] S.M. Cromer Berman, P. Walczak, J.W.M. Bulte. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 3 (2011) 343-355.
- [10] J.P. Fortin, C. Wilhelm, J. Servais, C. Menager, J.C. Bacri, F. Gazeau. *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 2628-2635.
- [11] H. Koo, M. S. Huh, I.C. Sun, S. H. Yuk, K. Choi, K. Kim, I. C. Kwon. *Acc. Chem. Res.* 44 (2011) 1018-1028.
- [12] K. Ladewig, M. Niebert, Z.P. Xu, P.P. Gray, G.Q.M. Lu. *Biomaterials* 31 (2010) 1821-1829.
- [13] L. Yan, S. Gonca, G. Zhu, W. Zhang, X. Chen. *J. Mater. Chem. B* 7 (2019) 5583-5601.
- [14] F. Leroux, C. Taviot-Gueho. *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 3628-3642.

Chapitre 1 :

Revue Bibliographique sur les **S**ystèmes de **V**ectorisation de **P**rincipes **A**ctifs



<https://www.technologynetworks.com/drug-discovery/articles/drug-delivery-322035>

1.1. La vectorisation de médicaments : Quel intérêt ?

Aucun médicament ne peut exercer une activité thérapeutique si le PA qu'il renferme n'est pas capable de franchir les barrières biologiques qui séparent le site d'administration du site d'action. Ainsi, le grand défi est de concentrer le médicament au niveau de son site d'action, tout en évitant sa distribution vers les tissus sains. Cependant, son accumulation au niveau de ces derniers, peut conduire à des effets secondaires indésirables car, en réalité, la dose nécessaire à la thérapie est généralement nettement supérieure à la dose efficace. Dans ce contexte, l'utilisation de systèmes de délivrance susceptibles de véhiculer un médicament de manière sélective vers son site d'action, est apparue indispensable.^[1]

En outre, l'essor considérable des nanotechnologies a permis de proposer le concept de la vectorisation.^[2] Cette méthode consiste à associer des PAs à un système de transport pour les acheminer à travers l'organisme vivant jusqu'à leur cible biologique.^[3] Dans ce cas, les PAs sont encapsulés et protégés par un vecteur synthétique ou naturel, puis délivrés de façon contrôlée, ce qui conduit à une augmentation de leur efficacité. En conséquence, les concentrations et fréquences d'administration peuvent être diminuées permettant ainsi une meilleure tolérance vis-à-vis du traitement (figure 1.1).

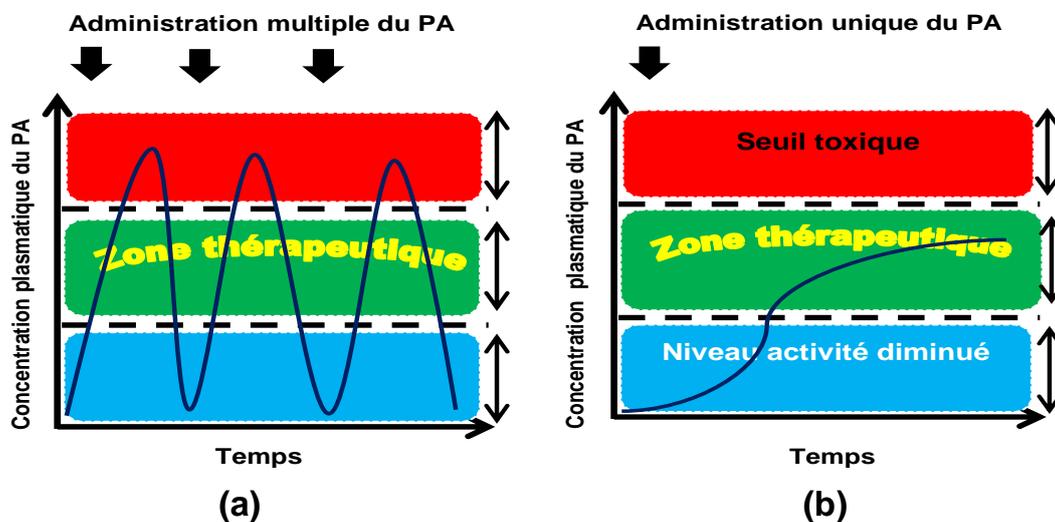


Figure 1.1 : Schéma illustrant la zone thérapeutique et ses limites lors de : **(a)** l'administration multiple d'un PA conventionnel, et **(b)** l'administration unique du PA au moyen d'un système de vectorisation de médicaments.^[4] L'effet pic et vallée est mis en avant dans cette figure. En effet, après administration du PA, un pic de concentration est obtenu (zones vertes), qui peut parfois aller au-dessus de la zone thérapeutique avec le risque d'atteindre le seuil de toxicité (zones rouges). Puis, la concentration du PA décroît jusqu'à la prochaine administration en atteignant, à la fin de l'intervalle entre les deux prises, une concentration inférieure à la zone thérapeutique (zones bleues). Ainsi, une concentration maintenue constante dans la fenêtre thérapeutique (schéma b) permet d'assurer un effet pharmacologique continu et d'éviter les risques de toxicité.

1.2. Les principales propriétés d'un système de vectorisation

Dans un système de vectorisation, un vecteur est un objet conçu pour transporter une grande quantité de PA tout en le protégeant et en limitant l'activité tout le long de son trajet vers la ou les zone(s) ciblée(s). De plus, les critères qui définissent les caractéristiques du **vecteur idéal** sont les suivants (figure 1.2) :^[5,6]

- La composition doit comprendre des composés relativement stables en milieu biologique, non toxiques pour l'organisme, biocompatibles (c.f. partie 1.4.4.6, page 33) et biodégradables, de manière à faciliter leur élimination ultérieure ;
- La liaison du vecteur avec la molécule active doit être suffisamment stable pour éviter sa libération prématurée. Le vecteur doit, en outre, assurer la protection du PA contre toute dégradation pendant son transport et éviter les interactions en dehors de la zone ciblée ;
- La taille du vecteur doit permettre, à la fois, le transport d'une quantité suffisante de PA et sa diffusion à travers diverses barrières biologiques (telles que : l'endothélium, les tissus, les organes, les cellules, le noyau, etc.) pour atteindre le site d'action ;

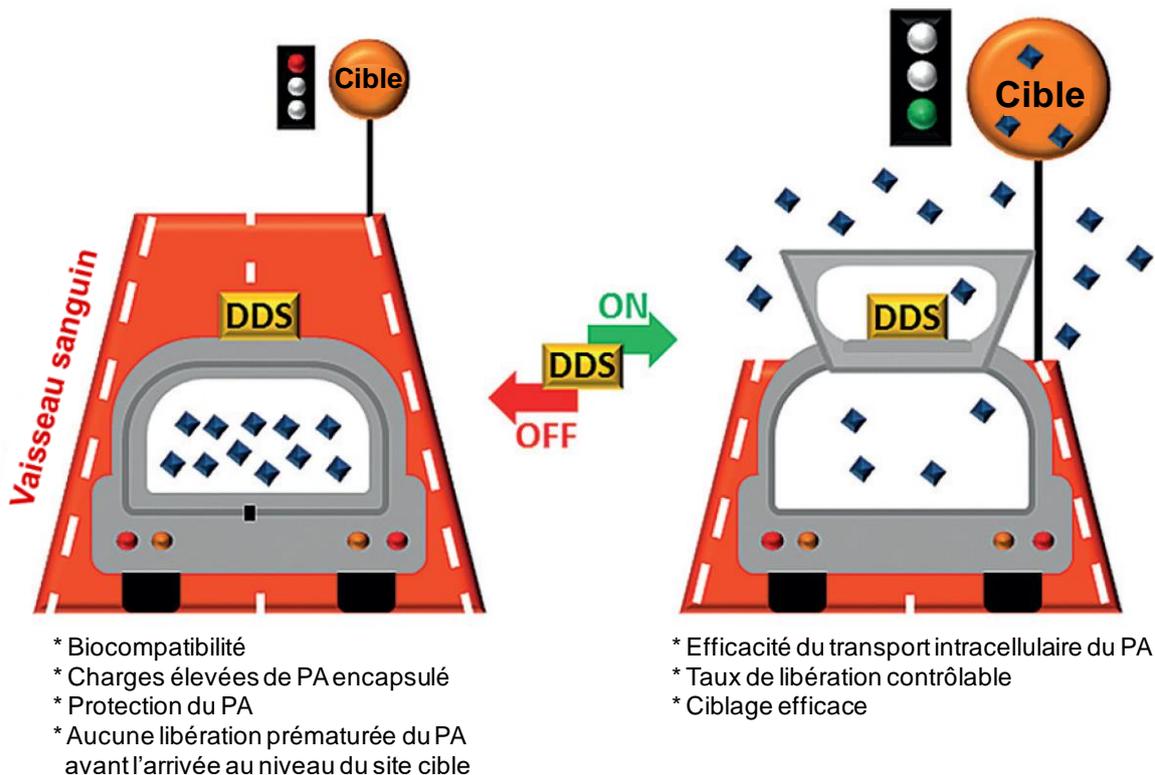


Figure 1.2 : Schéma représentant un système efficace de vectorisation d'un PA (d'après Giret et al. 2015^[7]). DDS = Système de délivrance de PA (de l'anglais Drug delivery system).

- d) Le vecteur, doit garder le PA de façon stable et active, posséder une grande spécificité vis-à-vis des cellules cibles et rester le plus longtemps possible dans la circulation sanguine pour atteindre sa cible ;
- e) Une fois arrivé au niveau de la zone à traiter, il doit délivrer le médicament à proximité ou à l'intérieur des cellules cibles. Ce processus de libération contrôlée est envisageable grâce aux propriétés des composés associés au vecteur (liaison réversible, sensibilité à une variation des conditions du milieu comme le pH, la température, la force ionique, l'état d'oxydo-réduction).

1.3. La nanotechnologie comme plate-forme pour le développement de nanovecteurs

Depuis l'énonciation de la théorie du *Magic Bullet** par le médecin allemand Paul Ehrlich, la recherche sur la vectorisation a donné naissance à plusieurs types de vecteurs conduisant à l'émergence de nouvelles voies d'administration de médicaments. De ce fait, les vecteurs peuvent être d'origine biologique et donc naturelle comme l'hémoglobine, ou encore d'origine synthétique telle que les nanoparticules.

La norme internationale ISO/TC 229,^[8,9] définit la nanotechnologie comme étant : « *l'application de connaissances scientifiques à des fins de manipulation et de contrôle de la matière (incluant la synthèse des matériaux), principalement à l'échelle nanométrique, afin d'utiliser des propriétés et des phénomènes dépendants de la taille et de la structure, différents de ceux associés aux atomes ou molécules individuels, ou aux extrapolations par rapport à des dimensions plus grandes du même matériau* ».

Aussi, rappelons ici qu'une nanoparticule est un objet dont la taille est au-dessous de 100 nanomètres dans au moins une dimension quand l'apparition de phénomènes liés à la dimension permet en général de nouvelles applications.

Par ailleurs, l'avancée spectaculaire dans le domaine des nanotechnologies associée aux propriétés uniques des nanoparticules (comme par exemple le rapport surface/volume élevé, les propriétés optiques et magnétiques, etc) ont permis de générer de nouveaux systèmes de traitement multifonctionnels.^[10] En effet, les efforts dédiés au développement des nanovecteurs dans le traitement des maladies complexes et l'amélioration des thérapies existantes se sont traduits par un nombre croissant de produits mis sur le marché. Citons notamment le domaine de la thérapie anticancéreuse où de nombreuses formulations anti-

* De l'anglais signifiant « balle magique », représente la première théorie du concept de la vectorisation. Elle stipule qu'une balle dite « magique » est capable de transporter des molécules chimiques à l'intérieur de l'organisme, et ce, à des concentrations biologiquement actives sans qu'elle ne représente pour autant un danger pour le patient, mais, présentant néanmoins une forte affinité pour le et/ou les site(s) d'action cible (s).

tumorales associées aux nanovecteurs ont été étudiées. Approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) en 2005, l'Abraxane® en est un exemple concret. Il s'agit là, d'une formulation nanoparticulaire à base de paclitaxel et d'albumine sérique humaine, indiquée en monothérapie pour le traitement du cancer du sein métastatique.^[11] Le paclitaxel étant lipophile, cette formulation permet d'augmenter sa solubilité tout en évitant l'utilisation d'excipients à effets notoires présents dans la forme conventionnelle.

Il est également intéressant de constater que l'utilisation des nanotechnologies a permis la formulation de nano-objets intelligents. Présentant des tailles comparables à celles des constituants élémentaires du vivant, ces nano-objets peuvent alors franchir nombre de barrières biologiques et ainsi s'insérer au cœur des cellules en y important leurs propriétés physiques et chimiques si particulières. Ainsi, administrés dans l'organisme, ces nano-objets peuvent servir à la fois de traceurs pour l'imagerie médicale, de vecteurs pour transporter un médicament jusqu'à sa cible ou encore de nano-robots à l'intérieur des cellules.^[12]

1.3.1. Les principales architectures utilisées en vectorisation

Il est possible à l'heure actuelle, grâce à l'essor croissant de la recherche dans le domaine de la nanobiotechnologie, de fabriquer des nanovecteurs avec des architectures diverses et variées qui sont par ailleurs adaptées à l'objectif thérapeutique préalablement fixé.^[13] Généralement, les nanovecteurs se caractérisent par deux composantes : un cœur et une enveloppe. Le cœur permet d'encapsuler, de transporter des molécules biologiquement actives ; alors que l'enveloppe peut être fonctionnalisée pour faciliter l'acheminement et le passage du vecteur au travers des barrières biologiques.^[13] En fonction de leur nature chimique, il existe plusieurs catégories de nanovecteurs utilisées dans le domaine de la vectorisation, à savoir : les nanovecteurs organiques et nanovecteurs inorganiques.

1.3.1.1. Les nanovecteurs organiques

Les nanovecteurs organiques regroupent les liposomes, les micelles, les nanocapsules et les dendrimères.

- Les liposomes

Les liposomes (figure 1.3-a) sont de petites vésicules constituées d'un ou de plusieurs phospholipides (tels que le phosphatidylglycérol, la phosphatidylsérine et la phosphatidylcholine), renfermant à l'intérieur un réservoir aqueux.^[14] Leurs caractères non toxique, biocompatible et biodégradable ont largement motivé leur développement en tant que

vecteurs comme par exemple pour des macromolécules biologiques telles que l'acide désoxyribonucléique ou ADN (figure 1.3-b).

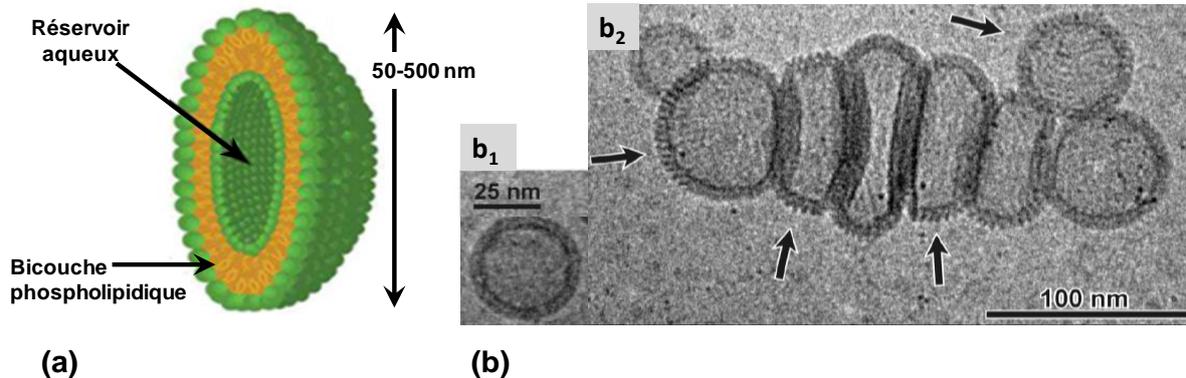


Figure 1.3 : Le liposome. (a) Illustration montrant la structure tridimensionnelle d'un liposome.^[15] (b) Micrographies obtenues par cryo-microscopie électronique en transmission de liposomes associés à une molécule d'origine biologique : l'ADN.^[16] (b₁) Aspect d'une vésicule liposomale cationique et unilamellaire en absence d'ADN. (b₂) Des molécules d'ADN de charge opposée à celle des vésicules lipidiques semble s'adsorber en monocouche et jouerait le rôle de « colle » moléculaire imposant une adhésion étroite des membranes des vésicules voisines formant ainsi un ensemble complexe en amas ADN-vésicule également appelé « cluster ». Dans ces amas, et plus exactement au niveau des jonctions entre les vésicules, ces dernières se déforment mais ne se rompent pas. Ainsi, les flèches noires indiquent les emplacements où l'ADN adsorbé aux vésicules est le mieux visible.

En fonction de leur taille et du nombre de bicouches lipidiques les composant, les liposomes peuvent être classés en trois (03) types. Ainsi, en fonction de leur taille croissante, nous distinguons :^[17]

- Les liposomes unilamellaires de petite taille, de contenance faible et de distribution de taille de **20 à 50 nm** ;
- Les liposomes multilamellaires, relativement stables mais polydispersés de **80 nm à 10 µm**
- Les liposomes unilamellaires larges de diamètre moyen variant entre **0,2 à 1 µm**.

Dans le cas d'applications ciblant la vectorisation de médicaments, les liposomes utilisés sont généralement unilamellaires. Néanmoins, les multilamellaires représentent les liposomes de choix pour des utilisations en tant que médicaments à libération lente ou prolongée. Parmi les médicaments mis sur le marché et transportés par les liposomes, citons l'Abelcet®. C'est une suspension liposomale d'amphotéricine B, un antimycosique à large spectre actif sur les mycoses systémiques.^[18] Il s'avère que les médicaments hydrophiles et lipophiles peuvent être transportés à l'intérieur du réservoir aqueux ou dans les bicouches lipidiques, respectivement.^[19] Cependant, les liposomes peuvent présenter quelques inconvénients. En effet, la membrane de ces derniers est généralement mince, fragile et donc intrinsèquement

non stable. Les liposomes sont également limités par leur faible efficacité d'encapsulation et leur mauvaise stabilité lors du stockage.^[20]

- Les micelles

Les micelles sont des auto-assemblages[†] de 10 à 100 nm constituées d'une couronne de polymères amphiphiles (figure 1.4-a). En milieu aqueux, leurs parties hydrophobes sont orientées au cœur de la micelle et exposent en surface uniquement leurs domaines hydrophiles.^[21] La structure micellaire permet d'incorporer des médicaments ou des molécules hydrophiles ou même hydrophobes tels que : les anticancéreux, l'ADN et les protéines.^[22]

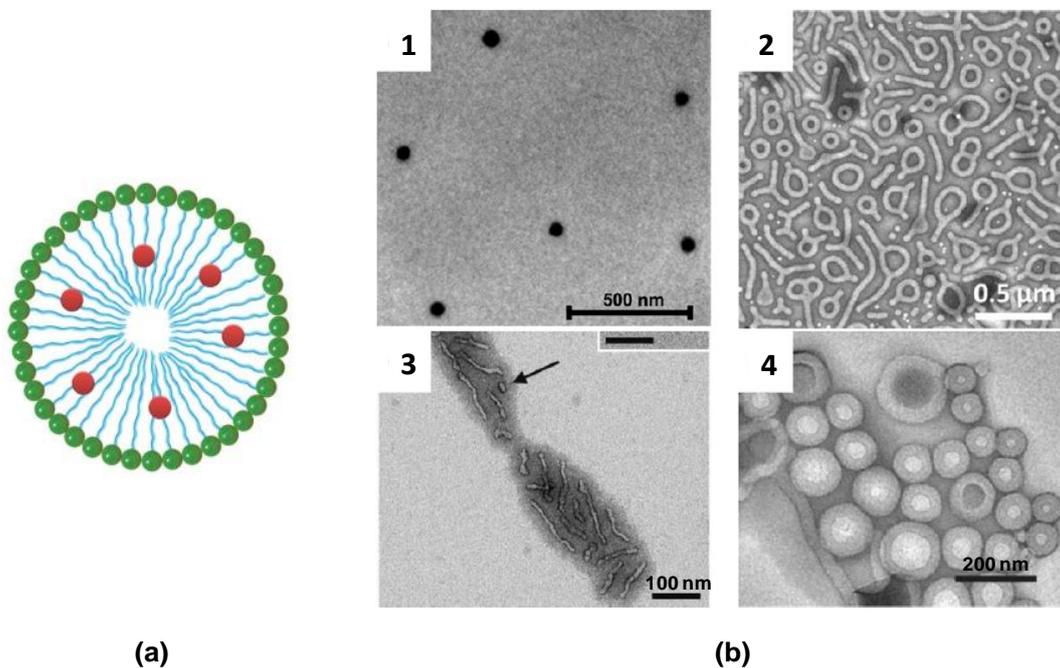


Figure 1.4 : Les micelles. (a) Schéma illustrant une micelle contenant un PA (en rouge). **(b)** Micrographies de certaines morphologies de micelles communément rapportées dans la littérature, obtenues par Microscopie Electronique en Transmission (MET). (1) sphères,^[23] (2) toroïdes,^[24] (3) vermiculaire^[25], et (4) vésicules.^[24]

La molécule encapsulée peut être libérée par érosion de la surface de la micelle, par diffusion à travers la matrice polymérique, ou encore par diffusion suite au gonflement du polymère. Par ailleurs, la plupart des micelles polymériques utilisées dans l'administration de médicaments peuvent être soit : des polymères amphiphiles di-bloc (hydrophile-hydrophobe), des polymères triséquencés (hydrophile-hydrophobe-hydrophile), greffés (hydrophile-hydrophobe) ou des copolymères ioniques (hydrophile-ionique). Pour la majorité de ces systèmes, le poly(éthylène glycol) (PEG) est le segment hydrophile primaire.^[26]

[†] L'auto-organisation se fait à partir d'une concentration donnée appelée concentration micellaire critique (CMC), qui dépend de la nature de la molécule amphiphile et des conditions expérimentales.

- Les nanocapsules

Les nanocapsules sont des particules colloïdales de type cœur-couronne, avec un cœur solide et une couronne hydrophile.^[27] La molécule bioactive peut être soit encapsulée dans le cœur (figure 1.5), soit adsorbée à la surface de la nanoparticule.

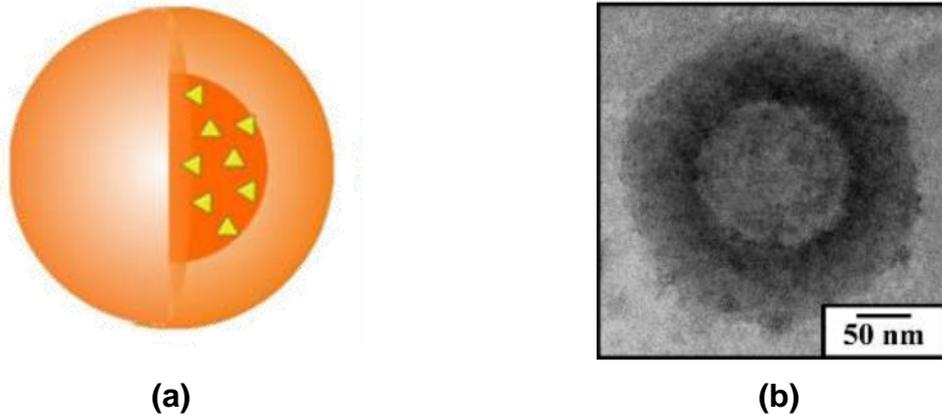


Figure 1.5 : Les nanocapsules. (a) Représentation schématisée d'une nanocapsule (en orange) contenant, en son cœur un PA (triangle jaune).^[28] (b) Micrographie d'une nanocapsule de pilocarpine chargée dans du Poly(ϵ -caprolactone), généralement utilisée dans le traitement du glaucome, obtenue par MET.^[29]

Par ailleurs, les nanocapsules seraient en mesure d'améliorer la biodisponibilité[‡] orale des protéines et des peptides qu'elles transportent. De plus, elles peuvent protéger les médicaments de la dégradation, mais également de réduire leur toxicité systémique, de permettre une libération contrôlée du PA utilisé et de masquer un éventuel goût désagréable.^[30] Néanmoins, en raison de leur stabilité élevée et de leur faible perméabilité, les médicaments transportés par les nanocapsules semblent être difficilement encapsulables après formulation et sont parfois difficilement libérables lorsqu'ils atteignent leur site d'action cible.

- Les dendrimères

Les dendrimères sont des macromolécules possédant une architecture arborescente tridimensionnelle parfaitement structurée, monodispersée et hyper-ramifiée (figure 1.6).^[31,32] Cette caractéristique structurale est la conséquence de leur architecture unique de macromolécules ramifiées émanant d'un cœur central et possédant de nombreuses fonctionnalités périphériques.

[‡] En pharmacologie, la biodisponibilité correspond à la fois à : i) la vitesse d'absorption d'un PA, qui a atteint la circulation sanguine gagnant ensuite son site d'action, et ii) à la quantité de PA absorbée. La biodisponibilité dépend de la forme pharmaceutique du PA ou du médicament utilisé.

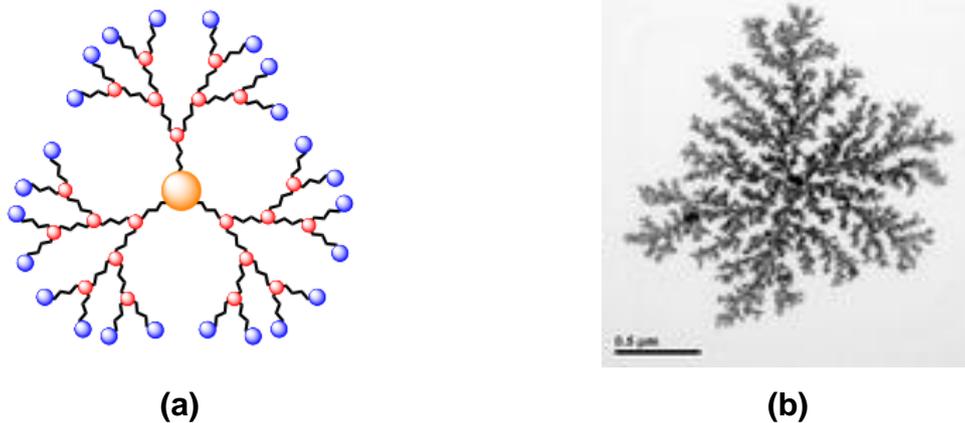


Figure 1.6 : Les dendrimères. (a) Structure générale. (b) Micrographie d'un dendrimère observé par MET.

Les dendrimères sont donc des outils très intéressants pour la vectorisation d'anticancéreux ou d'acides nucléiques.^[33,34] Dans ce contexte, Dongen et *al.*, se sont intéressés au méthotrexate (MTX), un agent de la classe des antimétabolites, utilisé dans le traitement de certains cancers et de certaines maladies auto-immunes. Ils ont ainsi développé du MTX dendrimérique à base de polyamidoamine. De par leurs travaux, ils ont montré que le dendrimère était dix fois plus actif que le MTX libre. De plus, le MTX dendrimérique semblait avoir démontré une toxicité systémique plus faible.^[35]

En revanche, les structures dendrimériques sont le résultat d'une élaboration en cascade par couches successives, ce qui rend leur synthèse fastidieuse.

1.3.1.2. Les nanovecteurs inorganiques

Les nanovecteurs inorganiques sont très diverses, on retrouve principalement : les NPs métalliques, les NPs d'oxyde de fer, les matériaux à base carbone, les nanostructures de silice, les nanocristaux semi-conducteurs fluorescents et les argiles (figure 1.7).

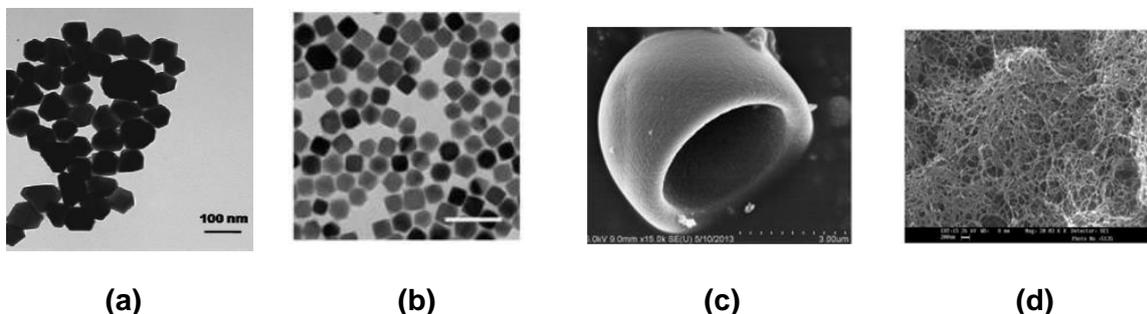


Figure 1.7 : Micrographies de différents types de nanovecteurs inorganiques observées par microscopie électronique : (a) NPs d'or,^[36] (b) NPs de magnétite,^[37] (c) structure creuse de silice^[38] et, (d) nanotube de carbone.^[39]

a) Les nanovecteurs ayant des propriétés physiques

- Les nanoparticules métalliques

Les NPs métalliques telles que les NPs d'or (AuNPs), sont couramment utilisées en médecine dans les domaines de l'imagerie médicale et du diagnostic. Plus spécifiquement, elles peuvent aussi véhiculer des médicaments vers des cibles pathogènes. De plus, du fait de leur propriété intrinsèque de résonance de plasmon de surface[§], les AuNPs présentent un potentiel dans le domaine de la thérapie et de photothermie^{**}, ce qui donne lieu actuellement à un nombre grandissant de travaux.^[40]

Un autre exemple de NPs métalliques intéressantes serait celui des NPs d'argent (AgNPs). Elles sont souvent utilisées lors de la fabrication de nombreux dentifrices, de certains jouets pour enfants et même de certains désinfectants. Aussi, les AgNPs peuvent entrer dans la composition de textiles et de vêtements en raison de leur propriété antibactérienne (aussi bien contre les bactéries à coloration de Gram-positive qu'à Gram-négative). Ces AgNPs semblent également présenter des propriétés antifongiques et, antivirales. Enfin, en raison de leur biocompatibilité, de leur surface fonctionnalisable, ainsi que de leur taille et de leur forme contrôlable, les AgNPs représentent des vecteurs appropriés pour plusieurs molécules thérapeutiques, telles que les anti-inflammatoires, les antioxydants, les antimicrobiens et les anticancéreux.^[41]

- Les nanoparticules d'oxydes de fer

Les oxydes métalliques, et particulièrement les NPs magnétiques, reposent sur l'utilisation d'oxydes de fer superparamagnétiques. Ce sont des nanoparticules constituées de petites particules de magnétite (Fe_3O_4) ou de maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), de quelques nanomètres de diamètre, préalablement modifiées et/ou fonctionnalisées en surface. En effet, les molécules médicamenteuses sont conjuguées aux NPs magnétiques. Une fois utilisée en thérapeutique, les nanohybrides superparamagnétiques organiques/inorganiques obtenus sont concentrés à un site cible spécifique dans le corps à l'aide d'un champ magnétique externe.^[42] Des travaux ont montré que les NPs ainsi modifiées peuvent délivrer plus efficacement le PA dans les cellules cancéreuses des tumeurs solides que les NPs non modifiées.^[43]

[§] Lorsque les AuNPs sont irradiées par des rayonnements Infrarouges, ils libèrent localement de la chaleur qui peut provoquer, par hyperthermie une destruction des cellules tumorales ciblées.

^{**} La photothermie consiste en l'utilisation d'ondes électromagnétiques (domaine de l'infrarouge) pour le traitement de différentes pathologies, notamment, le cancer.

De par leur biocompatibilité, ces NPs ne possèdent pas d'éléments intrinsèquement toxiques. Une fois phagocytées^{††}, les NPs sont lentement dégradées et puis le fer est relargué et intégré au pool de fer de l'organisme.^[44] Hormis la vectorisation, les propriétés spécifiques des NPs d'oxydes de fer ont été exploitées de différentes façons dans le domaine de la nanomédecine, nous pouvons citer les deux exemples suivants :

i) les NPs d'oxyde de fer sont utilisées chez l'Homme comme agents de contraste depuis 1996 pour réaliser de l'IRM en cas de tumeur.^[45] Dans ce contexte, nous pouvons citer l'exemple du Feridex®, qui est une solution aqueuse colloïdale de particules superparamagnétiques d'oxyde de fer.^[46] Ces NPs avaient initialement, un diamètre d'environ 5 nm, mais leur surface a néanmoins été modifiée par un polymère ramifié de dextrose (le dextrane), ce qui a permis d'augmenter leur diamètre final à 150 nm.

ii) En radiothérapie anticancéreuse, les NPs d'oxyde de fer permettent la réduction des doses de radiothérapie, mais également de limiter les dommages causés aux tissus sains et des effets indésirables.

Les NPs d'oxyde de fer faisant partie de l'objet de ce travail, seront ainsi abordés plus dans le détail par la suite (*c.f. partie 1.5, page 40*).

- Les nanocristaux semi-conducteurs fluorescents

Les nanocristaux semi-conducteurs fluorescents, connus sous leur dénomination anglaise *Quantum dots*, sont des objets mesurant entre 2 et 10 nm de diamètre et présentent une structure cœur-couronne. Les couples d'éléments les plus couramment utilisés sont : cadmium/sélénium, cadmium/tellure, indium/arsenic ou indium/phosphore. Ils sont ainsi composés d'un cœur cristallin semi-conducteur. Ce dernier est recouvert d'une coque de sulfure de zinc afin de passiver la surface tout en stabilisant les propriétés optiques de ces NPs.^[47]

L'application médicale des nanocristaux semi-conducteurs fluorescents est actuellement la vectorisation traçable du médicament. Ainsi, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des molécules peuvent être suivies. Ces nanocristaux sont également utilisés en tant que sondes cellulaires lors de marquage. En effet, les cellules marquées par des quantum dots *in vitro*, sont réinjectées au patient puis suivies par microscopie.^[48] En revanche, il a été démontré que les quantum dots présentaient une activité cytotoxique liée à *i)* la libération de métaux dans les milieux biologiques ; et, *ii)* à leur capacité à générer des espèces réactives à l'oxygène (ROS) après photo-activation par une source lumineuse.^[49]

^{††} La phagocytose est un processus cellulaire très important. C'est un mécanisme permettant aux cellules de reconnaître, d'englober (dans des vésicules dérivant de la membrane plasmique), d'internaliser et de digérer des particules, des débris cellulaires ou même des micro-organismes/microbes.

b) Les nanovecteurs ayants des propriétés d'encapsulation

- Les structures poreuses

Plusieurs structures poreuses ont été utilisées comme système de vectorisation, notamment les zéolithes synthétiques, les silices xérogels, la silice creuse, l'hydroxyapatite poreuse, les composites silico-phosphate de calcium poreux et autres céramiques poreuses. Les silices mésoporeuses suscitent un vif intérêt en raison de l'arrangement particuliers de leurs canaux, d'une taille de pore modulable ainsi que d'une surface spécifique élevée (de l'ordre de 1000 m².g⁻¹). Ainsi, ces propriétés permettent leur utilisation comme support d'immobilisation de diverses enzymes et pour l'incorporation et la libération de médicaments. [50,51]

- Les matériaux à base de carbone

Les nanomatériaux en carbone tels que les nanotubes de carbone (NTC), le graphène et les fullerènes, présentent de nombreuses propriétés physico-chimiques intéressantes. Ils ont par ailleurs été étudiés en détail ces dernières années pour des applications biologiques et biomédicales.^[52] Par exemple, les NTC, qui se présentent sous forme de nano-feuillets de graphène, offrent de énormes perspectives dans les domaines de la recherche pharmaceutique et médicale.^[53] Leur surface de contact étant assez large, permet la vectorisation de biomolécules de grande taille telles que l'ADN. De plus, leur structure leur confère des propriétés optiques particulières, permettant de les utiliser en thérapie photothermale ainsi qu'en imagerie médicale.^[54]

- Les argiles cationiques

Les argiles,† cationiques sont des minéraux argileux lamellaires, *i.e.* ayant une structure en feuillet, d'où leur nom de phyllosilicates. Les argiles utilisées en thérapeutique sont les phyllosilicates 2:1 du groupe des smectites dont les plus connues sont : la montmorillonite, l'hectorite et la beidellite.^[55] (figure 1.8).

Les phyllosilicates 2:1 sont des silicates dans lesquels les tétraèdres de SiO₄⁴⁻ forment des feuillets infinis bi-dimensionnels où un atome de silicium est entouré de 4 atomes d'oxygène. L'arrangement pseudo hexagonal de six tétraèdres ayant chacun trois sommets en commun avec les tétraèdres voisins conduit à la formation d'une couche tétraédrique (T). La couche octaédrique (O) des feuillets est composée majoritairement de cations Mg²⁺ ou Al³⁺, dont les octaèdres de coordination partagent uniquement des arêtes entre eux. Chaque

† Les argiles sont des aluminosilicates simples. Ils résultent essentiellement de la désintégration physicochimique et thermique des roches.

tétraèdre des couches T partage un coin avec la couche octaédrique. Les atomes d'oxygène de la couche octaédrique qui ne partagent pas une liaison avec les tétraèdres sont protonés. Les tétraèdres s'agencent de part et d'autre d'un octaèdre formant un feuillet T:O:T encore appelé 2:1. La substitution d'un élément par un autre de valence inférieure dans la couche tétraédrique et/ou dans la couche octaédrique (par exemple Si^{4+} par Al^{3+} ou Al^{3+} par Mg^{2+}) induit un déficit de charge. L'électroneutralité de l'édifice est alors assurée par des cations dits *de compensation* qui se logent dans l'espace entre les feuillets appelé espace interfoliaire.^[56]

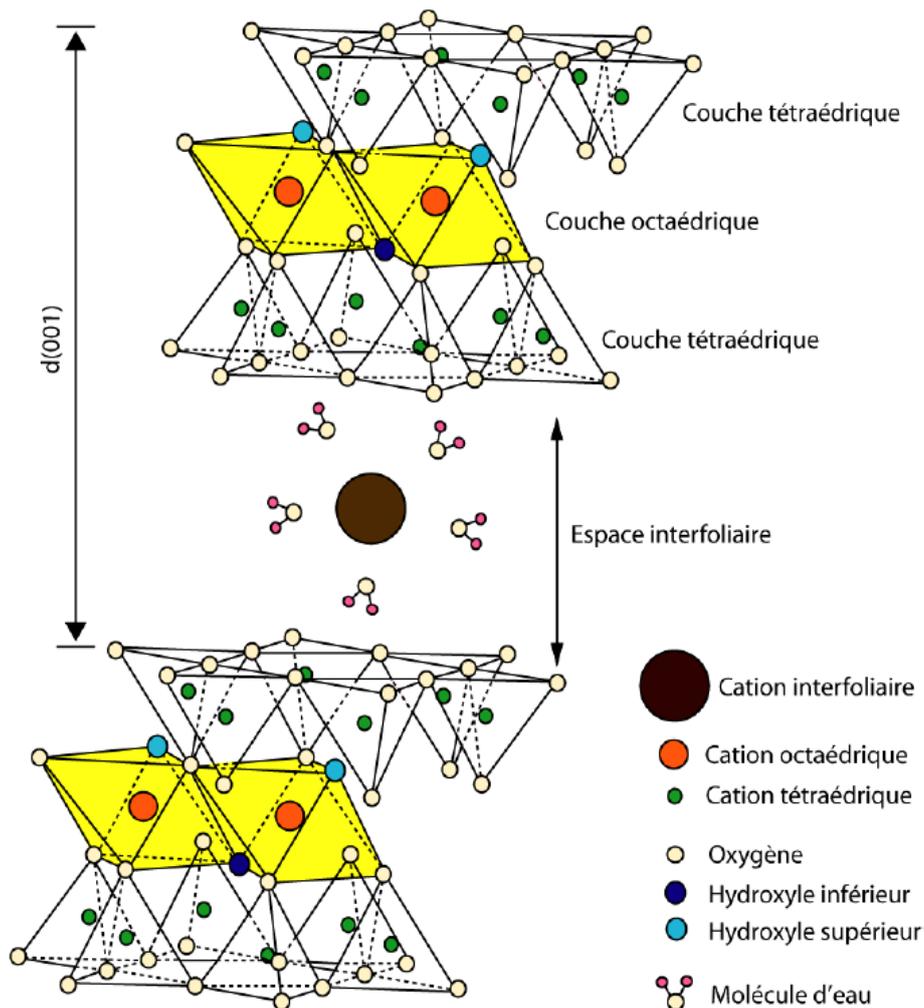


Figure 1.8 : Les argiles cationiques. Représentation schématique de la structure d'une montmorillonite.^[57]

L'intérêt accordé ces dernières années à l'étude de certains phyllosilicate 2:1 dans le domaine de la vectorisation, se justifie aisément grâce à leurs caractéristiques structurales et des propriétés intéressantes : leur abondance dans la nature, des particules de taille colloïdale, une surface spécifique élevée, des groupes hydroxyles à la surface et au bord des couches, une capacité d'échange de cations et une capacité de gonflement. Malgré le fait que certains

phyllosilicate 2:1 soient abondants dans la nature. Néanmoins, l'existence d'impuretés, de contaminants (arsenic, ...), leur composition minéralogique aléatoire dans les gisements naturels ainsi qu'une coloration (verte, orange) peuvent représenter des freins à leur utilisation dans certains domaines et nécessiter un pré-traitement.^[58]

Néanmoins, bon nombre de ces minéraux sont actuellement utilisés pour la formulation de médicaments et servent alors, soit d'excipients, soit de PA.^[59] A titre d'exemple, les silicates d'alumine sont utilisés en tant que médicaments destinés à traiter certaines pathologies de la sphère digestive. En effet, la bedellite (Bédélix®) est utilisée pour le traitement symptomatique du syndrome du côlon irritable. La smectite (Smecta®), quant à elle, est largement utilisée en traitement symptomatique de la diarrhée aiguë et chronique chez l'adulte et l'enfant.^[60] Par ailleurs, il a été récemment démontré que les interactions entre smectites et médicaments pouvaient être bénéfiques en termes de bio-pharma-thérapie.^[61]

Outre les NPs magnétiques qui peuvent répondre aux stimuli magnétiques externes et aux composés organiques mentionnés ci-dessus, les nanovecteurs inorganiques, telles que les matériaux à base d'argile, sont largement utilisées à des fins thérapeutiques et de diagnostic.^[62] Parmi celles-ci, les *hydroxydes doubles lamellaires* (HDL). Elles font d'ailleurs l'objet d'une partie du présent travail et qui seront détaillées dans la partie suivante. Ce sont des matériaux inorganiques, biocompatibles, très étudiés. Ils sont en effet utilisés pour l'administration de médicaments et comme systèmes de libération contrôlée de PA. Par ailleurs, ces matériaux s'avèrent être plus stables et moins toxiques que les supports de médicaments classiques.^[63]

1.4. Les nanovecteurs d'Hydroxydes Doubles Lamellaires

Depuis leur découverte en 1842 par des scientifiques suédois, la recherche en matière de synthèse, et de caractérisation des matériaux HDL et de leurs diverses applications ont suscité un engouement particulier auprès de la communauté scientifique. Par ailleurs, les nouvelles stratégies de synthèse ont permis de générer des matériaux et/ou des composites à base d'HDL qui ont démontré leur efficacité dans des applications d'intérêt économique comme la synthèse organique/pharmaceutique, la production d'hydrogène et le stockage d'énergie.^[64-66] De plus, la remédiation environnementale *via* les HDL est parmi les domaines d'application à fortes potentialités. Ceci étant particulièrement lié à leurs propriétés uniques d'échangeurs d'anions.^[67] Le développement de nouveaux procédés de dépollution, en particulier de traitements des eaux de rejets ou des émissions de gaz, a permis d'orienter les recherches vers l'élaboration de nouveaux composites possédant des propriétés performantes pour la dégradation et/ou l'adsorption de polluants dits émergents.^[68-70]

Dans cette partie, seront résumés l'implication des matériaux HDL en tant que vecteurs de molécules d'intérêt biologique et les progrès récents liés à la synthèse des HDL dédiés au domaine biomédical.

1.4.1. Structure et propriétés des hydroxydes doubles lamellaires

Les HDL représentent une classe émergente de matériaux lamellaires à deux dimensions (2D), appelés également argiles anioniques ou Hydrotalcite.^[71]

La structure des HDL dérive de celle de la brucite $Mg(OH)_2$. Dans cette dernière structure, les feuillets neutres sont constitués d'un enchaînement d'octaèdres $Mg(OH)_6$, dont les centres sont occupés par des cations et les sommets par des groupements hydroxyles, accolés par les arêtes de façon coplanaire.^[72] De plus, dans une structure type HDL, les cations trivalents substituent une partie des cations divalents dans les feuillets brucitiques induisant la formation de feuillets chargés positivement. La neutralité de la structure est contrebalancée par l'intercalation d'espèces anioniques et de molécules d'eau dans l'espace interlamellaire (figure 1.9-a).

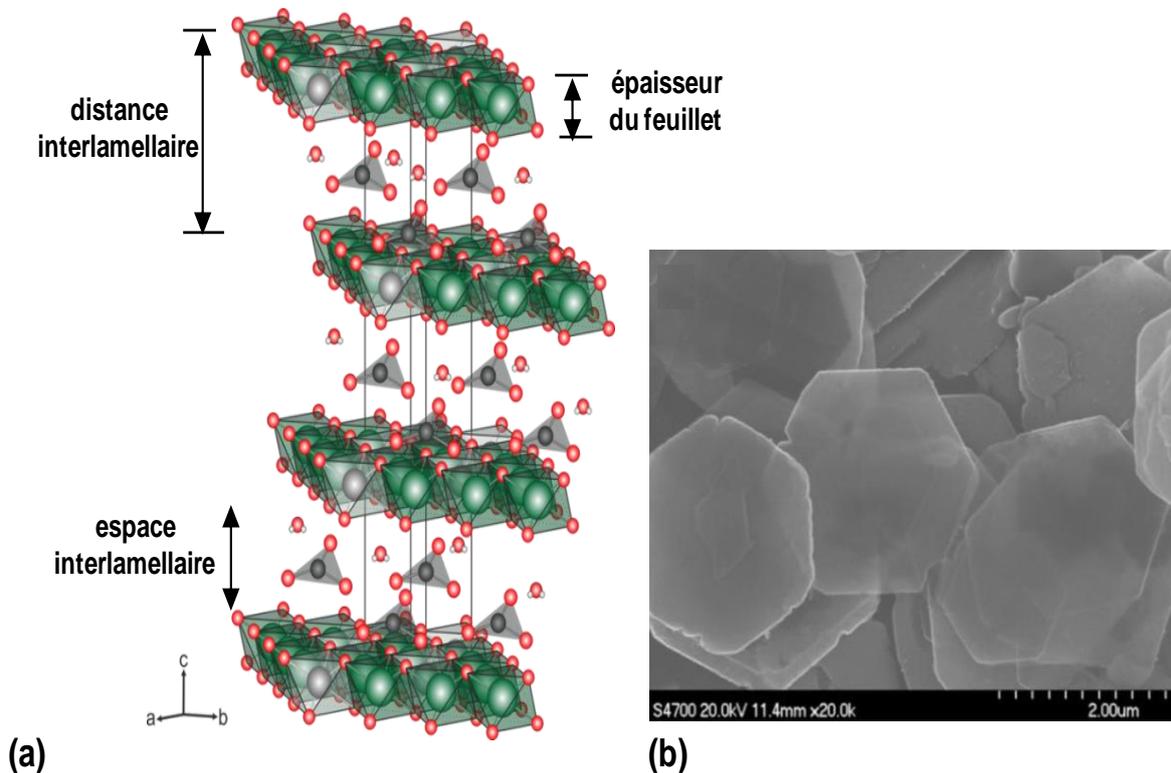
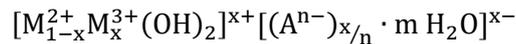


Figure 1.9 : Les Hydroxydes doubles lamellaires. (a) Représentation schématique de la structure 3D d'un HDL.^[73] Dans les octaèdres le magnésium est en vert, l'aluminium en gris clair, le carbone en noir, l'oxygène en rouge et l'hydrogène en boules blanches, les lignes noires indiquent la symétrie du cristal d'hydrotalcite. (b) Micrographie d'une forme hexagonale des plaquettes d'HDL observées au Microscope Electronique à Balayage (MEB).^[74]

La cohésion de la structure résulte, à la fois : *i)* de l'établissement d'interactions électrostatiques entre les feuillets et les anions ; et, *ii)* du réseau de liaisons hydrogènes établi entre les molécules d'eau, les anions interlamellaires et les groupements hydroxyles des feuillets.^[75]

La distribution aléatoire des deux cations métalliques dans les sites octaédriques des feuillets, donne lieu à des matrices de composition suivante :



Avec :

- M^{2+} , M^{3+} : sont les cations métalliques divalents et trivalents, respectivement ;
- A^{n-} : est l'anion interlamellaire de valence n ;
- x : est le taux de substitution du métal trivalent par le métal divalent avec $x = M^{3+}/M^{2+} + M^{3+}$;
- m : est le nombre de molécules d'eau.

Généralement, les HDL cristallisent en symétrie rhomboédrique (R) ou hexagonale (H) et sont alors décrits dans une maille hexagonale de paramètres a et c qui correspondent respectivement à la périodicité dans le plan des feuillets et à celle de l'empilement de ces feuillets. Les cristallites sont constituées de plaquettes hexagonales (figure 1.9-b) ayant des dimensions allant de 50-150 nm de diamètre latéral et de 10-20 nm d'épaisseur.

Ainsi, les HDL font l'objet d'un intérêt grandissant en raison de leurs multiples propriétés :

1. Une richesse de composition des feuillets et des anions interlamellaires : le couple (Mg^{2+} , Al^{3+}) constituant le feuillet a été le plus étudié, mais des cations ayant un rayon ionique voisin de celui du magnésium (0,72 Å), peuvent se substituer à ce dernier pour former une structure de type HDL. Ainsi, la combinaison de nombreux cations métalliques divalents (comme le : Zn, Co, Ni, Mn et le Fe) et trivalents (tels que le : Cr, Co, Fe, V, Ga et le Mn), ont permis de synthétiser un grand nombre de composés HDL.^[76] De même, une grande variété d'anions interlamellaires, notamment, les anions inorganiques et organiques, les complexes de coordination, les polyoxométallates et les biomolécules ont été intercalés au sein des structures HDL.^[77] Par conséquent, pour les anions organiques, plusieurs orientations dans l'espace interlamellaire sont possibles : mono- ou bicouche, parallèles aux feuillets ou inclinées, donnant lieu à des hauteurs interlamellaires pouvant s'étendre de 3 Å à 40 Å.^[78]

2. Une importante aptitude à l'échange anionique : la capacité d'échange anionique (ou c.e.a.) des HDL est liée : *i)* à leur structure bidimensionnelle, et, *ii)* aux faibles interactions développées entre les feuillets et les anions interlamellaires. La c.e.a. dépend également du

rapport des cations, de la capacité de l'anion à stabiliser la structure lamellaire ainsi que des masses moléculaires des cations et des anions impliqués. De plus, la c.e.a. est une grandeur qui peut être définie comme étant le nombre total d'anions échangeables monovalents (équivalent chimique) qu'il est possible de substituer aux anions compensateurs pour compenser la charge électrique de 100 grammes d'argile exprimée en (mEq /100 g). Les HDL possèdent des c.e.a. plus importantes que celle des argiles cationiques, avec des valeurs comprises entre 2 et 5 mEq g⁻¹.^[77]

3. La densité de charge : la densité de charge des HDL varie de 0,25 à 0,40 charge/nm². Cette densité de charge étant positive pour les HDL, permet l'échange anionique ainsi que l'adsorption de molécules chargées négativement. De plus, elle augmente avec l'augmentation du taux des ions trivalents dans les feuillets. Il est par ailleurs important de mentionner que la distance interlamellaire diminue avec l'augmentation de la densité de charge des feuillets grâce à l'attraction électrostatique entre les feuillets d'hydroxyde et les anions interlamellaires.^[79]

De ce fait, le contrôle de la taille des particules HDL et du degré d'agrégation est important pour la synthèse de particules bien cristallisées ou de matériaux HDL parfaitement adaptés à des types d'applications spécifiques.^[80]

1.4.2. Synthèse des HDL et les différentes stratégies d'intercalation

L'intercalation d'une molécule d'intérêt peut être considérée comme étant une forme d'auto-assemblage impliquant le piégeage des molécules invitées entre les feuillets du réseau cristallin. Elle correspond aussi à l'insertion réversible d'une espèce invitée mobile dans un réseau hôte cristallin. De plus, au cours de cette dernière l'intégrité structurale de ce réseau est formellement conservée.^[81] En principe, les réseaux hôtes lamellaires peuvent s'adapter à la géométrie des espèces hôtes insérées par ajustement du feuillet interlamellaire. Cependant, la formation d'une liaison chimique n'est pas une condition préalable mais le processus implique un échange d'ions. Par ailleurs, les matériaux lamellaires tels que les HDL présentent une forte liaison covalente interlamellaire mais de faibles interactions entre les feuillets et les anions interlamellaires. Ainsi, l'ensemble de ces derniers éléments permet à des molécules ayant des groupements fonctionnels appropriés de s'auto-assembler en monocouches ou bicouches entre les feuillets des HDL.

A l'heure actuelle, plusieurs méthodes de synthèse des matériaux HDL avec leur produit d'intercalation ont été développées et rapportées. En effet, la synthèse peut se faire soit : *i*) par coprécipitation directe, *ii*) par échange ionique, *iii*) par la méthode de calcination

reconstruction, *iv*) par exfoliation ou, *v*) par l'utilisation d'un surfactant. Ainsi, la morphologie et les propriétés texturales des HDL dépendent essentiellement de la méthode de préparation.^[82,83] Les principales caractéristiques des procédés de synthèse sont rappelées dans la [figure 1.10](#) ci-dessous.

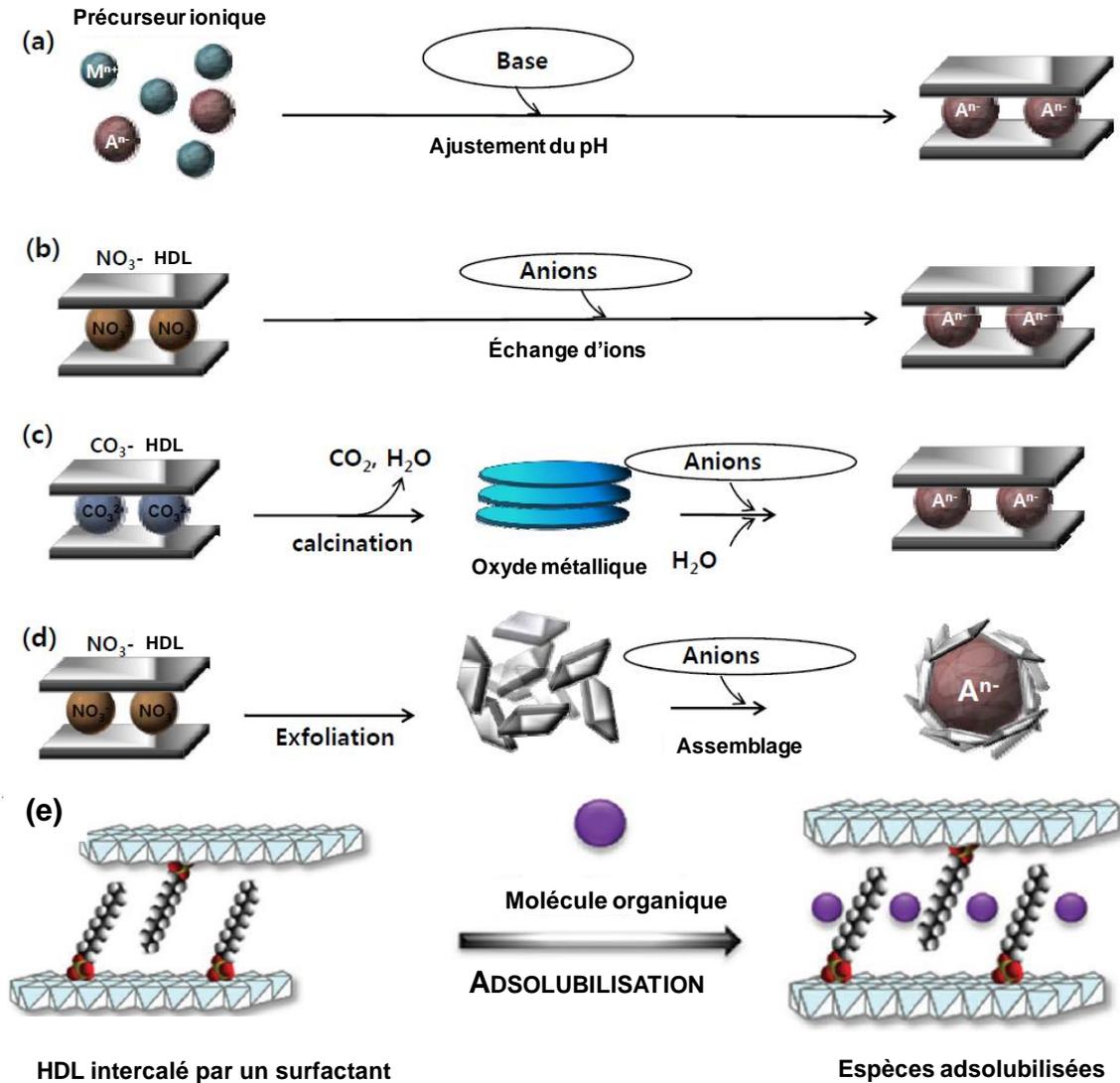


Figure 1.10 : Schéma regroupant les différentes voies de synthèse des matériaux HDL et d'intercalation des molécules d'intérêt. **(a)** Coprécipitation, **(b)** Echange anionique, **(c)** Reconstruction, **(d)** Exfoliation-réempilement, **(e)** Principe de l'adsolubilisation.

1.4.2.1. La coprécipitation

C'est la méthode la plus couramment utilisée pour préparer des phases HDL intercalées par des anions organiques ou inorganiques.^[84-86] Le processus général de cette méthode établi par Miyata,^[87] repose sur l'ajout lent d'une solution mixte de sels de métaux divalents et trivalents (chlorures ou nitrates) dans des proportions adéquates, et ce, dans un réacteur

contenant de l'eau et, sous atmosphère exempte de CO₂. La seconde solution (solution alcaline) est ajoutée dans le réacteur à une valeur de pH choisie, ce qui conduit à la coprécipitation des deux sels métalliques. Par la suite, cette étape est suivie d'un traitement hydrothermal, d'une filtration, d'un lavage et enfin d'un séchage.^[88] Des phases pures de bonne cristallinité sont obtenues par cette méthode. La [figure 1.11](#) illustre des micrographies de phase HDL préparées par coprécipitation à pH constant.^[89]

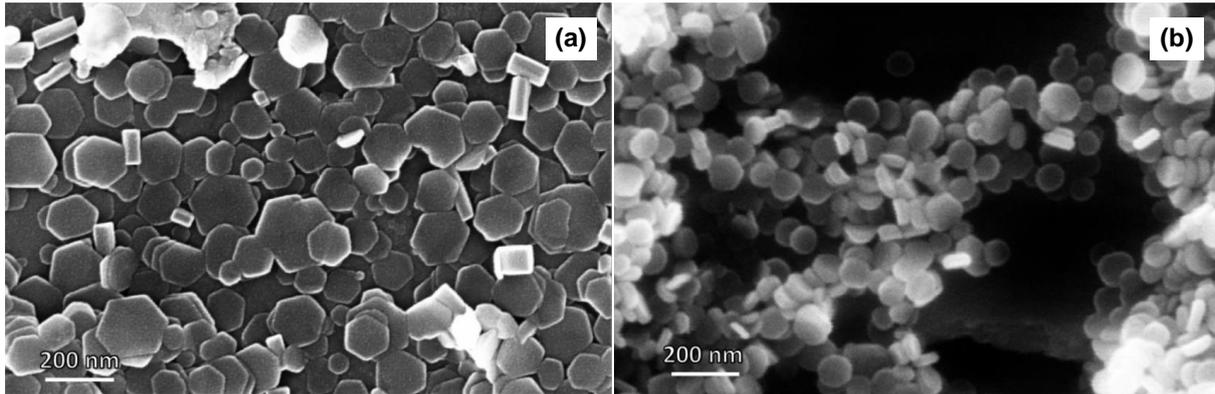
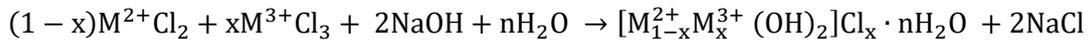


Figure 1.11 : Micrographies de phases HDL de type **(a)** Mg₃Al-Cl et **(b)** Mg₃Al-CO₃ préparées par coprécipitation à pH constant et observées par MEB.

Dans le cas de l'intercalation d'une entité inorganique comme l'anion chlorure, la réaction globale de cette synthèse est résumée comme suit par l'équation :



De la même manière, la formation *in situ* d'HDL en présence d'une entité organique comme un PA permet la coprécipitation simultanée de l'HDL et du PA pour former un matériau hybride ([figure 1.10-a](#)). En effet, la coprécipitation des HDL est effectuée à des pH choisis, sur une large gamme de valeurs, compatibles avec la formation de la structure minérale et la stabilité du PA. Ainsi, si le pH de coprécipitation est supérieur au pKa du PA, de charge globale négative, son intercalation entre les feuillets positifs est plus favorable. Pour appuyer cela, l'étude publiée par Berber *et al.*,^[90] peut être citée. Dans leurs travaux, l'acide acétylsalicylique, l'acide flufénamique, le sulindac, le suprofène et l'indoprofène ont en effet été intercalés par coprécipitation directe avec une phase HDL de composition Mg/Al et des taux d'intercalation de 53 %, 58 %, 45 %, 52 %, 49 % et 51 %, respectivement.

Néanmoins, si les espèces anioniques s'avèrent être instables en solution basique ou si elles peuvent complexer les cations métalliques, d'autres voies de synthèses autres que la coprécipitation seront alors à envisager.

1.4.2.2. L'échange anionique

Une des caractéristiques remarquables des HDL est le fait que l'anion interlamellaire est échangeable. Cette *capacité d'échange anionique* dans les phases HDL dépend principalement des interactions électrostatiques développées entre les feuillets chargés positivement et les anions échangeables.^[87] Concrètement, une phase précurseur HDL préparée avec des ions échangeables tels que les anions NO_3^- ou Cl^- , est dispersée dans une solution aqueuse concentrée contenant l'espèce que l'on désire échanger.^[91] Un grand nombre d'espèces anioniques a été intercalé par cette méthode : des anions inorganiques simples,^[92] des complexes de coordination,^[93] des anions organiques et des biomolécules.^[94,95] Durant le processus d'échange, plusieurs facteurs doivent être pris en compte tels que le pH, le temps d'échange, la température du milieu réactionnel ainsi que la concentration de l'anion.^[87] Ce dernier doit exister sous la forme appropriée, au pH choisi, pour favoriser son intercalation, tout en évitant un pH trop élevé afin d'éviter une pollution du milieu réactionnel par des carbonates.

1.4.2.3. La calcination/reconstruction

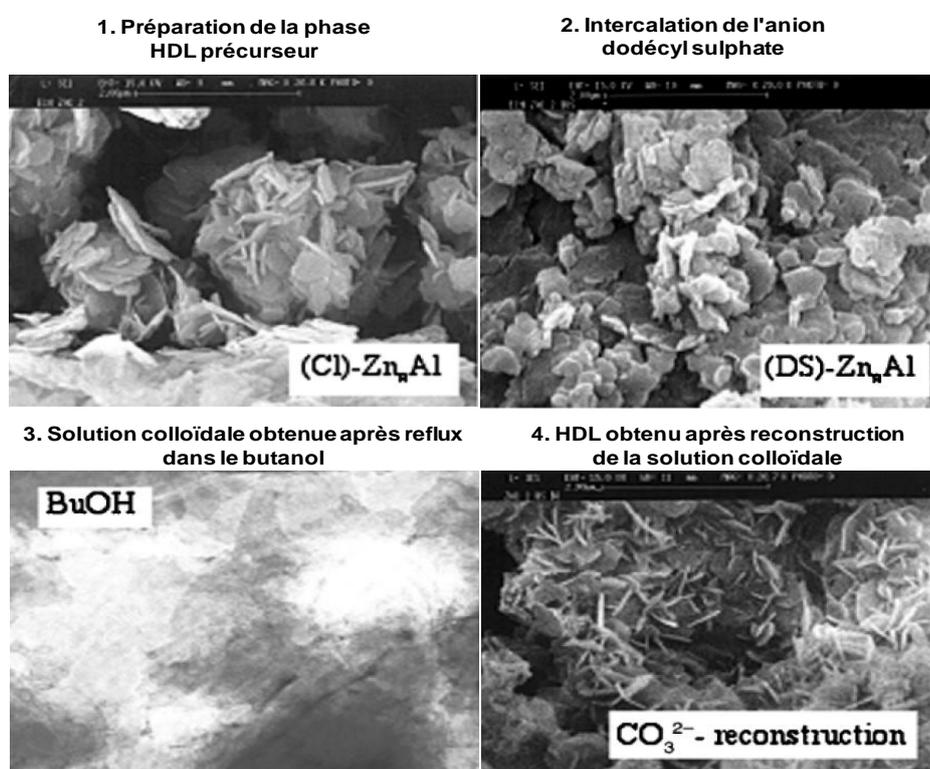
La formation des matériaux HDL et leur produit d'intercalation peut être également réalisée par calcination/reconstruction qui est une propriété singulière des composés de type HDL.^[96] Cette méthode consiste à régénérer une phase HDL ayant subi un traitement thermique à température modérée (de l'ordre de 450°C), dans une solution contenant l'espèce à intercaler. Ce procédé est illustré dans la [figure 1.10-c](#). Le traitement thermique engendre alors une désorganisation de la structure HDL et conduit à la formation d'oxydes mixtes amorphes. Cette désorganisation ou déstructuration se traduit par une perte consécutive de groupements hydroxydes ainsi qu'au départ simultané des anions compensateurs de charges présents dans l'espace interlamellaire. Les oxydes obtenus ont cependant la capacité de reformer la structure HDL lorsqu'ils sont remis au contact de solutions aqueuses contenant des anions.^[97]

Cette voie a été explorée par Pan *et al.* pour l'intercalation de la doxifluridine, un anticancéreux, dans une phase HDL $\text{Mg}_x\text{Al-CO}_3$. La réaction de reconstruction des oxydes mixtes obtenus a été conduite à deux valeurs de pH 7,2 et 9,5. Ceci a permis l'élaboration de deux phases HDL avec deux différentes distances interlamellaires. Il a en effet été constaté qu'à $\text{pH} = 7,2$ ($d_{003} = 19,2 \text{ \AA}$), les molécules s'étaient arrangées en bicouche alors qu'elles s'étaient disposées horizontalement à $\text{pH} = 9,5$; donnant ainsi une distance d_{003} égale à 8,2

À. Par ailleurs, ces hybrides ont montré un réel potentiel pour des applications ciblant l'administration de médicaments spécifiques pour le traitement du cancer du côlon.^[98]

1.4.2.4. La délamination/réempliment

La délamination consiste à gonfler l'espace interlamellaire à l'infini jusqu'à la formation de feuillets isolés, conduisant ainsi à la formation d'une solution colloïdale. Cette dernière est alors ajoutée à une solution contenant l'anion à intercaler, induisant ainsi la reconstruction de la phase HDL autour de ces anions. De plus certaines études ont montré que différents solvants comme le formamide ou le butanol pouvaient provoquer la délamination.^[71,99,100] En effet, dans l'étude réalisée par Leroux et *al.*,^[99] la délamination a été effectuée dans du butanol. La [figure 1.12](#) illustre les micrographies électroniques des matériaux obtenus après chaque étape du procédé de délamination.



[Figure 1.12](#) : Micrographies des hybrides HDL avant et après délamination/reconstruction obtenues par microscopie électronique.^[99]

Deux PA, à savoir, le méthotrexate et l'ibuprofène (anticancéreux et anti-inflammatoire non stéroïdien, respectivement) ont été insérées dans des phases HDL délaminées dans de la formamide.^[101,102] La reconstruction de la structure HDL à partir de solutions de feuillets HDL délaminés est aussi possible dans l'eau.^[103] Cette voie est particulièrement efficace lorsque des molécules anioniques volumineuses ou des biopolymères sont difficiles à intercaler dans des phases HDL par les méthodes classiques.^[104]

Récemment, la norfloxacine, un antibiotique de la famille des fluoroquinolones, a été intercalée dans une phase HDL Mg_2Al-NO_3 délamillée dans de la formamide, suivie d'une reconstruction de la structure lamellaire en présence de l'antibiotique. L'intercalation de la norfloxacine a donné lieu au phénomène d'interstratification. Cette dernière se traduit par l'occupation de l'espace interlamellaire par différents anions interlamellaires ou par différentes dispositions (orientations). Cette stratégie a permis d'augmenter et de maîtriser le taux d'encapsulation ainsi que de contrôler la libération du PA.^[105]

1.4.2.5. Intercalation par l'intermédiaire de tensioactifs

Des progrès récents dans la préparation des hybrides HDL ont été réalisés en utilisant des HDL intercalés avec un tensioactif comme précurseurs. L'intercalation d'une grande variété de tensioactifs peut être facilement réalisée dans les phases HDL, soit par échange anionique, soit par coprécipitation directe à pH constant,^[106] conduisant à des structures lamellaires bien ordonnées grâce à la tendance remarquable du tensioactif à s'auto-assembler. L'intercalation de ces molécules hautement amphiphiles induit : *i*) une augmentation significative de l'espace interlamellaire du matériau HDL, *ii*) une modification de l'environnement chimique de l'espace interlamellaire, et, *iii*) un changement de la surface hydrophile en une surface hydrophobe. De tels changements dans les propriétés de surface confèrent aux HDL modifiés de nouvelles propriétés d'adsorption envers certaines molécules organiques qui seraient absentes chez leurs homologues non modifiés.^[107,108] Ce processus d'adsorption est également appelé adsolubilisation.^{§§}(figure 1.10-e). La co-intercalation (ou encore co-adsorption) de l'espèce invitée peut être effectuée soit par échange anionique, soit par coprécipitation directe à pH constant.^[109]

Les avantages de ce procédé d'intercalation ont incité plusieurs groupes de chercheurs à adopter cette stratégie pour l'encapsulation de PAs non solubles au sein de NPs d'HDL (comme les anticancéreux) ; et à étudier son influence sur les propriétés physico-chimiques des hybrides, sur le profil de libération du PA et sur leur comportement *in vivo*.^[110]

1.4.3. Contrôle de la taille et de la morphologie des HDL pour des applications biomédicales

La taille des particules et la morphologie des HDL à l'échelle nanométrique sont des facteurs importants pour leur application en tant que réservoirs ou vecteurs de biomolécules.^[111] Par conséquent, de nombreux travaux ont été réalisés pour contrôler

^{§§} Parmi les propriétés essentielles des tensioactifs, nous pouvons citer la faculté de s'auto-agréger au-delà d'une concentration-seuil appelée CMC. Ces agrégats micellaires peuvent alors incorporer des molécules hydrophobes. Ainsi, l'adsolubilisation se produit en dessous de la CMC du tensioactif.

uniformément leur taille et leur morphologie.^[112] Dans ces derniers, deux procédés donnant des résultats intéressants sont généralement utilisés. Il s'agit en effet de la coprécipitation en utilisant l'urée et de la coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal.

1.4.3.1. Hydrolyse de l'urée

Les solutions métalliques titrées avec des bases fortes telles que le NaOH ou le NH₃ entraînent généralement la coprécipitation d'une phase HDL polydispersée. Cependant, la réaction de précipitation devient plus homogène et plus contrôlable lorsque l'urée, une base faible, est ajoutée. Cette dernière est ainsi hydrolysée de manière homogène en NH₄⁺ et en CO₃²⁻ avec une vitesse de réaction dépendante de la température. De grosses particules (figure 1.13), avec des rapports du diamètre latéral des particules à leur épaisseur, élevés, sont générées dans les conditions d'hydrolyse de l'urée.

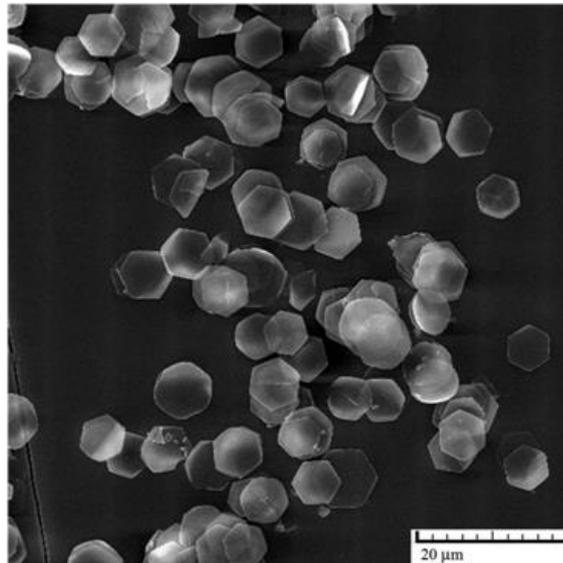


Figure 1.13 : Micrographies d'une phase HDL préparée par hydrolyse de l'urée et observée par MEB. Les cristallites d'une phase CoAl-HDL sont constituées de plaquettes hexagonales d'approximativement 10 à 80 nm de diamètre et de quelques centaines de nanomètres d'épaisseur.^[113]

1.4.3.2. Coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal

La coprécipitation à pH variable ou constant suivie de l'étape de mûrissement permet l'obtention de grosses particules d'HDL ayant une taille comprise entre 1 et 10 µm. Ces grosses particules ont par ailleurs tendances à s'agglomérer en solution. L'instabilité des solutions se traduit en général par une décantation assez rapide des particules, ce qui n'est pas avantageux pour leur utilisation en vectorisation cellulaire de médicaments. Néanmoins, des efforts considérables ont été consacrés au contrôle de la morphologie, de la taille et de la forme des particules. En effet, Xu *et al.*,^[114] ont rapporté une méthode de préparation d'une

solution colloïdale de MgAl -HDL par coprécipitation rapide d'une solution métallique (Mg et Al) avec une solution aqueuse de NaOH suivie d'un traitement hydrothermal. Cette méthode a permis de contrôler les dimensions des plaquettes (diamètre compris entre 50 et 300 nm) en faisant varier le temps et la température du traitement hydrothermal.

De plus, le même groupe^[115] a appliqué une stratégie identique en utilisant cette fois-ci, le méthanol comme solvant à la place de l'eau distillée. Des plaquettes hexagonales nanométriques ont alors été obtenues avec un diamètre hydrodynamique d'environ 40 nm (figure 1.14). Stockées à température ambiante (22-25°C), ces suspensions semblent rester stables au moins pendant un mois. Aussi, ces NPs de petits HDL ont montré une grande capacité à vectoriser une quantité importante de petits ADN doubles brins.

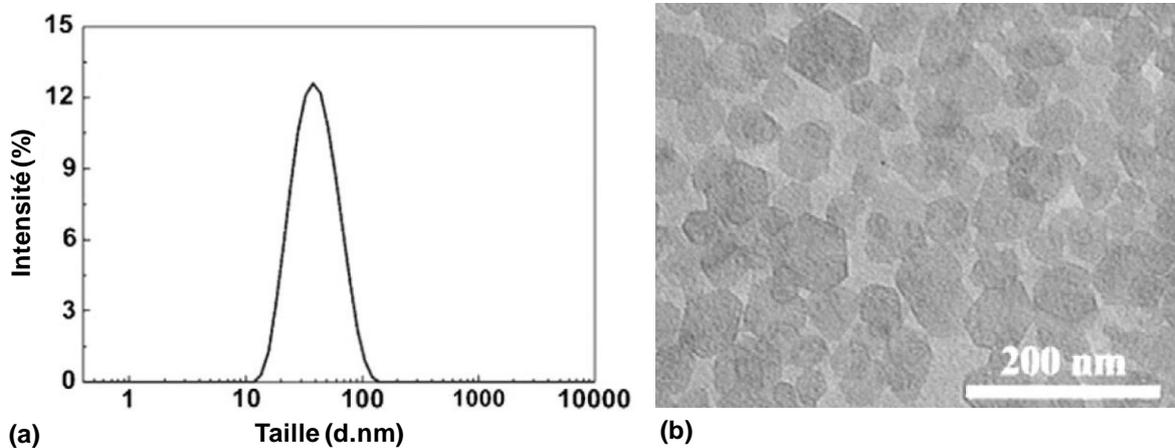


Figure 1.14 : Coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal. (a) Distribution granulométrique, et (b) micrographie d'une suspension colloïdale d'HDL synthétisés à 100 °C pendant 18 h, observée par MET.

1.4.4. Les bio-applications des HDL

Dans le domaine biomédical, tel qu'il a été mentionné dans les parties précédentes, les HDL présentent un intérêt considérable grâce à leurs propriétés particulières, dont leur biocompatibilité et leur structure bidimensionnelle ; qui en font d'excellents hôtes pour une grande variété de bio- ou de macromolécules. Aussi, la charge positive des HDL, comprise entre + 30 et + 40 mV, leur permet d'interagir et d'adhérer à la membrane cellulaire, qui est chargée négativement, facilitant ainsi leur absorption cellulaire. De plus, l'adressage ciblé de certains compartiments subcellulaires majeurs en contrôlant la morphologie et la taille des particules d'HDL a été étudié par Xu *et al.*^[116] Pour cela, des phases HDL de type MgAl-Cl en forme de nanotiges et de nanofeuillets ont été élaborées. Afin d'être en mesure de suivre le devenir des HDL *in vivo* et d'étudier le comportement d'absorption cellulaire de ces NPs dans

différentes lignées cellulaires de mammifères et de l'homme (CHO-1, NIH 3T3 et Hek 293T), les HDL ont été associés à un colorant organique fluorescent l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC). Il a été démontré que les deux formes des NPs hybrides étaient rapidement absorbées par les cellules et que les nanotiges étaient adressées spécifiquement vers le noyau cellulaire alors que les nanofeuillets étaient maintenus dans le cytoplasme. Ainsi, ce type d'HDL pourrait trouver un certain nombre d'applications dans la biomédecine cellulaire.

Par ailleurs, la vectorisation par les HDL conduit généralement à un changement de certaines propriétés chimiques du PA, parmi lesquelles : la solubilité, la vitesse de libération, la biodisponibilité, la stabilité chimique et les caractéristiques d'absorption.

1.4.4.1. Les HDL comme principes actifs

La médecine a montré l'intérêt qu'elle porte aux HDL en les exploitant, et ce, depuis plusieurs décennies. L'hydrotalcite, en est d'ailleurs un excellent exemple. De composition $Mg_6Al_2(OH)_{16}(CO_3) \cdot 4H_2O$, elle est disponible dans le commerce sous diverses formulations médicamenteuses et plus particulièrement comme anti-acides, antipeptiniques et comme protecteurs gastro-intestinaux.^[117-119] Ceci est dû à sa capacité à se dissoudre en milieu acide, libérant ainsi des ions OH^- qui peuvent neutraliser l'action de l'acide chlorhydrique et de la pepsine dans l'estomac.

Le premier brevet ayant décrit les propriétés antiacides de l'hydrotalcite date de 1970.^[117] Depuis, divers HDL synthétiques intercalant différents anions tels que le phosphate, les sulfates et les aminoacétates ont été élaborés pour leur utilisation comme antiacides et dont les formulations ont également été brevetées.^[118] Nous pouvons citer l'exemple du médicament « Rennieliqo ». C'est une suspension buvable à base d'hydrotalcite, utilisée pour le traitement des ulcères gastriques.

Une autre utilisation des HDL comme PA, qui peut être citée est liée à leur propriété d'échange anionique. En effet, cette dernière leur permet de capter les phosphates qui seraient présents dans les fluides gastro-intestinaux. Ainsi, sur un plan thérapeutique, l'utilisation de ces HDL permettrait d'empêcher le développement de plusieurs pathologies chez des patients devant se soumettre à des séances de dialyse rénale.^[120]

1.4.4.2. Implication des HDL en thérapie génique

Une des difficultés associées au développement de la thérapie génique réside dans le fait qu'il est nécessaire d'introduire et de faire pénétrer un acide nucléique à visée thérapeutique à l'intérieur des cellules d'un patient. En exploitant les propriétés de transport et de protection des HDL, de nombreux travaux ont été rapportés sur l'immobilisation de

molécules d'ADN dans des phases HDL.^[121-123] Oh *et al.*^[121] ont démontré que l'immobilisation de l'ADN dans une phase HDL de type Mg-Al en limite la dégradation et faciliterait son passage à travers la membrane de cellules mamellaires, tout en réduisant la répulsion électrostatique entre l'ADN et la membrane cellulaire chargée négativement. Ces matériaux hybrides obtenus par des réactions de « chimie douce » favoriseraient ainsi le maintien de l'intégrité chimique et biologique des biomolécules. Desigaux *et al.*, quant à eux, ont eu pour objectif dans leur étude de contrôler la fabrication d'assemblages supramoléculaires labiles en formulant des associations de molécules d'ADN avec des HDL de type Mg₂Ga qui ont été comparées à des associations ADN@HDL de type Mg₂Al et Mg₂Fe. Les voies de synthèse par coprécipitation et celle de l'autoassemblage direct ont été utilisées pour l'incorporation des molécules d'ADN. Par la suite, la capacité des hybrides Mg₂Ga@HDL-ADN à être transportés par des cellules de la lignée HeLa a été étudiée. Ainsi, après deux heures de contact avec les cellules HeLa, les phases Mg₂Ga@HDL-ADN ont été détectées à l'intérieur de presque toutes les cellules, indépendamment de la longueur et de la topologie des molécules d'ADN. Suggérant ainsi la possibilité d'utilisation des HDL pour la vectorisation de molécules d'ADN d'intérêt thérapeutique.^[124]

Divers facteurs déterminant l'efficacité de l'expression de la fonction des gènes sont étudiés. Wong *et al.* ont affirmé que la séquence nucléotidique affecte leur interaction avec les HDL et régit l'efficacité de la libération de l'ARNsi.^[125] Certaines études suggèrent que la taille des particules détermine l'efficacité de la libération de l'ARNsi. Chen *et al.* ont rapporté que les HDL avec une plus petite taille de particules (45 nm) sont plus efficaces pour délivrer l'ARNsi dans les cellules HEK 293 T que les particules de grande taille (114 nm).^[126]

1.4.4.3. Amélioration de la biodisponibilité des PAs hydrophobes

La faible biodisponibilité et les mauvaises caractéristiques pharmacocinétiques^{***} sont toujours au cœur des principales causes de l'échec du développement de nouveaux médicaments. Au fil des années, beaucoup de PA prometteurs ont ainsi vu leur mise sur le marché compromise en raison de problèmes au niveau de leur taille, de leur sensibilité à la dégradation une fois qu'ils se retrouvent dans un milieu biologique et de leur solubilité. En effet cette dernière, et plus particulièrement la solubilité aqueuse, est l'un des obstacles majeurs qu'il est nécessaire de contourner. Elle concerne plus de 60 % des PAs issus des laboratoires de recherche, et plus de 40 % de ceux qui sont actuellement sur le marché. En fin de compte, cela en limite l'efficacité du traitement pour plusieurs maladies.^[127] Ainsi, l'amélioration de la

^{***} La pharmacocinétique est la caractérisation des mouvements d'un PA de l'extérieur vers l'organisme et inversement, ainsi qu'à l'intérieur de l'organisme. Elle comporte quatre phases : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination.

biodisponibilité et l'augmentation de la solubilité des PA constituent d'autres motivations allant en faveur de la vectorisation de certains PA par les HDL. Elle a d'ailleurs montré certains avantages comparativement à l'administration de PA libres, comme cela est illustré par les quelques exemples selon les PAs intercalés :

* [Cas d'anticancéreux](#)

Un état de l'art a été dressé sur l'utilisation des HDL en tant que nanovecteurs pour plusieurs agents anticancéreux de nature chimique différente tels que : la 5 fluorouracile (5-FU), le méthotrexate, le cyclophosphamide, la doxorubicine, la cisplatine et les carboranes.^[128] Les molécules anticancéreuses incorporées dans les NPs d'HDL préservent leur capacité d'inhibition de tumeurs et montrent à la fois une plus grande stabilité chimique, une libération contrôlée, une meilleure internalisation cellulaire et par conséquent, une plus grande biodisponibilité par rapport à la molécule anticancéreuse libre.^[129] Pour illustrer cela, regardons d'un peu plus près l'exemple du 5-FU. La chimiothérapie de nombreuses tumeurs et notamment de la plupart des cancers digestifs accorde une grande place au 5-FU). La toxicité de ce dernier est dose dépendante et variable en fonction du schéma d'administration. Elle se traduit néanmoins par une diarrhée, une stomatite, une cardiotoxicité et dans certains cas de toxicité sévère, une atteinte neurologique peut être observée pouvant conduire jusqu'au coma.^[130-132] Par conséquent, il s'avère nécessaire d'identifier un système de délivrance du 5-FU afin d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique tout en réduisant ses effets secondaires. Ce que nous savons du 5-FU est qu'il est soluble dans l'eau et également lors d'une administration par voie intraveineuse. Cependant, le taux de réponse du 5-FU dans le cas du cancer colorectal avancé est inférieur à 15 % et sa biodisponibilité est également limitée.^[133] Afin d'améliorer l'efficacité chimiothérapeutique du 5-FU dans le traitement des cancers, de nombreuses études ont démontré que les HDL pouvaient être utilisés comme vecteurs,^[134,135] dont les travaux de Guo *et al.*^[136] Ces derniers se sont intéressés à la préparation de l'hybride 5-FU/HDL par coprécipitation en vue d'une administration ciblée des tumeurs. Ces auteurs ont rapporté que l'intercalation dans la phase HDL a permis d'augmenter la demi-vie du 5-FU ainsi que sa biodisponibilité jusqu'à environ 400 % par rapport à la molécule libre.

* [Cas d'anti-inflammatoires](#)

Comme premier exemple de cette catégorie de PA, nous pouvons citer le carprofène, un agent anti-inflammatoire non stéroïdien peu soluble dans les tampons aqueux (la solubilité dans l'eau est de $3,79 \text{ e}^{-3} \text{ g/L}$ à 25°C). Capsoni *et al.*^[137] ont préparé par la méthode de

coprécipitation l'hybride carprofène@ZnAl-HDL. Ils ont ainsi été en mesure de démontrer que dans la forme intercalée, la solubilité aqueuse du PA a augmenté de l'ordre de 122 $\mu\text{mol/L}$ par rapport à la forme libre. De plus, les expériences de relargage qu'ils ont réalisés ont mis en évidence des taux élevés de libération du carprofène à partir de la phase HDL, non seulement en solution aqueuse mais aussi dans un tampon phosphate à pH 4,5. Comme second exemple, nous pouvons citer l'Eudragit®^{†††}. Ce dernier possède un caractère anionique en solution et peut s'adsorber à la surface des feuilletts intrinsèquement positifs afin de retarder la libération des PA et cibler le côlon. Ce type d'enrobage permettrait aussi de protéger les phases HDL en empêchant ainsi leur dissolution à pH gastrique (pH acide) car l'Eudragit® n'est pas biodégradable. Il est cependant hydraté dans les fluides gastro-intestinaux indépendamment du pH. Dans leurs travaux, Li et *al.*, ont utilisé l'Eudragit® L-100 et une phase HDL intercalée par un AINS, le fenbufène. Ils ont ensuite étudié les cinétiques de libération du PA *in vitro* à différentes valeurs de pH. La libération du PA à partir de la phase HDL enrobée par Eudragit® L-100 a montré : *i)* à pH 1,2 une libération limitée à 10 % pendant 2 h, suivie *ii)* d'environ 10 % de libération à pH 6,8 pendant 2 h, et a finalement atteint *iii)* environ 45 % de libération à pH 7,4 pendant 5 h. Les auteurs ont conclu que ce système d'enrobage pourrait également être utilisé pour le ciblage colique de PA avec une meilleure disponibilité à long terme.^[138]

* [Cas d'antibiotiques](#)

De la même manière que les cas précédents, plusieurs travaux ont décrit la préparation de matériaux nanohybrides HDL/antibiotiques et ont étudié leur propriétés physico-chimiques ainsi que leur capacité à délivrer ces dits antibiotiques *in vivo* et *in vitro*.^[139,140] L'optimisation des méthodes de synthèse, l'utilisation de tensioactifs, le choix du solvant et les techniques d'intercalation ont permis par exemple à Trikeriotis et Ghanotakis^[141] d'intercaler par échange anionique dans des phases HDL de composition MgAl, quatre molécules biologiquement actives, chacune représentant une classe d'antibiotiques différente. Deux d'entre elles sont hydrophobes : la gramicidine et l'amphotéricine B, alors que l'ampicilline (pénicilline) et l'acide nalidixique (quinolone) sont légèrement solubles. Le processus d'intercalation a entraîné une amélioration de la solubilité aqueuse des quatre molécules par rapport aux molécules libres.

1.4.4.4. Diminution des effets secondaires des PAs

S'il existe à l'heure actuelle un domaine où les HDL trouvent une grande importance ce serait celui de l'administration de médicaments anti-inflammatoires. Le terme anti-

^{†††}L'Eudragit® est une résine de type acrylique. L'Eudragit® L-100 est insoluble à pH < 5 mais soluble à pH > 6.

inflammatoire fait référence à un traitement qui réduit l'inflammation dans l'organisme. L'utilisation à long terme de médicaments anti-inflammatoires peut provoquer des érosions gastriques, des ulcères d'estomac ou même, dans des cas extrêmes, une grave hémorragie. Une large variété d'anti-inflammatoires,^[142] (sans tenir compte de leur masse moléculaire, de leur solubilité ou de leur activité thérapeutique), a été incorporée avec succès dans des phases HDL afin de contrôler leur libération dans l'environnement gastrique et de diminuer la toxicité qui leur est associée.^[143-144] Un autre exemple permettant d'illustrer la fonction des matériaux HDL pour réduire les effets secondaires liés aux médicaments est celui de la doxorubicine (Dox), une molécule utilisée comme anticancéreux. En effet, Hakeem *et al.*,^[145] ont intercalé la Dox par la méthode de coprécipitation, dans des phases HDL de type MgAl. Les tests réalisés *in vitro* sur le matériau hybride Dox@MgAl-HDL ont montré un bon ciblage des tumeurs, une meilleure internalisation cellulaire et une libération contrôlée. Les tests *in vivo*, quant à eux, ont démontré l'efficacité de la forme vectorisée contre les cellules cancéreuses. De plus, la faible diffusion de la Dox dans les tissus sains a permis de diminuer significativement l'incidence des pathologies cardiaques classiquement associées à l'administration de la Dox.

1.4.4.5. Des vecteurs HDL comme agents antimicrobiens

Les matériaux HDL sont notamment utilisés pour obtenir un effet antimicrobien en intercalant dans l'espace interlamellaire soit des molécules antibiotiques,^[146-147] soit des agents antimicrobiens tels que les lysozymes^{###}.^[148-149] Par ailleurs, d'autres travaux ont montré que certains HDL à base de zinc, de cuivre, de manganèse, de fer, de cobalt ou de titane, présentaient des effets antimicrobiens et antifongiques notables sans pour autant avoir incorporé au préalable un agent biocide.^[150-152] Comme exemple, nous pouvons citer l'étude de la propriété antimicrobienne des hybrides céfazoline@ZnAl, obtenus par échange anionique. La diffraction des rayons X a confirmé que les molécules de céfazoline étaient intercalées dans l'espace interlamellaire de la phase ZnAl-HDL. Par conséquent, le nanohybride céfazoline@ZnAl a montré une activité antibactérienne accrue par rapport à la céfazoline elle-même non seulement en raison d'une amélioration de la stabilité chimique des molécules de céfazoline mais également en raison d'une libération contrôlée.^[147]

Par ailleurs, il a été retrouvé dans la littérature que des espèces bactériennes, telles que : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, ont été inhibées ou détruites par différentes compositions d'HDL diluées (1,5 mg/mL). Dans ces cas, il a été rapporté que l'effet bactéricide des matériaux HDL serait lié à plusieurs raisons à savoir^[153-156] : *i*) la production de radicaux

Protéine globulaire composée de 129 acides aminés. Elle est présente dans le blanc d'œuf et chez de nombreuses espèces animales, en particulier dans certaines sécrétions.

hydroxyles selon la réaction de Fenton^{§§§}; *ii*) l'influence de la composition, de la concentration, de la morphologie et de la taille des nanoparticules d'HDL, et éventuellement *iii*) la dissolution de la matrice HDL qui entrainerait la libération des ions métalliques dans les cellules bactériennes pour affecter *in fine* le métabolisme des acides aminés et le système enzymatique.

Un exemple pratique de l'utilisation des HDL dans des formulations antimicrobiennes a été décrit par Hesse *et al.*,^[157] Dans leurs travaux, les chercheurs ont conçu un implant miniaturisé chargé d'un agent antimicrobien, la ciprofloxacine, imprégné sur une phase HDL. La performance antimicrobienne *in vivo* de cet implant a été évaluée dans des oreilles de lapin contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Cet implant semble avoir montré un excellent effet antimicrobien même une semaine après administration.

1.4.4.6. Cytotoxicité et biocompatibilité des HDL

Avant d'entrer dans le vif du sujet concernant la toxicité et la biocompatibilité des HDL, il s'avère nécessaire de rappeler et de souligner qu'un matériau doit impérativement être sans danger si l'on souhaite l'utiliser dans des bio-applications. Il doit ainsi être en mesure de remplir ses fonctions dans l'hôte, avec l'efficacité souhaitée, et ne provoquer cependant aucun effet systémique. Aussi, il est important de rappeler ici que les caractéristiques principales d'un bon vecteur sont qu'il doit impérativement être « biocompatible » mais également « non toxique/cytotoxique » pour l'organisme et les cellules. Ces deux dernières notions fondamentales sont parfois confuses et difficilement compréhensibles pour un non initié. De ce fait, les premières questions que l'on peut se poser seraient : *que signifient vraiment ces notions ? Pourquoi est-il si important de les prendre en compte lors de l'élaboration de matériaux multifonctionnels ? Quel est leur impact dans l'évaluation de la possibilité de l'utilisation de ces matériaux à des fins cliniques ?*

Commençons donc par répondre à la première question en définissant ces quelques vocables ainsi que certaines notions qui leur sont souvent associées :

Cellules souches : Ce sont des cellules un peu particulières dont il existe plusieurs types. Mères de toutes les cellules d'un organisme, elles sont génétiquement programmées pour se multiplier indéfiniment. Elles peuvent ainsi donner naissance à tous les organes et tissus de l'organisme et même à un individu complet. Ainsi, elles sont à l'origine des cellules nerveuses, pulmonaires, hépatiques, épithéliales ou endothéliales, sanguines ou encore phagocytaires.^[158]

^{§§§} Réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH, qui est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le fluor.

In vitro vs. In vivo : dans le mot latin *in vitro*, signifiant « sous verre », il se dit des réactions chimiques, physiques, immunologiques ou de toutes les expériences et recherches pratiquées au laboratoire, pouvant être menées sur un large éventail de sujets d'essai - *i.e.* des microorganismes, des organes ou des cellules (par exemple : kératinocytes, fibroblastes, mélanocytes) - en dehors de leur environnement naturel, de leur contexte biologique naturel et en dehors d'un organisme vivant. Les études *in vitro* permettent ainsi des analyses et des caractérisations cellulaires et moléculaires plus détaillées et plus pratiques par rapport à l'utilisation d'organismes entiers à des coûts relativement bas.

En revanche, *in vivo* du mot latin signifiant « dans le vivant » se dit des réactions chimiques, physiques ou des interventions pratiquées sur l'être vivant (personne, animal de laboratoire ou plante), soit à titre d'expérimentation ou de recherche, soit dans un dessein diagnostique ou thérapeutique.^[159] La médecine fait constamment appel à des organismes modèles car les essais cliniques sur des êtres humains ne devraient être que la dernière étape d'un ensemble méthodique d'expériences sur des sujets non humains, de sorte que le risque des essais sur l'homme soit minimisé au maximum. De plus, les progrès de l'édition génique ont aidé les scientifiques à reproduire les maladies humaines chez les animaux avec une grande précision. Mais les études *in vivo* ont leurs propres défauts. Les préoccupations éthiques croissantes concernant l'utilisation d'animaux dans les tests en laboratoire ont persuadé certains chercheurs de limiter le nombre (et les espèces) d'animaux utilisés dans leurs études. Par ailleurs, les études sur les animaux demandent également beaucoup de temps et de ressources, nécessitant une formation avancée du personnel.

Enfin, les études *in vitro* et *in vivo* fournissent des informations précieuses pour toutes les étapes de la recherche biomédicale. Les chercheurs utilisent souvent des méthodes *in vitro* pour des investigations fondamentales afin d'examiner les interactions médicamenteuses et les processus pathologiques au niveau cellulaire. Les études *in vivo* quant à elles élargissent les données des études *in vitro* en surveillant les réponses biologiques des organismes vivants entiers.

Biocompatibilité vs. Cytotoxicité : La nanotoxicologie des biomatériaux - *i.e.* des matériaux destinés à interagir avec les systèmes biologiques- a évolué vers une discipline complète, complexe et indépendante de la science des matériaux. Par conséquent, un certain nombre de termes ont été développés et empruntés au domaine de la toxicologie, parmi lesquels la biocompatibilité.^[160] A l'heure actuelle, le mot biocompatibilité est largement utilisé mais semble néanmoins être peu compris. En biologie, la biocompatibilité est relative à tout ce qui est compatible avec le vivant et son épanouissement, sans pour autant lui causer des

dommages. En revanche, en science des matériaux, cette notion est bien plus complexe et assez ambiguë. Néanmoins, un consensus a été obtenu à la conférence sur les définitions liées aux biomatériaux qui s'est tenue en 2018 à Chengdu (Chine). Cette définition s'aligne à celle mentionnée dans la norme Iso 10993. Ainsi, la *biocompatibilité* correspond à « *la capacité d'un dispositif médical ou d'un matériau à produire une réponse hôte appropriée dans une application spécifique* ». Elle est donc liée au comportement d'un matériau dans divers contextes. De ce fait, un matériau peut être par exemple biocompatible dans l'os mais pas dans le sang. Il peut aussi être biocompatible pour une utilisation à court terme dans un tissu donné mais pas à long terme. Ainsi, de manière plus détaillée, la biocompatibilité serait définie comme étant la capacité qu'a un matériau à : *i)* remplir ses fonctions attendues par rapport à une thérapie médicales, *ii)* induire une réponse appropriée de l'hôte dans une application spécifique, et *iii)* interagir avec des systèmes vivants sans présenter de risque de blessure, de toxicité ou de rejet par le système immunitaire de l'hôte ou de produire des effets locaux ou systémiques graves.

Il convient cependant de noter qu'un matériau, une fois dans l'organisme hôte, entraînera divers degrés de réponses inflammatoires et immunitaires. Pour un matériau biocompatible, ces réponses ne sont pas nocives et font parties des réponses normales de l'hôte. De plus, les interactions entre un matériau et un hôte sont influencées par plusieurs facteurs notamment, les facteurs liés à la biologie et à la physiologie de l'hôte et les propriétés du matériau, du site d'action et de la durée de l'exposition. Ainsi, afin de comprendre le type et l'échelle de ces interactions, les nanomatériaux doivent être testés pour leur potentielle toxicité dans divers contextes *in vitro* et *in vivo*. Les tests d'évaluation de la biocompatibilité varient largement en fonction de l'application prévue du matériau. Ainsi un ensemble d'essais pour un matériau particulier peut ne pas être requis pour le même matériau mais dans une application différente. Ces tests ont par ailleurs une vaste portée et englobent des évaluations *in vitro* et *in vivo*. Ainsi les composants constituant la notion de biocompatibilité sont nombreux parmi lesquels la cytotoxicité.^[161]

La *cytotoxicité* peut être définie comme étant la propriété qu'à une substance/matériau à altérer et/ou à détruire, et donc à tuer, les cellules vivantes en raison de sa toxicité. Bien que la cytotoxicité puisse être évaluée de différentes manières, les tests conçus à cet effet reposent généralement sur l'évaluation de la viabilité cellulaire. Pour cela, des colorants tels que le bleu Trypan ou le rouge neutre peuvent être utilisés afin de colorer uniquement les cellules vivantes. Il existe cependant de nombreux autres tests, plus sensibles et qualitatifs, qui permettent de mettre en évidence que la cellule est vivante mais également que ses fonctions cellulaires sont

intactes, c'est le cas du test colorimétrique au MTT^{****} qui est le plus couramment utilisé. L'annexe C de la norme ISO 10933-5 en fait d'ailleurs référence. Cependant, cette réaction ne peut être catalysée que par des cellules vivantes. La lecture du test MTT se fait l'aide d'un lecteur de plaques après avoir mis en contact, durant un temps précis, des cellules avec la substance/matériau d'intérêt. Ainsi les cellules peuvent être dénombrées et un pourcentage de viabilité cellulaire peut être déterminé.^[162]

En outre, si l'on tente maintenant de lier ces définitions aux questions posées précédemment et de les restituer dans leur contexte en se penchant de plus près sur les publications scientifiques s'intéressant à l'évaluation de la cytotoxicité des matériaux hybrides HDL, on se rend rapidement compte que la majorité des travaux se résument généralement à une étude de la viabilité cellulaire *in vitro* réalisées sur ces vecteurs transportant un PA, s'intéressent principalement à la diminution de la toxicité des molécules intercalées du fait de leur encapsulation, sans pour autant s'intéresser à la toxicité intrinsèque des HDL, ce qui mène généralement à des résultats incomplets. Pour illustrer ces propos, le [tableau 1.1](#) résume certains travaux scientifiques touchant au domaine de la vectorisation de médicaments.

^{****} dimethyl-thiazolyl-diphenyl-tetrazolium-bromide : produit chimique jaune soluble dans l'eau qui peut être clivé par une enzyme cellulaire pour former du formazan, de couleur violette.

Tableau 1.1. Exemples d'évaluation *in vivo* et *in vitro* de la toxicité de quelques hybrides obtenus par différentes méthodes.

(Bio)-molécule		Phase HDL	Caractéristiques (préparation, taille, charge)	Modèle (s) cellulaire(s) & dose(s)	Toxicité / Observations		Réf.
Nom	Application biomédicale ciblée				Test utilisé	Résultat	
Méthotrexate± 5-Fluorouracil	Thérapie des cancers	MgAl-NO ₃	Calcination/ reconstruction MET 225 ± 14 nm DLS 980 nm ζ= - 0,61 mV	Cellule cancéreuse de la lignée HeLa [PA] : 0-1µg/mL, [HDL] : 0-10 µg/mL HDL	MTT	Amélioration de l'action anticancéreuse, l'hybride étant plus efficace que les PA libres.	[163]
Méthotrexate	Thérapie des cancers	Mg ₂ Al-Cl	Coprécipitation DLS 110 nm MET 40 nm ζ=- 8 mV	Lignée d'ostéosarcome ^{†††} MNNG/HOS [HDL] : 0,001-10 µg/mL contact 72 h à 37°C + 5 % CO ₂	MTT	Amélioration de l'action anticancéreuse, l'hybride étant plus efficace que les PA libres.	[164]
Carbon Dots/vert d'indocyanine	Imagerie et thérapie des cancers	Mg ₃ Al-NO ₃	Auto-assemblage 20–50 nm ζ=+31,9 mV	Tests <i>in vitro</i> : lignée d'hépatocarcinome HepG2 et cellules cancéreuses Hela Tests <i>in vivo</i> : souris Balb/ch	MTT	Hybride biocompatible et peu toxique par rapport au PA libre	[165]
Sodium salicylate	Libération contrôlée d'AINS	Mg ₃ Al-NO ₃	Calcination/ reconstruction 40-80 nm	Lignée HEK293 ^{††††} [HDL±PA] : 1,562-25 µg/mL	MTT	Hybride peu toxique par rapport au PA libre	[166]
Méthotrexate	Thérapie des cancers	Mg ₂ Al-NO ₃	Echange anionique	Tests <i>in vivo</i> : souris Balb/c nude 6 à 9 semaines. Lignée d'ostéosarcome MNNG/HOS.144 mg PLGA-HDL-MTX ≡ 30 mg MTX	MTT	Amélioration de l'action anticancéreuse, l'hybride étant plus efficace que les PAs libres.	[167]
Lévodopa	Traitement de la maladie de Parkinson	Zn ₂ Al-NO ₃	Coprécipitation	Lignée cellulaire PC12, issue d'un phéochromocytome ^{§§§§} de rat, utilisée comme lignée modèle de différenciation neuronal. Gamme de 0 à 100 µg/mL Contact après 48 h et 72 h	MTT	La phase hybride est largement moins cytotoxique que le PA libre	[168]

^{†††} Tumeur osseuse rare affectant principalement les adolescents et les jeunes adultes qui se développe majoritairement dans les os longs.

^{††††} Cellules embryonnaires humaines du rein.

^{§§§§} Phéochromocytome : tumeur des glandes surrénales (ou tumeurs neuroendocrines) situées au sommet des reins.

Cependant, parmi les rares études qui se sont intéressées à l'évaluation de la toxicité des NPs HDL, nous pouvons citer celle réalisée par Choi *et al.*,^[169] Leurs travaux ont montré que la cytotoxicité des HDL est influencée par leurs propriétés physicochimiques. En effet, au niveau cellulaire, la taille, la composition et la stabilité chimique des HDL sont des paramètres à considérer quand l'on s'intéresse à l'étude de leur toxicité comme l'illustre la [figure 1.15](#). Bien que la majorité des NPs puissent être internalisées par des cellules, différentes études tendent à démontrer que ces dernières privilégient l'internalisation des NPs dont le diamètre se situe entre 20 et 50 nm.^[170]

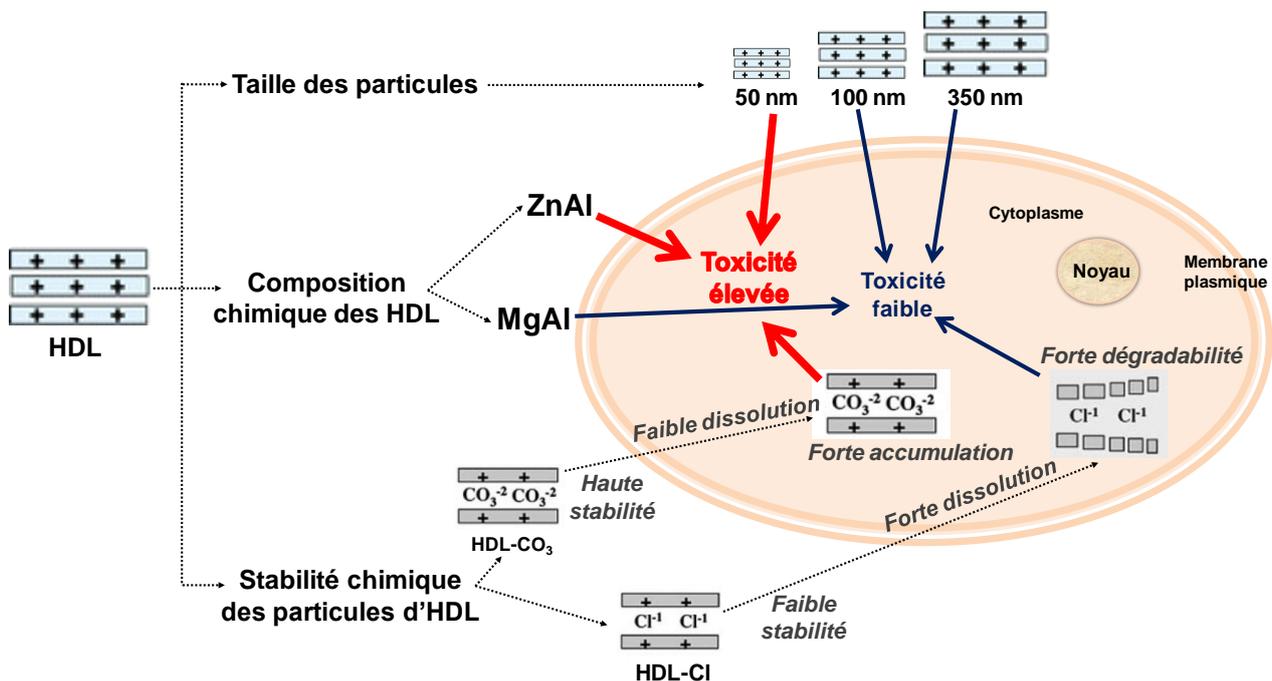


Figure 1.15 : Facteurs influençant la toxicité des HDL. Le schéma illustrant la corrélation entre la composition chimique, la taille et la stabilité chimique des particules HDL et leur niveau de cytotoxicité (forte toxicité flèches en rouge, faible toxicité flèches en bleu).

Dans la même étude citée précédemment, *i.e.* Choi *et al.*^[169], la cytotoxicité de deux phases HDL de compositions chimiques MgAl et ZnAl a été évaluée face à des lignées cellulaires cancéreuses de type carcinome humain. En effet, une fois leurs caractéristiques physiques déterminées (taille, diamètre, forme), les matériaux HDL ont été évalués *in vitro* pour leur potentiel effet cytotoxique à fortes doses. Il s'avère ainsi que les HDL testés semblent être cytostatiques^{*****} à une concentration comprise entre 250 et 500 µg/mL, et cytotoxiques à des concentrations supérieures à 500 µg/mL.

Dans le même type de travaux, Al Ali *et al.*,^[171] ont intercalé un agent antihypertenseur, le périndopril erbumine (PE), par coprécipitation et échange anionique dans une phase HDL

***** Inhibition de la prolifération cellulaire

Mg₂Al-NO₃. Ils ont alors étudié la viabilité cellulaire *in vitro*, par le test MTT sur la lignée de cellules hépatiques Chang, en présence de PE libre, la phase HDL et les hybrides PE@MgAl par le test Les concentrations en PE varient de 0,156 µg/mL à 10,0 µg/mL. Après 24 h d'incubation, les résultats de viabilité cellulaire ont montré que : *i*) le PE libre n'a semblé avoir aucun effet sur la viabilité des cellules même à dose élevée ; *ii*) la phase HDL Mg₂Al-NO₃ est non toxique pour les cellules testées ; *iii*) l'hybride PE-MgAl, obtenu par échange anionique, n'a montré aucun effet toxique sur les cellules Chang, y compris à une concentration de 10,0 µg/mL.

En ce qui concerne la biocompatibilité *in vivo* de certains HDL, des tests avec des phases aux compositions Mg₂Al-Cl et Zn₂Al-Cl (particules obtenues par coprécipitation ayant un diamètre hydrodynamique allant de 80 à 100 nm) ont été réalisés par le groupe du Pr. Constantino.^[172] Ces analyses *in vivo* ont été effectuées après implantation intramusculaire de disques HDL par voie chirurgicale dans des rats. Par rapport aux tests *in vitro* réalisés dans des conditions contrôlées, le test d'implantation intramusculaire *in vivo* permet l'activation complète des défenses biologiques de l'hôte *via* la réponse immunitaire. Ceci permet ainsi d'étudier, par de courtes et de longues périodes d'observation et avec plus de précision, la biocompatibilité et la fonctionnalité des matériaux. En effet, dans la mesure où le muscle peut être considéré comme une région vascularisée située loin des organes vitaux, il est aisé d'y évaluer les toxicités locales par réponse inflammatoire sur une courte période (7 jours) et le processus de rejet par formation de capsule fibreuse à proximité du matériel implanté dans une période plus longue (28 jours). Ainsi, les effets locaux susceptibles d'apparaître après implantation ont été évalués au 7^e et au 28^e jour postopératoire⁺⁺⁺⁺(P.O.) en se basant sur des études macroscopiques et des coupes histologiques. Ces travaux ont montré la biocompatibilité des phases HDL MgAl et ZnAl. Ceci s'est matérialisé par l'absence de signes d'inflammation au niveau du site d'implantation des disques d'HDL tels que les œdèmes, les érythèmes et l'augmentation du volume tissulaire au 7^e jour P.O. (figure 1.16-a). De plus, les HDL permettent de bonnes réparation et intégration tissulaires naturelles avec des néo-vaisseaux fonctionnels et sans dysfonctionnement microcirculatoire local. Par ailleurs, la persistance de la réaction non inflammatoire autour des disques au 28^e jour P.O. (figure 1.16-b) indique certainement que les deux disques d'HDL, aux différentes compositions, ne sont pas antigéniques même pendant une période prolongée. Ce qui va dans le sens que les matériaux HDL représentent bien de potentiels bon vecteurs biocompatibles.

++++ Période définie comme la phase aiguë de la réponse inflammatoire.

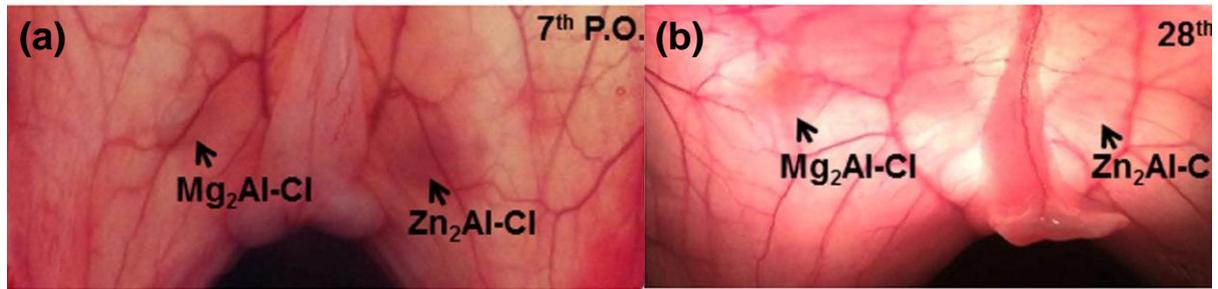


Figure 1.16 : Biocompatibilité des HDL in vivo.

Les photographies de l'étude macroscopique après dissection des rats montrent l'ombre grise formée par les disques d'HDL, aux différentes compositions, qui ont été implantés (flèches noires) entre les couches musculaires des deux côtés de la paroi abdominale, à la fois au 7^e jour P.O. (a), et au 28^e jour P.O. (b). Aucun signe d'inflammation tissulaire au niveau des points d'insertion des HDL n'a été observé aux deux périodes.

1.5. Intérêt des nanoparticules de ferrites pour des applications biomédicales

Les propriétés magnétiques des matériaux ferrites ont été utilisées dans diverses applications comme par exemple pour l'élaboration de capteurs de gaz ou d'accumulateurs lithium-ion. En fait, ces propriétés ont été largement exploitées dans de nombreux domaines tels que : l'environnement, la catalyse, l'optique, la décoration et la cosmétique.^[173] Néanmoins, depuis ces quinze dernières années, les NPs ferrites ont été utilisées dans des applications biomédicales^[174] (telles que vectorisation, hyperthermie, agent de contraste en IRM, etc.) en raison d'une part, de leur biocompatibilité et d'autre part, de leur faible toxicité dans le corps humain.^[175]

De nombreux oxydes de fer se différenciant par leur structure cristalline font l'objet d'études approfondies notamment en biomédecine. Cependant, seules la magnétite (Fe_3O_4) et la ferrite de magnésium (MgFe_2O_4) qui ont fait l'objet d'une partie de ce travail de thèse, seront présentées dans cette partie. La Fe_3O_4 et la MgFe_2O_4 appartiennent à la famille des ferrites, cristallisant toutes les deux dans une structure spinelle inverse décrite par Bragg en 1915.^[176]

1.5.1. La structure spinelle

Les ferrites, qui sont des NPs d'oxydes métalliques, forment une famille de composés magnétiques très largement utilisée. Ils présentent la formule générale AFe_2O_4 où A représente un cation appartenant à l'un des métaux de transition suivants : Fe^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} . De plus, ces oxydes cristallisent dans le groupe d'espace $\text{Fd}\bar{3}\text{m}$ du système cubique. Dans ce dernier, les ions O^{2-} forment un réseau cubique face centrée et les cations

métalliques se répartissent dans les sites tétraédriques (Td) ou octaédriques (Oh). Au total, 32 sites Oh et 64 sites Td pour 32 atomes d'oxygène constituent la maille complète du spinelle. Ainsi, 16 atomes métalliques hexa-coordonnés occupent la moitié des sites Oh et 8 atomes métalliques tétra-coordonnés occupent un huitième des sites Td. La formule générique pour des ferrites de structures spinelles est :



La répartition des atomes métalliques est définie par les deux formes limites de la structure du spinelle :

i) Le *spinelle normal* ($\delta = 1$), qui correspond à un spinelle où les sites octaédriques sont exclusivement occupés par l'espèce Fe^{3+} . C'est le cas de la ferrite de zinc ($ZnFe_2O_4$) ;

ii) Le *spinelle inverse* ($\delta = 0$), qui correspond à un spinelle où les sites octaédriques sont occupés pour moitié par l'espèce Fe^{3+} et pour moitié par l'espèce A. C'est le cas des ferrites $MgFe_2O_4$.

- La magnétite Fe_3O_4

Dans la magnétite Fe_3O_4 , le cation (A) dans la formule de la ferrite est le fer divalent Fe^{2+} .^[177] La magnétite est un matériau de type spinelle inverse. Ce dernier a la symétrie Fd3m avec une maille élémentaire constituée de 32 anions O^{2-} formant un réseau cubique à face centrée. Un huitième des 64 sites Td générés par cet arrangement sont occupés par les cations trivalents Fe^{3+} et la moitié des 32 sites Oh sont occupés par des les cations Fe^{2+} divalents et les cations Fe^{3+} (figure 1. 17). C'est pourquoi on rencontre parfois la notation suivante : $(Fe^{3+})^{Td} [Fe^{2+} Fe^{3+}]^{Oh} O_4$.^[178]

La magnétite étant très sensible à l'oxydation, cette dernière peut se transformer facilement en maghémite $\gamma-Fe_2O_3$ selon la réaction suivante : $4 Fe_3O_4 + O_2 \rightarrow 6 Fe_2O_3$.

Il est cependant important de noter qu'entre ces deux matériaux, il existe des états intermédiaires résultant d'une oxydation partielle des ions Fe^{2+} en ions Fe^{3+} . De même structure que la magnétite mais une sous stœchiométrie en fer (II), cette phase est notée comme suit : $Fe_{3(1-\delta)}O_4$. Ainsi, δ représente la déviation par rapport à la stœchiométrie en oxygène, est comprise entre $\delta = 0$ pour de la magnétite non oxydée (ou magnétite pure) et $\delta = 1/9$ pour la maghémite de formule $\gamma-Fe_2O_3$.

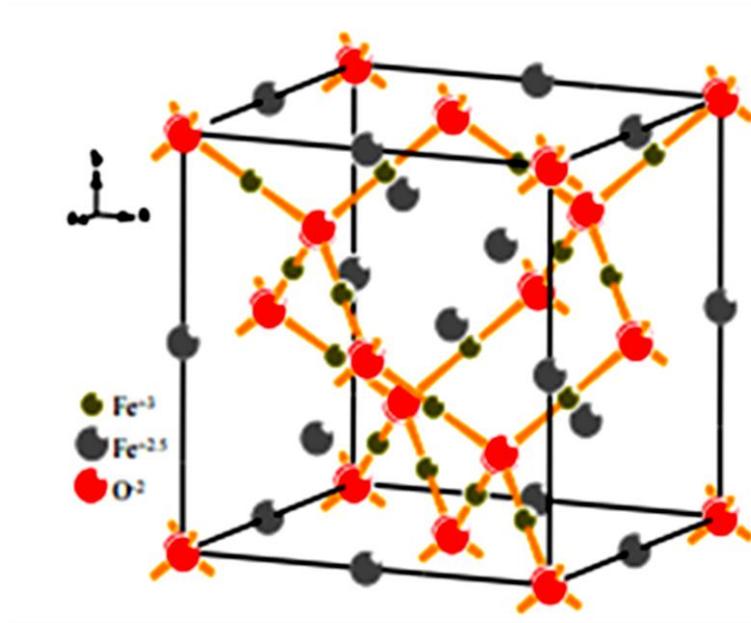


Figure 1. 17 : Structure Spinel inverse. Schéma illustrant la structure cristalline la plus simple d'une ferrite : la magnétite Fe_3O_4 .^[179]

- La ferrite de magnésium

La ferrite de magnésium, de formule chimique $MgFe_2O_4$, cristallise également à température ambiante dans la structure spinelle inverse. Les atomes de magnésium sont essentiellement situés dans les sites Td à la place de certains atomes de fer de la magnétite. Les mesures expérimentales montrent que la répartition de ces atomes est aléatoire dans les sites octaédriques et qu'elle ne fait pas apparaître de direction privilégiée.^[180] Ainsi, la formule de la ferrite de magnésium peut être écrite par la notation suivante : $(Mg_{1-\delta}Fe_{\delta})^{Td} [Mg_{\delta}Fe_{2-\delta}]^{Oh}O_4$. De plus, expérimentalement le paramètre de maille de la $MgFe_2O_4$ a une valeur comprise entre 8,37 Å et 8,4 Å.^[181] Cependant, la valeur majoritairement retrouvée et utilisée dans la littérature est de 8,392 Å, valeur que nous adopterons également par la suite.

1.5.2. Magnétisme de l'état métallique

Le magnétisme dans les métaux est dû, en premier lieu, à l'existence d'électrons célibataires sur la couche 3d, ce qui est le cas du fer, du nickel et du cobalt. Ces derniers induisent un moment porté par chaque atome. Le moment magnétique d'un atome libre a trois origines principales :

- i) Le spin de l'électron, dû à la rotation de l'électron sur lui-même ;
- ii) Le moment cinétique orbital de l'électron par rapport au noyau ;
- iii) La variation du moment orbital créée par l'application d'un champ magnétique.

En assimilant le matériau à un ensemble de moments magnétiques, μ , orientés dans l'espace, on montre que l'aimantation M est la somme des projections des moments dans la direction du champ magnétique appliqué H . Ainsi, les moments magnétiques ne sont pas statiques, mais dynamiques et en perpétuelle interaction.^[182]

a) Classification des matériaux d'un point de vue magnétique

Un matériau magnétique apparaît comme un ensemble de moments magnétiques élémentaires (les atomes) interagissant entre eux et organisés en un réseau cristallin. Ces moments magnétiques dépendent de l'environnement magnétique de chaque atome à savoir la nature et la position des atomes voisins, la température et le champ magnétique appliqué. Sur la base du comportement de cet ensemble, les matériaux peuvent être classés en quatre principaux groupes : les diamagnétiques, les paramagnétiques, les ferrimagnétiques et les ferromagnétiques (figure 1.18).^[183]

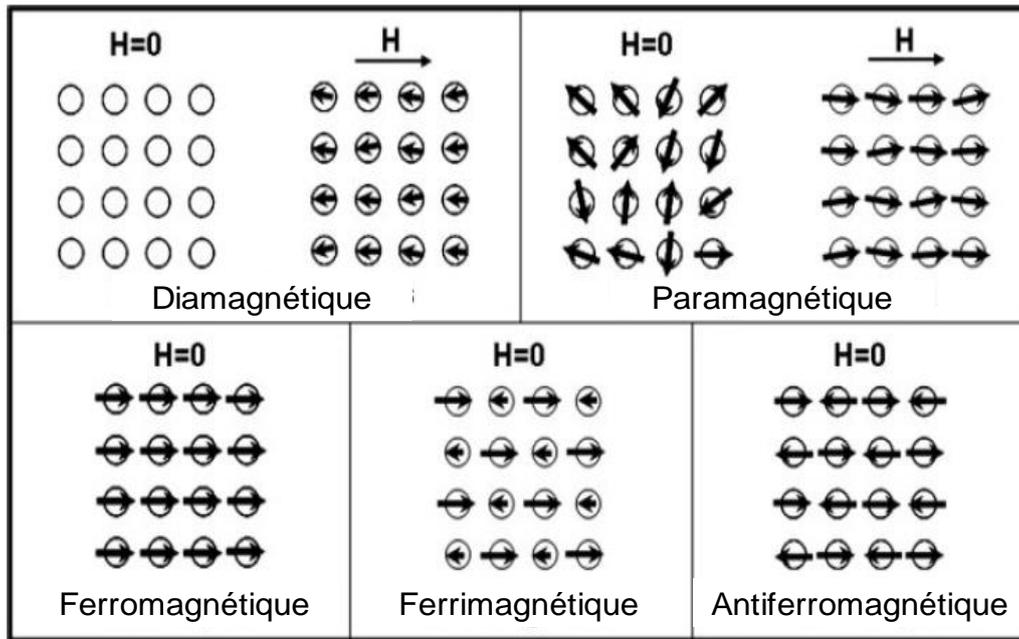


Figure 1. 18 : Schéma illustrant l'arrangement des moments magnétiques des matériaux magnétiques en présence et en absence de champ magnétique.^[184] Les moments magnétiques s'orientent au hasard dans les paramagnétiques, et sont de même sens dans les matériaux ferromagnétiques. Ils sont de sens opposés mais de somme nulle dans les antiferromagnétiques et de sens opposés et de grandeur différente dans les ferrimagnétiques.

i) Les matériaux diamagnétiques : Ce sont des matériaux qui ne comportent que des atomes dont : **a)** les couches internes électroniques sont complètes, **b)** des atomes non magnétiques, et **c)** l'aimantation est induite par l'application d'un champ magnétique qui disparaît lorsque ce dernier est nul. Les métaux comme l'argent, l'or, le cuivre, le mercure ou

le plomb et des substances comme le quartz, le graphite, les gaz rares ainsi qu'une grande majorité des composés organiques se rangent dans cette catégorie.

ii) [Les matériaux paramagnétiques](#) : Ils possèdent une aimantation nulle en l'absence de champ magnétique extérieur car les moments magnétiques de leurs atomes s'orientent au hasard, si bien que le moment magnétique résultant est nul. La plupart des métaux font partie de cette famille. C'est le cas de l'aluminium, du platine, du manganèse et du sodium.

iii) [Les matériaux ferromagnétiques](#) : Le ferromagnétisme caractérise les matériaux dont les moments magnétiques (μ) d'atomes voisins, sont parallèles entre eux ([figure 1. 18](#)).^[185] Ils présentent alors une aimantation spontanée due à cet alignement. Une fois chauffés, les matériaux ferromagnétiques perdent leurs propriétés magnétiques et se transforment en matériaux paramagnétiques. Cette perte devient complète au-delà d'une certaine température caractéristique du matériau considéré, appelée température de Curie. Un matériau ferromagnétique peut également devenir paramagnétique si sa taille est suffisamment petite on parle alors de **superparamagnétisme**.

iv) [Les matériaux ferrimagnétiques](#) : Ces matériaux ont des propriétés similaires à celles des substances ferromagnétiques, c'est-à-dire qu'ils possèdent une aimantation résultante non nulle en l'absence de champ magnétique extérieur. Leur structure cristalline est divisée en deux réseaux chacun caractérisés par un moment magnétique différent. La somme de ces deux moments étant non nulle. C'est le cas par exemple des ferrites qui sont pratiquement isolantes mais lorsqu'elles sont placées dans un champ magnétique, elles sont aimantées à saturation et d'une manière spontanée.^[186]

v) [Les matériaux antiferrimagnétiques](#) : Si les moments des deux réseaux cristallins sont égaux et opposés, il s'agit alors de ce que l'on appelle *l'antiferromagnétisme*. Dans ce cas, l'aimantation magnétique résultante est nulle. Il existe cependant une température analogue à la température de Curie, appelée température de Néel, au-dessus de laquelle la substance antiferromagnétique devient paramagnétique.

b) [Effet d'un champs magnétique externe : cycle d'hystérésis](#)

L'étude du magnétisme des ferrites est fondamentale, au vu des nombreux domaines d'applications concernés. Un matériau magnétique produit une induction magnétique dans le volume qu'il occupe, on dit qu'il s'aimante ou qu'il se polarise. Par ailleurs, lorsque l'on soumet un matériau ferromagnétique à un champ magnétique alternatif extérieur, sa réponse peut être décrite par une courbe appelée *cycle d'hystérésis* ([figure 1. 19](#)).

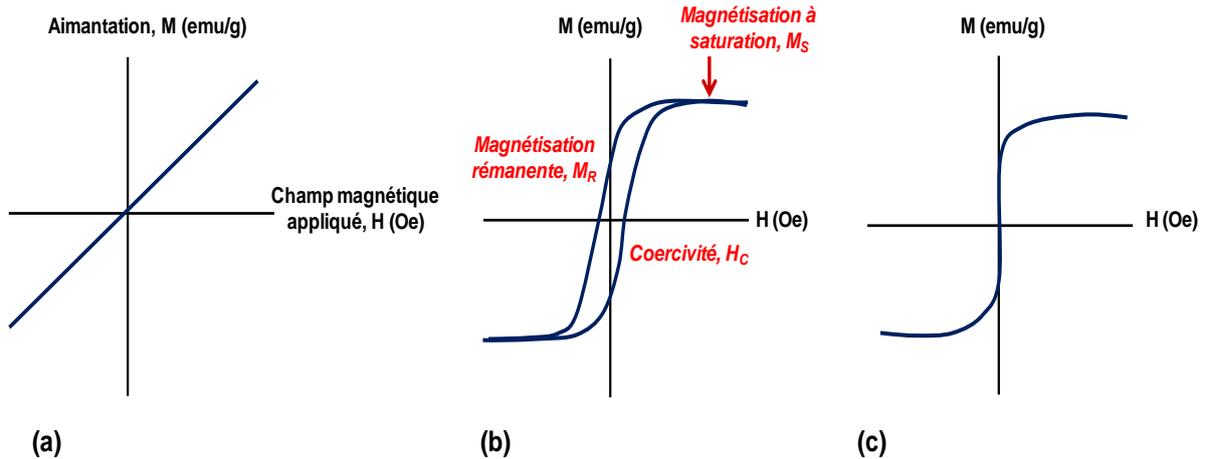


Figure 1. 19 : Courbes d'aimantation des matériaux (a) paramagnétique, (b) ferromagnétique et (c) superparamagnétique d'après Pankhurst et al.^[187]

Le cycle d'hystérésis,**** symbolisé par $M(H)$, est la réponse des matériaux magnétiques, à l'application d'un champ magnétique H .^[188] Le tracé de l'induction en fonction du champ H extérieur appliqué, peut être illustré par la formule suivante :

$$B = \mu_0(H + M) = \mu_0(1 + \chi)H = \mu H$$

Avec :

B est le champ d'induction. μ_0 est la perméabilité du vide. χ est la susceptibilité magnétique. μ est la perméabilité de la substance.

La **figure 1. 19-b**, représente le cycle d'hystérésis d'un matériau ferromagnétique. Les paramètres caractéristiques du cycle d'hystérésis sont les grandeurs suivantes :

- **L'aimantation à saturation (M_s)** : c'est l'aimantation atteinte à haute champ lorsque tous les moments sont alignés. L'augmentation du champ induit une transition magnétique d'un état de désordre à un état d'ordre des moments magnétiques correspondant à l'alignement maximum de tous les moments dans la direction du champ appliqué. L'aimantation à saturation est une caractéristique magnétique statique. C'est un paramètre qui dépend notamment de la composition du matériau magnétique et de sa structure.

- **L'aimantation rémanente (M_r)** : également appelée aimantation résiduelle, elle correspond à l'aimantation mesurée après retour à zéro du champ magnétique appliqué.

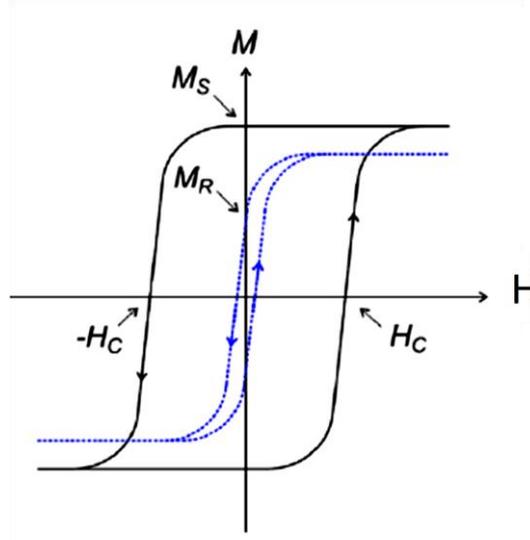
- **La coercivité ou champ coercitif (H_c)** : Elle est définie comme étant le champ qu'il est nécessaire d'appliquer dans le sens inverse du champ initial afin de retrouver une aimantation nulle. La coercivité est une propriété extrinsèque. Elle est fortement influencée par les propriétés microstructurales telles que la taille et la forme des grains ainsi que la composition

**** Comportement spécifique dans le cas du fer. Démonstré par J.A. Ewing, il l'a appelé hystérésis qui signifie retard de l'effet sur la cause (ici, l'effet de l'aimantation sur le champ magnétique appliqué).

et la texture. Ces propriétés sont directement liées aux conditions de préparation des matériaux.

c) Classification des matériaux ferromagnétiques

Les matériaux magnétiques sont principalement classés en matériaux magnétiquement doux et les matériaux magnétiquement durs et dont les différentes caractéristiques sont illustrées sur la [figure 1. 20](#).



[Figure 1. 20](#) : Cycle d'hystérésis des matériaux magnétiques dits doux (courbe en bleu) et durs (courbe en noir).^[188]

Les matériaux magnétiques doux sont caractérisés par une faible surface du cycle d'hystérésis et d'un champ coercitif plutôt faible ($H_c < 1000 \text{ A/m}$). Alors que les matériaux magnétiquement durs s'aimantent et se désaimantent difficilement. Ils sont principalement caractérisés par une grande surface du cycle d'hystérésis, une grande aimantation rémanente et d'un champ coercitif élevé ($H_c > 10 \text{ KA/m}$).

1.5.3. Applications des nanoparticules magnétiques

Le ciblage magnétique de médicaments, l'un des objectifs de ce travail, est l'une des applications les plus prometteuses des matériaux magnétiques. Elle consiste par exemple à injecter des vecteurs magnétiques (ferro- ou ferrimagnétiques) d'un agent anticancéreux à proximité d'une tumeur à traiter et à les y maintenir de façon concentrée, au moyen d'un champ magnétique extérieur généré à partir d'un aimant ([figure 1. 21](#)).

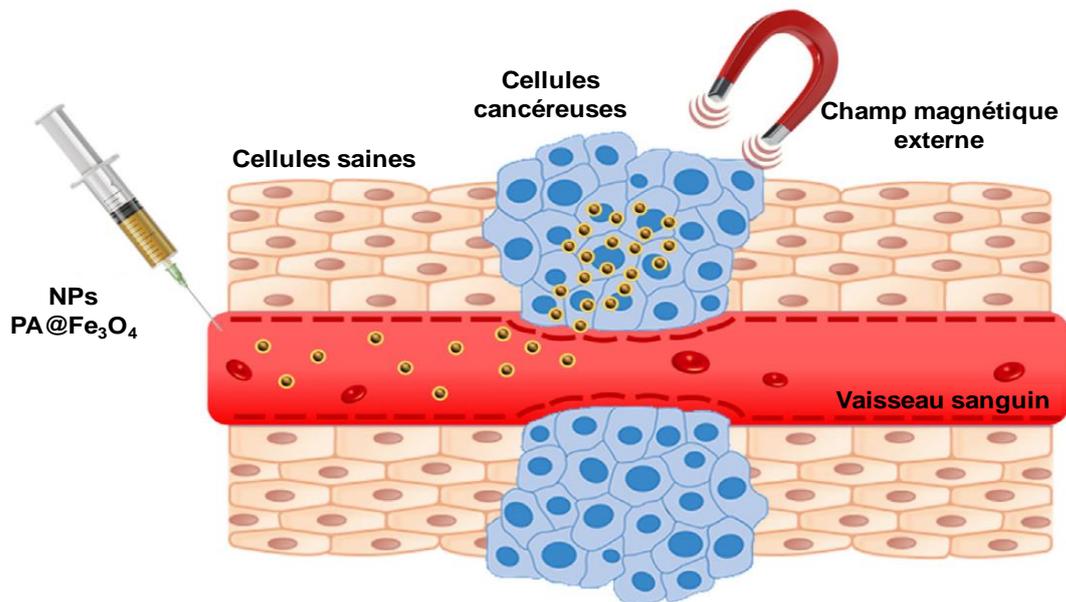


Figure 1. 21 : Schéma représentant le principe du ciblage magnétique de médicament pour le traitement de certains cancers. ^[189]

Dans ce cas, la force du champ magnétique est variable allant de 0,2 à 0,8 Tesla, en fonction de la taille de la tumeur. Cependant, cette méthode reste délicate à exploiter car les particules magnétiques peuvent être retenues dans des micro-vaisseaux de tissus sains et engendrerait par conséquent des embolies. ^[190]

1.5.4. Méthodes d'obtention des nanoparticules magnétiques

De nombreux procédés de synthèse de NPs ferrites ont été décrits dans la littérature. Ce sont essentiellement des procédés de : coprécipitation, ^[191,192] synthèses solvothermales ou hydrothermales, ^[193,194] sol-gel, ^[204,205] ^[195,196] ou encore polyol. ^[197,198] Des NPs de ferrites obtenues par microémulsions, ^[199] par décomposition à haute température, ^[200] par irradiation aux ultrasons, ^[201,202] ou enfin par synthèse par micro-ondes ^[203,204] ont également été décrites dans la littérature (figure 1.22).

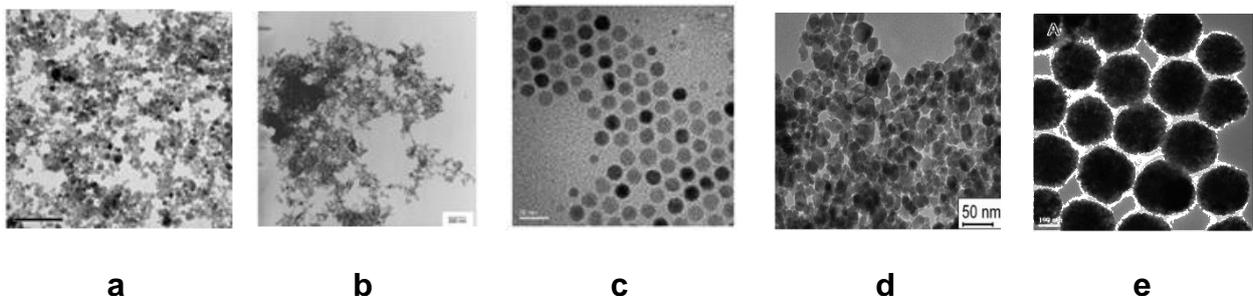


Figure 1. 22 : Images MET de ferrites synthétisées par divers procédés : (a) Fe_2O_3 /coprécipitation, ^[205] (b) Fe_3O_4 /microémulsion, ^[199] (c) Fe_3O_4 /décomposition thermique, ^[206] (d) Fe_3O_4 /synthèse hydrothermale, ^[207] et (e) Fe_3O_4 /synthèse solvothermale. ^[208]

Ces synthèses ont été développées pour répondre à bon nombre de besoins particuliers, tels que : la production de masse, la synthèse rapide ou l'obtention de particules poreuses. Cependant, chacune de ces méthodes de synthèse présente certains avantages dont : la facilité de mise en œuvre, la rapidité, la possibilité du contrôle des paramètres morphologiques et structuraux des NPS produites. Dans le [tableau 1.2](#), sont résumés les principales caractéristiques des diverses méthodes de synthèse de NPs magnétiques existantes.^[191,198]

[Tableau 1.2](#). Principales caractéristiques des méthodes de synthèses des NPs magnétiques.

Méthode de synthèse	Principales caractéristiques expérimentales				Taille des NPs (nm)
	Difficulté	Temps de réaction	Température (°C)	Solvant	
Coprécipitation	Simple	Minutes-heures	25-90	Aqueux	< 20 nm
Microémulsion	Difficile	Dizaine de minutes	20-50	Aqueux/organique	< 50
Décomposition thermique	Difficile	Heures	200-400	Organique	< 30
Hydrothermale	Simple	Heures	180	Aqueux/organique	< 1000
Sol-gel	Simple	Minutes	40-90	Aqueux	< 20
Polyol	Simple	Minutes	180	Organique	< 10

1.5.5. Cytotoxicité et devenir des nanoparticules magnétiques

Les NPs magnétiques sont aujourd'hui au cœur de la nanomédecine. Elles servent en effet d'agents de diagnostic en imagerie, d'agents thermiques anti-cancéreux, ou encore d'agents de ciblage de médicaments. La question de leur devenir dans les cellules, après accomplissement de leur mission thérapeutique, reste cependant à éclaircir. En effet, après accomplissement de leur mission thérapeutique, les NPs magnétiques devront être rapidement évacuées du corps pour s'assurer qu'aucun problème lié à une éventuelle toxicité ne puisse survenir.^[209] Lors de l'injection de NPs magnétiques, la dégradation des ces dernières dans l'organisme entrainera la libération du fer. Ce dernier est libéré selon la réaction de Fenton dont la réaction chimique est la suivante : $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH\cdot + OH^-$, conduisant ainsi à la production des ROS. Les molécules de fer peuvent être stockées dans le corps par des protéines spécifiques, (cofacteurs), mais lorsque les concentrations en fer deviennent trop élevées, les réserves de fer se saturent, ce qui induit une production prolongée de ROS plus toxiques, ce qui pourrait causer des dommages supplémentaires aux cellules.

L'élimination des NPs magnétiques du corps implique plusieurs organes, dont le foie et la rate.^[210] La cytotoxicité des NPs magnétiques dépend généralement de trois paramètres, à savoir :

i) la taille des NPs : En effet, les études réalisées suggèrent que plus la taille des particules est petite, plus la toxicité des NPs de fer pourraient être élevée ;^[211]

ii) la forme : Dans une expérience conçue pour mesurer l'impact de *la forme* des NPs de fer, Lee *et al.*, ont exposé des cellules macrophages de souris à des sphères et à des tiges de NPs magnétiques. A concentrations égales, les effets observés ont été directement corrélés à la forme des NPs de fer. En effet, les NPs en bâtonnets/tiges présentaient une plus grande toxicité que la forme sphérique en raison de leur rapport surface/volume plus élevé et de leur capacité à endommager la membrane cellulaire par production de ROS.^[210]

et la iii) fonctionnalisation/revêtement des NPs : La plupart des études soutiennent l'idée que le revêtement des NPs réduirait les risques de toxicité résultant du lessivage des NPs nues et de la libération de fer.^[209]

1.6. Les structures hiérarchisées multifonctionnelles pour la vectorisation

La recherche actuelle se mobilise fortement sur la construction de vecteurs thérapeutiques hybrides et furtifs qui possèdent des fonctions de ciblage et de pénétration afin d'augmenter leur sélectivité. Certains vecteurs sont utilisés pour l'imagerie à résonance magnétique (IRM) ou optique *via* la présence de sondes magnétiques ou luminescentes. D'autres permettent de détruire des cellules malignes *via* l'activation de rayonnements (RX, laser, *etc.*) ou par hyperthermie magnétique ou plasmonique. Néanmoins, ces vecteurs hybrides doivent également être capables de permettre un ciblage optimisé et un relargage contrôlé du PA, comme par exemple, un médicament permettant la destruction chimique des cellules cancéreuses et non pas des cellules saines. A l'heure actuelle, il existe de nombreuses études publiées qui relatent les possibilités offertes par les nanomatériaux inorganiques hybrides et fonctionnalisés. En effet, ces derniers permettent de coupler à la fois ciblage, furtivité, imagerie, radiothérapie ciblée, traitements thermiques, traitements chimiques et relargage contrôlé.^[212] Ainsi, les besoins évoqués précédemment ont inspiré le développement du concept de **nanoparticule multifonctionnelle** (figure 1.23).

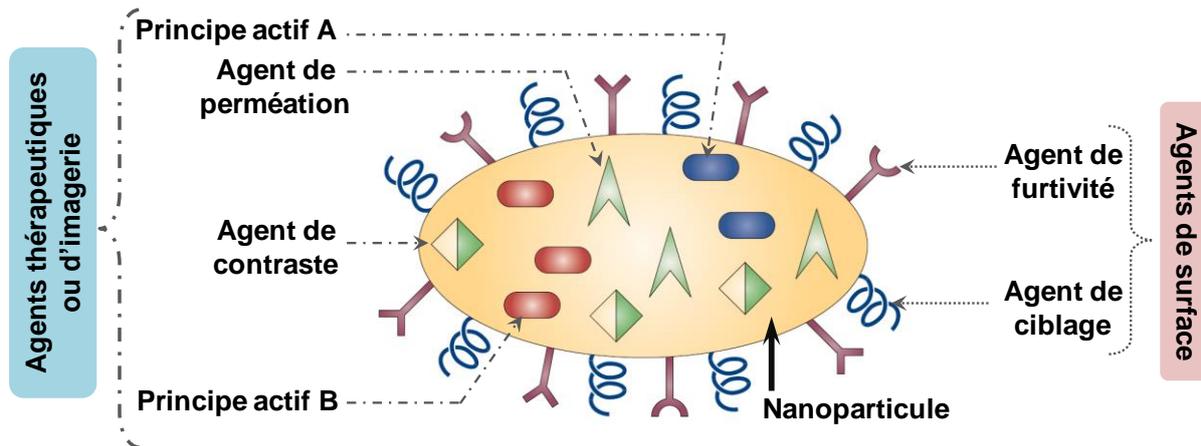


Figure 1.23 : Schéma représentant une nanoparticule aux fonctionnalités multiples pour une application dans le domaine de la vectorisation.^[213]

En d'autres termes, une nanoparticule multifonctionnelle a la capacité de transporter un ou plusieurs PA, ainsi qu'un agent de contraste permettant son suivi dans l'organisme du patient (figure 1.23). Par ailleurs, la présence d'agents de furtivité à la surface des particules permettrait d'éviter leur capture par les macrophages et augmenterait leur temps de circulation dans l'organisme. En revanche, les agents de perméation, quant à eux, permettent aux nanoparticules multifonctionnelles de traverser les barrières biologiques (telles que la paroi des vaisseaux sanguins), qui se dressent entre ces dites nanoparticules et la zone d'action ciblée. Enfin, les agents de ciblage (comme des anticorps), greffés sur la nanoparticule permettraient un ciblage actif et favoriseraient donc l'accumulation du ou des PA(s) dans le tissu cible et/ou son/leur internalisation par les cellules ciblées.^[213]

L'un des objectifs de ce travail de thèse de Doctorat est justement de synthétiser des nanocomposites lamellaires magnétique *i.e.* cœur magnétique@HDL. Ces matériaux montrent de meilleures propriétés, y compris la facilité de synthèse contrôlée, la capacité d'échange anionique élevée, la surface spécifique élevée et la stabilité en milieu biologique. Ainsi, cela permet d'envisager leur utilisation afin de surveiller, de diagnostiquer et de traiter de manière non invasive, de nombreuses maladies. Mais dans un premier temps, un rappel bibliographique sur les principaux HDL et oxydes de fer décrits dans la littérature est nécessaire. De ce fait, cette partie discute leurs principales propriétés et leur mode d'obtention.

1.6.1. Les structures hiérarchisées à base d'HDL

Plus récemment, des hybrides et des nanocomposites à base d'HDL ont été développés, dont les structures hiérarchisées (telles qu'illustrées dans la figure 1.24) permettraient : *i)* de concevoir des matériaux multifonctionnels aux nombreuses propriétés fonctionnelles uniques,

et, *ii*) de développer de nouvelles applications technologiques en catalyse, en chimie des matériaux, pour les capteurs et en particulier pour l'administration de médicaments.^[214]

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies cardiovasculaires et le cancer sont parmi les principales causes de mortalité à l'échelle mondiale entraînant une forte demande de médicaments avec une efficacité durable. Cette efficacité du médicament étant fortement liée à la nanoparticule multifonctionnelle qui lui est associée.

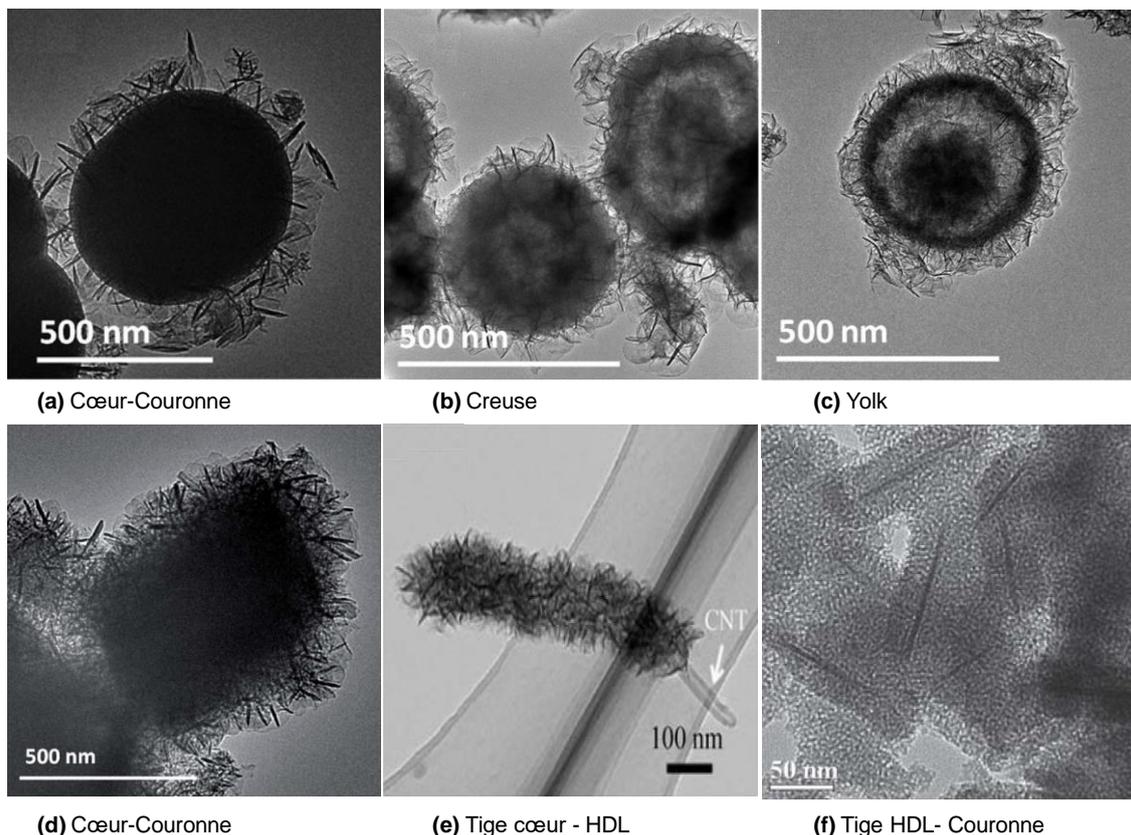


Figure 1. 24 : Micrographies de différentes structures hiérarchisées à base d'HDL : (a), (b) et (c) $\text{SiO}_2\text{@HDL}$ ^[215] (d) zéolithe@HDL^[216] (e) NTC@HDL^[217] (f) HDL @ SiO_2 ^[218], observées par MET.

Parmi les structures hiérarchisées à base d'HDL on retrouve les NPs de type cœur-couronne où la couronne est la phase HDL^[219] (figure 1.24 a-c) que nous noterons par la suite : cœur@HDL.

Les matériaux nanostructurés de type cœur@HDL sont dotés de propriétés physicochimiques uniques (biocompatibilité, importante capacité d'échange et structure en feuillets). Cependant, de nouvelles fonctionnalités intéressantes vont s'ajouter à cela comme le magnétisme, la structure poreuse et le rapport surface/volume élevé.^[219] Ainsi, en ajustant les propriétés du cœur et de la phase HDL, une gamme de nanoparticules cœur@HDL peut être produite avec des de bonnes performances.^[220]

1.6.2. Synthèse et applications des structures hiérarchisées magnétiques à base d'HDL

Suite à la réussite de la mise au point de nombreuses structures de type cœur@HDL présentant des propriétés physico-chimiques grandement améliorées par rapport aux structures simple, la ruée vers l'innovation dans ce domaine a menée à l'émergence d'une nouvelle génération de structures hautement performantes. Parmi les nombreuses méthodes conçues pour préparer ces matériaux cœur@HDL, nous pouvons distinguer :

i) La coprécipitation : c'est la méthode la plus couramment utilisée en laboratoire. De manière générale, le cœur magnétique chargé négativement adsorbe à sa surface les deux cations métalliques qui sont par la suite précipités à sa surface. La croissance des cristaux d'HDL se produit par mûrissement à une certaine température ou par traitement hydrothermal. Zhang *et al.*, ont utilisé cette approche, avec succès, pour préparer une couronne HDL chargée d'un anti-inflammatoires sur un cœur de ferrite de magnésium ($MgFe_2O_4@HDL-PA$). Ainsi, le cœur des particules de ferrite de magnésium, ayant en premier lieu adsorbé les cations Mg^{2+} et Al^{3+} , a été mélangé avec une solution contenant de l'hydroxyde de sodium et du diclofénac pour induire la précipitation. Le nanocomposite obtenu $MgFe_2O_4@HDL-PA$ possède une structure cœur-couronne claire, d'un diamètre d'environ 100 nm (figure 1.25).^[221]

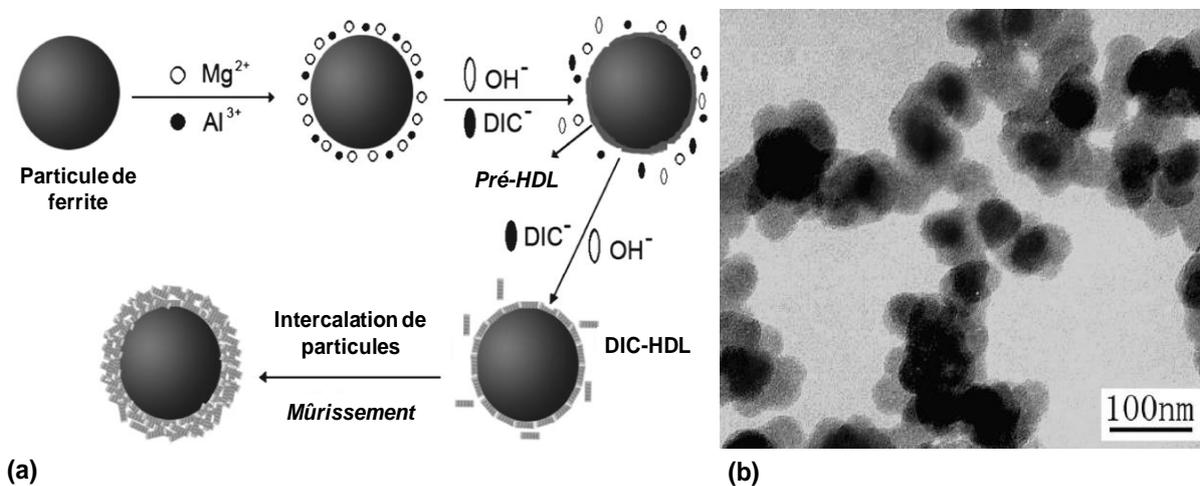


Figure 1. 25 : Synthèse des nanocomposites $MgFe_2O_4@HDL-PA$ par coprécipitation. (a) Représentation schématique du processus de synthèse avec PA = diclofénac (Dic). (b) Micrographie de $MgFe_2O_4@HDL-Dic$ observées par MET.^[221]

ii) L'auto-assemblage : Dans cette approche, les deux composants cœur et couronne sont synthétisés séparément. La construction de la superstructure cœur@HDL est alors générée

après auto-assemblage de chacune des parties, suivie d'un post-traitement. Ay *et al.*, ont eu recours à cette méthode pour synthétiser des nanocomposites de $\text{MgFe}_2\text{O}_4\text{@HDL}$.^[222]

iii) La méthode de coprécipitation assistée par ultrasons : Cette méthode a également été appliquée pour synthétiser une variété de nanocomposites cœur@HDL. Cette dernière facilite la distribution et l'adsorption uniforme des cations métalliques à la surface du cœur, en améliorant ainsi la croissance homogène de la phase HDL.^[180]

D'autres méthodes comme la méthode sol-gel, la calcination/reconstruction ou la délamination/réempilement permettent elles aussi d'élaborer des structures cœur@HDL. Un exemple du procédé de synthèse par la méthode de calcination/reconstruction est illustré dans la [figure 1.26](#), avec comme PA, la doxifluridine (DFUR), un analogue nucléosidique utilisé en chimiothérapie.

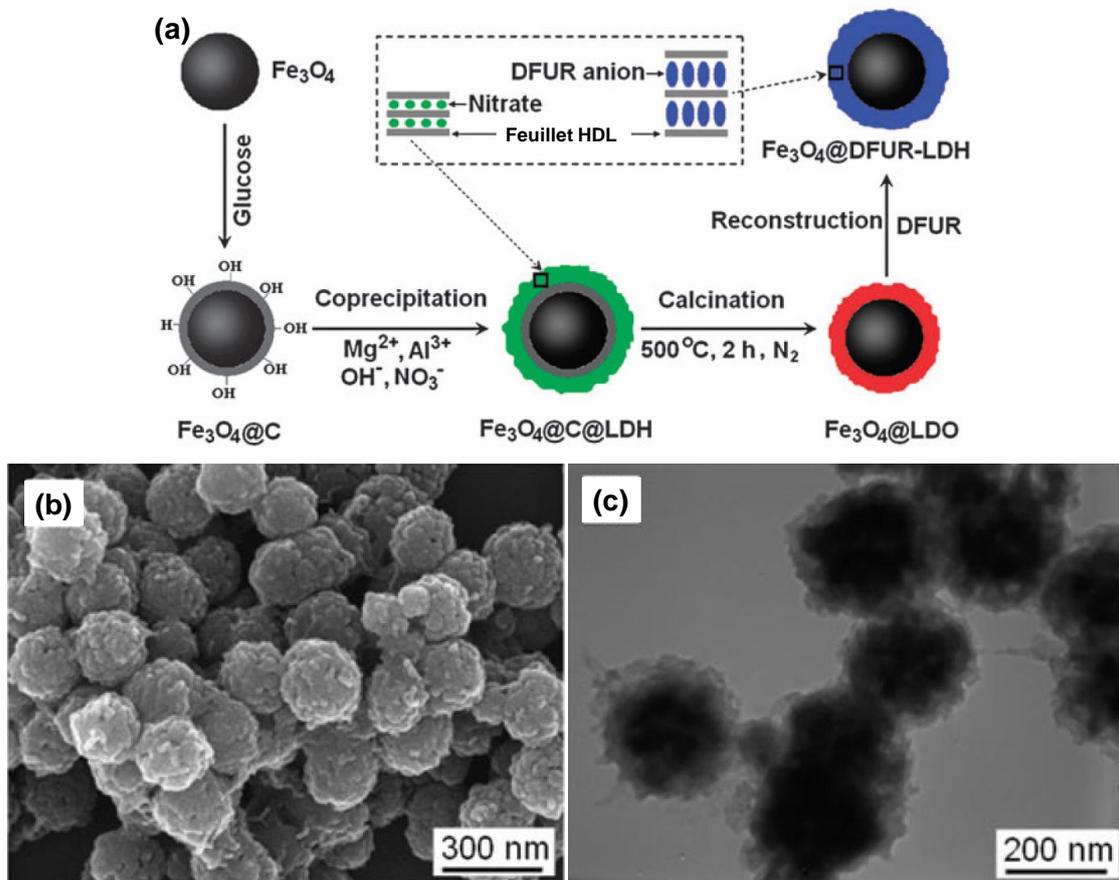


Figure 1. 26 : Synthèse de nanocomposites $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-PA}$ par calcination-reconstruction. **(a)** Schéma résumant le principe général de la synthèse, ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@C}$, correspond à une particule de Fe_3O_4 recouverte d'une fine couche de carbone). **(b)** Micrographie de particules de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@C@HDL}$ observées par MEB. **(c)** Micrographie de particules de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-DFUR}$ observées par MET.^[223]

L'administration de médicaments est parmi les applications les plus importantes des nanocomposites fonctionnels cœur@HDL. Elle permet la libération du PA d'une manière soutenue, contrôlée et/ou ciblée, afin d'améliorer leur effet thérapeutique et leur biodisponibilité. Le cœur fournit une matrice pour la croissance de la couronne HDL ; et plus important encore, il confère au nanocomposite des propriétés fonctionnelles supplémentaires, telles que le magnétisme et le superparamagnétisme. La couronne HDL, quant à elle, sert de matrice hôte de molécules thérapeutiques en intercalant/libérant les PA/biomolécules depuis l'espace interlamellaire. Outre une libération contrôlée, la délivrance ciblée de médicaments au niveau du site d'action pharmacologique à l'aide des nanohybrides magnétiques cœur@HDL est également prometteuse ([tableau 1.3](#)).

Tableau 1.3. Quelques nanocomposites magnétiques de type cœur@HDL-PA et leurs propriétés tels que décrits dans la littérature.

Composite cœur@HDL	(Bio)- molécule intercalée	Cœur		Caractéristiques des nanocomposites (préparation, magnétisme, taille, charge)	Applications	Réfs
		Méthode de synthèse	Réactif(s) utilisé (s)			
MgFe₂O₄@ Mg₂Al-NO₃	Ibuprofène	Calcination phase HDL	Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O Fe(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	Coprécipitation 2,2-8,2 emu/g	Délivrance de médicaments	[224]
Fe₃O₄ @Mg₂Al-NO₃	5-fluorouracil	Fe ₃ O ₄ Technique (Sigma-Aldrich)		Echange anionique 3,25 emu/g ζ = + 45,5 mV	Délivrance de médicaments	[225]
Fe₃O₄ @Mg₂Al-NO₃/Au	Méthotrexate	Solvothermale	FeCl ₃ ·6H ₂ O	Coprécipitation : Fe ₃ O ₄ @MTX-Mg ₂ Al ζ = +38,4 mV, MET : 255–270 nm Auto assemblage : Fe ₃ O ₄ @MTX-Mg ₂ Al/Au ζ = +19,4 mV	Chimiothérapie hyperthermique	[226]
Fe₃O₄@Zn₂Al-NO₃	Sodium salicylate	Solvothermale	FeCl ₃ ·6H ₂ O	Coprécipitation 480 nm 60 emu/g	Délivrance de médicaments	[227]
Fe₃O₄ @Mg₃Al-NO₃	Enrofloxacin	Coprécipitation	FeCl ₃ ·6H ₂ O FeCl ₂ ·4H ₂ O	Délamination-réempilement MET : 15-20 nm 6,42 A·m ² / kg	Délivrance de médicaments	[228]
Fe₃O₄ @Cu_xGa-NO₃ X=2,3	2- hydroxyethane- sulfonate	Coprécipitation	FeCl ₃ ·6H ₂ O FeCl ₂ 4H ₂ O	Délamination-réempilement: Ise-Cu _x Ga ζ = + 21,8 et + 24,5 mV Coprécipitation : Fe ₃ O ₄ /Ise-Cu _x Ga 32,41 ; 49,92, et 59,86 emu/g	Adsorption des phospholipides	[229]

En effet, le système d'administration magnétique permet de concentrer la dose de médicament au niveau du site cible, et ce, à l'aide d'un champ magnétique externe. Il évite ainsi l'administration non spécifique de médicaments, il améliorerait l'effet thérapeutique et réduirait les effets secondaires du médicament. Enfin, la délivrance ciblée peut également être obtenue en conjuguant des anticorps et d'autres ligands sur les nanoparticules d'HDL.^[220]

1.6.3. Libération du PA en réponse à un stimulus

Les stimuli sont classés en deux grandes catégories : *i) stimuli physiques ou externes* tels que : température, contrainte mécanique, lumière, champs magnétiques et électriques ; *ii) stimuli chimiques et biochimiques ou internes* tels que : pH, force ionique, molécule chimique (glucose, redox) ou biochimique (enzymes, antigènes...). L'exploitation d'un caractère stimuli-sensible que peut avoir un nanocomposite intercalé avec un PA est largement relaté dans la littérature dans le but de déclencher, voire d'accélérer, la libération de la molécule active à proximité de son site d'action.^[230]

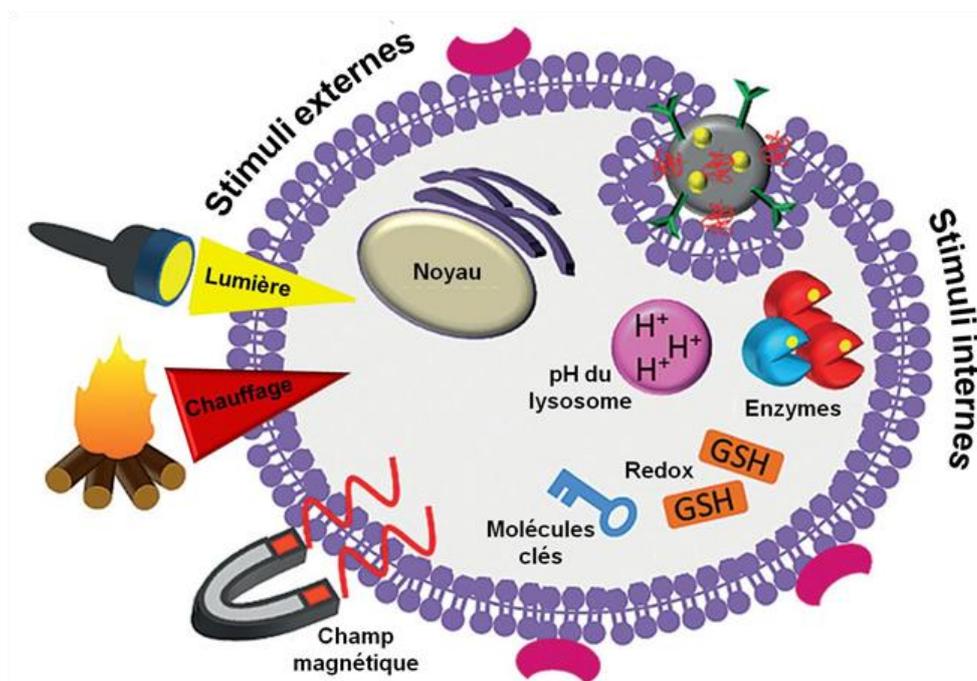


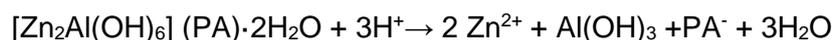
Figure 1. 27 : Les différents stimuli utilisés pour le déclenchement de la libération d'un PA. **Libération déclenchée par une enzyme ou par des molécules clés** : Une dérégulation de l'activité enzymatique et une augmentation anormale de la présence enzymatique ont été observées dans un certain nombre d'états pathologiques qui font des enzymes des stimuli intéressants afin de déclencher la libération de PA en utilisant leurs actions biocatalytiques. **Des systèmes sensibles au potentiel redox** : Le meilleur exemple est celui du glutathion (GSH). C'est un tripeptide sous forme réduite comprenant un groupement thiol. Le GSH un agent réducteur qui brise les liaisons disulfures donnant lieu à deux fonctions SH. Dans la mesure où le GSH est mille fois plus concentré à l'intérieur qu'à l'extérieur des cellules et dans les tissus tumoraux plutôt que dans les tissus sains, il peut être utilisé comme stimulus pour libérer des médicaments. **Les systèmes thermoréactifs, magnétiques et les systèmes sensibles à la lumière** représentent également des moyens efficaces pour contrôler la libération de PA.^[7]

Dans le domaine pharmaceutique, la libération contrôlée des PA n'a pas que pour seul objectif de prolonger la libération du PA dans le temps mais tente également de maintenir sa concentration dans la fenêtre thérapeutique. Ceci permettrait d'atténuer les effets secondaires qui accompagneraient une éventuelle accumulation du PA après administration et qui serait potentiellement dangereuse pour le patient.

1.6.3.1. Le pH comme stimulus interne

Les systèmes de délivrance de PA sensibles au pH sont souvent utilisés car dans le corps humain, des variations de pH sont par exemple observées tout le long du tractus gastro-intestinal, *i.e.* l'estomac (1,0–3,0), l'intestin grêle (6,5–7,0) et le côlon (7,0–8,0). De plus, des gradients de pH peuvent être observés dans certaines pathologies telles que le cancer avec un pH extracellulaire des tissus tumoraux compris entre 6,5 et 7,0 ; ou en cas d'inflammation où le pH des tissus enflammés et des plaies est compris entre 5,4–7,2. Ces pH sont d'ailleurs plus acides que le pH du sang et des tissus sains (7,4). Aussi, lorsque les NPs sont internalisées par des cellules, elles peuvent être exposées à différents pH en fonction des compartiments cellulaires où elles se trouvent. En effet, au sein d'une cellule les valeurs de pH suivantes sont rencontrées : cytosol (7,4), appareil de Golgi (6,4), endosomes (5,5–6,0) et lysosomes (5,0).^[7]

Comme indiqué dans la partie relative à la structure des HDL, l'empilement des feuillettes est équilibré par des anions interlamellaires qui sont échangeables. Par conséquent, dans certaines conditions de température et de pH (1-8), la phase HDL pourrait libérer le PA, selon la réaction chimique suivante :^[63]



Ainsi, à faible pH, les HDL sont déstabilisés. La dissolution des feuillettes permet de libérer la molécule active. La dissolution des HDL et l'échange anionique (également connu sous le nom de diffusion) sont les deux mécanismes qui gouvernent la libération du PA intercalé. Les conditions physiologiques peuvent être ajustées pour contrôler le profil de libération du PA en modifiant la température, le pH ou les anions du milieu de libération.^[231] Notons que le pH influence fortement le profil de libération à partir des phases HDL, mais *comment se manifeste-t-elle exactement ?*

Pour répondre à la question présente, prenons l'exemple du α -naphtalène acétate qui présente une cinétique de libération rapide, à la fois, à pH = 1 et à pH = 14. Elle est également accompagnée de la dissolution de la phase HDL à pH = 1.^[232] Aussi, O'Hare *et al.*,^[233] ont étudié le profil de libération d'une série de médicaments dont le diclofénac, le gemfibrozil, le felbinac, l'acide 2- propylpentanoïque, le naproxène, l'ibuprofène et l'acide tolfénamique à pH

4 ou 7. Hormis le gemfibrozil qui a montré des profils de libération identiques aux pH 4 et 7, tous les autres PA mentionnés précédemment ont montré une libération plus rapide à pH = 4 qu'à pH = 7. Par ailleurs, de nombreux agents anticancéreux, comme le méthotrexate, ont montré une libération *in vitro* initiale plus rapide, suivie d'une libération prolongée dans un milieu tampon phosphate (à pH = 7.4) et un milieu lysozyme à pH = 4.5.^[234]

1.6.3.2. Les stimuli externes

Les hybrides lamellaires contenant des NPs magnétiques comme par exemple la magnétite, la maghémite ou la pérovskite, sont des nanovecteurs qui nécessitent un stimulus externe pour que soit activée la libération du PA qu'ils transportent. Ainsi, l'exposition à un champ magnétique provoque un échauffement local qui facilite la libération du PA. Cet échauffement dépendra de la taille et des propriétés magnétiques des particules.^[218]

Le profil de libération du diclofénac à partir du nanocomposite $MgFe_2O_4@HDL-Dic$, dans un tampon phosphate salin (PBS), à pH = 7,45, a été étudié en présence et en absence de champ magnétique (figure 1. 28-a).

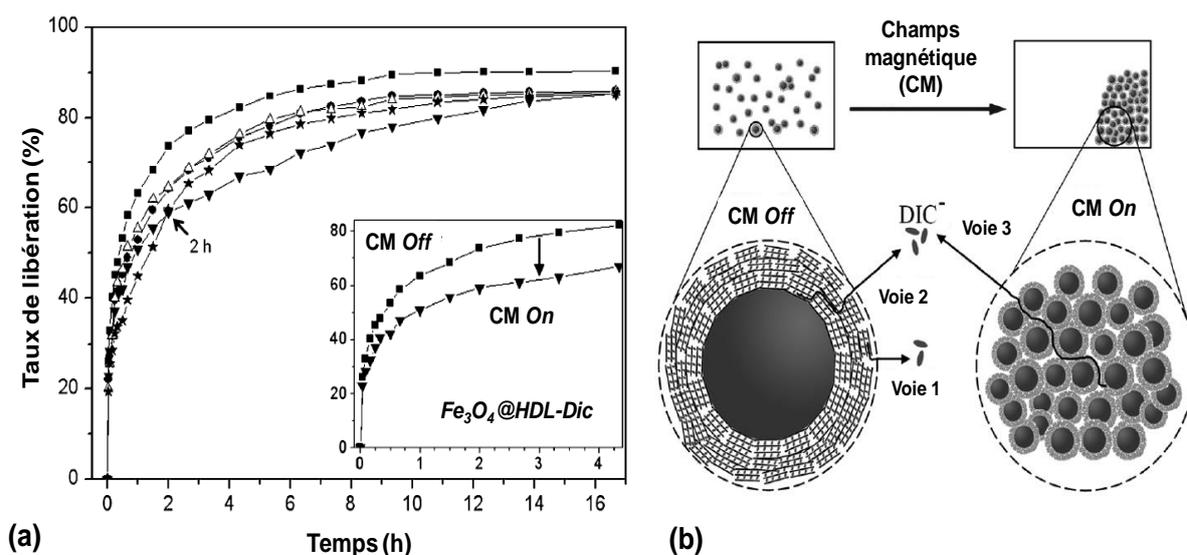


Figure 1. 28 : (a) Cinétique de libération du diclofénac à partir du $Fe_3O_4@HDL-Dic$ dans un tampon PBS pH = 7,45 ■ $Fe_3O_4@HDL-Dic$, ● HDL-Dic, △ Dic+HDL (= mélange physique des deux entités), ★ Dic+HDL (CM On), ▼ $Fe_3O_4@HDL-Dic$ (CM On) ; (b) Mécanismes de diffusion du PA par stimuli magnétique de type on/off et les différentes voies de libération.

Il s'avère qu'en présence d'un champ magnétique, le taux de libération du Dic diminue d'environ 20 %. Les auteurs ont montré que lorsqu'un champ magnétique suffisant est appliqué, le réseau se contracte car les NPs magnétiques sont attirées les unes vers les autres. Ainsi, c'est l'aggrégation des NPs magnétiques qui empêche le Dic de passer librement au travers des nanoparticules d'HDL.^[221]

Par ailleurs, l'effet des stimuli externes a également été étudié par Bi *et al.* Ces derniers ont en effet élaboré des nanocomposites $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL}$ contenant du MTX en y incorporant des NPs d'or formant ainsi des composites $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MTX-HDL/Au}$ (figure 1.29-a).

L'application que Bi *et al.*, avaient ciblée pour ce matériau était la chimiothérapie hyperthermique. Les auteurs ont ainsi combiné deux modes de stimuli externes (figure 1.29-b et c) : *i)* l'application d'un champ magnétique a permis une libération contrôlée du PA sur une durée de 8 heures conduisant à 60 % de libération du MTX. En revanche, à l'abri d'un champ magnétique, une libération rapide est observée avec 90 % de libération au bout 8 heures ; *ii)* l'exposition à un laser infrarouge qui a généré de la chaleur dans le milieu environnant et permis ainsi une hyperthermie des tumeurs.^[226]

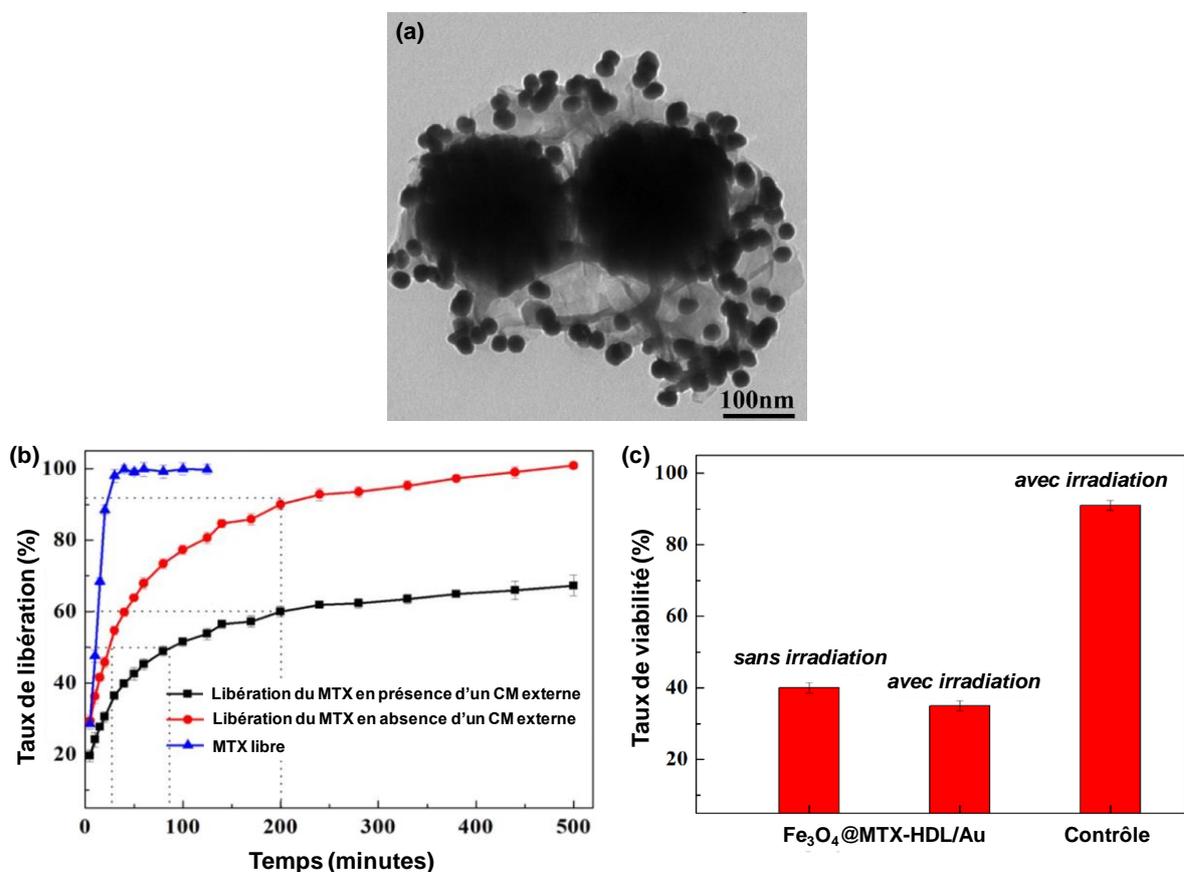


Figure 1. 29 : Libération du méthotrexate en réponse à un stimulus externe. **(a)** Micrographie de l'hybrides $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MTX-HDL/Au}$ observé par MET. **(b)** Profil de libération du MTX dans un tampon PBS = 7,45 en présence et en absence d'un champ magnétique. **(c)** Comparaison des tests de viabilité cellulaire au contact de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MTX-HDL/Au}$ en présence et en absence d'irradiation infrarouge. L'irradiation infrarouge a été utilisée afin de déterminer la capacité de thérapie photothermique de l'Au.

Enfin, comme alternative à une réponse à un échauffement provoqué par l'application d'un champ magnétique ou d'un laser, les ultrasons peuvent représenter une alternative intéressante pour le relargage non invasif et ciblé du PA d'intérêt.^[235]

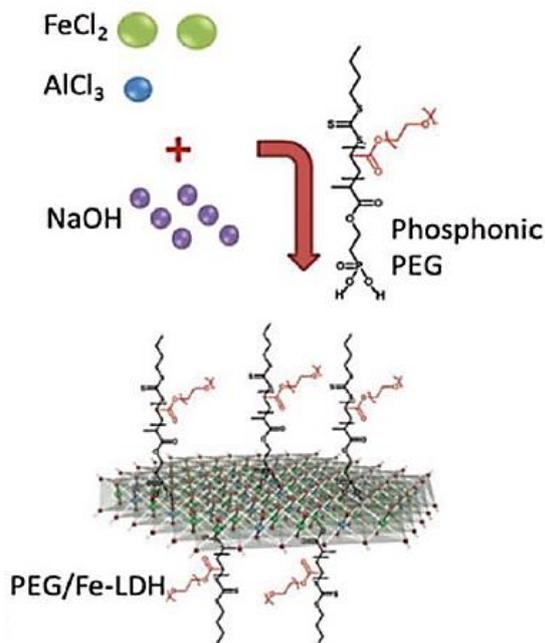
1.7. Contexte et hypothèses du travail de recherche

L'analyse bibliographique présentée dans ce chapitre démontre clairement que les matériaux HDL possèdent bel et bien les caractéristiques physico-chimiques appropriées pour être utilisés comme des vecteurs efficaces pour divers PA. De plus, la vectorisation/l'administration des PA *via* les HDL constitue une approche très prometteuse, à la fois sur les plans médical (et donc à visée thérapeutique) et économique, et ce, pour les cinq principales raisons suivantes :

- 1) Les HDL présentent des propriétés physico-chimiques et biologiques remarquables, parmi lesquelles : *i)* leur composition versatile, ce qui leur permet d'adapter leur biocompatibilité ; *ii)* leur importante capacité d'intercalation qui est un atout pour l'échange anionique ; *iii)* leur mode de préparation et de mise en forme aisés relèvent de la chimie douce (température ambiante, solvant aqueux) ;
- 2) L'emploi des HDL est principalement axé sur : *i)* la protection fournie par ce vecteur aux molécules intercalées, *ii)* l'amélioration de la biodisponibilité des PA hydrophobes.
- 3) Les facteurs cruciaux pour mettre en œuvre, au mieux, ce type de vectorisation sont : *i)* la biocompatibilité et la biodégradabilité des HDL ; *ii)* les différents types d'interactions physico-chimiques développées entre les feuillettes cationiques et les PAs et, *iii)* l'influence des paramètres et des conditions de synthèse sur les cinétiques de relargage des PAs dans différents milieux de libération.
- 4) La plupart des études scientifiques retrouvées dans la littérature présentent un cheminement d'idées logique et très intéressant mais avec pour point commun un schéma d'exécution plus au moins similaire. Ce dernier pourrait néanmoins aisément être amélioré, au niveau de quelques points critiques, pour obtenir, *in fine*, une meilleure efficacité. En effet, ces travaux proposent en premier soit d'élaborer une structure HDL avec des compositions cationiques différentes, soit, de modifier chimiquement la phase HDL par greffage d'anticorps ou d'enzymes. En second lieu, ils réalisent des expériences d'intercalation/libération de PA modèles qui possèdent généralement une mauvaise biodisponibilité. Enfin des études de viabilité cellulaire *in vitro* et/ou *in vivo* sont effectuées quand le besoin s'impose. Ainsi, de cette stratégie "assez simpliste" sur le plan de la sélectivité du vecteur HDL par rapport au PA, résulte souvent une variabilité des taux d'intercalation accompagnée de cinétiques de libération parfois inappropriés pour des utilisations cliniques. Par conséquent, le besoin de structures hiérarchisées à base d'HDL plus sélectives reste toujours un challenge à l'heure actuelle, ce qui nous intéresse dans ce présent travail de recherche ;

Nanovecteurs de deuxième génération

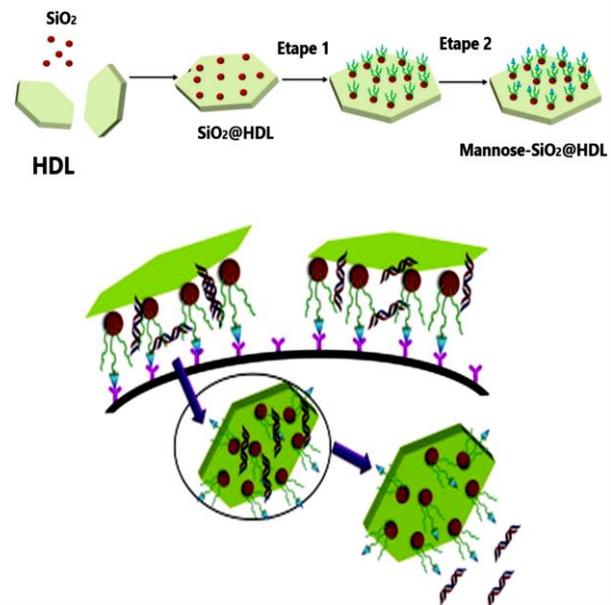
Furtivité



(a)

Nanovecteurs de troisième génération

La reconnaissance moléculaire



(b)

Figure 1. 30 : Evolution des matériaux HDL à visée médicale.

(a) vecteurs de deuxième génération : Furtivité et ciblage passif. Modifications de surface des nanovecteurs par le poly(éthylène glycol) (PEG) afin de créer le phénomène d'encombrement stérique à la surface des nanovecteurs et donc de ralentir l'opsonisation en donnant cet effet de furtivité vis-à-vis des macrophages et permettre d'augmenter ainsi le temps de circulation de ces particules PEGylées dans le sang.^[236] **(b) Troisième génération : vers le ciblage moléculaire actif.** Lorsque les vecteurs de 2ème génération sont décorés de ligands (anticorps, peptides, sucres, acide folique), ils seront capables de reconnaître de manière sélective des antigènes ou des récepteurs qui sont hyper-exprimés à la surface des cellules cibles.^[237] La figure 1.30.b illustre une phase HDL décorée avec des nanoparticules de silice et le mannose pour vectoriser des brins d'ARN pour le traitement du cancer.^[238]

5) Il est évident que la conception de structures hiérarchisées magnétiques à base d'HDL pour la vectorisation nécessite tout d'abord une meilleure compréhension des mécanismes d'interaction physico-chimiques développés entre les différents constituants au sein de ses structures.

Ainsi, les cinq raisons énumérées ci-dessus, nous ont permis d'émettre les trois hypothèses de travail suivantes et sur lesquelles nous avons basé nos travaux de recherche :

a. Au-delà de l'adressage des molécules thérapeutiques vers leur site cible, les caractéristiques particulières des systèmes de vectorisation permettent d'atteindre d'autres objectifs plus ambitieux, comme celui d'améliorer l'administration des substances,

chimiquement et/ou métaboliquement instables, trop peu solubles dans les fluides intestinaux ou encore l'administration de molécules trop hydrophiles.

Dans cette optique, nous avons émis l'hypothèse suivante : « *Les matériaux HDL représenteraient une approche adéquate pour l'administration de PA. Ils peuvent en effet être aussi efficaces que les autres systèmes de vectorisation actuellement connus en raison de leur espace interlamellaire qui constituerait un réservoir idéal pour un certain nombre de molécules actives mais qui sont néanmoins sensibles à l'environnement externe (chaleur, humidité, oxygène, lumière, pH)* »

b. La biodisponibilité/biodistribution des PA/NPs dans l'organisme est, d'une part, affectée par les caractéristiques physiques du nanovecteur, incluant sa taille, sa forme et sa flexibilité. D'autre part, elle est affectée par les caractéristiques chimiques de ce dit vecteur. Il est également nécessaire de ne pas négliger un point très important qui est qu'*in vivo*, ces nanovecteurs se heurtent à différentes barrières biologiques. Ainsi, le grand défi qui se présente ici est sans doute de réussir à concevoir des systèmes de vectorisation, d'une taille allant de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres, capables de franchir ces barrières et d'acheminer le PA d'intérêt vers son site d'action de manière efficace.

Ainsi, la seconde hypothèse de notre démarche est la suivante : « *Les vecteurs HDL possèderaient une taille adéquate qui permettrait l'acheminement des PA in vivo tout en leur permettant de traverser les barrières biologiques* ».

c. Plusieurs travaux rapportent dans la littérature que les matériaux magnétiques cœur@HDL, du fait de leurs propriétés magnétiques, pourraient être dirigés dans le corps à l'aide d'un gradient de champ magnétique. Ainsi, une fois au niveau du site d'action ciblé, le PA d'intérêt étant confiné dans la couronne HDL pourrait être relargué par un stimulus interne.

Finalement, la troisième hypothèse de cette étude est la suivante : « *L'association de particules magnétiques aux HDL permettrait d'améliorer leurs propriétés d'encapsulation et de relargage* ». La question que l'on se pose également est de déterminer quelle est l'incidence sur de cette association sur les propriétés structurales, le taux d'intercalation et le mécanisme de libération de ces matériaux nanocomposites cœur@HDL".

Ainsi, différents objectifs à atteindre ont été mis en place afin de valider les hypothèses de recherche précédentes, nous en avons fixé quatre :

Objectif 1 : [Maitrise de la synthèse et caractérisation des hybrides PA@HDL.](#)

Afin de réaliser cela, nous avons sélectionné deux molécules synthétiques n'ayant jamais été intercalées dans des phases : *i) la ciprofloxacine*, un antibiotique peu soluble à pH biologique, mais capable de complexer des cations métalliques, ce qui conduit à compromettre fortement sa biodisponibilité ([c.f. chapitre 3 de ce manuscrit](#)). *ii) l'acide α -*

lipoïque, un antioxydant universel dont l'activité thérapeutique peut être altérée car la molécule en raison de la sensibilité de cette molécule à la lumière, à la température et à la variation de pH (*c.f. chapitre 4 de ce manuscrit*). L'assemblage des hybrides PA@HDL a été réalisé par les voies de « chimie douce ». De plus, des compositions des HDL autres que Mg-Al et Zn-Al ont été élaborées et analysées.

Objectif 2 : Choix d'un procédé de synthèse permettant de contrôler la taille des hybrides PA@HDL.

Le second objectif de ce travail consiste à synthétiser des HDL vierges et des HDL intercalées par des PAs en utilisant des méthodes qui permettraient l'obtention de nanohybrides ayant des tailles et une stabilité adéquate pour pouvoir être utilisés dans le domaine biomédical. Ainsi, le procédé choisi est la coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal. Une attention particulière sera portée sur l'influence des paramètres de synthèse tels que la température et le temps de traitement hydrothermal ainsi que la quantité de PA introduite sur les propriétés physico-chimiques des hybrides (*c.f. chapitre 4 de ce manuscrit*).

Objectif 3 : Choix d'un procédé de synthèse permettant de contrôler les propriétés physico-chimiques des nanoparticules magnétiques.

Les NPs magnétiques seront préparés selon différentes voies de synthèse : coprécipitation et calcination des phases HDL pour les NPs ferrite de magnésium et par voie solvothermale pour les NPs de magnétite. Des optimisations et ajustements de paramètres de synthèse seront apportés à ces voies classiques afin de contrôler précisément la structure et la taille des nano-objets élaborés (*c.f. chapitres 5 et 6 de ce manuscrit*).

Objectif 4 : Evaluation de l'influence de la chimie des hybrides sur la libération du PA à partir des structures cœur@HDL-PA.

L'étude de la cinétique de libération des PA intercalés dans les vecteurs lamellaires, qu'ils soient magnétiques ou pas, sera évaluée dans des conditions *in vitro* se rapprochant des conditions physiologiques *i.e.* en milieux gastro-intestinal simulés. Les vitesses de libération seront évaluées à partir de dosages par spectrométrie UV-Vis. Les profils de libération seront, ainsi directement reliés à la structure de la matrice hôte (*c.f. chapitres 3 et 6 de ce manuscrit*).

Références Bibliographiques

- [1] A.Z. Wilczewska, K. Niemirowicz, K.H. Markiewicz, H. Car. Pharmacol. Rep. 64 (2012) 1020-1037.
- [2] P. Couvreur. Ann. Pharm. Fr. 59 (2001) 232-238.
- [3] K. Andrieux, D. Desmaële, J. D'Angélo, P. Couvreur. L'Act. Chim. 2003.
- [4] G. Choi, T.H. Kim, J.M. Oh, J.H. Choy. Coord. Chem. Rev. 359 (2018) 32-51.
- [5] W.H. De Jong, J.A. Borm. Int. J. Nanomedicine 3 (2008) 133-149.

- [6] S.E. Mutsaers, J.M. Papadimitriou. *J. Leukoc. Biol.* 44 (1988)17-26.
- [7] S. Giret, M.W.C. Man, C. Carcel. *Chem. Eur. J.* 21 (2015) 13850-13865.
- [8] https://www.ic.gc.ca/eic/site/textiles-textiles.nsf/fra/h_tx03226
- [9] International Organization for Standardization, Nanotechnologies – Vocabulary – Part 1: Core Terms, ISO/TS 80004-1:2010
- [10] J.K. Patra, G. Das, L.F. Fraceto, E.V.R. Campos, M. del P. Rodriguez-Torres, L.S. Acosta-Torres, L.A. Diaz-Torres, R. Grillo, M.K. Swamy, S. Sharma, S. Habtemariam, H.S. Shin. *J. Nanobiotechnol.* 16, 71 (2018).
- [11] [ema.europa.eu/Find medecine/Human medicines/European public assessment reports](http://ema.europa.eu/Find%20medecine/Human%20medicines/European%20public%20assessment%20reports).
- [12] G.V. da Silva Luz, K.V. Gomes Barros, F.V. Calixto de Araújo, G. Barbosa da Silva, P.A. Ferreira da Silva, R.C. Iquize Condori, L. Mattos Brasil. *J. Mater. Sci. Eng. A* 6 (2016) 167-180.
- [13] P. Couvreur. *Connaître* 35 (2011) 41-48.
- [14] N. Mauer, D.B. Fenske, P.R. Cullis. *Expert Opin. Biol. Ther.* 1 (2001) 923-947.
- [15] K. Miyashita. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116 (2014) 1268-1279.
- [16] S. Huebner, B.J. Battersby, R. Grimm, G. Cevc. *Biophys. J.* 76 (1999) 3158-3166.
- [17] M. Alavi, N. Karimi, M. Safaei. *Adv. Pharm. Bull.* 7 (2017) 3-9.
- [18] <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/>. Dernière mise à jour le 24/10/2019.
- [19] Z. Drulis-Kawa, A. Dorotkiewicz-Jach. *Int. J. Pharm.* 387 (2010) 187-198.
- [20] H.J. Lim, E.C. Cho, J. Shim, D.H. Kim, E.J. An, J. Kim. *J. Colloid Interf. Sci.* 320 (2008) 460-468.
- [21] P. Ramos-Cabrer, F. Campos. *Int. J. Nanomedicine* 8 (2013) 951-960.
- [22] M. Cagel, F.C. Tesan, E. Bernabeu, M.J. Salgueiro, M.B. Zubillaga, M.A. Moreton, D.A. Chiappetta. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 113 (2017) 211-228.
- [23] A.M. Butt, M.C.I.M. Amin, H. Katas, N. Sarisuta, W. Witoonsaridsilp, R. Benjakul. *Journal of Nanomaterials* vol. 2012, Article ID 916573, 11 pages, 2012.
- [24] C. Liu, G. Chen, H. Sun, J. Xu, Y. Feng, Z. Zhang, T. Wu, H. Chen. *Small* 7(19) (2011) 2721-2726.
- [25] J. Schmelz, A.E. Schedl, C. Steinlein, I. Manners, H. Schmalz. *J. Am. Chem. Soc.* 134 (34) (2012) 14217-14225.
- [26] A. Mandal, R. Bisht, I.D. Rupenthal, A.K. Mitra. *J. Control. Release* 248 (2017) 96-116.
- [27] C. Mayer. *Int. J. Artif. Organs* 28 (2005) 1163-1171.
- [28] D.K. Deda, K. Araki. *J. Braz. Chem. Soc.* 26 (2015) 2448-2470.
- [29] C.H. Lee, Y.J. Li, C.C. Huang, J.Y. Lai. *Nanoscale* 9 (2017) 11754-11764.
- [30] J. Whelan. *Drug Discov. Today* 6 (2001) 1183-1184.
- [31] P. Moreno, C. Bouillon, G. Quéléver, L. Peng. *L'Act. Chim.* - janvier 2014 - n° 381,13-20.
- [32] J. Zhang, L. Meng, D. Zhao, Z. Fei, Q. Lu, P.J. Dyson. *Langmuir* 24 (2008) 2699-2704.
- [33] D.C. Manatunga. V.U. Godakanda, R.M. de Silva, K.M. Nalin de Silva. *WIREs Nanomed. Nanobi.* 12 (2019) e1605.
- [34] M. Zhang, J. Zhu, Y. Zheng, R. Guo, S. Wang, S. Mignani, A.M. Caminade, J.P. Majoral, X. Shi. *Pharmaceutics* 10 (2018) e162.
- [35] M.A. van Dongen, R. Rattan, J. Silpe, C. Dougherty, N.L. Michmerhuizen, M. Van Winkle, B. Huang, S.K. Choi, K. Sinniah, B.G. Orr, M.M.B. Holl. *Mol. Pharmaceutics* 11 (2014) 4049-4058.
- [36] M.B. Mohamed, K.M. AbouZeid, V. Abdelsayed, A.A. Aljarash, M.S. El-Shall. *ACS Nano* 4 (2010) 2766-2772.
- [37] Y. Qiu, S. Tong, L. Zhang, Y. Sakurai, D.R. Myers, L. Hong, W.A. Lam, G. Bao. *Nat. Commun.* 8 (2017) 15594. doi:10.1038/ncomms15594.
- [38] H. Wang, L. Peng, Z. Huang, S. Mei. *J. Mol. Struct.* 1059 (2014) 15-19.
- [39] A. Bianco, K. Kostarelos, M. Prato. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 9 (2005) 674-679.

- [40] M.U. Farooq, V. Novosad, E.A. Rozhkova, H. Wali, A. Ali, A.A. Fateh, P.B. Neogi, A. Neogi, Z. Wang. *Sci Rep.* 8:2907 (2018) 1-12.
- [41] A.C. Burdus, O. Gherasim, A.M. Grumezescu, L. Mogoantă, A. Fikai, E. Andronescu. *Nanomaterials* 8 (2018) e681.
- [42] C. Xu, S. Sun. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65 (2013) 732-743.
- [43] C.H. Choi, C.A. Alabi, P. Webster, M.E. Davis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107(3) (2010) 1235-1240.
- [44] M. Goutayer. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie 2008.
- [45] C. Tassa, S.Y. Shaw, R. Weissleder. *Acc. Chem. Res.* 44(10) (2011) 842-852.
- [46] <https://www.drugs.com/pro/feridex.html>. Consulté le 25/03/2020.
- [47] L. Qi, X. Gao. *Expert Opin. Drug Deliv.* 5 (2008) 263-267.
- [48] S. Jordanovska. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux. 2015.
- [49] E. Chang, N. Thekkek, W.W. Yu, V.L. Colvin, R. Drezek. *Small* 2 (2006) 1412-1417.
- [50] K.A. Fisher, K.D. Huddersman, M. Joan Taylor. *Chem. Eur. J.* 9 (2003) 5873-5878.
- [51] G. Ahuja, K. Pathak. *Indian J. Pharm. Sci.* 71 (6) (2009) 599-607.
- [52] A.C. Tripathi, S.A. Saraf, S.K. Saraf. *Materials* 8(6) (2015) 3068-3100.
- [53] V.K. Prajapati, K. Awasthi, S. Gautam, T.P. Yadav, M. Rai, O.N. Srivastava, S. Sundar. *J. Antimicrob. Chemother.* 66 (2011) 874-879.
- [54] J.P. Raval, P. Joshi, D.R. Chejara. (2018). *In* : Applications of nanocomposite materials in drug delivery, 203-216. (Eds.: A.M. Asiri Inamuddin, A. Mohammed) Woodhead Publishing Series.
- [55] C. Aguzzi, P. Cerezo, C. Viseras, C. Caramella. *Applied Clay Science* 36 (2007) 22–36.
- [56] F. Bergaya, B.K.G. Theng, G. Lagaly. 2006. *Handbook of Clay Science*. Elsevier, Amsterdam; London.
- [57] M. Ghayaza. Thèse de doctorat Université d'Orléans, 2012.
- [58] J.T. Klopogge, S. Komarneni, J.E. Amonette. *Clay. Clay Miner.* 47 (1999) 529-554.
- [59] M.H. Kim, G. Choi, A. Elzatahry, A. Vinu, Y.B. Choy, J.H. Choy. *Clay. Clay Miner.* 64 (2016) 115-130.
- [60] H. François. Thèse de doctorat. Université d'Angers. 2016.
- [61] S.I. Haque, A.N. Inamuddin. *In* : Applications of nanocomposite materials in drug delivery, 633-648. Woodhead Publishing Series in Biomaterials, 2018.
- [62] G. Lazzara, S. RIELA, R. F. Fakhrullin. *Ther. Deliv.* 8(8) (2017) 633-646.
- [63] Z.P. Xu, G.Q. (Max) Lu. *Pure Appl. Chem.* 78 (2006) 1771-1779.
- [64] Z.P. Xu, J. Zhang, M.O. Adebajo, H. Zhang, C. Zhou. *Appl. Clay Sci.* 53 (2011) 139-150.
- [65] J. Li, S. Jiang, M. Shao, M. Wei. *Catalysts* 8 (2018) 214.
- [66] A. Gomes, D. Cocke, D. Tran, A. Baksi (2015) Layered double hydroxides in energy research: advantages and challenges. In : Jha A. et al. (eds) *Energy Technology* 2015. Springer, Cham.
- [67] N. Baig, M. Sajid. *Trends Environ. Anal. Chem.* 16 (2017) 1-15.
- [68] W.K. Jo, Y.G. Kim, S. Tonda. *J. Hazard. Mater.* 357 (2018) 19-29
- [69] M. Zubair, M. Daud, G. McKay, F. Shehzad, M.A. Al-Harhi. *Appl. Clay Sci.* 143 (2017) 279-292.
- [70] C. Prasad, H. Tang, Q.Q. Liu, S. Zulfiqar, S. Shah, I. Bahadur. *J. Mol. Liq.* 289 (2019) 111114.
- [71] Q. Wang, D. O'Hare. *Chem. Rev.* 112 (2012) 4124-4155.
- [72] J. He, M. Wei, B. Li, Y. Kang, D.G. Evans, X. Duan. Preparation of layered double hydroxides. *Struct Bond Vol.* 119, 89-119. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2005.
- [73] source image : https://metalaiddblog.wordpress.com/2017/07/03/intro_ldh/
- [74] Y. Kuang, L. Zhao, S. Zhang, F. Zhang, M. Dong, S. Xu. *Materials* 3 (2010) 5220-5235.
- [75] G. Arrabito, A. Bonasera, G. Prestopino, A. Orsini, A. Mattoccia, E. Martinelli, B. Pignataro, P.G. Medaglia. *Crystals* 9 (7) (2019) 361.

- [76] L.P.F. Benício, R.A. Silva, J.A. Lopes, D. Eulálio, R.M.M. dos Santos, L.A. de Aquino, L. Vergütz, R. F. Novais, L.M. da Costa, F.G. Pinto, J. Tronto. *Rev. Bras. Ciên. Solo* 39 (2015) 1-13.
- [77] C. Forano, U. Constantino, V. Prévot, C. Taviot-Gueho. *In : Developments in clay science Vol 5A* (Eds.: F. Bergaya, G. Lagaly) Elsevier Ltd., Amsterdam 2013, p. 745.
- [78] X. Duan, D.G. Evans. *Layered double hydroxides*, Vol. 119, Springer, Berlin 2006.
- [79] R. Mahdi. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal. Clermont-Ferrand. 2015.
- [80] F. Leroux, V. Prévot. *In : Encyclopedia of Inorganic Chemistry 2009* by John Wiley & Sons, Ltd. 10.1002/0470862106.ia385.
- [81] D. O'hare, *Inorganic materials* dans D.W. Bruce and D. O'Hare, p. 167. (John Wiley and sons, New York, 1991)
- [82] J.M. Oh, D.H. Park, S.J. Choi, J.H. Choy. *Recent Pat. Nanotechnol.* 6 (2012) 200-217.
- [83] C. Taviot-Guého, V. Prévot, C. Forano, G. Renaudin, C. Mousty, F. Leroux. *Adv. Funct. Mater.* 28 (2017) 1703868.
- [84] F. Cavani, F. Trifirò, A. Vaccari. *Catal. Today.* 11 (1991) 173-301.
- [85] W.T. Reichle. *Solid State Ion.* 22 (1986) 135-141.
- [86] A. De Roy, C. Forano, K. El Malki, J.P. Besse. *In : Synthesis of microporous materials*. Ocelli ML, Robson HE, editors. New York: Van Nostrand Reinhold; 1992. p.108-69.
- [87] S. Miyata. *Clays Clay Miner.* 31 (1983) 305-311.
- [88] K. Yan, G. Wu, W. Jin. *Energy Technol.* 4 (2016) 354-368.
- [89] R. Rojas, D.A. Bedoya, C. Vasti, C.E. Giacomelli. *In : Layered double hydroxides (LDHs): Synthesis, characterization and applications*. Ian T. Sherman (Editor). 2015. (pp. 101-120).
- [90] M.R. Berber, I.H. Hafez, K. Minagawa, T. Mori, M. Tanaka. *In : Advances in Nanocomposite Technology*. Eds. Abbass Hashim IntechOpen 2011.
- [91] V. Ambrogi, G. Fardella, G. Grandolini, L. Perioli. *Int. J. Pharm.* 220 (2001) 23-32.
- [92] N. Hirata, K. Tadanaga, M. Tatsumisago. *Mater. Res. Bull.* 62 (2015) 1-4.
- [93] V. Rives, M.A. Ulibarri. *Coord. Chem. Rev.* 181 (1999) 61-120.
- [94] M. Sillion, D. Hritcu, I.M. Jaba, B. Tamba, D. Ionescu, O.C. Mungiu, I.M. Popa. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 21 (2010) 3009–3018.
- [95] W.G. Hou, Z.L. Jin. *Colloid Polym. Sci.* 285 (2007) 1449–1454.
- [96] K. Chibwe, W. Jones. *Chem. Mater.* 1 (1989) 489-490.
- [97] A. Seron, F. Delmore. *Projet ANR-CAPCO2-Capture du CO₂ par des solides de type hydroxydes doubles lamellaires : application à la purification d'un flux de CO₂ en vue de son stockage géologique.* (2009) Rapport BRGM/RP-56994-FR.
- [98] D. Pan, H. Zhang, T. Zhang, X. Duan. *Chem. Eng. Sci.* 65 (2010) 3762–3771.
- [99] F. Leroux, M. Adachi-Pagano, M. Intissar, S. Chauvière, C. Forano, J.-P. Besse. *J. Mater. Chem.* 11 (2001) 105-112.
- [100] J. Liang, R. Ma, N. Iyi, Y. Ebina, K. Takada, T. Sasaki. *Chem. Mater.* 22 (2010) 371-378.
- [101] L. Zhenlei, J. Qingyang, Z. Xiufen, L. Shuping, S. Jian, L. Xiaodong. *Chem. Res. Chinese Universities* 35 (2019) 901-907.
- [102] X. Lu, L. Meng, H. Li, N. Du, R. Zhang, W. Hou. *Mater. Res. Bull.* 48 (2013) 1512-1517.
- [103] J. Wang, W. Bao, A. Umar, Q. Wang, D. O'Hare, Y. Wan. *J. Biomed. Nanotechnol.* 12(5) (2016) 922-933.
- [104] H. Kang, H.J. Kim, J.H. Yang, T.H. Kim, G. Choi, S.M. Paek, A.J. Choi, J.H. Choy, J.M. Oh. *Appl. Clay Sci.* 112–113 (2015) 32–39.
- [105] Y. Li, H.Y. Bi, G.W. Wang, N. Wang, C.X. Chen, Z.Z. Li, X.M. Fan. *J. Disper. Sci. Technol.* 37 (2016) 366-373.
- [106] M. Meyn, K. Beneke, G. Lagaly. *Inorg. Chem.* 29 (1990) 5201-5207.

- [107] E. Dumas, V. Laforest, M.-E. de Roy, C. Forano, J. Bourgois. Colloque international : l'Eau, les Déchets et le Développement Durable (E3D), Mar **2012**, Agadir, Maroc.
- [108] B. Zhang, Z. Dong, D. Sun, T. Wu, Y. Li. *J. Ind. Eng. Chem.* 49 (**2017**) 208-218.
- [109] X. Wu, H. Li, S. Song, R. Zhang, W. Hou. *Int. J. Pharm.* 454 (**2013**) 453–461.
- [110] X. Pang, X. Ma, D. Li, W. Hou. *Solid State Sci.* 16 (**2013**) 71-75
- [111] J.M. Oh, S.H. Hwang, J.H. Choy. *Solid State Ion.* 151 (**2002**) 285-291.
- [112] V. Prevot, Y. Tokudome. *J. Mater. Sci.* 52 (**2017**) 11229-11250.
- [113] L. Zhang, Z. Xiong, G. Zhao. *In* : Green Photo-active nanomaterials: Sustainable energy and environmental remediation. Edited by Nurxat Nuraje, Ramazan Asmatulu, Guido Mul. London, United Kingdom: The Royal Society of Chemistry. (**2016**) 309–338.
- [114] Z.P. Xu, G. Stevenson, C.-Q. Lu, G.Q. (Max) Lu. *J. Phys. Chem. B* 110 (**2006**) 16923-16929.
- [115] H. Dong, M. Chen, S. Rahman, H.S. Parekh, H. M. Cooper, Z.P. Xu. *Appl. Clay Sci.* 100 (**2014**) 66-75.
- [116] Z.P. Xu, M. Niebert,; K. Porazik, T.L. Walker, H.M. Cooper, A.P. Middelberg, P.P. Gray, P.F. Bartlett, G.Q.M. Lu. *J. Control. Release* 130 (**2008**) 86-94.
- [117] T. Kumura, N. Imataki, K. Hasui, T. Inoue, K. Yasutomi. Brevet US3650704, **1970**.
- [118] S. Miyata. Brevet US4514389, **1985**.
- [119] A. Okada, K. Katsuki. Gastric antacid. Brevet US20090142394, **2009**.
- [120] A. Ookubo, K. Ooi, H. Hayashi. *J. Pharm. Sci.* 81 (**1992**) 1139-1140.
- [121] J.M. Oh, S.Y. Kwak, J.H. Choy. *J. Phys. Chem. Solids* 67 (**2006**) 1028-1031.
- [122] P.X. Wu, W. Li, Y.J. Zhu, Y.N. Tang, N.W. Zh, C.L. Guo. *Appl. Clay Sci.* 100 (**2014**) 76-83.
- [123] B. Li, P. Wu, B. Ruan, P. Liu, N. Zhu. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 121 (**2014**) 387–393.
- [124] L. Desigaux, M. Ben Belkacem, P. Richard, J. Cellier, P. Léone, L. Cario, F. Leroux, C. Taviot-Guého, B. Pitard. *Nano Lett.* 6 (**2006**) 199-204.
- [125] Y. Wong, H.M. Cooper, K. Zhang, M. Chen, P. Bartlett, Z.P. Xu. *J. Colloid Interf. Sci.* 369 (**2012**) 453-459.
- [126] M. Chen, H.M. Cooper, J.Z. Zhou, P. Bartlett, Z.P. Xu. *J. Colloid Interf. Sci.* 390 (**2013**) 275-281.
- [127] Igor Elkin. Thèse de doctorat. Université de Montréal **2013**.
- [128] K.N. Andrade, A.M.P. Pérez, G.G.C. Arizaga. *Appl. Clay Sci.* 181 (**2019**) 105214.
- [129] J.M. Oh, S.J. Choi, S.T. Kim, J.H. Choy. *Bioconjugate Chem.* 17 (**2006**) 1411-1417.
- [130] T. Aparicio, M. Ducreux, S. Chaussade. *Gastroen. Clin. Biol.* 26 (**2002**) 38-47.
- [131] M. De Forni, R. Bugat, F. Sorbette, M. Delay, J. Bachaud, C. Chevreau. *Bull. Cancer* 77 (**1990**) 429-438.
- [132] Meta-Analysis Group in Cancer. *J. Clin. Oncol.* 16 (**1998**) 3537-3541.
- [133] S.P. Chandran, S.B. Natarajan, S. Chandraseharan, M.S.B. Mohd Shahimi. *J. Cancer Res. Pract.* 4 (**2017**) 45-48.
- [134] Z. Wang, E. Wang, L. Gao, L. Xu. *J. Solid State Chem.* 178 (**2005**) 736-741.
- [135] F. Peng, D. Wang, H. Cao, X. Liu. *Mater. Lett.* 213 (**2018**) 383-386.
- [136] G.J. Gou, Y.H. Liu, Y. Sun, J. Huang, X. Bing, D. Lie. *Acta Pharm. Sin.* 46 (**2011**) 1390-1398.
- [137] D. Capsoni, I. Quinzeni, G. Bruni, V. Friuli, L. Maggi, M. Bini. *J. Pharm. Sci.* 107 (**2018**) 267-272.
- [138] B. Li, J. He, D.G. Evans, X. Duan. *Int. J. Pharm.* 287 (**2004**) 89-95.
- [139] Y. Wang, D. Zhang. *Mater. Res. Bull.* 47 (**2012**) 3185-3194.
- [140] S. Barkhordari, M. Yadollahi. *Appl. Clay Sci.* 121-122 (**2016**) 77-85.
- [141] M. Trikeriotis, D.F. Ghanotakis. *Int. J. Pharm.* 332 (**2007**) 176-184.
- [142] V. Rives, M. Del Arco, C. Martin. *J. Contro. Release* 169 (**2013**) 28-39.
- [143] M.S. San Román, M.J. Holgado, B. Salinas, V. Rives. *Appl. Clay Sci.* 55 (**2012**) 158-163.

- [144] N'guadi B. Allou, P. Saikia, A. Borah, R.L. Goswamee. *Colloid. Polym. Sci.* 295 (2017) 725-747.
- [145] A. Hakeem, G. Zhan, Q. Xu, T. Yong, L. Gan, X. Yang. *J. Mater. Chem. B.* 6 (2018) 5768-5774.
- [146] Y. Wang, D. Zhang. *Mater. Res. Bull.* 47 (2012) 3185-3194.
- [147] S.J. Ryu, H. Jung, J.M. Oh, J.K. Lee, J.H. Choy. *J. Phys. Chem. Solids* 71 (2010) 685-688.
- [148] Z. Wang, H. Yu, K. Ma, Y. Chen, X. Zhang, T. Wang, S. Li, X. Zhu, X. Wang. *Bioconjugate Chem.* 29 (2018) 2090-2099.
- [149] D. Wang, Y.Y. Chang, H.Z. Zhao. *Water. Res.* 47 (2013) 6712-6718.
- [150] Y. Zhao, C.J. Wang, W. Gao, B. Li, Qiang Wang, L. Zheng, M. Wei, D.G. Evans, X. Duan, D. O'Hare. *J. Mater. Chem. B* 1 (2013) 5988-5994.
- [151] M. Li, L. Li, S. Lin. *Chin. Chem. Lett.* 31 (2020) 1511-1515.
- [152] S.A. Abdel Moaty, A.A. Farghali, R. Khaled. *Mater. Sci. Eng. C* 68 (2016) 184-193.
- [153] M.J. Hajipour, K.M. Fromm, A.A. Ashkarran, D.J. de Aberasturi, I.R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W.J. Parak, M. Mahmoudi. *Trends Biotechnol.* 30 (2012) 499-511.
- [154] M.T. Qamar, M. Aslam, Z.A. Rehan, M.T. Soomro, J.M. Basahi, I.M.I. Ismail, T. Almeelbi, A. Hameed. *Appl. Catal. B : Environ.* 201 (2017) 105-118.
- [155] H. Yang, C. Liu, D. Yang, H. Zhang, Z. Xi. *J. Appl. Toxicol.* 29 (2009) 69-78.
- [156] G.B. Bagihalli, P.G. Avaji, S.A. Patil, P.S. Badami. *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 2639-2649.
- [157] D. Hesse, M. Badar, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, M. Kieke, P. Behrens, P.P. Muller, K.H. Esser, M. Stieve, N.K. Prenzler. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 24 (2013) 129-136.
- [158] 1) https://www.sciencesetavenir.fr/fondamental/biologie-cellulaire/une-cellule-souche-qu-est-ce-que-c-est_13003. 2) https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/cellule_souche/11835. sites vérifiés le 21/09/2020.
- [159] https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/in_vivo/44143.
- [160] L. Ghasemi-Mobarakeh, D. Kolahreze, S. Ramakrishna, D. Williams. *Curr. Opin. Biomed. Eng.* 10 (2019) 45-50.
- [161] D.F. Williams. *Biomaterials* 29 (2008) 2941-2953.
- [162] <https://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:10993:-1:ed-5:v2:f>
- [163] T.H. Kim, G.J. Lee, J.H. Kang, H.J. Kim, T. Kim, J.M. Oh. *Biomed. Res. Int. Volume* 2014, Article ID 193401, 11 pages.
- [164] S.J. Choi, G.E. Choi, J.M. Oh, Y.J. Oh, M.C. Park, J.H. Choy. *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 9463-9469.
- [165] Y. Weng, S. Guan, H. Lu, X. Meng, A.Y. Kaassis, X. Ren, X. Qu, C. Sun, Z. Xie, S. Zhou. *Talanta* 184 (2018) 50-57.
- [166] S. Mondal, S. Dasgupta, K. Maji. *Mater. Sci. Eng. C* 68 (2016) 557-564.
- [167] S. Ray, S. Saha, B. Sa, J. Chakraborty. *Drug Deliv. Transl. Res.* 7 (2017) 259-275.
- [168] A.U. Kura, N.M. Ain, M.Z. Hussein, S. Fakurazi, S.H. Hussein-Al-Ali. *Int. J. Mol. Sci.* 15 (2014) 5916-5927.
- [169] S.J. Choi, J.H. Choy. *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 5547-5554.
- [170] M.J.D. Clift, B. Rothen-Rutishauser, D.M. Brown, R. Duffin, K. Donaldson, L. Proudfoot, K. Guy, V. Stone. *Toxicol. Appl. Pharm.* 232 (2008) 418-427.
- [171] S.H.H. Al Ali, M. Al-Qubaisi, M. Z. Hussein, M. Ismail, Z. Zainal, M.N. Hakim. *Int. J. Nanomedicine* 7 (2012) 4251-4262.
- [172] V.R.R. Cunha, R.B. de Souza, A.M.C. Rebello Pinto da Fonseca Martins, I.H.J. Koh, V.R.L. Constantino. *Sci. Rep.* 6 (2016) 30547.
- [173] R. Bhatia, R. Singh. *J. Water Process Eng.* 31 (2019) 100845.
- [174] S.C. McBain, H.H.P. Yiu, J. Dobson. *Int. J. Nanomedicine* 3 (2008) 169-180.
- [175] S. Prijic, G. Sersa. *Radiol. Oncol.* 45 (2011) 1-16.

- [176] W.H. Bragg. *Nature* **1915** p-561.
- [177] R.J. Hill, J.R. Craig, G.V. Gibbs. *Phys. Chem. Miner.* **4** (1979) 317-339.
- [178] L. Blaney. Magnetite (Fe₃O₄): properties, synthesis, and applications. **15** (2007). Paper 5. <http://preserve.lehigh.edu/cas-lehighreview-vol-15/5>.
- [179] G. Salazar-Alvarez. Thèse de doctorat, Stockholm, Suède, **2004**.
- [180] M. Gateshki, V. Petkov, S.K. Pradhan, T. Vogt. *J. Appl. Cryst.* **38** (2005) 772–779.
- [181] Magnesioferrite. 2001-2005 Mineral Data Publishing.
- [182] C.D. Graham B.D. Cullity. *Introduction to Magnetic Materials*, 2nd Edition. Wiley-IEEE Press, **2008**.
- [183] J. Degauque. *Journal de Physique IV Colloque*, **1992**, 02 (C3), pp.C3-1-C3-13.
- [184] U. Jeong, X. Teng, Y. Wang, H. Yang, Y. Xia. *Advanced Materials* **19** (2007) 33-60.
- [185] V.V. Mody, A. Cox, S. Shah, A. Singh, W. Bevins, H. Parihar. *Appl Nanosci.* **4** (2014) 385-392.
- [186] R. Pauthenet, L. Bochirol. *J. Phys. Radium* **12** (3) (1951) 249-251.
- [187] Q.A. Pankhurst, J. Connolly, S.K. Jones, J.J. Dobson. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **36**(13) (2003). R167.
- [188] D.S. Schmool, D. Markó, (2018). *In* : Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. doi:10.1016/B978-0-12-803581-8.11413-4.
- [189] Y.P. Yew, K. Shameli, M. Miyake, Nurul B.Bt.A. Khairudin, Shaza E.Bt Mohamad, T. Naiki, K.X. Lee. *Arab. J. Chem.* **13** (2020) 2287-2308.
- [190] S. Mornet. Thèse de doctorat Université Bordeaux I, **2002**.
- [191] R. Massart. *IEEE Trans. Magn.* **17** (1981) 1247-1248.
- [192] L. Vayssières, C. Chanéac, E. Tronc, J.P. Jolivet. *J. Colloid Interf. Sci.* **205** (1998) 205-212.
- [193] R. Ramesh, M. Rajalakshmi, C. Muthamizhchelvan, S. Ponnusamy. *Mater. Lett.* **70** (2012) 73-75.
- [194] Y.J. Wang, S. Xuan, M. Port, J. Idee. *Curr. Pharm. Des.* **19** (2013) 6575-6593.
- [195] K. Raja, M.M. Jacqueline, M. Jose, S. Verma, A.A.M. Prince, K. Ilangovan, K. Sethusankar, S.J. Das. *Superlattices Microstruct.* **86** (2015) 306-312.
- [196] H. Qi, B. Yan, C. Li, L. Wei. *Sci. China Phys. Mech. Astron.* **54** (2011) 1239-1243.
- [197] M. Abbas, B.P. Rao, S.M. Naga, M. Takahashi, C. Kim. *Ceram. Int.* **39** (2013) 7605-7611.
- [198] C. Cheng, F. Xu, H. Gu. *New J. Chem.* **35** (2011) 1072-1079.
- [199] M. Gotić, T. Jurkin, S. Musić. *Colloid Polym. Sci.* **285** (2007) 793-800.
- [200] Y. Liu, T. Chen, C. Wu, L. Qiu, R. Hu, J. Li, S. Cansiz, L. Zhang, C. Cui, G. Zhu, M. You, T. Zhang, W. Tan. *J. Am. Chem. Soc.* **136** (2014) 12552–12555.
- [201] B.K. Sodipo, A. Abdul Aziz. *Ultrason. Sonochem.* **40** (2018) 837-840.
- [202] R. Rahmawati, M.G. Permana, B. Harison, Nugraha, B. Yulianto, Suyatman, D. Kurniad. *Procedia Eng.* **170** (2017) 55–59.
- [203] E. Carenza, V. Barceló, A. Morancho, J. Montaner, A. Rosell, A. Roig. *Acta Biomater.* **10** (2014) 3775–3785,
- [204] E.M. Kostyukhin, L.M. Kustov. *Mendeleev Commun.* **28** (2018) 559–561.
- [205] W.S. Peternele, V.M. Fuentes, M.L. Fascineli, J.R. da Silva, R.C. Silva, C.M. Lucci, R.B. de Azevedo. *J. Nanomater.* Volume **2014**, Article ID 682985, 10 pages.
- [206] D. Maity, J. Ding, J.M. Xue. *Funct. Mater. Lett.* **1** (2008) 189–193.
- [207] C.Y. Haw, F. Mohamed, C.H. Chia, S. Radiman, S. Zakaria, N.M. Huang, H.N. Lim. *Ceram. Int.* **36** (2010) 1417–1422.
- [208] C. Cheng, Y. Wen, X. Xu, H. Gu. *J. Mater. Chem.* **19** (2009) 8782–8788.
- [209] L.H. Reddy, J.L. Arias, J. Nicolas, P. Couvreur. *Chem. Rev.* **112** (2012) 5818–5878.
- [210] U.S. Patil, S. Adireddy, A. Jaiswal, S. Mandava, B.R. Lee, D.B. Chrisey. *Int. J. Mol. Sci.* **16** (10) (2015) 24417-24450.
- [211] J.H. Lee, J.E. Ju, B.I. Kim, P.J. Pak, E.K. Choi, H.S. Lee, N. Chung. *Environ. Toxicol. Chem.* **33** (2014) 2759–2766.

- [212] C. Sanchez. Chimie des matériaux hybrides. Eds. Collège de France. 2013. 88 pages.
- [213] M. Ferrari. Nat. Rev. Cancer 5 (2005) 161-171.
- [214] M. Shao, M. Wei, D.G. Evans, X. Duan. Chem. Eur. J. 19 (2013) 4100-4108.
- [215] C. Chen, R. Felton, J. Buffet, D. O'Hare. Chem. Commun. 51 (2015) 3462-3465.
- [216] C. Chen, C.F.H. Byles, J. Buffet, N.H. Rees, Y. Wu, D. O'Hare. Chem. Sci. 7 (2016) 1457-1461.
- [217] W. Xie, Z. Li, M. Shao, M. Wei. Front. Chem. Sci. Eng. 12 (2018) 537-554.
- [218] H. Bao, J. Yang, Y. Huang, Z.P. Xu, N. Hao, Z. Wu, G.Q. (Max) Lu, D. Zhao. Nanoscale 3 (2011) 4069-4073.
- [219] Z. Gu, J.J. Atherton, Z.P. Xu. Chem. Commun. 51 (2015) 3024-3036.
- [220] R.G. Chaudhuri, S. Paria. Chem. Rev. 112 (2012) 2373-2433.
- [221] H. Zhang, D. Pan, K. Zou, J. He, X. Duan. J. Mater. Chem. 19 (2009) 3069-3077.
- [222] A. N. Ay, B. Zumreoglu-Karan, A. Temel, V. Rives. Inorg. Chem. 48 (2009) 8871-8877.
- [223] D. Pan, H. Zhang, T. Fan, J. Chen, X. Duan. Chem. Commun. 47 (2011) 908-910.
- [224] H. Zhang, D. Pan, X. Duan. J. Phys. Chem. C 113 (2009) 12140-12148.
- [225] G. Tuncelli, A.N. Ay, B. Zümreoglu-Karan. Mater. Sci. Eng. C 55 (2015) 562-568.
- [226] X.F. Zhao, W.Y. Wang, X.D. Li, S.P. Li, F.G. Song. Mater. Sci. Eng. C 89 (2018) 422-428.
- [227] X. Bi, T. Fan, H. Zhang. ACS Appl. Mater. Interfaces 6, 22 (2014) 20498-20509.
- [228] Y. Li, H.Y. Bi, H. Li, X.M. Mao, Y.Q. Liang. Mater. Sci. Eng. C 78 (2017) 886-891.
- [229] D. Jiang, X. Li, Q. Jia. ACS Sustainable Chem. Eng. 7 (2019) 421-429.
- [230] D. Le Cerf. Ann. Pharm. Fr. 72 (2014) 389-399.
- [231] R. Rojas, M.C. Palena, A.F. Jimenez-Kairuz, R.H. Manzo, C.E. Giacomelli. Appl. Clay Sci. 62-63 (2012) 15-20.
- [232] M.Z. bin Hussein, Z. Zainal, A.H. Yahaya, D.W.V. Foo. J. Control. Release 82 (2002) 417-427.
- [233] A.I. Khan, L. Lei, A.J. Norquist, D. O'Hare. Chem. Comm. 22 (2001) 2342-2343.
- [234] J.Y. Kim, S.J. Choi, J.M. Oh, T. Park, J.H. Choy. J. Nanosci. Nanotechno. 7(11) (2007) 3700-3705.
- [235] S. Sengupta, C. Khatua, A. Jana, V.K. Balla. J. Mater. Res. 33 (2018) 625-637.
- [236] Z.B. Cao, L. Zhang, K. Liang, S. Cheong, C. Boyer, J.J. Gooding, Y. Chen, Z. Gu. Adv. Sci. 5 (2018) 1801155.
- [237] L. Yan, W. Chen, X.Y. Zhu, L.B. Huang, Z.G. Wang, G.Y. Zhu, V.A.L. Roy, K.N. Yu, X.F. Chen. Chem. Commun. 49 (2013) 10938.
- [238] L. Li, R. Zhang, W. Gu, Z.P., Xu. Nanomedicine 14 (2018) 2355-2364.

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

Ce travail de doctorat a été effectué au sein de trois (03) laboratoires de recherche nationaux et internationaux (France), à savoir : le laboratoire de Chimie des Matériaux du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques d'Alger, le laboratoire de la Thématique Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDL) des Matériaux Inorganiques (MI) de l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (I.C.C.F., France) et enfin, le laboratoire des Matériaux Avancés pour la Catalyse et la Santé de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier (I.C.G.M., France).

Dans ce chapitre, seront présentés les différents moyens qui ont été utilisés dans ce travail de recherche (méthodes, techniques, équipements, etc.).

Ainsi, nous aborderons successivement :

- (1) Les protocoles expérimentaux relatifs à la synthèse des matériaux HDL, des matériaux magnétiques ainsi que des hybrides, qui seront notamment amplement décrits dans les chapitres 3, 4 et 5 de ce manuscrit ;*
- (2) Les expériences de libération de PA réalisées in vitro ;*
- (3) Les techniques physico-chimiques employées pour caractériser les différents matériaux synthétisés lors de la réalisation de ce travail.*

2.1. Description des méthodes de synthèses des matériaux

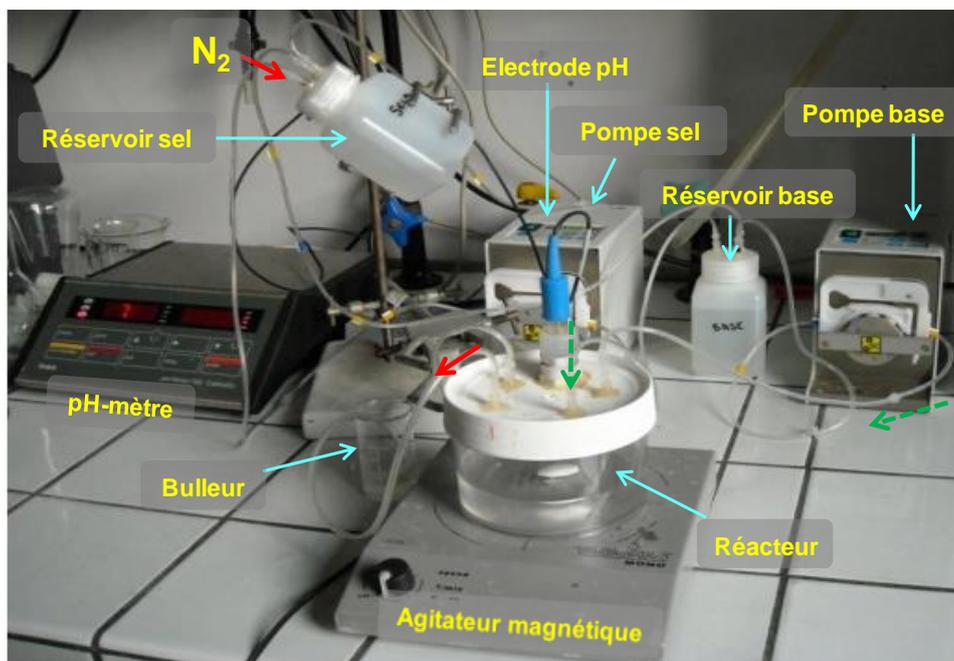
Dans ce premier chapitre de ce manuscrit, nous nous sommes intéressés à détailler amplement les caractéristiques et propriétés de matériaux, de différents types et de différentes natures, qui ont été élaborés et qui ont fait l'objet de ce travail de recherche. Pour cela, divers procédés de synthèse, en fonction des propriétés physico-chimiques et biologiques ciblées, ont été utilisés. Ainsi, dans cette première partie de ce second chapitre, seront détaillés les protocoles expérimentaux qui ont été utilisés pour l'élaboration de chaque type de matériau.

2.1.1. Préparation de phases hybrides@HDL par coprécipitation : les différents montages

En fonction du laboratoire où les synthèses des matériaux hybrides de type @HDL via le procédé de coprécipitation ont été réalisées, trois montages différents ont été utilisés et seront détaillés dans cette partie.

- Montage de synthèse utilisé à l'I.C.C.F. (Clermont-Ferrand)

Face au besoin croissant de maîtriser la synthèse des nanomatériaux tout en s'assurant de la reproductibilité systématique de ces méthodes, l'équipe HDL de l'I.C.C.F. a développé depuis 2010, un dispositif de synthèse des matériaux HDL, automatisé et assisté par ordinateur, et qui a été utilisé dans ce travail. Les différents éléments constituant le montage sont décrits dans la [figure 2.1](#).



[Figure 2.1](#) : Photographie du montage automatisé et assisté par ordinateur utilisé pour la synthèse des hybrides HDL par coprécipitation (I.C.C.F.).

Le montage est entre autres, constitué d'un réacteur central* et de deux (02) pompes péristaltiques. Toutes deux fonctionnant simultanément, l'une des pompes est utilisée respectivement pour l'ajout de la solution de cations métalliques, l'autre pompe permet l'ajout de la solution de NaOH. Le montage étant assisté par ordinateur, le logiciel *Labworkssoft* permet de développer des programmes informatiques afin d'être en mesure de commander l'action des deux pompes (débit, vitesse, etc.), ainsi que celle du pH-mètre, et ce, en fonction des paramètres mesurés et des valeurs de consignes choisies pour chaque synthèse. Nous avons d'ailleurs configuré une séquence de consignes afin de pouvoir imposer une vitesse d'ajout de la solution de sel métallique, versée sur la solution de l'anion à intercaler, à un pH préalablement déterminé. Quant à la solution de soude, elle est alors ajoutée à une vitesse variable, gérée par le programme informatique, et ce, de manière à maintenir un pH constant. De ce fait, en ajustant les concentrations des solutions contenues dans le réacteur, (de cations métalliques et de la base), il est possible de réaliser des additions très lentes tout en conservant un pH constant avec une précision de $\pm 0,05$ unités.

Enfin, lorsque l'addition de la solution de sels métalliques est achevée, la suspension est alors conservée à température ambiante pendant 24 h et, sous azote, tout en prenant soin de maintenir le pH à une valeur de consigne. C'est ce que l'on appelle *le mûrissement*†. Ensuite, les suspensions sont centrifugées, lavées trois fois à l'eau distillée, puis séchées dans une étuve à 50°C pendant 24 h.

Ainsi, les avantages de ce système de synthèse s'avèrent multiples, parmi lesquels : *i)* il permet d'éviter une variation du pH autour de la valeur du pH de consigne. Ce système évite par conséquent la formation de phases supplémentaires non souhaitées. *ii)* Il permet un ajout contrôlé des sels, qui est généralement lent, ce qui permet d'améliorer la cristallinité des matériaux hybrides élaborés.

- Montage de synthèse utilisé au niveau du Laboratoire M.A.C.S. (I.C.G. Montpellier)

Le système de synthèse utilisé au niveau de laboratoire M.A.C.S. de Montpellier est illustré dans la [figure 2.2](#). Ce montage a pour avantage de permettre des synthèses en milieu inerte (sous azote) ou sous air.

Dans un ballon tricol contenant 100 ml d'eau distillée, est délivrée la solution des sels métalliques à un débit de 1,5 mL/min à l'aide d'une pompe. La solution de NaOH est ajoutée par l'intermédiaire d'une burette automatique (type 718 STAT titrino, Metrohm) qui ajuste le pH de la suspension formée autour du pH de consigne.

* Le réacteur central contient l'anion que l'on désire intercaler.

† Etape qui permet la croissance des cristallites et de réduire d'éventuels défauts du matériau final.

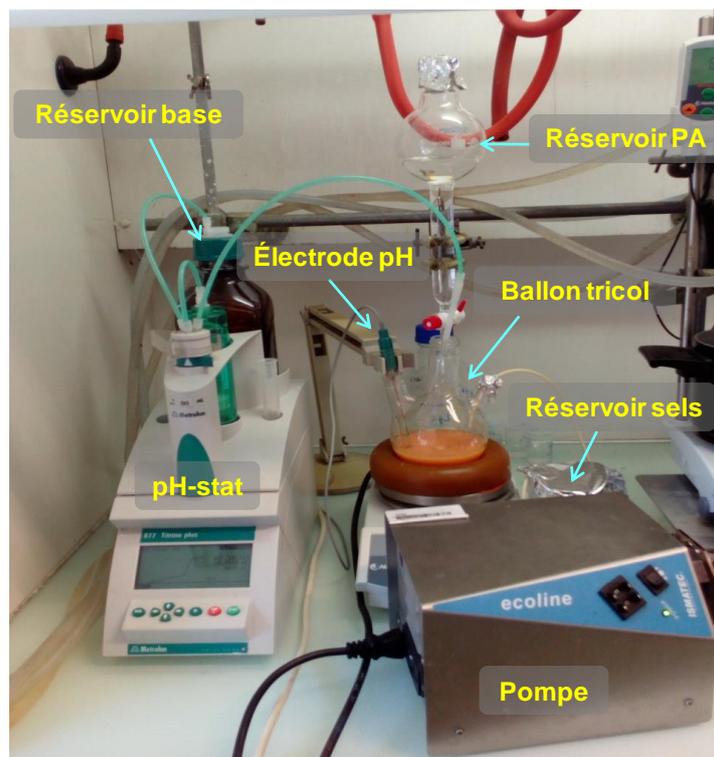


Figure 2.2 : Montage utilisé pour la synthèse des hybrides de type cœur@HDL-PA à l'I.C.G de Montpellier.

A la fin de la précipitation, le ballon contenant la suspension subit un traitement hydrothermal pour améliorer la cristallinité du produit synthétisé. Nous avons utilisé les mêmes conditions pour tous les matériaux afin d'avoir des protocoles de synthèses identiques et homogènes, c'est-à-dire : un reflux à 80°C pendant 24 h. A la suite de ce traitement, la suspension est refroidie, et le précipité obtenu est centrifugé puis lavé plusieurs fois à l'eau distillée, et enfin séché dans une étuve à 80°C pendant 24 h.

- Montage de synthèse utilisé au laboratoire de Chimie des Matériaux (C.R.A.P.C.)

Le système de synthèse décrit ci-dessous, représenté dans la [figure 2.3](#), permet d'élaborer des matériaux en suivant principalement une procédure entièrement manuelle. En effet, cette dernière consiste à ajouter les sels métalliques et l'agent précipitant ensemble et simultanément à l'aide de burettes et/ou de pompe péristaltique. Les débits auxquels sont ajoutés ces solutions doivent être réglés de façon à éviter de fortes variations de pH du mélange réactionnel.

De plus, une variante de ce montage a également été utilisée dans ce travail, dans laquelle les réactifs sont placés en solution et le pH est ajusté à la valeur souhaitée *via* une burette contenant la solution de NaOH.

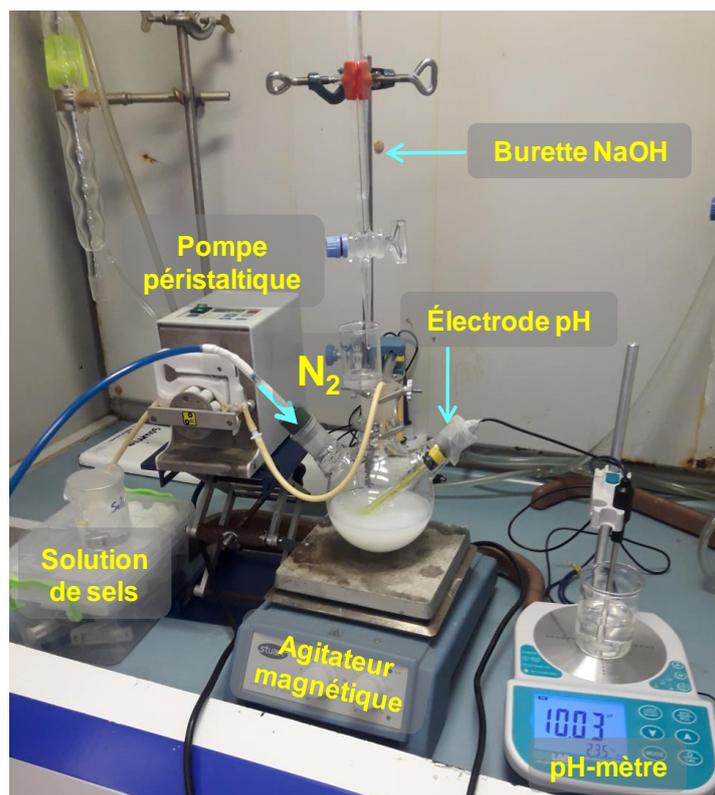


Figure 2.3 : Dispositif expérimental pour la synthèse des composés HDL utilisé au C.R.A.P.C.

A la fin de la précipitation, le mélange réactionnel subit un mûrissement à 80°C pendant 24 h. Il s'ensuit les différents cycles de lavage/centrifugation et finalement le séchage du produit à 80°C dans une étuve pendant 24 h.

2.1.2. Préparation des phases hybrides@HDL par coprécipitation rapide associée à un traitement hydrothermal

Les suspensions obtenues après coprécipitation très rapide des réactifs (sels métalliques et l'agent de précipitation) ayant été réalisées en absence d'air, subissent, après quelques lavages préalables, un traitement en conditions hydrothermales. Ce dernier est réalisé dans un réacteur, de type autoclave, permettant l'établissement d'une pression autogène à des températures comprises entre 100 °C et 150 °C, pour des durées allant de quelques heures à quelques jours, selon le matériau considéré et les propriétés finales recherchées. Ce procédé de synthèse est inspiré des travaux de Xu *et al.*^[1] Il est représenté dans la [figure 2.4](#).

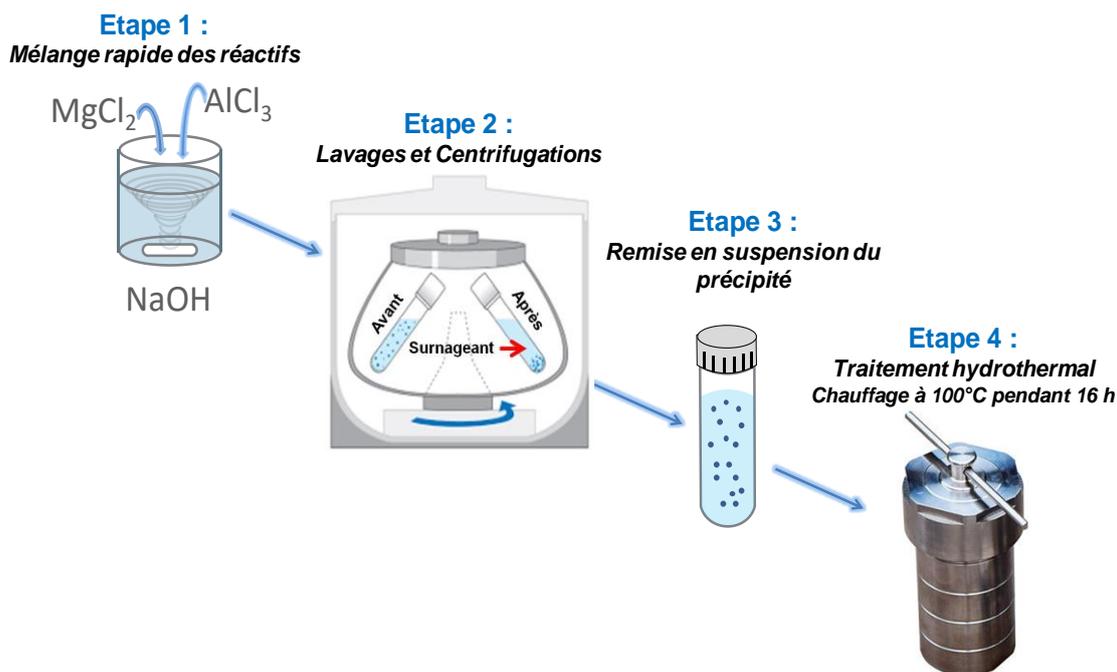


Figure 2.4 : Schéma simplifié regroupant les principales étapes de la préparation d'une suspension colloïdale d'HDL.

Les réacteurs utilisés dans ce type de synthèse sont constitués d'un corps en acier inoxydable à l'intérieur duquel est introduit un récipient en téflon (parfois en polytétrafluoroéthylène, PTFE). Chaque réacteur est également muni d'un couvercle en acier inoxydable. La température du traitement hydrothermal est limitée par l'utilisation du téflon comme enveloppe. Elle peut s'élever à un maximum de 220°C.

Cette méthode de synthèse permettrait l'obtention de particules d'HDL avec des tailles nanométriques. En effet, les tailles des particules d'HDL qui ont été rapportées dans la littérature sont généralement comprises entre 70 et 130 nm.^[2]

2.1.3. Préparation de phases hybrides de type PA@HDL par échange anionique

Les échanges anioniques ont été réalisés à partir des phases précurseurs chlorures ou nitrates (notés respectivement : HDL@Cl, HDL@NO₃), connues pour leur faible affinité pour les feuillets HDL. En pratique, 50 mg d'HDL sont dispersés dans une solution aqueuse contenant le PA en excès (sous forme de sel) afin d'obtenir un échange total. La suspension est alors agitée sous flux d'azote, comme cela est illustré ci-après dans la [figure 2.5](#), afin d'éviter toute pollution par des carbonates.

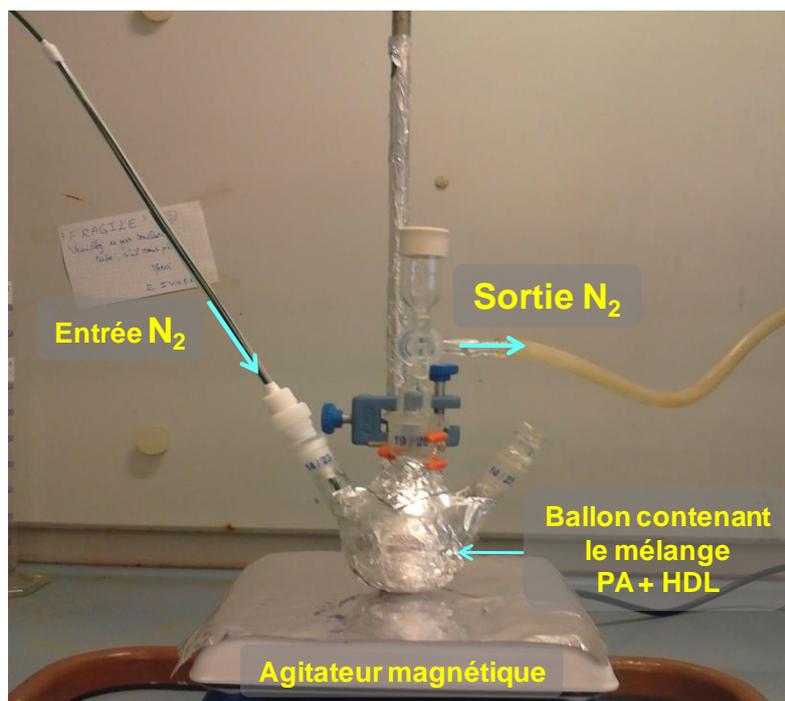
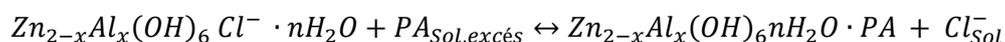


Figure 2.5 : Echange anionique $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{PA}$ en solution aqueuse sous flux d'azote.

Au bout d'un temps prédéfini, le précipité (noté : HDL@PA) est d'abord récupéré par centrifugation, puis lavé trois (03) fois à l'eau distillée et enfin, séché dans une étuve à 60°C pendant 24 h. La réaction chimique qui se produit lors de cet échange s'écrit comme suit :



2.1.4. Méthodes de synthèses des cœurs magnétiques

2.1.4.1. La méthode solvothermale

La méthode solvothermale met en jeu des réactions chimiques entre sels métalliques (pouvant être du chlorure de fer hexahydraté ou du nitrate de fer nonahydraté) dissouts dans un solvant organique généralement un polyol (l'éthylène glycol). Dans cette méthode, le polyol sert à la fois de réducteur doux et de milieu de croissance des particules métalliques.

Les avantages liés à ces solvants liquides sont multiples. Nous pouvons citer les trois (03) principaux avantages suivants :

- i)* Ils peuvent dissoudre facilement les sels métalliques grâce à leur polarité élevée, contrairement à la plupart des solvants organiques.
- ii)* ils permettent de réduire les cations métalliques.
- iii)* ils possèdent un haut point d'ébullition (190°C - 200°C) et permettent ainsi de travailler dans une gamme de température assez large.

Dans ce travail, la synthèse des NPs Fe_3O_4 a ainsi été réalisée dans des conditions solvothermales sous pression autogène à une température comprise entre 180°C et 210°C . Le procédé de préparation est inspiré du protocole décrit dans la référence^[3] et illustré dans la figure 2.6.



Figure 2.6 : Schéma simplifié regroupant les étapes de synthèse des particules magnétiques par la méthode solvothermale.

Ainsi, ce protocole modifié comprend les étapes suivantes :

- i) Dans un erlenmeyer de 500 mL, sont dissouts 6,75 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (soit 25 mmol) dans 200 mL d'éthylène glycol. L'ensemble est maintenu sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète du précurseur.
- ii) Par la suite, 17,5 g d'acétate de sodium sont ajoutés à la solution de Fe(III). Puis, le contenu de l'erlenmeyer est mis sous agitation magnétique pendant 30 minutes.
- iii) Après homogénéisation complète, le mélange réactionnel est transféré dans un autoclave d'une contenance de 500 mL. La réaction a lieu à température fixe, soit : 200°C , pour une durée de 8 à 24 h, selon le matériau recherché.
- iv) Après refroidissement, commencent alors des cycles de lavages/centrifugations dans un mélange eau distillée/éthanol (50 %/50 %, v/v).
- v) Enfin, le précipité obtenu est séché dans une étuve à 60°C pendant 6 h.

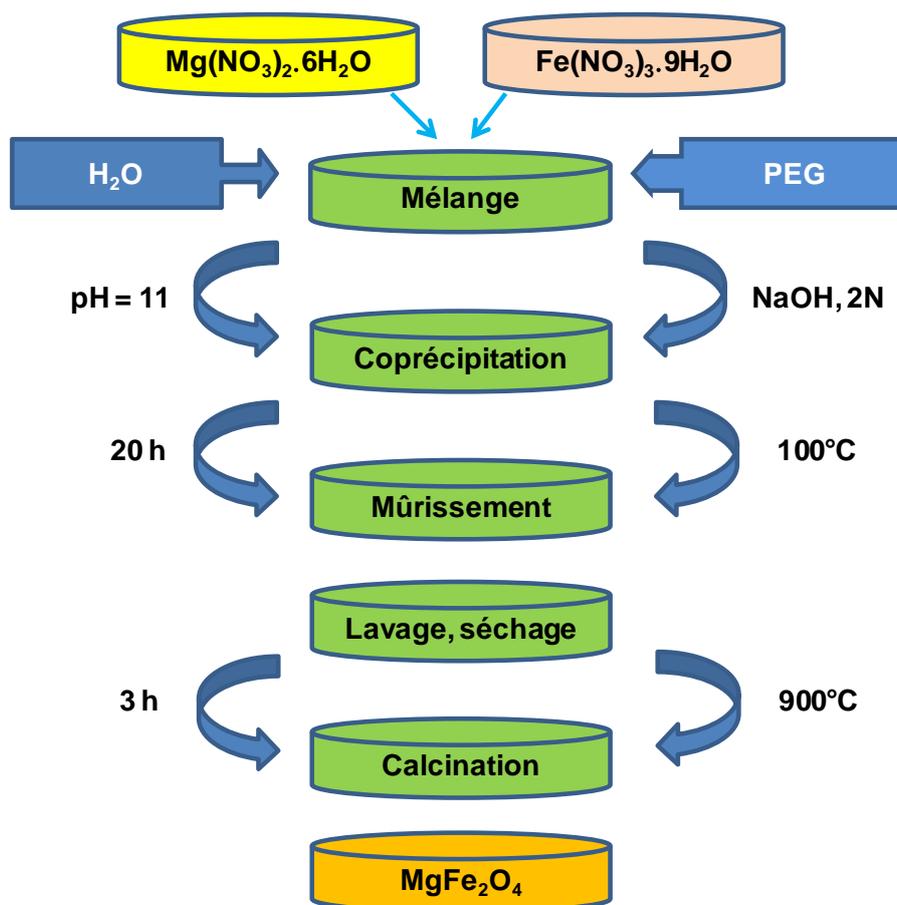
2.1.4.2. Synthèse de ferrites MgFe_2O_4 par la voie HDL

La calcination de phases HDL de composition (M^{2+} , Fe^{3+}) a permis de synthétiser des ferrites spinelles de type MFe_2O_4 .^[4] Ces matériaux présentent une magnétisation à saturation supérieure à celle des spinelles produits par les méthodes de synthèse céramiques traditionnelles bien que leurs compositions soient identiques. En effet, l'utilisation d'HDL comme précurseurs garantit une répartition homogène des cations métalliques à l'échelle atomique. De plus, comparativement à la synthèse classique des spinelles, la décomposition

des HDL nécessite le recours à des températures de traitements thermiques moins élevées sur des temps plus courts.^[5]

Le contrôle de la morphologie des précurseurs HDL, peut se faire en jouant sur les paramètres de synthèse (pH, force ionique, concentration des sels métalliques, additifs, agents complexant). Ces paramètres ont une influence directe sur la croissance et l'agglomération de particules élémentaires ou sur le mûrissement.^[6] De ce fait, dans une seconde approche, nous avons opté pour l'ajout d'un additif dit *template*. Ceci consiste en l'utilisation d'une structure préexistante en guise de moule, au sein de laquelle prennent place la nucléation et la croissance des particules. Ces derniers peuvent être ralentis, voire bloqués, par l'adsorption d'ions ou de molécules organiques.

La spinelle magnétique $MgFe_2O_4$ est obtenue par calcination pendant 3 h à $900^\circ C$ d'une phase HDL $MgFe$ synthétisée par coprécipitation, à pH constant égale à 11, avec un rapport molaire $R = Mg^{2+}/Fe^{3+}$ égal à 2. Les différentes étapes suivies pour préparer les NPs de ferrite de magnésium sont décrites dans la [figure 2.7](#).



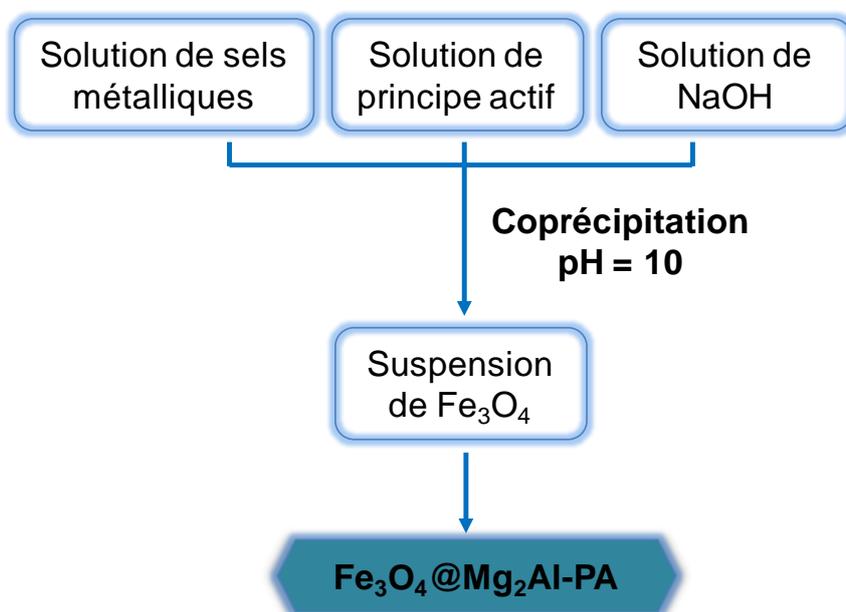
[Figure 2.7](#) : Diagramme pour la synthèse de ferrites $MgFe_2O_4$.

Avant d'entamer la coprécipitation des phases HDL, le polyéthylène glycol (PEG), un polymère hydrophile, soluble dans l'eau et biocompatible, est mélangé avec la solution des sels métalliques. L'influence de ce *template* sur les propriétés physico-chimiques des HDL précurseurs et des ferrites spinelles a été étudiée.

2.1.5. Stratégie de préparation des hybrides de type cœur@HDL-PA

Dans ce travail de recherche, les hybrides de type cœur@HDL-PA, ont été synthétisés par coprécipitation. La démarche est représentée dans la [figure 2.8](#).

Pour cette stratégie, nous avons utilisé le montage précédemment illustré dans la [figure 2.2](#). De plus, la synthèse des systèmes cœur @HDL-PA a été effectuée par coprécipitation de trois (03) solutions distinctes, à savoir : la solution des cations métalliques, une solution aqueuse contenant le principe actif et une solution de soude (2N). Ces trois solutions ont été coprécipitées simultanément en présence de 30 mL d'une quatrième solution contenant cette fois-ci 0,4 g de cœur magnétique. Ce dernier a cependant été mis en suspension préalablement à l'addition des trois solutions. Après un mûrissement de 18 h à 80°C, le produit final a été récupéré par filtration. Il a ensuite été lavé à l'eau distillée jusqu'à atteindre un pH neutre. Enfin, il a été séché à 60 °C pendant 24 h.



[Figure 2.8](#) : Représentation schématique des étapes de synthèse suivies pour la préparation des hybrides de type cœur@HDL-PA.

2.2. Les expériences de libération *in vitro*

Un système à libération contrôlée se définit comme une entité qui délivre un principe actif à une vitesse prédéterminée pendant, un temps défini. Par ailleurs, les deux mécanismes fondamentaux par lesquels le PA présent au niveau de vecteurs, de type nanoparticules, peut être libéré sont : la diffusion du principe actif à travers la membrane/matrice et la dégradation chimique ou physico-chimique des nanoparticules (figure 2.9).^[7]

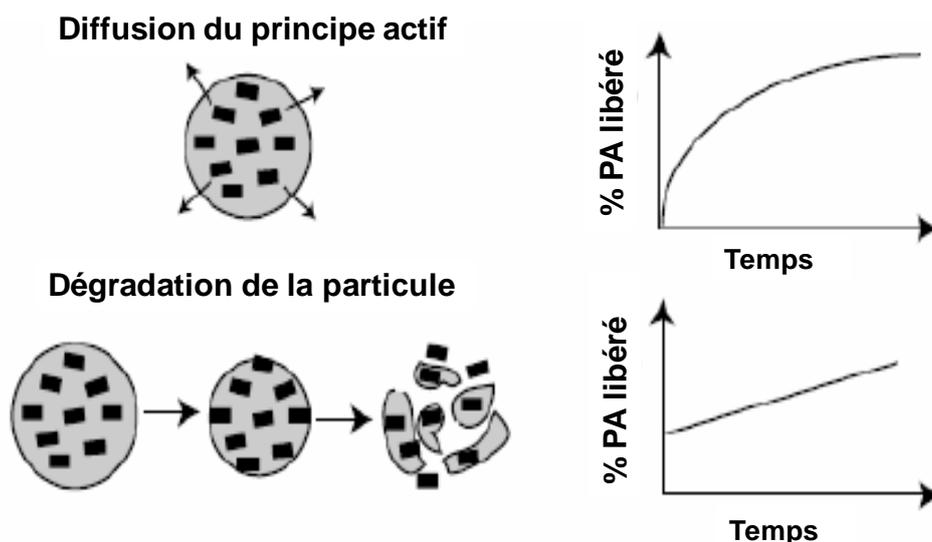


Figure 2.9 : Représentation schématique des différents modes de libération du PA et des allures des cinétiques de libération correspondantes.

Dans le but d'explorer l'influence de la structure des hybrides préparés, sur le profil de libération du PA, plusieurs expériences de suivi des cinétiques de libération des PA *in vitro* ont été réalisées. En effet, ces tests ont été effectués sur des matériaux HDL@PA ou des matériaux de type cœur@HDL-PA sur une durée variable d'un système à un autre. Par ailleurs, afin de mimer certains milieux biologiques et solutions physiologiques, un tampon phosphate a également été utilisé. Selon le laboratoire où les tests de libération du PA *in vitro* ont été réalisés, différentes conditions expérimentales ont été utilisées :

Ainsi à l'I.C.C.F., nous avons procédé de la façon suivante : 15 mg de nanoparticules sont mises en suspension dans du PBS à 0,1 M, pH 7,5. La libération s'effectue à température ambiante sous agitation douce. 3 mL de suspensions sont prélevés à des intervalles de temps déterminés puis sont centrifugés à 4500 tr/min pendant 10 min. Le surnageant est alors prélevé puis dosé par spectroscopie UV-Visible. 3 mL de PBS frais sont ajoutés dans le milieu de libération.

Quant au niveau du C.R.A.P.C. et de l'I.C.C.G., les tests *in vitro* ont été réalisés à l'aide d'une roue d'agitation (figure 2.10) qui permet de remettre, en permanence et pendant toute la durée des expériences, les nanoparticules en suspension. Nous avons par ailleurs adopté

la méthode dite de centrifugation. En effet, la dispersion est diluée dans le milieu de libération puis est répartie dans plusieurs tubes (de 15 mL). Par la suite, ils sont tous disposés sur la roue avant le lancement de celle-ci et du chronomètre. A chaque intervalle de temps, un tube est centrifugé et le surnageant analysé par spectrophotométrie UV-Visible pour quantifier le PA qui a été libéré.



Figure 2.10 : Tests in vitro de libération de PA en utilisant la roue d'agitation.

La roue d'agitation possède un plateau porte échantillon dont l'inclinaison est modulable. De plus, plusieurs tests peuvent être réalisés simultanément à vitesse variable et à des températures pouvant aller de -10°C à $+60^{\circ}\text{C}$.

Cette méthode est généralement préférée dans le cas des nanoparticules. L'étape de centrifugation ne dure que 10 minutes, ce qui permet de ne pas surestimer la libération du principe actif.

2.3. Techniques de caractérisation des matériaux obtenus

2.3.1. Diffraction des rayons X

Dans ce travail, la diffraction des rayons X (DRX), a été utilisée aussi bien pour caractériser les matériaux à base d'HDL que les matériaux magnétiques. Ainsi, les caractéristiques structurales et les informations que cette technique peut apporter à l'étude des nanoparticules élaborées seront détaillées en fonctions du type des matériaux analysés.

- Les matériaux à base d'HDL

La DRX est une technique de choix pour la caractérisation structurale des matériaux de type HDL car elle permet d'acquérir des informations essentielles sur l'organisation du matériau et sur l'espace interlamellaire. L'indexation des diffractogrammes pour des structures rhomboédriques (le groupe d'espace des HDL est très généralement R-3m) s'effectue en

considérant une maille hexagonale triple. La formule mathématique liant les indices de Miller hkl , les distances d et les paramètres de maille a et c est la suivante :

Equation 2.1

$$\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{4(h^2 + hk + l^2)}{3a^2} + \frac{l^2}{c^2}$$

La [figure 2.11.a](#), illustre à titre d'exemple, le diffractogramme type d'une phase HDL préparée dans cette étude. Il peut alors être divisé en trois zones distinctes pour la détermination des divers paramètres de maille, à savoir :

- 1) *La région à bas angle (0-30°)* : Elle contient les réflexions basales ($00l$) dont les positions dépendent de l'organisation de l'anion intercalé. De plus, Ces réflexions permettent la détermination du paramètre de maille c ($c = 3 \times d_{003}$). Ce dernier, représente la distance entre les plans médians de deux feuillets successifs. Par ailleurs, c'est dans cette région aussi que l'on peut observer l'intercalation d'une entité anionique ([figure 2.12](#)). En ayant accès à la distance interlamellaire, l'orientation de la molécule entre les feuillets peut être discutée.

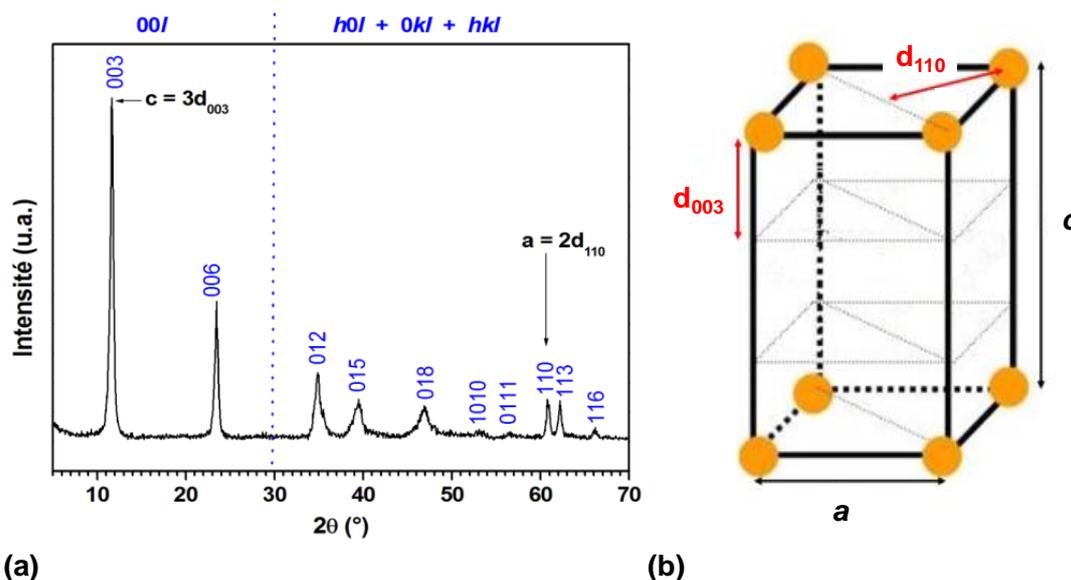


Figure 2.11 : Diffraction des rayons X pour des matériaux à base d'HDL. **(a)** Diffractogramme X d'une phase HDL $Mg_2Al@CO_3$ obtenue par coprécipitation. **(b)** Représentation de la maille hexagonale constituée de l'empilement de trois feuillets/interfeuillets, dans le groupe d'espace $R-3m$.^[8]

- 2) *La région aux moyens angles* : Elle contient les réflexions ($h0l$) et ($0kl$) et renseigne sur le mode d'empilement. En présence de défauts d'empilement, ces réflexions sont fortement modifiées.

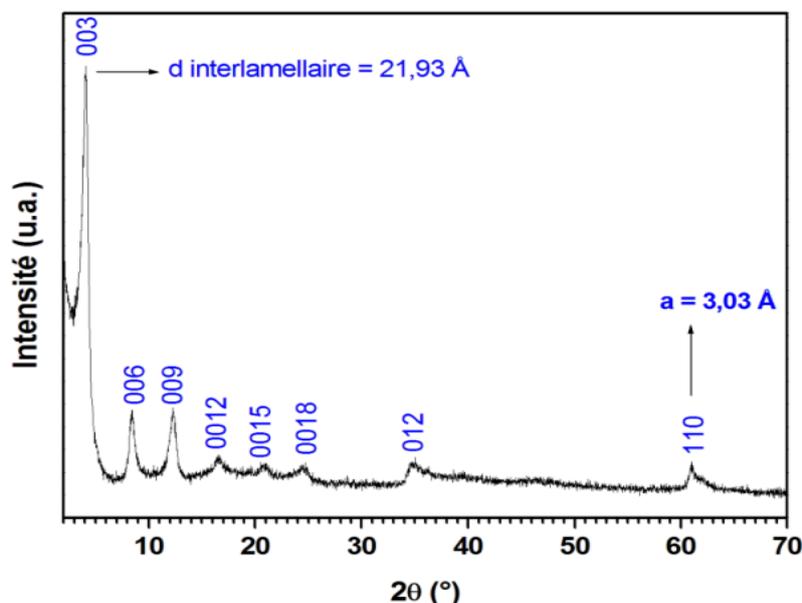


Figure 2.12 : Diffractogramme X d'une phase hybride Flurbiprofène@Mg₂Al.

- 3) *La région aux grands angles (50-65°)* : Elle est caractérisée par la présence de la réflexion (110), typique du feuillet M(OH)₂, dont la position dépend des cations constituant le feuillet mais également de la densité de charge. Elle donne accès au paramètre de maille a , selon la formule $a = 2 \times d_{110}$. C'est la distance entre deux cations directement voisins au sein d'un feuillet comme illustré dans la figure 2.11-b.

Traitement des diagrammes de diffraction sur poudre

- La première étape du traitement est l'indexation des réflexions de Bragg observées dans une maille hexagonale du groupe d'espace R-3m. Ensuite, Nous procédons par repérer la position 003 et la position 110 afin d'estimer les paramètres de maille a et c .
- La deuxième étape consiste à modéliser le profil d'une raie par une fonction analytique qui permettra l'ajustement de l'ensemble du diffractogramme. En effet, une fonction de profil autorise l'affinement d'un certain nombre de ses paramètres. Elle permet ainsi d'ajuster au mieux les données d'un échantillon. Ces paramètres sont affinés lors de la décomposition du diffractogramme par la méthode de Le Bail[‡].^[9] Nous avons utilisé la fonction de profil Thompson Cox-Hastings[§] qui est une pseudo-Voigt intégrant la contribution instrumentale à la forme des raies de Bragg grâce à la mesure d'un standard dont l'effet sur la forme et l'élargissement des raies est très faible. Cette seconde fonction a permis une meilleure évaluation de la contribution de l'échantillon et donc des

[‡] Méthode d'ajustement d'un diffractogramme expérimental par un diffractogramme simulé qui ne nécessite pas un calcul de l'intensité via les facteurs de structure.

[§] La fonction 7 dans le logiciel Fullprof.

informations qu'il est possible d'extraire des profils de raies (taille de cristallites, microcontraintes...).[10]

- Dans une troisième étape, l'affinement de Le Bail est utilisé pour extraire l'intensité intégrée (I) des pics afin de calculer les facteurs de structures (f). Ces deux paramètres sont liés par la relation : $I = f^2$.
- Enfin, en appliquant la transformée de Fourier des facteurs de structures, nous pouvons ainsi tracer la densité électronique.

Pour mener à bien un affinement, les valeurs initiales des paramètres à affiner doivent être les plus proches possibles des valeurs réelles, et établir un test de convergence pour déterminer la fin de l'affinement. Le programme fonctionne alors par itérations successives, à partir de la collection des paramètres de départ.

La qualité d'un affinement est appréciée en comparant les diagrammes calculés et observés. Elle est estimée par plusieurs facteurs dits de qualité dont : le facteur de profil pondéré R_{wp} et le facteur minimum attendu, R_{exp}

Un bon affinement doit conduire à des valeurs minimales de ces deux facteurs, de sorte que le paramètre statistique défini par la relation ci-dessous puisse tendre vers l'unité :

Equation 2.2

$$\chi^2 = \left(\frac{R_{wp}}{R_{exp}} \right)^2$$

La diffraction des rayons X appliquée aux oxydes nous permet d'identifier les différentes phases présentes dans nos échantillons préparés ainsi que leurs paramètres de maille.

- Les oxydes magnétiques

- *Détermination du paramètre de maille et de la taille des cristallites*

D'après une étude réalisée par Daou *et al.*, [11] les diffractogrammes de magnétite et de maghémite sont particulièrement identiques car la transformation $Fe_3O_4 \rightarrow \gamma Fe_2O_3$ est indécélable par DRX. En effet, les diffractogrammes RX sont légèrement différents *i.e.* les pics sont très proches mais décalés en raison de la différence entre les paramètres de maille qui sont de 8,39 et 8,33 Å pour la magnétite et de la maghémite, respectivement. Le paramètre de maille des spinelles est déduit de la loi de Bragg (Equation 2.3) et de l'expression établie pour une maille cubique (Equation 2.4).

Equation 2.3

$$d_{hkl} = \frac{\lambda}{2 \sin \theta}$$

Equation 2.4

$$a = d_{hkl} \sqrt{h^2 + k^2 + l^2}$$

De plus, à partir de la forme du profil des raies de diffraction, il est possible d'extraire la taille moyenne des cristallites des oxydes magnétiques. La formule de Scherrer (Equation 2.5) permet d'obtenir cette valeur moyenne mais néanmoins de façon très approximative :

Equation 2.5

$$t = \frac{K \lambda}{FWHM \cos \theta}$$

où :

t : est la taille apparente des grains,

K : est le facteur de conversion des largeurs à mi-hauteurs FWHM en largeur intégrale β (0,9 pour une sphère),

θ : est l'angle de Bragg,

FWHM : correspond à la largeur à mi-hauteur de la raie de diffraction la plus intense

La figure 2.13 illustre le diffractogramme typique de la phase spinelle Fe_3O_4 .

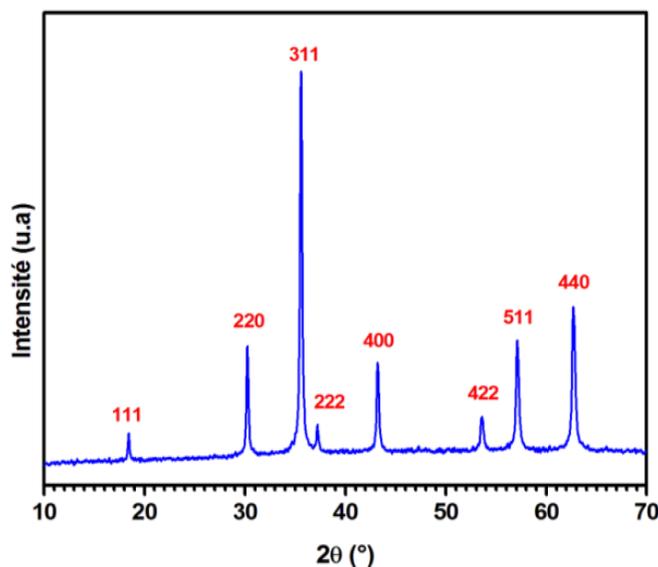


Figure 2.13 : Diffractogramme X typique de la magnétite.

2.3.2. La spectroscopie vibrationnelle

Deux techniques distinctes et complémentaires de spectroscopie vibrationnelle ont été utilisées dans ce travail de recherche. Il s'agit en effet de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et de la spectroscopie Raman. Ces deux techniques seront détaillées en fonction des matériaux analysés.

- [Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier](#)

- [Application de l'IRTF pour la caractérisation de matériaux à base d'HDL](#)

De manière générale, la spectroscopie vibrationnelle est majoritairement utilisée pour identifier les anions intercalés, ainsi que leur symétrie, qui diffère de celle des anions libres. De ce fait, connaissant la distance interlamellaire et la symétrie des anions intercalés, il est possible de décrire la structure du milieu interlamellaire de manière plus ou moins détaillée. ^[12] La spectroscopie IRTF, quant à elle, est une sonde locale qui permet de caractériser divers modes de vibration à savoir (figure 2.14) :

- Des modes vibrations associés à la présence de molécules d'eau interlamellaire ainsi que celles composant le feuillet ;
- Des modes vibrations associés à la présence d'anions dans l'espace interlamellaire ainsi que les interactions qui peuvent exister avec le feuillet. Ces dernières sont visibles à travers de petite variation du nombre d'onde entre l'anion libre et l'anion confiné dans l'espace interlamellaire.

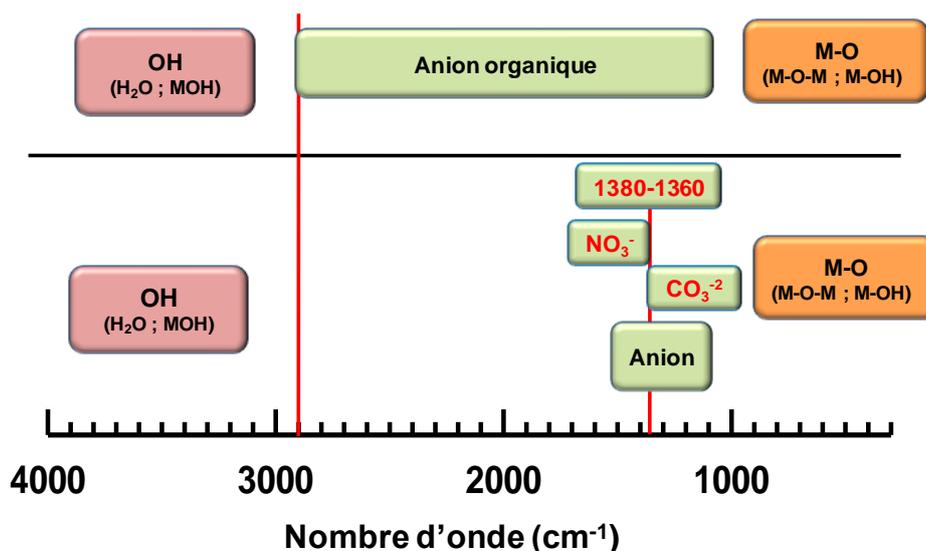


Figure 2.14 : Les domaines d'absorption des bandes correspondant aux principales vibrations des phases hybrides HDL déterminées par spectroscopie IRTF.

- [Application de l'IRTF pour la caractérisation les oxydes magnétiques](#)

La spectroscopie infrarouge permet de différencier la magnétite et la maghémite aux faibles longueurs d'ondes ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$).^[13] De plus, elle est sensible aux lacunes présentes au niveau des oxydes et à leur ordre éventuel. En effet, une structure spinelle quasi-ordonnée développe un nombre de bandes infrarouges plus important et des bandes mieux résolues qu'un matériau désordonné. Par exemple, une structure spinelle désordonnée présente

souvent deux modes de vibration caractéristiques ν_1 et ν_2 à 570 et 410 cm^{-1} , respectivement. La bande ν_1 localisée vers 570-590 cm^{-1} , correspond aux déformations Fe-O dans les sites octaédriques et tétraédriques, tandis que la bande ν_2 , dont le nombre d'onde est localisé entre 420-450 cm^{-1} , correspond uniquement aux déformations Fe-O dans les sites octaédriques.^[14] Par ailleurs, Daou *et al.* ont conclu qu'une poudre constituée uniquement de magnétite présente un spectre IRTF avec une seule bande localisée à 580-590 cm^{-1} . La maghémite, en revanche présenterait plusieurs bandes très proches dont la résolution dépendra de l'ordre structural.^[11] Les bandes caractéristiques de la magnétite et la maghémite sont regroupées dans le [tableau 2.1](#).

[Tableau 2.1](#). Bandes IR caractéristiques de la magnétite et la maghémite.

Oxyde de fer	Bandes IR (cm^{-1})	Réfs
Fe_3O_4	570-590	[15,16]
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	780, 695, 630, 590, 560, 480, 440	[17]

- [Spectroscopie Raman à transformée de Fourier](#)

La spectroscopie Raman, utilisée dans ce travail de thèse pour la caractérisation de certains hybrides HDL, est une technique d'analyse ponctuelle non-destructive. Elle est basée sur la détection des photons diffusés inélastiquement suite à l'interaction de l'échantillon avec un faisceau de lumière monochromatique. La différence de fréquence entre photon exciteur et photon diffusé renseigne sur la nature chimique de la molécule à l'origine de la diffusion. Cette technique d'analyse est utilisée pour étudier les vibrations des liaisons entre atomes dans un grand nombre de molécules. La spectrométrie Raman a pour principal avantage de ne pas nécessiter de préparation particulière.

Lorsqu'elle est appliquée à la caractérisation des phases HDL, la spectroscopie Raman permet d'avoir une meilleure détection des vibrations en provenance des groupements le constituant. Elle peut donc être considérée comme une technique complémentaire à la spectroscopie IRTF ([figure 2.15-a](#)).

Les bandes Raman sont généralement moins intenses et mieux résolues, ce qui permet d'identifier plus facilement les modes d'élongation des hydroxyles des feuillettes et ceux des molécules d'eau. Notons cependant que l'acquisition et l'exploitation de spectres Raman peuvent être compliquées par des phénomènes de fluorescence. La région entre 3500 et 3800 cm^{-1} correspond aux mouvements en phase de symétrie A_{1g} et en antiphase de symétrie A_{2u} des groupements hydroxyles des feuillettes ([figure 2.15-b](#)).^[12,18] Chaque ion hydroxyde étant lié à trois cations dans une structure HDL, les bandes vibrationnelles devraient prendre en compte

les différents types de liaisons M-OH. Ainsi, des combinaisons telles que $M^{2+}_2M^{3+}OH$, $M^{2+}M^{3+}_2OH$ ou encore M^{3+}_3OH et M^{2+}_3OH peuvent être considérées. [19]

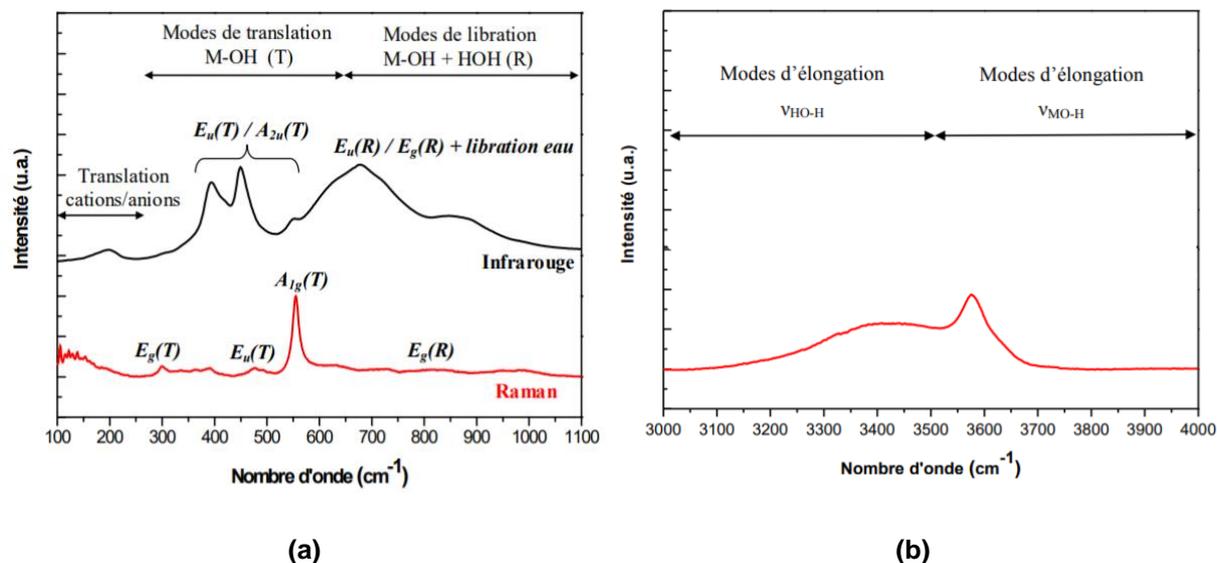


Figure 2.15 : Les informations fournies par la spectroscopie Raman d'une phase Mg^{2+}/Al^{3+} contenant des anions Cl^- : **(a)** comparaison entre les techniques IRTF et Raman entre 100 et 1100 cm^{-1} et **(b)** 3000 et 4000 cm^{-1} . [18]

2.3.3. Spectroscopie à résonance magnétique nucléaire (RMN) du ^{13}C à l'état solide

La RMN de l'état solide figure de nos jours parmi les techniques les plus utilisées pour la caractérisation de la structure locale et de la dynamique d'une grande variété de composés solides. Elle a été utilisée ce travail pour la caractérisation de certaines phases HDL. La sélectivité chimique de la RMN associée à sa sensibilité à l'ordre local, en font un outil complémentaire de la DRX ou d'autres techniques spectroscopiques. La spectroscopie RMN consiste à soumettre les noyaux d'atomes de la molécule à un champ magnétique statique intense B_0 (de l'ordre de quelques Teslas). Les noyaux résonneront alors à une fréquence qui dépend étroitement de leur environnement atomique, c'est-à-dire, des différentes espèces dans lesquels ces noyaux sont engagés.

En revanche, dans la RMN du liquide, la rotation rapide des molécules génère des spectres RMN de haute résolution. Ce qui n'est pas le cas des solides où les mouvements des atomes ou des molécules sont limités. Ils génèrent alors des spectres RMN avec des résonances larges et souvent peu résolues.

Dans le but de se rapprocher de la haute résolution des échantillons liquides, différentes techniques ont été développées en RMN des solides. Parmi lesquelles nous pouvons citer la

rotation à l'angle magique** (MAS, Magic Spining Angle). La MAS est capable d'atteindre une fréquence de rotation de 110 kHz^[20] (figure 2.16-a).

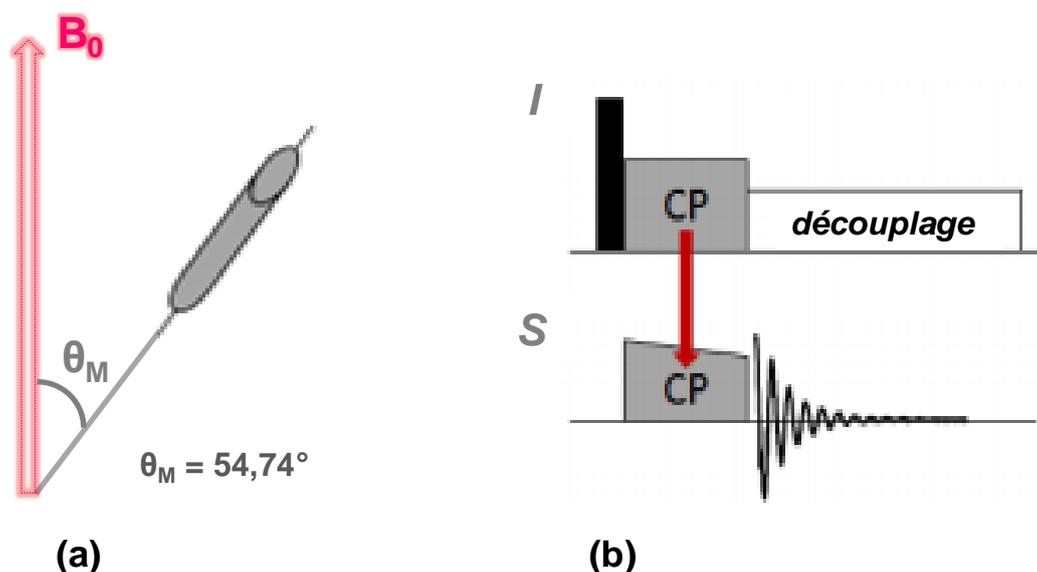


Figure 2.16 : Principe de la spectroscopie RMN. **(a)** Orientation du rotor selon l'axe formant l'angle magique avec le champ magnétique statique B_0 . **(b)** Séquence de transfert de polarisation CP sous rotation à l'angle magiques des spins I abondant vers les spins S rares.

Cependant, la suppression des couplages retire de l'information structurale. Un grand nombre de méthodes ont donc été développées pour réintroduire le couplage dipolaire de façon contrôlée, citons par exemple la polarisation croisée CP. La polarisation croisée^{††} (figure 2.16-b) est une technique utilisée en RMN sous rotation de l'angle magique permettant de transférer la polarisation d'un noyau I, souvent de haute sensibilité comme (^1H ou ^{19}F), vers un noyau S, souvent de plus faible sensibilité ou abondance naturelle (^{13}C ou ^{29}Si).

La caractérisation des matériaux HDL par la technique RMN du solide permet : *i)* la caractérisation des propriétés structurales du feuillet, *ii)* de sonder les propriétés dynamiques de l'espace interlamellaire et enfin *iii)* d'identifier les interactions développées entre le feuillet et les espèces hôtes. En effet, l'intercalation de bio-molécule dans l'espace interlamellaire des HDL est systématiquement accompagnée d'une variation des pics de plusieurs carbones/protons de la molécule intercalée ainsi que de la matrice hôte.^[21] La comparaison des spectres RMN des matériaux purs avec le spectre du biohybride permet d'avoir une idée sur sa structure et sa conformation spatiale. La RMN du ^{13}C est ainsi très souvent utilisée après intercalation de molécules organiques. De manière générale, peu de modifications du spectre RMN du ^{13}C de l'espèce anionique sont observés mis à part un léger décalage de

** Technique expérimentale qui consiste à faire tourner l'échantillon à une très grande vitesse selon un axe de rotation faisant un angle $\theta = 54,47^\circ$ avec le champ statique B_0 pour reproduire les effets du mouvement Brownien sur des échantillons solides.

†† Technique qui consiste à appliquer des irradiations simultanées et continues sur les noyaux I et S, pour un transfert optimum.

certaines bandes caractéristiques causé par les interactions entre ces molécules et les feuillettes, ou encore pour contrôler le maintien de la structure des molécules.^[22] Comme exemple d'utilisation de cette technique pour la caractérisation de phases HDL hybrides, nous pouvons citer les travaux de Jensen *et al.* En effet, ce groupe de chercheurs ont intercalé du para-amino salicylate (PAS), un antituberculeux, dans une phase HDL de composition MgAl obtenue par coprécipitation. Ainsi, la conservation de la structure chimique des molécules PAS intercalées dans l'espace interlamellaire de l'HDL a été confirmée par RMN du ¹³C en complément à la DRX.^[23]

2.3.4. Spectroscopie UV-Visible

Les PA sont des molécules qui possèdent un système d'électron π fortement délocalisé. Ces molécules absorbent dans le domaine de l'UV et présentent un spectre d'absorption très caractéristique. Dans ce travail, la spectroscopie UV-Vis en solution a été utilisée comme technique de dosage :

- i) déterminer la quantité de PA incorporée dans les phases HDL.
- ii) suivre, en continu, les quantités de PA libérées lors de l'étude des cinétiques de libération.
- iii) tracer les courbes d'étalonnage des différents PA dans divers tampons, selon la loi de Beer-Lambert.

Dans la mesure où il n'est pas possible d'enregistrer les spectres en transmission dans le cas d'échantillons sous forme de poudre, les analyses ont alors été effectuées en mode réflectance diffuse sur des préparations faiblement pressées. De plus, les spectres ont été obtenus par des spectrophotomètres équipés d'une sphère d'intégration. La substance standard de référence étant du sulfate de baryum. Afin de visualiser le type de spectres qui peuvent être obtenus par analyse par spectroscopie UV-Visible, la [figure 2.17](#) représente le spectre d'absorption de la ciprofloxacine (PA) enregistré en solution mais également sous forme de poudre.

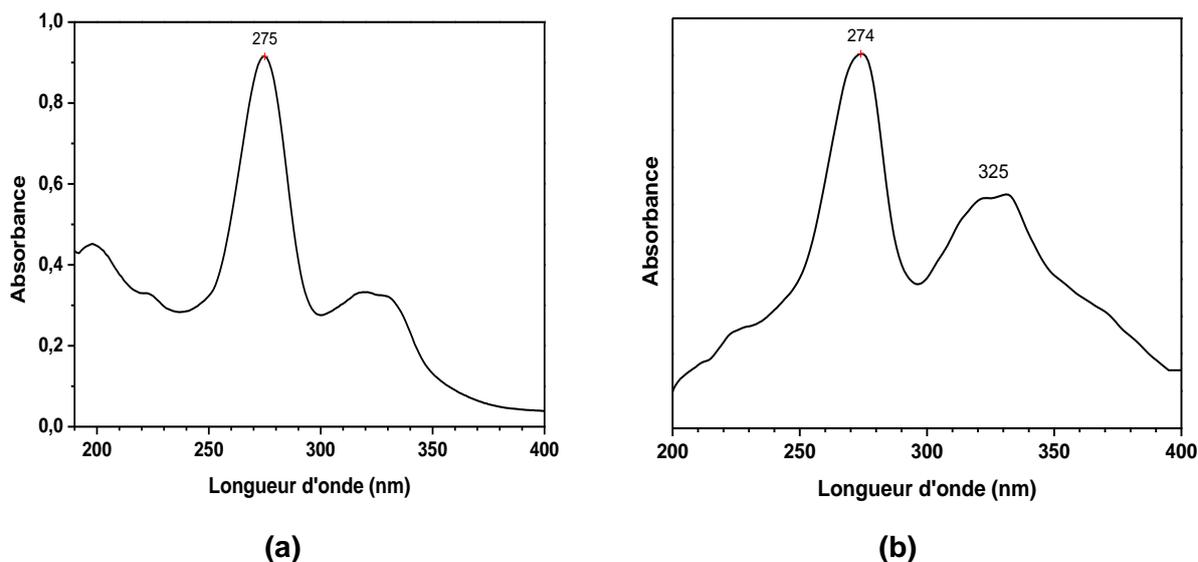


Figure 2.17 : Spectres d'absorption UV-Vis de la ciprofloxacine. (a) En solution, (b) A l'état solide.

Nous avons aussi réalisé la validation de la méthode de dosage de la ciprofloxacine par spectroscopie UV-Vis. La méthode est linéaire (figure 2.18) dans la gamme de concentration étudiée de 90 à 210 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (5 niveaux de concentration ont été utilisées et chaque mesure est répétée 10 fois). La droite de régression linéaire est sous la forme $y = a + b \times x$. Les coefficients de corrélation (R^2) des équations de régression sont supérieurs à 0,995.

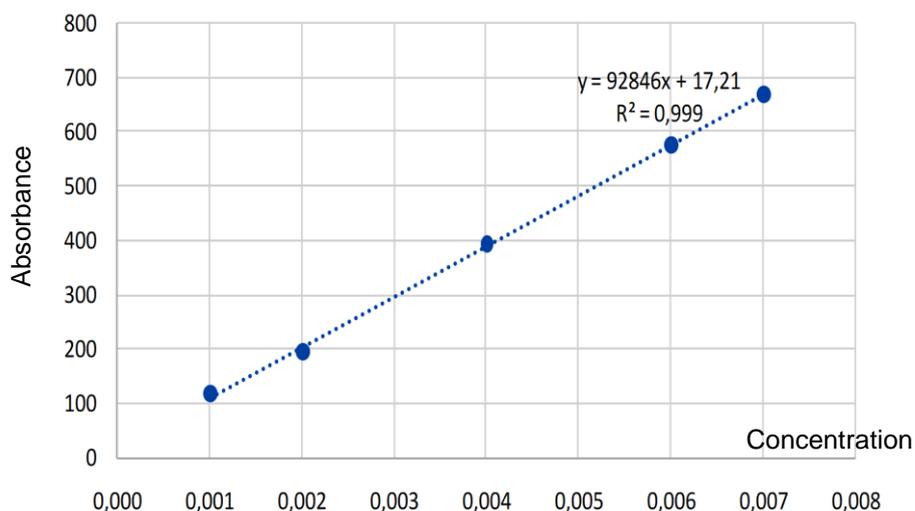


Figure 2.18 : Courbe d'étalonnage de la ciprofloxacine dans un tampon phosphate pH 7.5.
 y : Absorbance *1000 et x : Concentration. LD = 0, 23 $\mu\text{g/mL}$; LD = 0,34 $\mu\text{g/mL}$

Les valeurs des limites de détection⁺⁺ (LD) et de quantification^{§§} (LQ) sont obtenues en appliquant les équations suivantes exprimées en termes de concentration : $LD = (a + 3 \times S)/b$ et $LQ = (a + 10 \times S)/b$. Avec S représente l'écart-type sur l'ordonnée à l'origine (a) de la droite de régression. Le facteur multiplicatif 3 correspond à un risque de 0,13 % de conclure à la présence de la substance recherchée alors qu'elle est absente. Le raisonnement est le même pour LQ où le facteur multiplicatif est 10 (risque a de 0,5°/oo).

2.3.5. Analyses thermiques

Dans cette partie, deux techniques seront détaillées à savoir l'analyse thermogravimétrique (ATG) et l'analyse thermique couplé à la spectroscopie de masse.

- Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermique réalisée par ATG est une méthode répandue et largement utilisée pour la caractérisation des HDL car elle permet d'évaluer rapidement : *i*) leur stabilité thermique, *ii*) la quantité d'eau présente en interfeuille, et, *iii*) la température de début de combustion de l'anion intercalé. Ainsi, sous air, les HDL se décomposent en trois principales étapes :^[24]

1. La perte observée entre la température ambiante et 200 °C qui est due au départ des molécules d'eau adsorbées et interlamellaires ;
2. La déshydroxylation des feuillets et le départ des molécules organiques qui se produisent à des températures comprises entre 200 °C et 500 °C.
3. La décomposition des anions interlamellaires qui se produit à des températures supérieures allant au de-là de 500°C.

Suite à une analyse ATG, un thermogramme ATG est généré et auquel peut être associée une courbe thermogravimétrique différentielle^{***} ou DTG. Ainsi, pour phase HDL, un thermogramme ATG-DTG permet d'obtenir divers paramètres, diverses températures caractéristiques ainsi que la formule chimique d'une phase HDL *via* la détermination : *i*) la quantité totale de masse perdue lors de cette réaction (ΔM) ; *ii*) la température de début, de fin et le maximum d'une transformation qui se fait sur une plage de température (T_d , T_f , et T_{max}). La [figure 2.19](#) illustre un exemple de thermogramme ATG-DTG obtenu pour une phase HDL Mg_2Al-NO_3 préparée par coprécipitation à pH 10.

⁺⁺ La limite de détection est la plus petite concentration de l'analyte pouvant être détectée, avec une incertitude acceptable, mais non quantifiée dans les conditions expérimentales décrites de la méthode.

^{§§} La limite de quantification LQ est la plus petite concentration de l'analyte pouvant être quantifiée, avec une incertitude acceptable, dans les conditions expérimentales décrites de la méthode.

^{***} C'est la dérivée de la perte de masse par rapport au temps ou à la température.

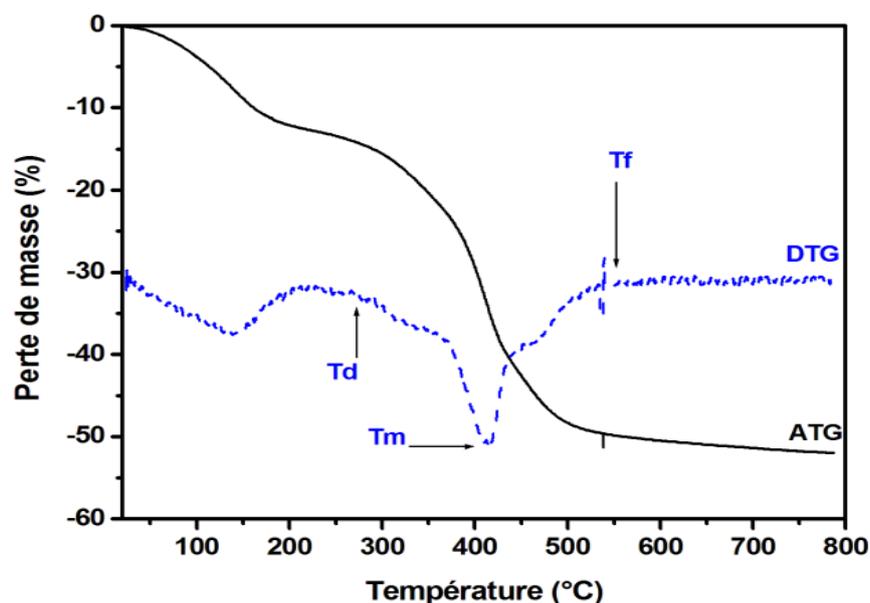


Figure 2.19 : Thermogramme ATG-DTG d'une phase Mg_2Al-NO_3 .

Par ailleurs, d'après les travaux de Prévot *et al.*,^[24] il existe une interdépendance entre les étapes de décomposition et la stabilité des HDL hybrides. Elle est d'ailleurs fonction des interactions développées entre les feuillets et l'anion intercalé. Ainsi, la décomposition des HDL hybrides est directement dépendante de la stabilité et du mode de décomposition de la molécule intercalée.

- L'analyse thermique couplée à la spectroscopie de masse

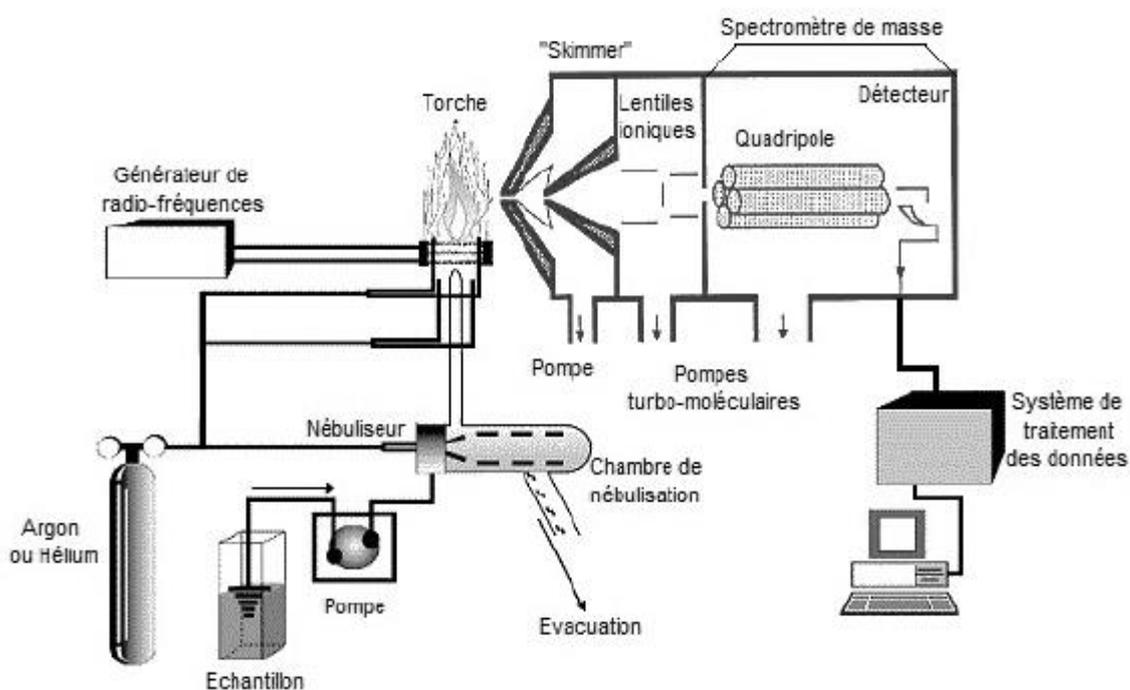
L'analyse thermique couplée à la spectroscopie de masse est une technique en tandem couplant deux méthodes : *i*) l'analyse thermogravimétrique, qui est, comme mentionné précédemment, une technique de caractérisation permettant d'analyser simultanément la variation de masse d'un échantillon en fonction de la température dans une atmosphère contrôlée (sous air ou sous azote), et, *ii*) la spectroscopie de masse qui permet de détecter les fragments moléculaires volatils expulsés du matériau. De plus, la spectrométrie de masse est de type quadripôle, QMS 403C Aëolos, elle est munie d'un tube capillaire qui doit être préalablement chauffé à 200°C pour prévenir la condensation des gaz émis. Cette technique a été utilisée pour identifier les espèces responsables de la perte de masse des hybrides préparés et décrits dans le [chapitre 3](#).

2.3.6. Les analyses chimiques

La composition chimique des hybrides préparés et décrits dans le [chapitre 3](#) a été évaluée par spectrométrie d'émission atomique couplée à un plasma inductif (ICP-AES), pour la partie minérale, et par la réalisation de micro analyses élémentaire CHNS pour la partie organique.

- Spectrométrie d'Emission Atomique- Plasma à Couplage Inductif

L'ICP-AES est une technique d'analyse quantitative utilisée pour déterminer la concentration d'analytes inorganiques présents dans un échantillon ayant subi une minéralisation complète en milieu aqueux suite à une attaque acide. Une fois l'échantillon mis en solution, il est vaporisé au cœur d'un plasma inductif (généralement du gaz argon ionisé) pouvant atteindre des températures de 8000°C. À des températures aussi élevées, les échantillons subissent une atomisation, une ionisation et une excitation thermique. Ainsi, les éléments à analyser peuvent être détectés et quantifiés par la suite avec un spectromètre à émission atomique. Alors, le dosage quantitatif d'un élément se fait en se basant sur l'intensité de la radiation mesurée au cours de l'analyse pendant la calibration de l'appareil, qui est proportionnelle à la concentration en élément.^[25] Le principe de fonctionnement de la technique ICP-AES est illustrée dans la [figure 2.20](#).



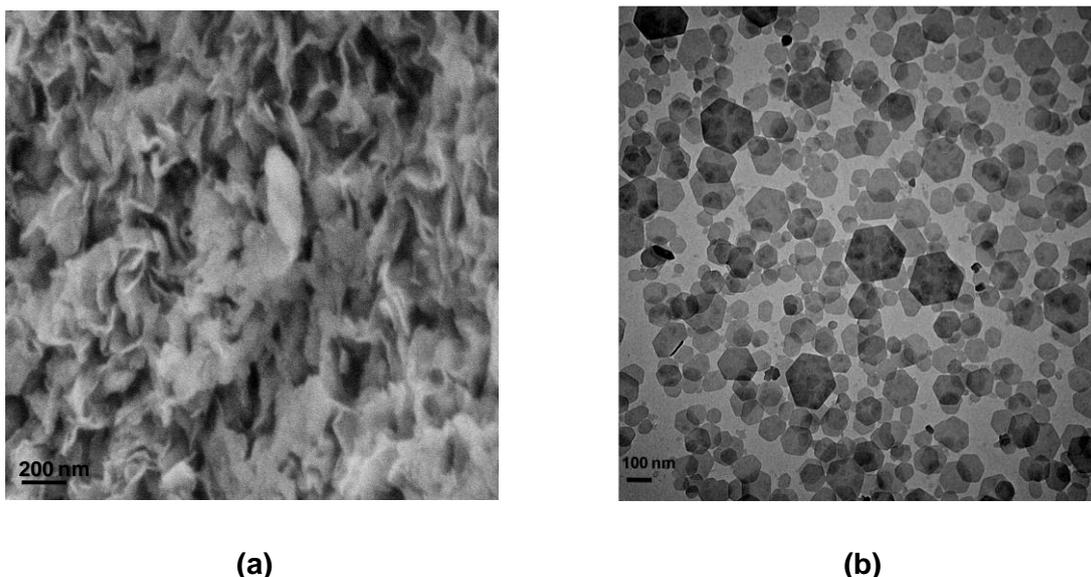
[Figure 2.20](#) : Principe de fonctionnement d'un ICP-AES.^[25]

- L'analyse élémentaire CHNS-O

L'analyse élémentaire de la teneur en carbone, azote et hydrogène repose sur la combustion flash à 950 °C de l'échantillon placé dans un creuset d'étain. La combustion libère des gaz (H_2O , CO_2 , N_2 et SO_2), qui sont ensuite séparés puis quantifiés par un détecteur catharométrique. On en déduit alors la composition du matériau en C, H, N et S. L'analyse élémentaire est une technique utile pour déterminer le pourcentage du composé intercalé car les matériaux HDL ne contiennent pas ces éléments.

2.3.7. Caractérisation morphologique des matériaux

La microscopie électronique est utilisée pour déterminer la taille et la morphologie des matériaux HDL. En effet, plusieurs types de morphologies ont été observés et rapportés dans la littérature.^[26,27] La forme hexagonale semble être la plus observée pour les cristallites d'HDL comme le montre la [figure 2.21-b](#). Cette technologie est survenue suite à la théorie émise par De Broglie stipulant que toute matière, dont les électrons, est dotée d'une onde associée. Ainsi, les microscopes électroniques utilisent une source d'électrons dont la longueur d'onde est beaucoup plus faible que les longueurs d'onde du domaine du visible, ce qui permet d'avoir une meilleure résolution. Deux types de microscopie électronique se distinguent, à savoir la MEB et la MET. Elles se différencient l'une de l'autre principalement par le fait que la MEB ne permet d'observer que la surface de l'échantillon étudié ([figure 2.21-a](#)). Alors que la MET permet de visualiser la structure interne de celui-ci ([figure 2.21-b](#)).



[Figure 2.21](#) : Images de phases HDL observées par (a) MEB et (b) MET.

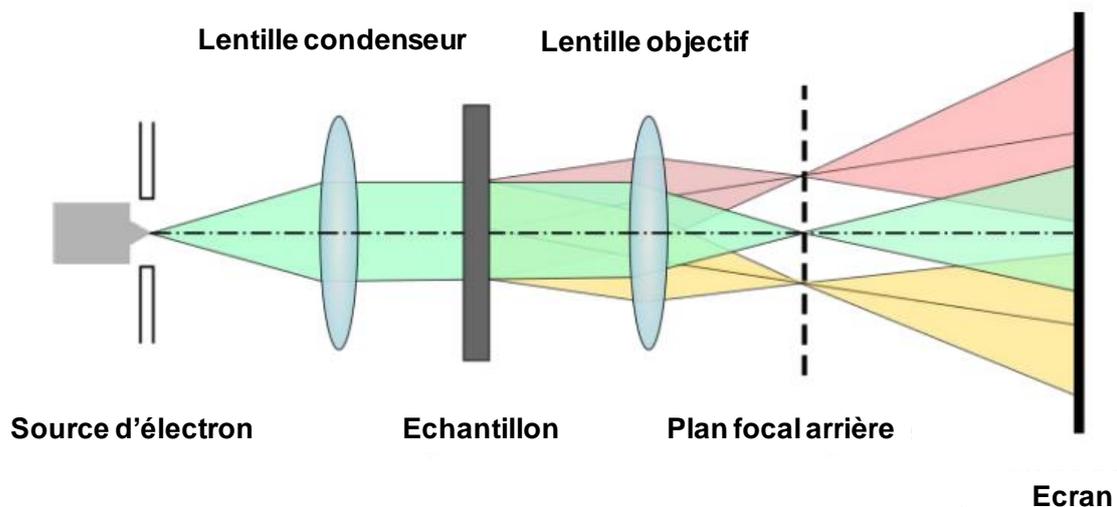
- La microscopie électronique à balayage

En MEB, un faisceau d'électrons dont l'énergie peut varier de quelques centaines d'électrons Volts (eV) à 40 keV, est focalisé à la surface de l'échantillon, qu'il balaye selon une trame de lignes parallèles. Sous l'impact de ce faisceau d'électrons, diverses interactions électrons-matière provoque l'émission de différents signaux. Ces derniers sont collectés puis traités par ordinateur pour former une image de la surface de l'objet observé, ou dans le but de réaliser une analyse chimique de cette même surface. Sommairement, trois (03) signaux sont généralement collectés :

- *Les électrons secondaires* qui ont une énergie de 0 à 50 eV (contraste essentiellement topographique),
- *Les électrons rétrodiffusés* qui ont une énergie élevée voisine de l'énergie du faisceau incident,
- *Les photons X* caractéristiques de la chimie de l'échantillon (analyse chimique).

- La microscopie électronique en transmission

La technique MET peut fournir une information pertinente sur les caractéristiques morphologiques des matériaux HDL. Les images en deux dimensions sont en fait des projections qui contiennent toute l'information volumique projetée sur un plan. La [figure 2.22](#) donne une vue schématique générale du chemin optique de la colonne du microscope électronique à transmission.



[Figure 2.22](#) : Schéma simplifié de la formation d'une image en microscopie électronique en transmission. La ligne horizontale en pointillés illustre l'axe optique du microscope.

Un canon à électron génère des électrons, qui sont accélérés par une tension, U, appliquée à l'anode. La longueur d'onde λ , des électrons générés, est donnée par l'équation de De Broglie :^[28]

Equation 2.6

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2 m_0 eU \left(1 + \frac{eU}{2m_0 c^2}\right)}}$$

où :

U : est la tension d'accélération,

h : est la constante de Planck,

e et m_0 : sont la charge de l'électron et la masse au repos de l'électron, respectivement

C : représente la vitesse de la lumière.

De plus, dans la mesure où les électrons interagissent fortement avec la matière, ils interagissent aussi avec les molécules d'air, c'est pourquoi la colonne doit être maintenue en permanence sous vide poussé (environ 1.10^{-5} Pa = 1.10^{-8} millibars).

2.3.8. Analyse texturale des matériaux

La mesure de la surface spécifique est réalisée par adsorption-désorption d'azote à une température de (-196°C), selon la méthode développée par Brunauer, Emmett et Teller (B.E.T). Le principe de cette technique repose sur l'adsorption de l'azote en isotherme en augmentant progressivement la pression de l'adsorbat jusqu'à ce que la pression de vapeur saturante soit atteinte. Il s'ensuit alors une désorption. Cette isotherme d'adsorption en fonction de la pression d'azote permet d'accéder à la valeur du volume de la monocouche d'azote adsorbé. Ce volume est proportionnel à la surface spécifique recherchée ramenée à 1 g de l'échantillon. Le volume V et la pression P sont liés par l'équation suivante :

Equation 2.10

$$\frac{(P/P_0)}{V(1 - P/P_0)} = \frac{1}{V_m \cdot C} + \frac{(C - 1) \cdot P/P_0}{V_m \cdot C}$$

Avec :

P : Pression d'adsorption à l'équilibre ;

P_0 : Pression de vapeur du gaz dans les conditions de l'adsorption ;

V : Volume de gaz adsorbé à la pression d'équilibre ;

V_m : Volume du gaz adsorbé pour former une couche monomoléculaire ;

C : Constante liée au gaz adsorbé.

En traçant $(P/P_0)/V(1 - P/P_0)$ en fonction de P/P_0 , on obtient une droite pour un rapport de pression P/P_0 compris entre 0,05 et 0,35. De plus, la pente de la droite $(C-1)/V_m.C$ permet de déterminer la valeur de V_m . Connaissant V_m et l'aire de la section moyenne de la molécule d'azote (σ), la surface spécifique est donnée par la relation :

Equation 2.11

$$S(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{V_m(\text{cm}^3/\text{g}) \cdot N \cdot \sigma}{22414}$$

Avec :

σ : surface de la section moyenne d'une molécule d'azote ($\sigma = 16,2 \text{ \AA}^2$ pour N_2 à -196°C) ;
 22414 cm^3 : représente le volume molaire dans les conditions normales de température et de pression (0°C et 1 atm) ; N est le nombre d'Avogadro ($6,02 \cdot 10^{23}$).

2.3.9. Diffusion dynamique de la lumière

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet de mesurer la taille des particules, dont la taille, peut varier de quelques nanomètres à quelques micromètres, et ce, lorsqu'elles sont dispersées dans une suspension diluée, Cette technique, initialement développée pour l'étude de la dynamique des macromolécules en solution,^[29] est devenue très courante pour mesurer la taille des particules du fait qu'elle est non-invasive, qu'elle fournit rapidement des estimations absolues et qu'elle ne nécessite pas de calibration préalable.

L'appareil de mesure émet un faisceau laser à une longueur d'onde λ (typiquement 633 nm) qui traverse une suspension diluée de nanoparticules (Figure 2.23). Lorsque le faisceau arrive sur une nanoparticule, la lumière est diffusée dans toutes les directions à cause de la différence d'indice de réfraction avec le solvant. La lumière diffusée par les nanoparticules en mouvement Brownien^[30] est ensuite collectée à un angle de diffusion θ connu (typiquement 90° par rapport au faisceau incident) grâce à un détecteur à comptage de photons de haute sensibilité.

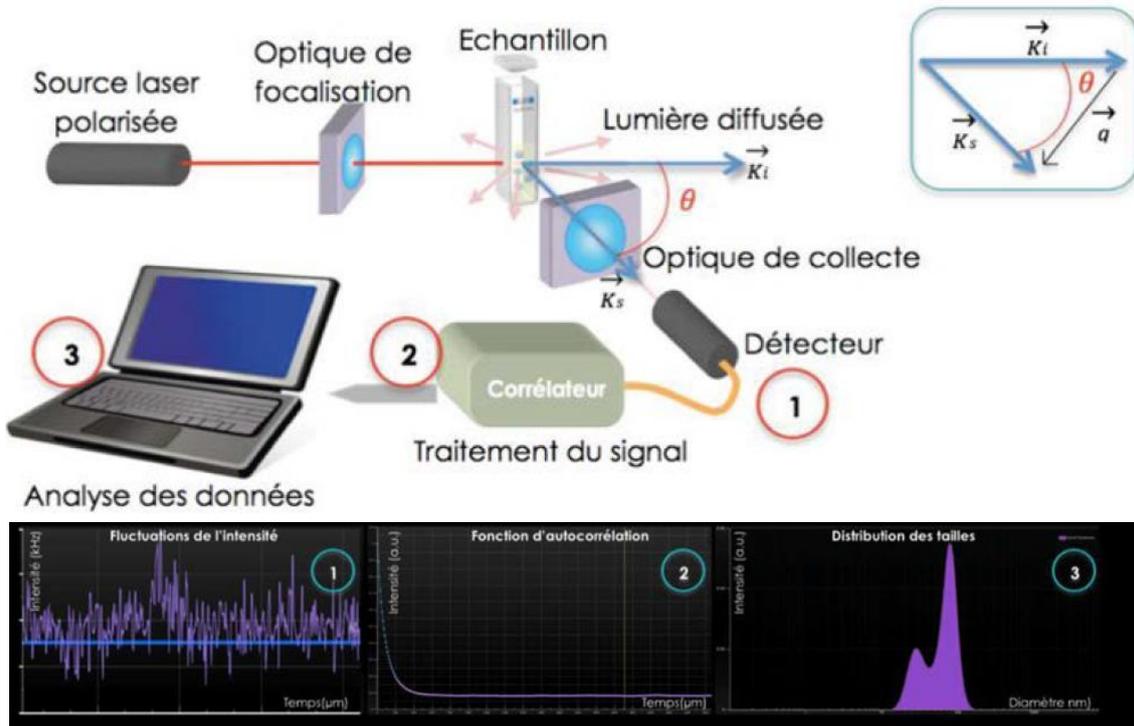


Figure 2.23 : Schéma du principe de la DLS. [31]

Le taux de variation de l'intensité diffusée nous renseigne donc sur la taille des particules. L'intensité diffusée $I(t)$ varie rapidement pour de petites particules (qui bougent rapidement) et lentement pour de grosses particules (qui bougent lentement). L'étude des fluctuations se fait alors par analyse des fonctions de corrélation. Ainsi, deux fonctions de corrélation peuvent être utilisées : *i)* la fonction d'auto-corrélation entre le signal de l'intensité mesurée et le signal lui-même et, *ii)* la fonction d'inter-corrélation entre le signal mesuré et un signal de référence. [32] L'analyse des fluctuations de l'intensité par la fonction d'auto-corrélation est le mode le plus utilisé.

Les mouvements browniens des particules sont caractérisés par deux coefficients de diffusion, de translation et de rotation. Pour les particules sphériques, les mouvements de rotation n'ont pas d'effet sur la diffusion de la lumière. Le coefficient de diffusion des particules sphériques est alors égal au coefficient de translation. Ainsi, la relation entre la fonction d'auto-corrélation, $G(\tau)$, et le coefficient de diffusion translationnelle, D_T , est donnée par l'équation suivante :

Equation 2.12

$$G(\tau) = 1 + b \exp(-2D_T q^2 \tau)$$

Avec :

b : est une constante dépendante de l'instrument et des réglages optiques, τ : le temps

q : représente le module du vecteur de diffusion à l'angle θ , donné par l'équation 2.13

Equation 2.13

$$q = \frac{4\pi n_m}{\lambda_0} \times \sin(\theta/2)$$

où n_m : est l'indice de réfraction du milieu de dispersion

λ_0 : est la longueur d'onde de la lumière incidente dans le vide.

La fonction d'auto-corrélation permettra ensuite de calculer le coefficient de diffusion des particules à partir de l'Equation 2.12. Dans le cas d'une suspension diluée, le coefficient de diffusion, D_T , est directement lié au diamètre hydrodynamique des particules, D_h , par l'équation de Stokes-Einstein (Equation 2.14).^[33]

Equation 2.14

$$D_h = \frac{k_B \times T}{3\pi \times \eta \times D_T}$$

Où : k_B T et η sont respectivement la constante de Boltzmann, la température absolue de l'échantillon et la viscosité du milieu de dispersion.

La dernière étape de traitement des données DLS, réside dans l'utilisation des algorithmes d'inversion qui permettent d'ajuster le corrélogramme et d'extraire de façon précise les distributions de taille (représentée selon trois modèles, à savoir : l'intensité, le volume et le nombre) ainsi que l'indice de polydispersité (PDI) des particules. De nombreux algorithmes d'inversion existent dont le plus utilisé demeure l'algorithme Cumulants. Cet algorithme standardisé est basé sur un modèle mono-exponentiel qui permet de déterminer un diamètre hydrodynamique moyen noté, Z_{average} , et un indice de polydispersité (PDI). Ce dernier, est une grandeur sans dimension jouant le rôle d'indicateur du degré de polydispersité des particules. Des valeurs PDI < 0,08 correspondent à des particules quasi-monodispersées alors que des valeurs de PDI > 0,7 correspondent à une distribution très large.

2.3.10. Charge de surface

En milieu aqueux, les particules possèdent une charge de surface qui peut provenir de l'ionisation des groupes fonctionnels présents à la surface des particules ou de la substitution ou l'adsorption d'ions ou d'autres espèces. La connaissance de la charge de surface est approchée par la mesure du potentiel zêta (ζ). Ce dernier correspond au potentiel au plan de glissement entre la couche de Stern et la couche diffuse. Plus le potentiel zêta des particules est élevé, plus les particules ont tendance à se repousser mutuellement, ce qui favorise la stabilisation de la dispersion. Par ailleurs, le pH, la concentration en additif ou la force ionique du milieu liquide sont des facteurs influençant sur le potentiel zêta des particules dispersées.

La mesure du potentiel zêta est basée sur la mobilité électrophorétique des particules en suspension. Le principe consiste à appliquer un champ électrique aux particules dispersées qui vont acquérir une mobilité en fonction de leur charge. La mobilité électrophorétique de déplacement des particules (U) étant mesurée, le potentiel zêta (ζ) est alors déduit par la loi de Henry :

Equation 2.15

$$\zeta = \frac{3U\eta}{2\epsilon f(\kappa a)}$$

où :

ϵ : est la constante diélectrique ;

η : est la viscosité du milieu ;

$f(\kappa a)$: est la fonction de Henry ;

κ : est le paramètre de Debye ;

a : le rayon de la particule.

De plus, en ce qui concerne la fonction de Henry, il existe plusieurs approximations selon la valeur du facteur $f(\kappa a)$:

- Si $f(\kappa a)$, tend vers 1 pour de faibles valeurs de (κa) , à savoir pour de petites particules. C'est l'approximation de Huckel ;
- Pour des particules plus grosses, c'est-à-dire pour des valeurs (κa) plus élevées, la fonction tend vers 1,5 : il s'agit alors de l'approximation de Smoluchowski.

Enfin, une suspension peut être considérée comme stable si $|\zeta| > 30$ mV.

2.3.11. Magnétométrie à échantillon vibrant

Un magnétomètre à échantillon vibrant (VSM, vibrating sample magnetometer) permet de mesurer l'aimantation M d'un échantillon en fonction du champ magnétique appliqué H à température ambiante. L'analyse de la forme des courbes obtenues en balayant un large domaine de champs magnétiques H , typiquement de 0 à $8 \cdot 10^5$ A.m⁻¹ (soit de 0 à 10^4 Oe), permet de déterminer le comportement magnétique de l'échantillon. De plus, certaines grandeurs associées peuvent également être déterminées telles que : l'aimantation à saturation, la susceptibilité magnétique ou l'aimantation rémanente.

Le principe du VSM consiste à placer un échantillon dans un champ magnétique uniforme d'orientation et d'intensité contrôlées (figure 2.24). La tige porte-échantillon entre en vibration tandis que l'échantillon est soumis au champ magnétique statique homogène généré par l'électroaimant. En raison du principe de réciprocité, ce déplacement de l'échantillon

aimanté génère lui-même un champ. Son intensité peut être reliée à la valeur de l'aimantation par la mesure de la tension induite aux bornes des bobines de détection.^[34,35]

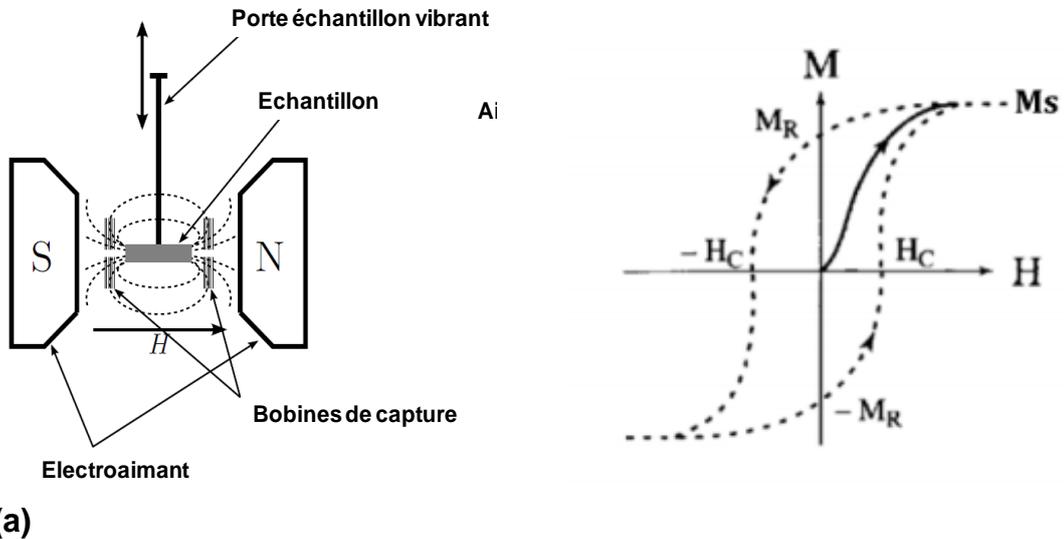


Figure 2.24 : **Magnétomètre à échantillon vibrant.** (a) principe.^[33] (b) Cycle d'aimantation en fonction du champ appliqué pour un matériau ferro/ferrimagnétique massif.

Dans le cas d'un matériau ferromagnétique, malgré l'existence d'une aimantation spontanée en l'absence de champ, celui-ci ne possède pas à l'échelle macroscopique, de moment magnétique permanent. En effet, au niveau macroscopique, le matériau se divise en plusieurs domaines magnétiques, appelés domaines de Weiss, possédant chacun une aimantation spontanée. D'un domaine à l'autre, la direction des moments est différente de telle sorte que le moment magnétique macroscopique résultant de l'échantillon est nul. Ces domaines sont séparés par les parois de Bloch, dans lesquelles l'orientation des moments passe progressivement de celle d'un domaine à celle d'un autre.

Sous l'action d'un champ magnétique extérieur, ces parois se déplacent, conduisant à un grossissement des domaines présentant la même orientation que le champ appliqué, et la disparition progressive des autres domaines. La variation de l'aimantation selon le champ est représentée [figure 2.24-b](#) (trait plein) : c'est la courbe de première aimantation. Sous des champs magnétiques élevés (de l'ordre de 50 kOe, selon le matériau), l'aimantation tend à se saturer et atteint un maximum (aimantation à saturation). Si on supprime le champ, les domaines reprennent partiellement leurs orientations aléatoires, et selon la mobilité des parois, les moments de chaque domaine restent partiellement alignés sur le champ initial. Il en résulte une aimantation rémanente M_r et un cycle d'hystérésis ([figure 2.24-b](#) (traits en pointillés)).

Cette aimantation rémanente disparaît si la température augmente ou si on applique un nouveau champ magnétique de sens opposé.^[35]

Dans un souci de comparaison avec les résultats de la littérature, les valeurs d'aimantation et de champs magnétiques sont exprimées respectivement en unité d'énergie magnétique par gramme (emu/g) et en Oersted (Oe) (dans le système international, l'aimantation est exprimée en A.m²/kg et le champ magnétique en A/m).

Conclusion sur les méthodes de caractérisation

Les matériaux hybrides sont caractérisés suivant la méthodologie illustrée sur le [tableau 2.2](#).

[Tableau 2.2](#). Méthodologie pour la caractérisation des hybrides cœur@HDL-PA.

1. SYNTHÈSE		HDL, PA@HDL, cœur et cœur@HDL-PA	
2. CARACTÉRISATIONS SYSTEMATIQUES			
Caractérisations structurales			
Structure		Composition	
DRX		ATG	
MEB		EDX	
IRTF			
3. CARACTÉRISATIONS FINES NON SYSTEMATIQUES			
Composition	Structure	Texturale	Magnétique
ICP CHN	RMN Raman MET	BET DLS/CHARGE	Mesure d'aimantation

Une première évaluation des propriétés physico-chimiques est effectuée de façon systématique. Elle sert principalement à vérifier l'obtention des phases attendues ainsi que l'intercalation des PA au sein des matériaux HDL : ceci se fait en premier lieu par la technique de diffraction des rayons X, s'ensuit l'IRTF et la microscopie électronique. Ces analyses peuvent être complétées par des caractérisations visant à donner une description plus détaillée des propriétés physico-chimiques et magnétiques des matériaux hybrides. Finalement, les cinétiques de désorption des PA à partir des hybrides sont réalisées.

Références Bibliographiques

- [1] Z.P. Xu, G. Stevenson, C. Q. Lu, G.Q. (Max) Lu. J. Phys. Chem. B 110 (2006) 16923-16929.
- [2] R. Rojas, D.A. Bedoya, C. Vasti, C.E. Giacomelli. *In* : Layered double hydroxides (LDHs) : Synthesis, characterization and applications. Ian T. Sherman (Editor). 2015. (pp. 101-120).
- [3] X. Chen, Z. Zhang, X. Li, C. Shi. Chem. Phys. Lett. 422 (2006) 294-298.
- [4] F. Li, J. Liu, D.G. Evans, X. Duan. Chem. Mater. 16 (2004) 1597-1602.
- [5] W. Tang, Y. Su, Q. Li, S. Gao, J.K. Shang. Water Res. 47 (2013) 3624-3634.

- [6] C. Coudun. Thèse de doctorat. Ecole des Mines de Paris. **2006**.
- [7] M. Wu. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, **2007**.
- [8] E. André, J. Fahel, C. Carteret. Energy Technology 2015: Carbon dioxide management and other technologies, Mar 2015, Orlando, United States. 10.1002/9781119093220.ch35.
- [9] P. Gravereau. Introduction à la pratique de la diffraction des rayons X par les poudres. 3rd cycle. Diffraction des rayons X par les poudres, Université Bordeaux 1, France. **2011**, pp.209.
- [10] R. Sibille. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, **2012**.
- [11] T.J. Daou, G. Pourroy, S. Bégin-Colin, J. M. Grenèche, C. Ulhaq-Bouillet, P. Legaré, P. Bernhardt, C. Leuvrey, G. Rogez. Chem. Mater.18 (**2006**) 4399-4404.
- [12] A. Di Bitetto. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, **2017**.
- [13] S. Nasrazadani, A. Raman. Corrosion Science 34 (**1993**) 1355-1365.
- [14] T. Belin, N. Guigue-Millot, T. Caillot, D. Aymes, J.C. Niepce. J. Solid State Chem. 163 (**2002**) 459-465.
- [15] A.L. Andrade, D.M. Souza, M.C. Pereira, J.D. Fabris, R.Z. Domingues. Cerâmica, 55 (**2009**) 420-424.
- [16] U. Schwertmann, R.M. Cornell. Iron oxides in the laboratory : preparation and characterization. **2008**. John Wiley & Sons.
- [17] I. Chamritski, G. Burns. J. Phys. Chem. B. 109(11) (**2005**) 4965-4968.
- [18] Brian Grégoire. Thèse de doctorat Université de Lorraine, **2012**.
- [19] S.J. Palmer, R.L. Frost, H.J. Spratt. J. Raman Spectrosc. 40 (**2009**) 1138–1143.
- [20] Y.Q. Ye, M. Malon, C. Martineau, F. Taulelle, Y. Nishiyama. J. Magn. Reson. 239 (**2014**) 75-80.
- [21] R. Ficarra, P. Ficarra, M.R. Di Bella, D. Raneri, S. Tommasini, M.L. Calabrò, M.C. Gamberini, C. Rustichelli. J. Pharma. Biomed. Anal.23 (**2000**) 33-40.
- [22] V.R.R. Cunha, P.A.D. Petersen, M.B. Goncalves, H.M. Petrilli, C. Taviot-Gueho, F. Leroux, M.L.A. Temperini, V.R.L. Constantino. Chem. Mater. 24 (**2012**) 1415-1425.
- [23] N.D. Jensen, M. Bjerring, U.G. Nielsen. Solid State Nucl. Magn. Reson. 78 (**2016**) 9-15.
- [24] V. Prévot. Thèse de doctorat Université Blaise Pascal, **1999**.
- [25] <https://www.pressreader.com/france/mesures/20170320/281913067930855>. Dernière visite le 14/06/2020.
- [26] H. Asiabi, Y. Yamini, M. Alipour, M. Shamsayei, S. Hosseinkhani. Mater. Sci. Eng. C 97 (**2019**) 96-102.
- [27] F. Prinetto, G. Ghiotti, P. Graffin, D. Tichit. Micropor. Mesopor. Mat. 39 (**2000**) 229-247.
- [28] D.B. Williams, C.B. Carter. Transmission electron microscopy : a textbook for materials science. New York: Springer US, 2nd ed., **2008**.
- [29] R. Finsy. KONA Powder Part. J. 11 (**1993**) 17-32.
- [30] P.A. Hassan, S. Rana, G. Verma. Langmuir 31 (**2014**) 3-12.
- [31] M. Mainard, D. Jacob. La mesure de taille de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière. <http://dx.doi.org/10.1051/photon/20168340>.
- [32] R. Xu. Particle characterization : Light scattering methods. Particle Technology Series. Springer, **2002**. Scarlett, B. (Ed.)
- [33] C. Carnero Ruiz, J.A. Molina-Bolivar, J. Aguiar, G. Maclsaac, S. Moroze, R. Palepu. Colloid Polym. Sci. 281 (**2003**) 531-541.
- [34] B. Dufay. Thèse de doctorat. Université de Caen. Ecole Polytechnique de Montréal, **2012**.
- [35] F. Fiorillo. Metrologia 47 (**2010**) S114-S142.
- [36] P. Venturini. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, **2017**.

Chapitre 3 :

Caractérisation Multi-Echelles de l'Hybride Ciprofloxacine/Hydroxydes Doubles Lamellaires

Cet article scientifique publié dans New Journal of Chemistry 44 (2020) 10076-10086, sous le titre "New insights into two ciprofloxacin-intercalated arrangements for layered double hydroxide carrier materials", décrit l'intercalation d'un antibiotique, la ciprofloxacine (CIP), dans l'espace interlamellaire de phases HDL.

Afin de contrer le problème lié à la résistance bactérienne et d'améliorer les propriétés physico-chimiques de la CIP, la vectorisation de ce médicament présenterait de significatifs avantages. En effet, un contrôle étroit des paramètres de synthèse, en particulier celui relatifs aux quantités de CIP par rapport aux ions aluminium, a permis l'obtention de deux différentes structures intercalées HDL-CIP avec des distances interlamellaires significativement différentes, à savoir 21 et 32 Å.

Les échantillons ont été entièrement caractérisés en termes de composition, de structure, et de morphologie. De manière Exceptionnelle, la structure avec la plus grande distance interlamellaire a incorporé à la fois des anions CIP et le complexe $Al(CIP)_3$. Ceci a permis d'augmenter la quantité de CIP intercalée au-delà de la capacité d'échange anionique du vecteur HDL.

La libération de la CIP, réalisée in vitro dans un liquide intestinal simulé (tampon phosphate, à pH = 7,5), a confirmé que la phase HDL est un vecteur potentiellement efficace pour délivrer la CIP de manière contrôlée via un mécanisme d'échange d'anions. Selon la structure intercalée, différents taux de libération ont été observés. Ces derniers sont également influencés par les caractéristiques morphologiques des matériaux.

Introduction

Au cours de ces dernières années, un certain nombre d'études ont abordé l'employabilité des matériaux hybrides organiques-inorganiques comme vecteurs de médicaments intelligents afin de favoriser une libération spécifique et contrôlée d'espèces bioactives dans l'organisme.^[1-4] Dans ce domaine, les hydroxydes doubles lamellaires (HDL) ont attiré une attention particulière en tant que matrices hôtes d'espèces fonctionnelles.^[5-7] Effectivement, un nombre important de médicaments ont été intercalés dans les phases HDL, à savoir : les antibiotiques, les anticancéreux, les vitamines, les agents anti-cardiovasculaires, les antidiabétiques, les antifibrinolytiques, les antihypertenseurs, les antifongiques, les anticoagulants, les médicaments contre l'ostéoporose, les antioxydants, les corticostéroïdes immunosuppresseurs, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les nucléosides.^[8,9] Les médicaments intercalés peuvent être libérés soit par désintercalation, selon un mécanisme d'échange anionique avec des anions externes environnants par la loi d'action de masse, soit par dissolution en milieu acide des feuillet HDL. Comparés à d'autres systèmes de vectorisation, les HDL sont facilement synthétisés en laboratoire, à un faible coût. Ils possèdent également une bonne biocompatibilité, un niveau élevé de saturation en médicaments, une efficacité de transport élevée de médicaments, une faible toxicité pour les cellules ou les organes cibles, et peuvent offrir une excellente protection aux molécules intercalées d'une dégradation enzymatique indésirable.^[10]

La présente étude est centrée sur l'intercalation de la ciprofloxacine, un antibiotique de la famille des fluoroquinolones, dans l'espace interlamellaire des phases HDL. La ciprofloxacine (CIP ; acide 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-pipérazin-1-yl-quinoline-3-carboxylique) est un puissant bactéricide à large spectre d'activité contre la plupart des cocci à Gram positives et les bactéries à Gram négatives. La CIP est fréquemment utilisée pour lutter contre les infections des voies urinaires, des infections respiratoires ou même dans le traitement de l'otite moyenne et des infections oculaires externes.^[11] Afin de parer aux problèmes liés à la résistance bactérienne dues aux antibiotiques et d'améliorer également les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la CIP, différentes approches ont été envisagées. En effet, ces dernières visent à fabriquer des vecteurs de médicaments dits nano qui promettent d'apporter d'importants avantages.^[12,13] Des nanoparticules polymériques et lipidiques chargées en CIP ont ainsi été décrites ces dernières années.^[14-17] Il existe néanmoins très peu de rapports faisant état de l'utilisation de nanomatériaux bidimensionnels, tels que les argiles synthétiques silicatées,^[18-20] les hydroxydes lamellaires simples (LSH)^[21] et les HDL.^[22-26] La plupart de ces travaux portent sur le chlorhydrate de ciprofloxacine (CIP_{HCl}), forme couramment utilisée dans les formulations orales et parentérales. Sa solubilité

aqueuse est d'environ de deux ordres de grandeur supérieure à celle de la forme zwitterion (CIP_{zw}).^[27,28] Administrer ces deux formes de la CIP, a cependant démontré différentes efficacités dans le traitement des infections respiratoires.^[29,30]

Jusqu'à présent, seules quelques études traitant de l'intercalation/chargement de la CIP dans les phases HDL ont été rapportées. De plus, des résultats différents entre les études ont été révélés.^[22-25] Hesse *et al.* ont effectué des tests *in vivo* et ont conclu que des travaux en amont sont nécessaires pour étudier la libération de la CIP à partir de vecteur HDL avant d'envisager ses applications biomédicales.^[23]

Par conséquent, la présente étude vise à fournir une meilleure compréhension de la synthèse des matériaux hybrides HDL-CIP, leurs caractéristiques structurales et à identifier les paramètres clés afin d'aboutir à des matériaux améliorés. Les deux formes de la CIP, le chlorhydrate et le zwitterion, ont été utilisées comme réactifs pour être intercalées dans les phases HDL de composition Mg_2Al et Zn_2Al , et ce, par la méthode de coprécipitation. En faisant varier la quantité de CIP par rapport à la quantité du cation trivalent Al, une compétition entre la réaction de précipitation et la réaction de complexation a été observé, conduisant ainsi à deux différentes structures intercalées HDL-CIP. Dans le but d'expliquer les mécanismes de formation, d'étudier l'arrangement de la CIP confinée dans l'espace interlamellaire des phases HDL et d'examiner leur morphologie et leur caractéristique de surface, un ensemble de techniques complémentaires a été utilisé dont : l'analyse élémentaire chimique (CHNS, émission atomique plasma-couplage inductif ICP-AES, rayons X à dispersion d'énergie EDX), la diffraction des rayons X sur poudre (DRX), l'analyse thermogravimétrique (ATG), la spectrométrie d'absorption UV-visible, la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et le Raman (FT-Raman), la résonance magnétique nucléaire à l'état solide du ^{13}C (RMN ^{13}C), les microscopies électronique à balayage (MEB) et à transmission haute résolution (MET-HR), l'analyse de surface (Brunauer-Emmett-Teller, BET) et la mesure du potentiel zêta. Une investigation approfondie des données de diffraction des rayons X sur poudre a permis de décrire en détail les assemblages HDL-CIP. Enfin, l'évaluation *in vitro* de la libération de la CIP effectuée dans une solution tampon phosphate (PBS à pH = 7,5) a montré une cinétique et des taux de libération dépendant de la structure intercalée HDL-CIP, ainsi que des caractéristiques de surface.

3.1. Matériel et méthodes

3.1.1. Réactifs

Nitrate de magnésium hexahydraté ($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, Acros Organics, 98 %), nitrate d'aluminium nonahydraté ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, Acros Organics, 99 %), nitrate de zinc hexahydraté

($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98 %), hydroxyde de sodium (NaOH, Acros Organics, 98 %), Acétone (CH_3COCH_3 , VWR Chemicals, 99 %), phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4 , Sigma-Aldrich, 99 %). Ciprofloxacine $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$ (acide 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-pipérazin-1-yl-quinoline-3-carboxylique, Sigma-Aldrich, 98 %) et chlorhydrate de ciprofloxacine $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, 99%) abrégé dans la suite en CIP_{zw} et CIP_{HCl} respectivement ont été utilisés tels quels.

3.1.2. Synthèses

Plusieurs tentatives de synthèses ont été réalisées pour intercaler la CIP dans les matériaux HDL MgAl et ZnAl par échange anionique et par coprécipitation. De plus, deux formes de CIP ont été utilisées : la forme chlorhydrate CIP_{HCl} et la forme zwitterion CIP_{zw} . La CIP possède un groupe acide carboxylique ($\text{pK}_{\text{a}1} = 6,1$) et un groupe pipérazine basique ($\text{pK}_{\text{a}2} = 8,7$). Par conséquent, et en fonction du pH, la CIP peut exister dans différents états ioniques, c'est-à-dire cationique à pH acide ($< 5,0$), zwitterionique à pH proche de son pK_a ($6,0 < \text{pH} < 8,5$) et anionique à pH basique ($> 9,2$).^[31-33] Afin d'obtenir la CIP sous sa forme anionique, les sels de CIP_{HCl} et de CIP_{zw} ont été dissous dans de l'eau ultra pure Milli-Q à pH 10,7 par une addition lente de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaOH.

Préparation des précurseurs HDL- NO_3 : Les phases HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$ et $\text{Zn}_2\text{Al-NO}_3$ ayant un rapport molaire $\text{M}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ de 2 (M^{2+} : Mg^{2+} ou Zn^{2+}), intercalées avec des anions nitrate, ont été préparées par coprécipitation induite par du NaOH à partir de solutions contenant du $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ou du $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. La valeur du pH a été fixée à 9 pour la phase $\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$ et à 7 pour la phase $\text{Zn}_2\text{Al-NO}_3$. Après une étape de mûrissement de 24 h sous atmosphère d' N_2 et à température ambiante, les précipités ont été lavés avec de l'eau déionisée et séchés à l'air, à 40°C .

Procédure d'intercalation par échange anionique : Environ 20 mg de précurseur finement broyés HDL- NO_3 , sont mis en suspension dans 50 mL d'une solution aqueuse contenant de la CIP en excès par rapport à la capacité d'échange anionique de l'HDL (5,0 fois l'excès molaire, 2,0 et 1,0). Les expériences ont été réalisées à température ambiante sous atmosphère inerte N_2 . Le pH du milieu d'échange est ajusté à la valeur de 10,5 par addition lente d'une solution de NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. La suspension est agitée pendant 24 h. Les produits résultants ont été collectés par plusieurs lavages des précipités avec un mélange eau déionisée/acétone et séchés à 40°C sous air.

Procédure d'intercalation par coprécipitation : 20 mL d'une solution aqueuse contenant 2 mmol de $\text{M}^{2+}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et 1 mmol de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, dans un rapport molaire $\text{M}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ égal à 2, sont additionnées avec une vitesse d'ajout de $0,11 \text{ mL/min}$ à l'aide d'une pompe péristaltique

dans un réacteur contenant 100 mL d'une solution de CIP à deux concentrations différentes tels que les rapports CIP/Al soient égaux à 0,5 et 1,0. En raison de la faible solubilité de la CIP_{zw},^[28] les synthèses sont effectués seulement pour le rapport CIP/Al = 0,5. Le pH est maintenu constant pendant la réaction de coprécipitation à une valeur égale à 10,5 par l'addition simultanée d'une solution de NaOH à 0,5 mol.L⁻¹. La suspension obtenue subit un mûrissement à température ambiante pendant 24 h. Les solides sont récupérés par centrifugation, lavés trois fois à l'eau déionisée et séchés sous air à 40°C. Les notations abrégées suivantes seront utilisées par la suite : M²⁺₂Al-CIP_{HCl@0.5}, M²⁺₂Al-CIP_{HCl@1.0} et M²⁺₂Al-CIP_{zw@0.5} où la notation « @0.5/1.0 » désigne le rapport CIP/Al.

3.1.3. Analyses élémentaires

Les pourcentages de carbone, d'azote et d'hydrogène contenus dans les hybrides ont été déterminés en utilisant l'analyseur élémentaire Flash 2000 CHNS de Thermo Fisher Scientifique. La teneur en métaux des échantillons a été déterminée par un instrument ICP-AES de Jobin Yvon Horiba ULTIMA C et par un microscope à canon à effet de champ couplé à un EDX, à savoir, Zeiss SUPRA 55VP. Pour l'analyse ICP-AES, approximativement 5 mg d'échantillons ont été dissous dans 5 mL d'acide nitrique concentré avant dilution et mesure.

Pour l'analyse MEB-EDX, les échantillons sont déposés sur les portes échantillons puis métallisés rapidement à l'or sous vide. L'analyse thermogravimétrique a été réalisée à l'aide d'une microbalance Perkin Elmer TGA7. Environ 20 mg d'échantillons sous forme de poudre sont placés dans des creusets ouverts en alumine et chauffés avec une vitesse de 5°C/min de 25 à 800°C sous flux d'air. Les analyses de spectrométrie de masse couplée à l'analyse thermique (TGA-DSC-MS) ont été enregistrées sur un thermoanalyser Netzsch TGA/DSC 490 PC Luxx couplé à un spectromètre de masse Aëolos 403 C, en utilisant une vitesse de chauffe de 5 °C/min sous air (débit d'air : 50 mL/min).

3.1.4. Caractérisations structurale et morphologique

Les diffractogrammes X ont été enregistrés sur un diffractomètre Philips X'Pert Pro équipé d'un détecteur X'Celerator et d'une anticathode en cuivre délivrant une radiation filtrée Cu K $\alpha_{1,2}$. L'équipement est utilisé en configuration θ - θ , ajusté avec un filtre en nickel, une fente 0,04 rad Soller, avec un rayon incident de masque 10 mm. La largeur des fentes de divergence et d'anti -diffusion sont réglées à 1/2° et 1/4°, respectivement. Les diffractogrammes ont été enregistrés dans un domaine angulaire de 2° à 80° en 2 θ avec un pas de 0,0167° et un temps total de comptage d'environ 3h. La décomposition complète du diffractogramme DRX de Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0}, par la méthode de Le Bail, est réalisée afin de déterminer les paramètres de maille en considérant le groupe d'espace R-3m typique pour les matériaux HDL et pour

déterminer les intensités des raies de diffraction. L'affinement a été effectué en utilisant le programme FullProf.^[34] La fonction de profile « Thompson-Cox Hasting pseudo-Voigt » a été sélectionnée pour analyser le profile des raies.^[35] La distribution de la densité électronique unidimensionnelle suivant l'axe d'empilement c a été calculée pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ à partir des intensités des lignes de diffraction $00l$ selon l'équation suivante (pour les structures centrosymétriques) :

$$\rho(z) = \frac{2}{L_z} \sum_l F_{00l} \cdot \left(\frac{\cos 2\pi l z}{c} \right) \cdot \cos \varphi_{00l} \quad (1)$$

Avec : c est le paramètre d'une maille unitaire, z est la coordonnée fractionnaire suivant l'axe d'empilement c , F_{00l} sont les facteurs de structure et φ_{00l} est le facteur de phase des réflexions $00l$ égal à 0° ou 180° .^[36] Onze (11) raies de diffraction $00l$ bien définies ont été utilisées pour calculer et tracer les graphiques 1D. Les signes des facteurs de structure, c'est-à-dire les phases sont obtenues à partir du signal de diffusion des feuillets hydroxydes en faisant l'hypothèse d'une faible contribution des molécules intercalées. La carte de Patterson pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ a été également calculé par le programme GFourier^[37] en utilisant les facteurs de structure observés F_{obs} extraites à partir la décomposition complète du diagramme par la méthode Le Bail et dessinée sous la forme d'une carte à courbe de niveau sommée de 0 à 1 suivant les axes a/b .

Les spectres d'absorption UV-Visible ont été enregistrés sur un spectromètre Shimadzu UV-2600 équipé d'une sphère d'intégration. Une suspension du matériau HDL-CIP (10 mg/mL) a été mise sous agitation pendant 2h. des gouttes de cette dernière sont déposées et étalées sur des supports en verre de haute qualité et ont été mises à sécher à $50^\circ C$ durant 2h. Les films en couches minces résultant ont été analysés en mode transmission entre 200 et 800 nm. Les spectres infrarouges à transformé de Fourier (IRTF) ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre Nicolet 5700 dans la gamme $400-4000 \text{ cm}^{-1}$, avec un nombre de scans de 64 et une résolution fixée à 8 cm^{-1} après dilution de l'échantillon à 1 % en masse dans une pastille de KBr. Les spectres FT-Raman ont été enregistrés entre 200 cm^{-1} et 3500 cm^{-1} , à température ambiante, à l'aide d'un spectromètre Bruker FRS-100/S, selon les conditions suivantes : une longueur d'onde d'excitation de 1064 nm (Nd:YAG laser coherent compass 1064-500 N), une puissance du laser de 80 mW, le détecteur étant en Ge, une résolution spectrale de 4 cm^{-1} et enfin, 256 scans. Les spectres RMN à l'état solide du ^{13}C ont été enregistrés à température ambiante sur un spectromètre Bruker advance 300 opérant à 75,45 MHz. Les échantillons introduits dans un cylindre (rotor) en zirconium d'un diamètre de 4 mm, sont analysés en conditions de polarisation croisée et une rotation à l'angle magique (CPMAS) à 10 kHz. La polarisation croisée (CP) est optimisée avec un temps de contact à 1 ms et un temps de

recyclage de 5 s. Les déplacements chimiques sont exprimés par rapport au carbonyle de la glycine calibrée à 176,03 ppm. Les données sont traitées par le programme TOPSPIN.

Les images MET à haute résolution ont été observées à l'aide d'un microscope JEOL 2100F fonctionnant à une tension d'accélération de 200 kV. Les échantillons ont été dispersés dans l'eau ultrapure et soumis à un traitement aux ultrasons pendant 5 min. Ensuite, une goutte de la suspension a été déposée sur une grille en cuivre recouverte d'un film de carbone de 150 mesh, et séchée à température ambiante.

Les mesures de surface ont été effectuées en utilisant la méthode Brunauer-Emmett-Teller (BET). Les isothermes d'adsorption/désorption d'azote ont été mesurés dans un analyseur Micromeritics ASAP2020 à -196°C. Au préalable, les échantillons ont été dégazés à 80°C pendant 12 h. La spectroscopie de corrélation de photons a été réalisée pour mesurer le potentiel zêta de suspensions diluées des poudres à l'aide de l'instrument Malvern Nanosizer Nano ZS.

3.1.5. Etude de la cinétique de libération de la CIP

30 mg des échantillons Zn₂Al@CIP sont dispersés dans 250 mL de PBS (solution de tampon phosphate pH = 7,5) milieu de libération qui simule le milieu intestinal. Les expériences de libération de la CIP ont été réalisées en duplicat, à 25°C, sous agitation constante (200 tr/min) et dans les conditions *sink*, c'est-à-dire où la concentration maximum de la CIP est très faible comparativement à sa solubilité à saturation à pH = 7,5.^[38] A intervalles de temps réguliers, 3 mL du milieu réactionnel sont prélevés, filtrés puis remplacés par le même volume de tampon PBS. La quantité de CIP libérée est alors quantifiée par spectroscopie UV-Vis (Shimadzu UV-2600) à une longueur d'onde $\lambda = 271$ nm. Avant d'effectuer les tests de libération, la linéarité de la méthode UV-Visible a été vérifiée. La linéarité entre l'absorbance et la concentration a été établie dans l'intervalle de concentrations compris entre $1 \cdot 10^{-3}$ et $1 \cdot 10^{-4}$ mg.mL⁻¹. Les modèles cinétiques de diffusion d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas ont été utilisés pour modéliser les mécanismes de libération de la CIP à partir des nanohybrides Zn₂Al@CIP dans le PBS.^[39]

3.2. Résultats

3.2.1. Synthèse et caractérisation des nanohybrides HDL@CIP

L'intercalation de la ciprofloxacine dans les phases HDL de composition Zn₂Al et Mg₂Al a été réalisée par deux méthodes : l'échange anionique et la coprécipitation. Différents rapports molaires CIP/Al (0,5, 1,0, 2,0 et 5,0) ainsi que les deux formes de CIP *i.e.* le sel hydrochloré (CIP_{HCl}) et la forme zwitterion (CIP_{zw}), ont été utilisées. Le pH appliqué à toutes les synthèses est de 10,5. Il permet l'obtention de la forme anionique de la CIP, entité

appropriée pour son intercalation dans la matrice hôte HDL. Rappelons que la solubilité théorique de la CIP_{zw} dans l'eau (0,067 mg.mL⁻¹ à pH neutre [28] et de l'ordre de 2 mg.mL⁻¹ à pH = 10,5), nettement inférieure à celle de la CIP_{HCl} (30 mg.mL⁻¹ à pH neutre).[27] Par la suite, les synthèses avec le sel de CIP_{zw} ont uniquement été effectuées avec un rapport CIP/Al = 0,5.

Dans un premier temps, l'un des résultats les plus importants de cette étude est que toutes nos tentatives pour préparer les matériaux *via* la méthode d'échange anionique, à partir des précurseurs nitrate ou chlorure, ont échoué. Comme en témoigne l'analyse DRX (annexe B.1), ceci pourrait s'expliquer de deux manières : *i*) soit l'échange ne s'est pas produit (donnant un diffractogramme DRX similaire au précurseur HDL), *ii*) soit on observe la décomposition/dissolution des feuillettes HDL accompagnée de la disparition du double pic 110/113 caractéristique. D'autre part, en utilisant la méthode de coprécipitation, l'intercalation de la CIP a été obtenue mais uniquement pour les rapports molaires CIP/Al inférieurs ou égaux à 1, ce qui impliquait des conditions de sous-excès par rapport à la capacité d'intercalation de HDL. De plus, en fonction du rapport molaire CIP/Al utilisé (1,0 ou 0,5) durant la réaction de coprécipitation, deux distances interlamellaires sont obtenues.

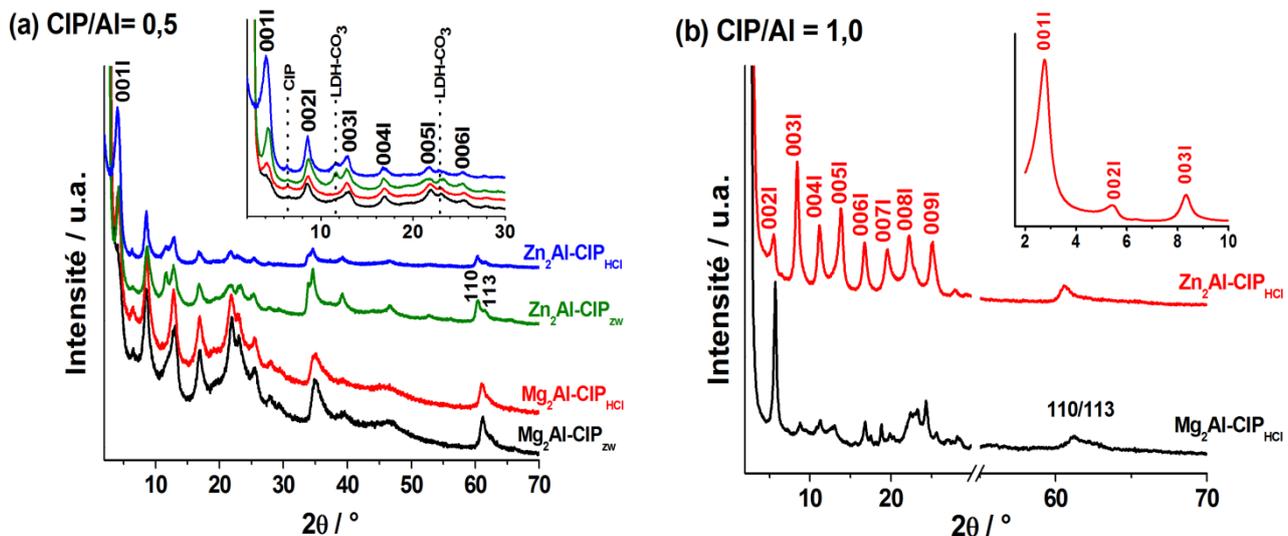


Figure 3.1 : Diffractogrammes des rayons X des échantillons Zn₂Al-CIP et Mg₂Al-CIP préparés par coprécipitation en utilisant (a) CIP/Al = 0,5 et (b) CIP_{HCl}/Al = 1,0.

Les diffractogrammes insérés montrent les raies de diffraction 00*l* à bas 2θ; les lignes pointillées verticales montrent la présence d'impuretés HDLCO₃ et de CIP libre. Le diffractogramme complet de la figure 3.1-b est détaillé en annexe B.4.

Pour un rapport de CIP/Al = 0,5, pour la CIP_{zw} et le CIP_{HCl}, les résultats de DRX illustrés dans la figure 3.1-a révèlent des diffractogrammes très similaires avec le déplacement des plans de diffraction 00*l* vers les bas angles (par rapport aux phases nitrates précurseurs,

annexe B.2), qui sont compatibles avec l'augmentation de la distance interlamellaire d . Comme c'est souvent le cas pour les matrices HDL, la phase HDL de composition Zn_2Al donne lieu à une meilleure cristallinité que la phase Mg_2Al . La préservation des raies de diffraction 110/113 vers 62° en 2θ confirme la formation des feuillettes HDL. Les distances interlamellaires déterminées à partir de la position de la première raie de diffraction 001/ sont de l'ordre de 20,8 Å pour $Zn_2Al-CIP_{zw@0.5}$, 21,2 Å pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$, 23,3 Å pour $Mg_2Al-CIP_{zw@0.5}$ et de 21,5 Å pour $Mg_2Al-CIP_{HCl@0.5}$. Par ailleurs, tous les diffractogrammes présentent des raies de diffraction supplémentaires, à $11,6^\circ$ en 2θ (7,6 Å) et à $22,9^\circ$ en 2θ (3,8 Å), caractéristiques d'une phase carbonate. Ce qui était prévisible, vu le faible excès de CIP utilisé. En effet, la phase nitrate est formée en premier puis est entièrement ou partiellement transformée en phase HDL- CO_3 au contact du CO_2 atmosphérique lors des cycles de lavage et de séchage.^[40] De plus, la raie de diffraction observée à $6,3^\circ$ en 2θ (14 Å) provient probablement du sel de CIP libre résiduel (annexe B.3).^[41]

Pour un rapport CIP/Al = 1,0 et pour la phase HDL Zn_2Al , on observe sur le diffractogramme DRX, une expansion importante de l'espace interlamellaire (figure 3.1-b) donnant lieu à une distance interlamellaire d'environ 32,0 Å. En outre, le diagramme montre la présence de onze (11) harmoniques de la famille 00/ pour l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ suggérant plutôt un bon ordre d'empilement au niveau de l'espace interlamellaire. En revanche, une cristallinité très inférieure a été observée avec l'hôte Mg_2Al . Cependant, aucune preuve claire démontrant l'intercalation de la CIP. Ainsi, le premier pic intense situé à $6,3^\circ/2\theta$ (environ 14 Å) sur le diffractogramme DRX est probablement attribué au sel de CIP.

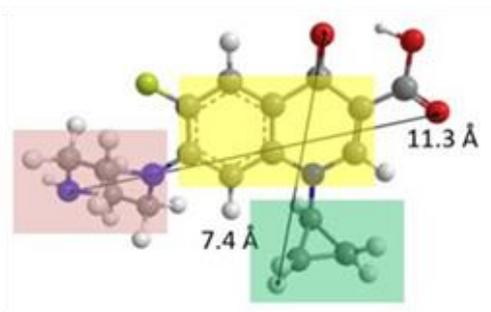


Figure 3.2 : Structure moléculaire de la ciprofloxacine extraite de la structure cristalline de la forme hydrochlorée 1,34 hydrate.^[42]

Les cycles quinolone, pipérazine et le cyclopropane sont surlignés en rose, violet et vert, respectivement.

En première approche, les hauteurs de galerie peuvent être calculées en soustrayant la valeur de l'épaisseur de la couche d'hydroxyde $\sim 2,1$ Å additionnée de la distance de la liaison hydrogène $\sim 2,7$ Å^[43] à partir des valeurs des distances d observées. Cela aboutit à des valeurs allant de 13,3 à 15,8 Å pour la série d'échantillons préparés avec un rapport CIP/Al = 0,5. En

comparant cela à la longueur de la molécule *i.e.* 11,3 Å (figure 3.2), ceci suggère un arrangement en monocouche interdigités de la CIP. La faible variation de la teneur des molécules d'eau interlamellaires peut également expliquer les différentes distances interlamellaires mesurées. En ce qui concerne $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$, une plus grande hauteur de la galerie est obtenue, c'est-à-dire 24,5 Å indiquant la ainsi la formation d'une bi-couche sans interpénétration de la la CIP entre les feuillets HDL.

Le degré de cristallinité relativement élevé de l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$, ainsi que l'absence d'impuretés, nous ont permis d'effectuer l'affinement complet du profil du diffractogramme. Nos données sont cohérentes avec le groupe d'espace R-3m (figure 3.3), groupe d'espace fréquemment rapporté pour les matériaux HDL.^[43] Une distance interlamellaire de $d = 32,15$ Å est déduite de la valeur du paramètre c de la maille hexagonale : $c = 96,453(7)$ Å = $3xd$. Par ailleurs, la valeur obtenue pour le paramètre de maille $a = 3,0746(3)$ Å, indique un rapport molaire Zn/Al de 2,57,^[44] qui est supérieur à celui appliqué pendant la synthèse, qui a été de 2. Cela n'est en rien surprenant étant donné la valeur élevée du pH de synthèse (pH 10,5). En effet, au-dessus d'un pH de 9, l'Al peut réintégrer la solution sous forme d'ions aluminate solubles, c'est-à-dire, $Al(OH)_4^-$ conduisant ainsi à une augmentation du rapport Zn/Al.^[45] De plus, la préparation des hybrides HDL par la méthode de coprécipitation peut être considérée comme un processus d'auto-assemblage avec la possibilité de l'ajustement de la composition/densité de charge du feuillet hydroxyde pour une meilleure accommodation des espèces interlamellaires.^[46]

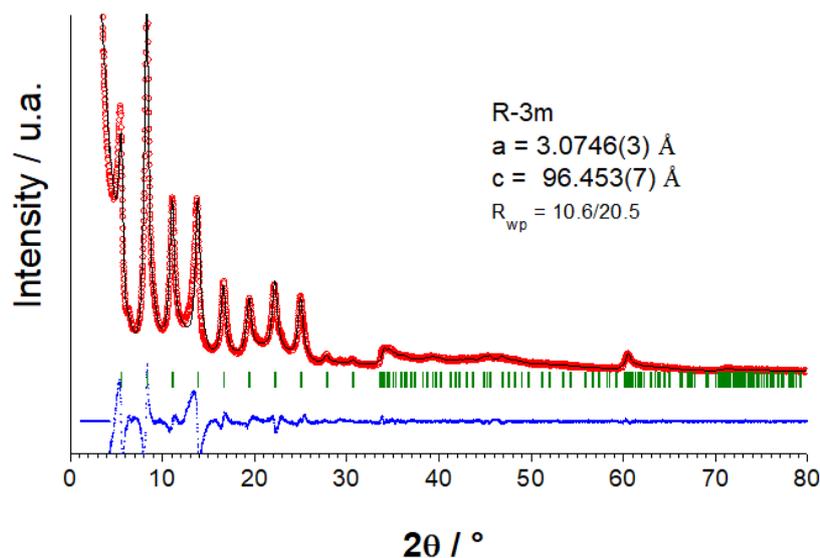


Figure 3.3 : Analyse de profil du diffractogramme DRX de $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$: diagramme expérimental (cercle), calculé (ligne continue), positions des réflexions de Bragg (tirets) et la différence entre les deux profils expérimental et calculé.

Affinement dans une maille hexagonale dans le groupe d'espace R-3m. Facteurs de Reliabilité R_{wp} .

Les micrographies MET-HR sont présentées dans la [figure 3.4](#). Ces clichés montrent des structures lamellaires bien développées. Les différentes distances peuvent être estimées à partir des franges parallèles, d'environ 28 Å pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ et de 19 Å pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$. Ces valeurs sont proches des valeurs d déterminées par DRX confirmant ainsi l'existence de ces deux structures intercalées.

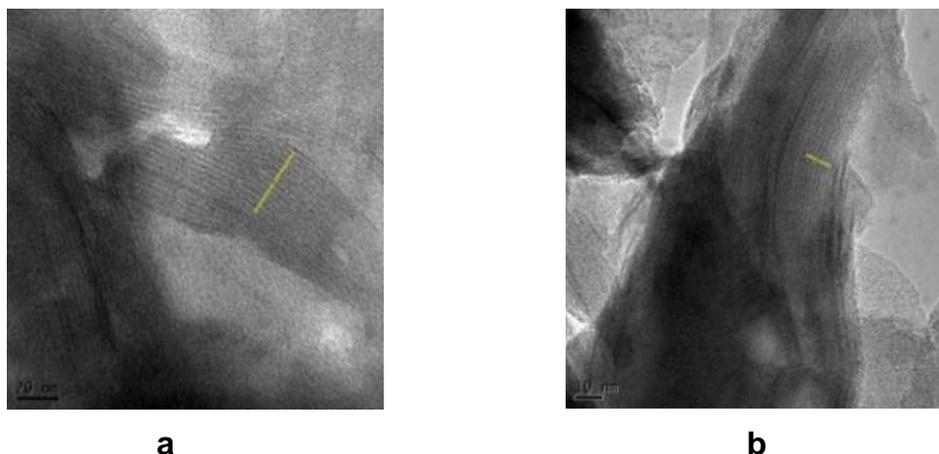


Figure 3.4 : Images MET-HR de **(a)** $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ (la barre d'échelle indique 20 nm) **(b)** $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ (la barre d'échelle indique 10 nm).

En raison d'une meilleure cristallinité des systèmes ZnAl-HDL, seule ces phases seront prises en compte par la suite. Les compositions chimiques résumées dans le [tableau 3.1](#), sont obtenus en combinant les résultats des analyses CHNS, ICP, EDX et ATG.

De faibles différences sont observées dans les rapports molaires Zn/Al mesurés par l'analyse ICP du massif et l'analyse des cristaux par EDX dans le cas des échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw@0.5}$ et $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$, indiquant ainsi une certaine hétérogénéité pour ces échantillons. Elles sont dues à la présence d'impuretés de Zn_2Al-CO_3/NO_3 comme le confirme l'analyse DRX.

Afin d'exprimer les formules chimiques des échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw@0.5}$ et $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$, nous avons considéré un rapport molaire moyen Zn/Al de 2,15, comme cela a été déterminé par les analyses ICP. Les analyses CHN ont été utilisées pour calculer la quantité de CIP intercalée, en tenant compte de la présence des ions NO_3^- et CO_3^{2-} ainsi que de la CIP résiduelle libre, comme cela a été démontré par les résultats de la DRX. Les résultats concordent relativement bien les valeurs calculées et expérimentales avec les compositions des mélanges, comme indiqué dans le [tableau 3.1](#).

En revanche, pour la phase $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$, les valeurs EDX sont reproductibles et similaires aux résultats de l'ICP, confirmant ainsi la pureté de l'échantillon avec un rapport Zn/Al égal à 2,15.

Cette valeur est beaucoup plus faible que celle déduite des analyses DRX par affinement du paramètre de maille a , c'est-à-dire 2,57. Cependant, comme la valeur du paramètre de maille a est uniquement liée à la composition du feuillet hydroxyle, cet écart considérable indique la présence d'ions Al^{3+} supplémentaires, probablement localisés dans l'espace interlamellaire.

De plus, l'analyse CNH a révélé une importante quantité de carbone, supérieure à celle mesurée pour les échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw/HCl@0.5}$. Elle est également supérieure à la quantité de CIP nécessaire pour compenser la charge positive des feuillets HDL. Nous pouvons ainsi en conclure qu'il y a eu une co-intercalation des anions CIP et des cations Al^{3+} . En effet, une partie de la CIP permet de compenser la charge des feuillets HDL alors que l'autre partie, c'est-à-dire l'excès de CIP, est associée à la présence de cations Al^{3+} . Par conséquent, la formule chimique proposée pour la phase $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ est la suivante : $Zn_{2,14}Al_{0,86}(OH)_6(CIP)_{0,86}(CIP_{2,9}Al)_{0,14} \cdot 8,0 H_2O$.

Dans le cas des analyses ATG, des thermogrammes semblables sont observés pour les échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw@0.5}$ et $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ (annexe B.5). Les deux échantillons sont intercalés avec de la CIP anionique. Leur décomposition commence à 300 °C comme cela est également observé pour les deux sels de CIP.^[47] Par contre, les profils de décomposition thermique des échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw/HCl@0.5}$ sont très différents de celui obtenu pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ dans l'intervalle de température allant de 250 °C à 500 °C, indiquant ainsi l'influence de l'arrangement du médicament entre les feuillets dans les processus de décomposition. Les résultats des analyses TG-MS de l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ (annexe B.6) montrent une importante perte de masse aux alentours de 450 °C, attribuée à la libération de CO_2 en grande quantité en raison de la teneur élevée en CIP intercalée. Si l'on considère que le fluor résiduel forme des résidus de fluorure métalliques, les pertes de masse totales observées par ATG sont alors conformes aux formules chimiques des échantillons, comme le montre le tableau 3.1. Tel qu'il a été rapporté à propos de décomposition thermique des complexes métalliques avec la ciprofloxacine,^[48] les cations métalliques des feuillets HDL pourraient eux aussi se combiner à la CIP pour probablement former des résidus d'oxydes métalliques ou fluorés.

On observe pour tous les échantillons CIP-HDL, dans la gamme 1700-1300 cm^{-1} , que les spectres IRTF (annexe B.7) sont plutôt similaires au spectre rapporté d'une solution de CIP à pH 9^[49] et dont les principales bandes sont localisées à 1628, 1580, 1385 et 1360 cm^{-1} . Ainsi, ceci confirme l'intercalation de la CIP sous la forme anionique quelque soit le sel et le rapport CIP/Al utilisés. La bande attribuée à la vibration asymétrique du groupement carboxylate $\nu_{as}COO^-$ est observée comme un épaulement à environ 1580 cm^{-1} . Cependant, celle relative à la vibration symétrique ν_sCOO^- se chevauche avec les bandes des anions nitrate ($\nu_3NO_3^-$) à

1384 cm^{-1} et des anions carbonate ($\nu_3\text{CO}_3$) à 1360 cm^{-1} issus des impuretés HDL- NO_3 et HDL- CO_3 , respectivement. En conséquence, le type d'interactions formées entre la fonction carboxylate et les feuillets HDL, en se basant sur la différence entre ces deux fréquences c'est-à-dire, ($\Delta\nu = \nu_{\text{asCOO}^-} - \nu_{\text{sCOO}^-}$), comme cela a été mentionné dans la littérature,^[50] n'a pas pu être identifié. En comparant l'intensité relative des bandes à 1620 et 1384 cm^{-1} (I_{1620}/I_{1384})^[50], un rapport des intensités beaucoup plus petit pour la phase $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ que dans le cas de la phase $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$, indiquant une quantité plus élevée d'anions nitrate dans le premier cas. Cela corrobore parfaitement les compositions chimiques proposées pour ces matériaux, comme indiqué dans le [tableau 3.1](#).

Sur les spectres Raman ([annexe B.8](#)), la région située entre 1480 et 1440 cm^{-1} est caractéristique de bandes d'hydrogène déformation du groupement pipérazine qui subit des modifications lorsque l'atome d'azote est protoné ou pas.^[51] Les modifications observées dans cette région spectrale pour les matériaux HDL-CIP sont très similaires à celles décrites dans la littérature pour la CIP à pH = 11, en solution aqueuse,^[49] indiquant que l'azote terminal du groupe pipérazine n'est pas protoné dans les matériaux HDL-CIP.

Les spectres RMN CP MAS du ^{13}C des échantillons HDL-CIP et des sels de CIP sont présentés dans la [figure 3.5](#). L'attribution des déplacements chimiques ([annexe B](#), [tableau 1](#)) a été effectuée en prenant comme références les résultats RMN du sel de CIP_{zw} ^[52] ainsi que les complexes aluminium-ciprofloxacine rapportés par Chattah *et al.*^[53]

Tableau 3.1: Analyses chimiques et formules proposées des échantillons intercalés par la CIP.

Zn ₂ Al- échantillons	C	N	H	Zn/Al rapport molaire ICP/EDX ^b	Perte de masse totale	Quantité intercalée
	(wt.%) ^{a,b}				(wt.%) ^{c,d}	(wt %) ^e
CIP_{zw}@0.5	22,01	5,04	3,63	2,10 /2,1-2,6	57,5	41,70 ±1,0
	(22,08)	(5,04)	(3,63)	(2,05)	(60,4)	
63% Zn _{2,0} Al _{1,0} (OH) ₆ (CIP) _{1,0} · 3.0 H ₂ O + 23% Zn _{2,0} Al _{1,0} (OH) ₆ (NO ₃) _{1,0} · 3,0 H ₂ O + 9% Zn _{2,2} Al _{0,8} (OH) ₆ (CO ₃) _{0,4} · 2,0 H ₂ O + 5% CIP						
CIP_{HCl}@0.5	22,61	4,96	3,78	2,10 /2,1-2,6	61,0	41,90 ± 1,0
	(22,76)	(4,96)	(3,78)	(2,11)	(60,5)	
66% Zn _{2,0} Al _{1,0} (OH) ₆ (CIP) _{1,0} · 3,5 H ₂ O + 11% Zn _{2,0} Al _{1,0} (OH) ₆ (NO ₃) _{1,0} · 3,0H ₂ O + 19,5% Zn _{2,2} Al _{0,8} (OH) ₆ (CO ₃) _{0,4} · 2,0H ₂ O + 3,5% CIP						
CIP_{HCl}@1.0	31,00	6,40	4,39	2,15 /2,2-2,3	67,60	50,3 ± 0,5
	(31,00)	(6,40)	(4,39)	(2,15)	(71,30)	
Zn _{2,14} Al _{0,86} (OH) ₆ (CIP) _{0,86} CIP _{0,41} Al _{0,14} ·8,0 H ₂ O						

^a CHN ± 0.05 wt.%, ^b les valeurs données entre parenthèses sont déduites des formules proposées, ^c Analyse ATG ± 0.01 wt.%, ^d les valeurs données entre parenthèses sont calculées en supposant que le fluorure reste, ^e Pourcentage de CIP encapsulée est calculée en considérant de la teneur totale de CIP *i.e.* intercalée et libre.

Les signaux dans le spectre RMN du ^{13}C de la CIP contiennent trois jeux de résonances correspondant aux trois composants principaux de la molécule, à savoir, le fragment quinolone (C4, C3a), le cycle pipérazine (C2'6'3'5') et le cycle cyclopropane (C1a et C1b). Une différence notable entre le CIP_{HCl} et la CIP_{zw} réside dans le carbone C3a, qui apparaît à 168 ppm pour le CIP_{HCl} alors qu'il se déplace à des valeurs supérieures en ppm dans la CIP_{zw} où il se chevauche avec le carbone C4 qui résonne à 178 ppm. Cette différence est liée à la déprotonation du groupe carboxyle de la forme zwitterion.

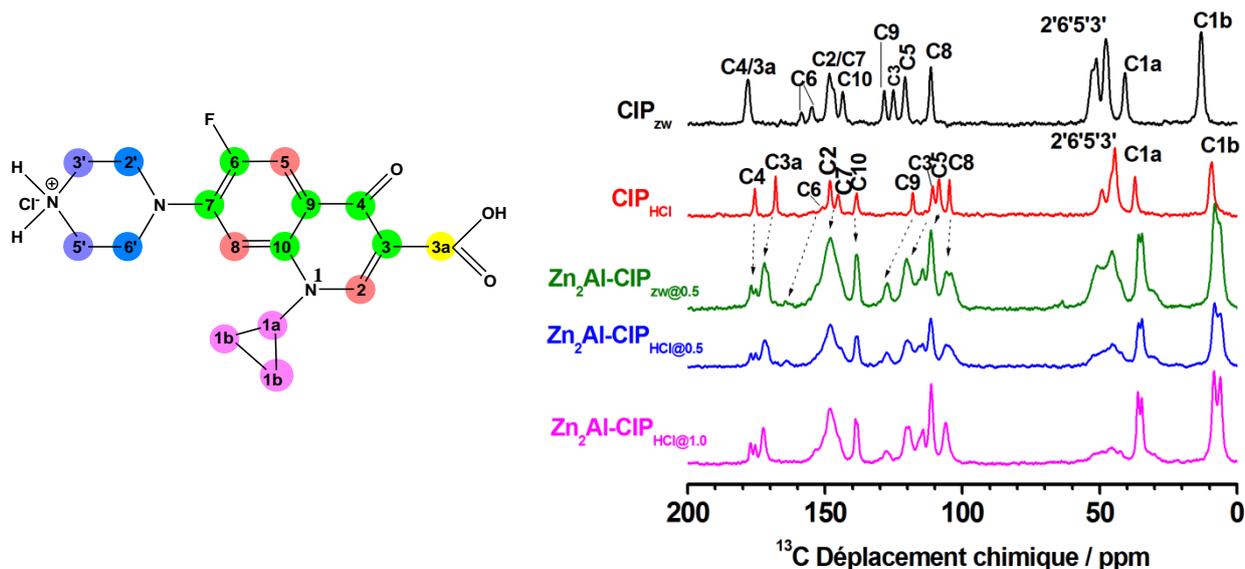


Figure 3.5 : Structure chimique de la CIP_{HCl} avec les labels atomiques utilisés pour attribuer les spectres RMN ^{13}C CP MAS (à gauche). Spectres RMN ^{13}C des sels de CIP et les échantillons intercalés $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}$ (à droite).

L'analyse des échantillons intercalés, montrent les mêmes trois groupes de signaux que ceux des sels de CIP, ceci confirme la préservation de l'intégrité de la structure de la CIP après intercalation dans l'HDL. Néanmoins, de légers déplacements dans les positions sont observés qui sont probablement dus à l'effet du confinement de la CIP dans l'espace interlamellaire des HDL. En particulier, le déplacement vers les hauts champs de la résonance du C3a est observé dans tous les échantillons, allant de 168 ppm à 172 ppm, par rapport à CIP_{HCl} . Cela suggère alors la déprotonation du groupe carboxylique, ce qui confirme l'intercalation de la CIP sous sa forme anionique.

Le dédoublement observé pour le cycle cyclopropane est due à la présence d'autres entités de CIP car ce dédoublement ne peut être observé par les couplages des noyaux moyennés par la MAS. Dans le cas des échantillons $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw/HCl@0.5}}$, nous pouvons attribuer cela à la présence de CIP libre résiduelle, comme il cela a été démontré par les résultats de l'analyse DRX et de l'analyse chimique. Dans le cas de l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl@1.0}}$, le

dédoublément peut être attribué à la présence de différents environnements pour les atomes de carbone, en raison de la coexistence de formes libres et complexes de la CIP dans l'espace interlamellaire. Les pics RMN des deux groupements quinolone et pipérazine ont aussi subi un élargissement après intercalation. Les déplacements chimiques de la CIP sont moyennés avec présence des électrons π du squelette quinolone. De plus, le déplacement induit par le changement de la liaison électrostatique sur le carbone C3a est efficacement transmise par la forme quinolone à cause de sa structure partiellement conjuguée. La situation est différente pour les cycles pipérazine car les noyaux ^{13}C présentent une liaison σ . Il est bien connu que dans la séquence du ^{13}C CPMAS, le profil des pics RMN (l'élargissement) est lié à l'efficacité du transfert magnétique pendant le temps de la PC. Aussi, les profils de la relaxation dépendent des dynamiques moléculaires et de la dispersion de la relaxation de la vitesse de relaxation longitudinale (spin-réseau). Par conséquent, le fait que les signaux du cycle pipérazine qui se chevauchent pour former de larges résonances dans les échantillons intercalés peuvent être expliqués par une grande liberté de mouvement du cycle pipérazine pour l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$, qui est pendant dans l'espace interlamellaire de l'HDL, par rapport aux cycles quinolone qui sont proches des feuillets.

La comparaison des spectres d'absorption UV-Vis des échantillons $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ et $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ préparés sous forme de dépôts avec le spectre de la CIP_{HCl} en solution à $\text{pH} = 10,5$ est illustrée dans la [figure 3.6](#).

Les bandes d'absorption de la CIP apparaissent à 271 nm (bande I) et 324/339 nm (bande II) qui correspondent aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ du groupement fluorobenzène et du noyau quinolone, respectivement. ^[54,55] L'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ montre un décalage évident de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ à 289 nm. Des déplacements bathochrome similaires ont été déjà rapportés relatifs à la formation de complexes entre la CIP et les cations métalliques en solution aqueuse, ^[11,56] mettant ainsi en évidence la présence du complexe CIP-Al dans l'espace interlamellaire de l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$.

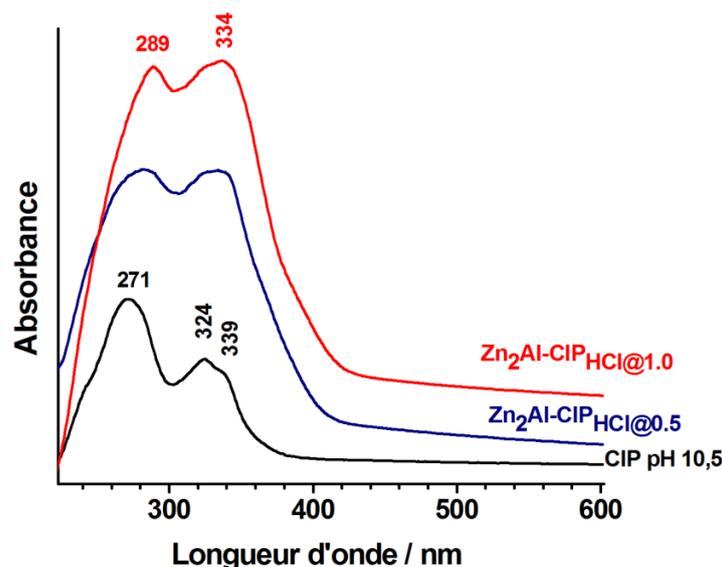
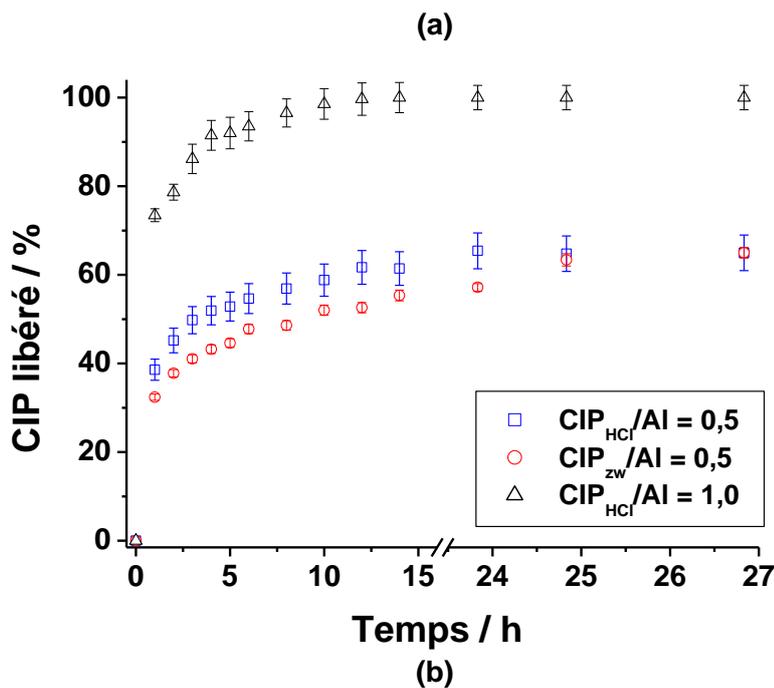


Figure 3.6 : Comparaison des spectres UV-Vis des échantillons $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ et $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ préparés sous forme de dépôts et d'une solution aqueuse de CIP_{HCl} à pH 10,5 ($1.10^{-4} \text{ mg.mL}^{-1}$).

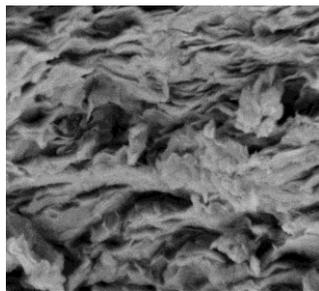
3.2.2. Etude de la cinétique de libération de la CIP

Les tests de libération *in vitro* ont été effectués sur les échantillons Zn_2Al de la CIP, à 25°C, dans un milieu de simulation du fluide intestinal ayant un pH = 7,5, en utilisant un tampon phosphate. Les profils de libération du médicament, c'est-à-dire le pourcentage de CIP libéré dans le milieu PBS en fonction du temps sont représentés dans la [figure 3.7-a](#). Ces derniers montrent une nette différence entre les échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw/HCl@0.5}$ et $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$. En effet, on observe, d'une part, que les profils de libération indiquent une libération immédiate importante dans le cas de l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ avec environ 70 % de CIP libérée durant la première heure. En revanche, une libération modérée est observée pour les échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw/HCl@0.5}$ qui s'élève à 30 % après 1 h. D'autre part, la cinétique de libération croît rapidement pour atteindre les 100 % après 10 h pour l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$. Cependant, après 12 h, la quantité de CIP libérée à partir des échantillons $Zn_2Al-CIP_{zw@0.5}$ et $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$, atteint un palier, à 50 % et 60 % de libération respectivement. Puis, aucun changement n'est observé jusqu'à la fin de l'expérience.

Il est bien connu que les profils de libération d'un médicament à partir des phases HDL, réalisés dans un milieu alcalin ou neutre implique un mécanisme d'échange anionique.^[8] Dans le cas présent, la première étape du processus de libération correspond à une libération de la CIP faiblement adsorbée à la surface des particules et/ou qui est localisées au niveau de la surface externe (bords) de la structure.^[57-60]



ζ , $\sim -4,6$ mV; A.S. = 5 m²/g



ζ , $\sim -3,7$ mV; A.S. = 22 m²/g

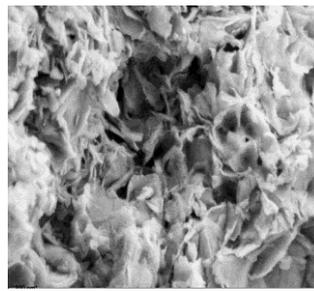


Figure 3.7 : (a) Cinétique de libération cumulée de la CIP réalisée dans du PBS à pH = 7,50 et à partir des échantillons Zn₂Al-CIP. (b) Images MEB de Zn₂Al-CIP_{HCl}@1.0 (à gauche), Zn₂Al-CIP_{HCl}@0.5 (à droite).

Les valeurs du potentiel zêta et des aires spécifiques sont également mentionnées.

Notons que la présence de 3,5 % en poids de CIP libre dans le cas de l'échantillon Zn₂Al-CIP_{HCl}@0.5 comme cela a été déduit de l'analyse chimique (tableau 3.1) et probablement dans le cas de la forme CIP_{HCl} (relativement soluble à pH = 7,5), peut expliquer le taux de libération élevé observé pour cet échantillon par rapport à l'échantillon Zn₂Al-CIP_{zw}@0.5 qui contient 5 % de CIP (qui seraient néanmoins moins soluble sous la forme zwitterion CIP_{zw}). La deuxième étape de libération, dépend de l'échange anionique établi entre la CIP intercalée et les ions phosphates dans le milieu. La grande distance interlamellaire de la phase Zn₂Al-CIP_{HCl}@1.0 facilite la diffusion interne au travers des particules HDL rendant possible l'échange/libération complète. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Xia *et al.*^[61] pour une série d'échantillons HDL-hypertenseurs présentant différentes structures interlamellaires et différentes cinétiques de libération.

L'analyse DRX des échantillons récupérés après un temps de contact de 24 h ([annexe B.9](#)), confirme la libération totale des anions CIP interlamellaires dans le cas de l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$. De plus, d'importants changements des réflexions $00n/$ à la suite de l'échange avec les espèces phosphate sont observés.^[62] D'autre part, seule une perte de cristallinité est observée pour l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$, sans qu'il n'y ait modification de la position des réflexions $00n/$ indiquant encore la présence d'entités CIP intercalées. Dans les deux cas, il convient de noter que le double pic 110/113 est encore visible, indiquant ainsi une préservation du feuillet hydroxyde après un temps de contact de 24 h. Les caractéristiques morphologiques des échantillons sont aussi informatives pour expliquer les différences observées lors de la première étape de libération. Tous les échantillons présentent une valeur similaire et légèrement négative du potentiel zêta de ζ , ($\sim -4,6$ mV pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ et de $-3,7$ pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$), ce qui confirme la présence d'anions CIP à la surface des particules. Par ailleurs, les images MEB montrent différents états d'agrégation des cristallites ([figure 3.7-b](#)), empilés de manière plus compacte dans le cas de l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$, donnant ainsi lieu à une aire spécifique inférieure de 5 m²/g, contre une aire spécifique de 22 m²/g pour l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$. Cette surface plus élevée pour $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ indique que la partie externe des particules est plus exposée au milieu PBS. Il est également probable que seuls les anions CIP situés à la surface et/aux bords des particules participent à la libération mesurée pour l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ dans la [figure 3.7-a](#).

Des modèles cinétiques de diffusion ont été sélectionnés afin d'évaluer le processus de libération de la CIP à partir du vecteur HDL ([tableau 3.2](#) et [annexe B.10](#)).^[63-65] Le modèle d'Higuchi a été testé afin de confirmer le processus de libération de la CIP par diffusion. Ce modèle s'applique mieux aux données de libération collectées pour les trois échantillons avec des constantes de vitesse qui indiquent une libération plus rapide pour l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@1.0}$ ($68,1$ % h^{-0.5}) par rapport à l'échantillon $Zn_2Al-CIP_{HCl@0.5}$ ($34,3$ % h^{-0.5}). La diffusion intra-particulaire est plus lente devant la diffusion de surface, ce qui implique que la diffusion inter-particulaire de la CIP est l'étape cinétiquement limitante pour le processus de libération qui dépend aussi de la distance interlamellaire. L'application du modèle de Korsmeyer-Peppas a également conduit à de bons ajustements ce qui a permis d'affirmer que la libération du PA s'effectue principalement par un phénomène de diffusion. Pour tous les échantillons, les valeurs de l'exposant n déduites du modèle sont inférieure à $0,45$, ce qui signifie que la vitesse de libération est contrôlée par la diffusion de la CIP à travers l'espace interlamellaire des particules, et ce, *via* un mécanisme d'échange anionique.

Tableau 3.2. Constantes cinétiques de libération de la CIP à partir des phases hôtes HDL dans un milieu PBS

	Higuchi		Korsmeyer-Peppas	
	$\frac{M_t}{M_0} = k \sqrt{t}$		$\log\left(\frac{M_t}{M_0}\right) = \log k + n \log t$	
	R ²	k (% h ^{-0,5})	R ²	n
Zn ₂ Al-CIP _{HCl@0.5}	0,935	34,3	0,978	0,178
Zn ₂ Al-CIP _{zw@0.5}	0,970	26,6	0,982	0,185
Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0}	0,982	68,1	0,963	0,139

R², M_t, M₀, t, k, n sont respectivement, le coefficient de corrélation, la quantité de PA libérée à l'instant t, la quantité initiale de PA dans la formulation pharmaceutique, le temps de libération, la constante cinétique des modèles et l'exposant de diffusion.^[39]

3.3. Discussion

En se basant sur les résultats des analyses DRX qui ont été complétés par les analyses chimiques, l'ATG, l'IR, le Raman, la RMN du ¹³C, l'UV-VIS et les analyses MET-HR, la formation de deux structures intercalées Zn₂Al-CIP a été mise en évidence. Ces structures ont de différentes distances interlamellaires de l'ordre de 21,2 Å et 32,1 Å. Des résultats similaires ont été obtenus avec la phase HDL Mg₂Al bien que la cristallinité de ces phases soit plus faible.

Comme il a été mentionné précédemment, il n'y a que peu de travaux dans la littérature qui décrivent l'intercalation de la CIP dans les phases HDL, mais certains des résultats publiés sont discutables. Sillion *et al.*^[22] ont été les premiers à rapporter l'intercalation de la CIP par les méthodes de coprécipitation et d'échange anionique dans une phase HDL Zn₂Al. Ils ont ainsi obtenu des distances interlamellaires très proches 20,61 Å et 20,37 Å, respectivement. Ces deux synthèses ont été effectuées à pH = 7,5. Ce dernier, correspond à la forme zwitterionique de la CIP et non à la forme anionique. De plus, la position du double pic 110/113 observée en dessous de 60° (2θ avec CuKα) n'est en fait pas compatible avec la formation d'une phase HDL, mais plutôt avec une phase hydroxyde lamellaire simple LSH.

Hesse *et al.*^[23] ont greffé dans des lapins blancs, des prothèses d'oreille avec une phase HDL Mg₂Al-SO₄ imprégnées avec de la ciprofloxacine. Bien qu'aucune caractérisation physico-chimique des nanoparticules imprégnées n'ait été fournie, l'étude a clairement montré la capacité du mélange physique HDL/ciprofloxacine à lutter contre les infections bactériennes locales de l'oreille interne des lapins.

De même, Badar *et al.*^[24] ont étudié un mélange physique composé de CIP et d'une phase HDL Mg₂Al-SO₄, déposé sur des disques poreux de titane afin d'être utilisé comme un

revêtement d'implant. Ils ont ainsi constaté une libération prolongée de la CIP à partir de l'implant de la souris.

Récemment, Rezvani *et al.*^[25] ont décrit dans leur travaux la préparation de nanocomposites d'alginate/ Zn_2Al -CIP et de chitosan/ Zn_2Al -CIP avec une phase Zn_2Al -CIP obtenue par la méthode de coprécipitation à pH = 8,5 ; suivie d'une étape de mûrissement réalisée à 70°C. Une distance interlamellaire de 30,04 Å a été observée. Cette distance une fois comparée à la longueur de la molécule CIP a conduit les auteurs à proposer un arrangement de la CIP en bicouche. Cette distance interlamellaire est comparable à la valeur obtenue pour la phase Zn_2Al -CIP_{HCl@1.0}. Cependant, leur diffractogramme DRX est très différent de celui que nous avons enregistré en particulier l'intensité relative des pics de diffraction successifs $00n/$. Les cinétiques de libération réalisées à pH simulant la séquence dans le tractus gastro-intestinal (pH 1,2, 6,8 et 7,4) ont révélé un taux de libération plus rapide (92 %) pour l'alginate/ Zn_2Al -CIP que pour le chitosan/ Zn_2Al -CIP (39 %).

Enfin, Mishra *et al.*^[66] ont entrepris dans leur travaux, l'intercalation d'une série d'agents antibactériens, dont la ciprofloxacine, le sulfanilimide et l'oxazolidinone, dans une phase HDL Zn_2Al par échange anionique avec des anions sulfate à pH = 10, et ce, dans un mélange de solvants eau:éthanol à 60°C. Une distance interlamellaire de 20,7 Å a été rapportée. Cette valeur est déduite à partir de la position du premier pic observé à bas angle du diffractogramme. En revanche, les positions des pics suivants qui sont supposées être des harmoniques $00n/$, ne sont pas compatibles avec la répétition de l'espacement d .

Nos résultats suggèrent l'apparition de réactions parallèles et compétitives entre la précipitation et la complexation, qui n'ont pas été relevées dans les études précédentes.

Pour la synthèse réalisée avec un rapport CIP/Al supérieur à 1, la formation du feuillet HDL est empêchée par la prédominance des réactions de complexation entre la CIP et les cations métalliques présents en solution. En effet, la CIP est connue pour sa capacité à former des complexes métalliques en solution à pH élevé. De plus, les constantes de formation des chélates-CIP diminue selon l'ordre suivant : $Al^{3+} > Fe^{3+} > Cu^{2+} > Zn^{2+} > Mn^{2+} > Mg^{2+}$.^[67] Il a aussi été rapporté que la liaison CIP- Al^{3+} est plus forte qu'avec les autres métaux. Par ailleurs, une augmentation considérable de la solubilité des fluoroquinolones a été observée après complexation.^[68] En outre, pour un rapport CIP/Al inférieur ou égal à 1, la domination de la précipitation des cations sous la forme d'hydroxyde entraîne la formation de la phase HDL intercalée par la CIP sous sa forme anionique. Enfin, pour un rapport CIP/Al proche de 1, une compétition entre les réactions de précipitation et de complexation a permis la co-intercalation de la CIP, sous sa forme anionique, et les cations Al^{3+} , permettant ainsi un taux de chargement du médicament supérieur à celui obtenu par échange anionique. Il est intéressant de noter

que les quantités en excès de la CIP et de l' Al^{3+} correspondent exactement aux stœchiométries rapportées^[53] du complexe $(\text{HCl.CIP})_3\text{Al}$, suggérant ainsi l'intercalation des deux espèces, c'est-à-dire l'anion CIP et le complexe $(\text{CIP})_3\text{Al}$, dans la phase $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$. La présence du complexe a également été confirmée par des analyses d'absorption UV-Vis.

Les caractérisations complètes effectuées sur les échantillons $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ et $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ n'ont montré aucune différence dans les caractéristiques des phases intercalées. De plus, la CIP est présente sous sa forme anionique dans les deux cas. Une distance interlamellaire d similaire d'environ 21 Å a été obtenue, probablement en raison d'un arrangement monocouche et interdigité des anions CIP, comme il a été rapporté par Latip *et al.*^[21] pour l'hydroxyde lamellaire simple de zinc nitrate (LZH) (figure 3.8).

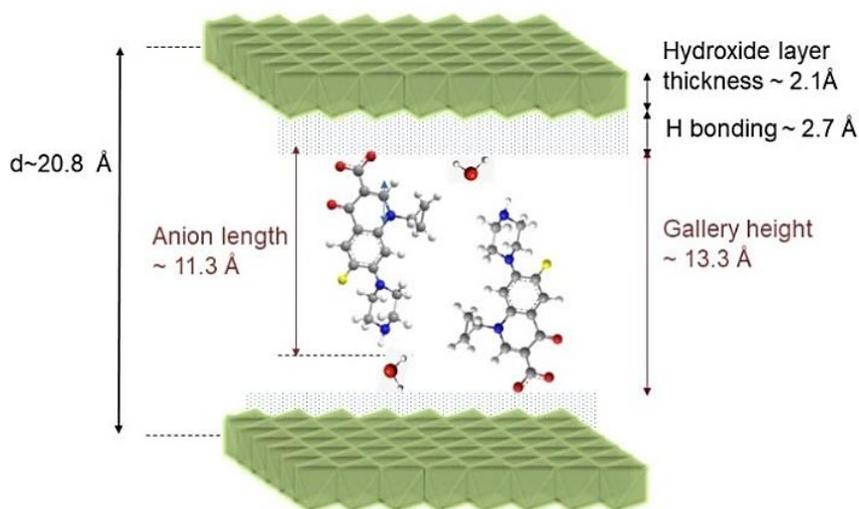


Figure 3.8 : Schéma représentant la disposition des molécules de CIP dans l'espace interlamellaire de l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ représentatif de tous les échantillons préparés avec $\text{CIP}/\text{Al} = 0,5$.

Dans le cas de l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$, la présence d'un grand nombre de pics de diffraction 00/ (jusqu'à onze pics visibles), a permis de sonder l'organisation structurale de l'espace interlamellaire par le calcul de la courbe de distribution de la densité électronique dans la direction de l'empilement à partir de l'analyse des intensités intégrées des pics 00/ extraites du profil de décomposition de Le Bail et la transformation de Fourier.^[36] Cette approche a été appliquée avec succès à la caractérisation structurale de plusieurs nanohybrides intercalés.^[69] La courbe 1D résultante est représentée dans la figure 3.9-a.

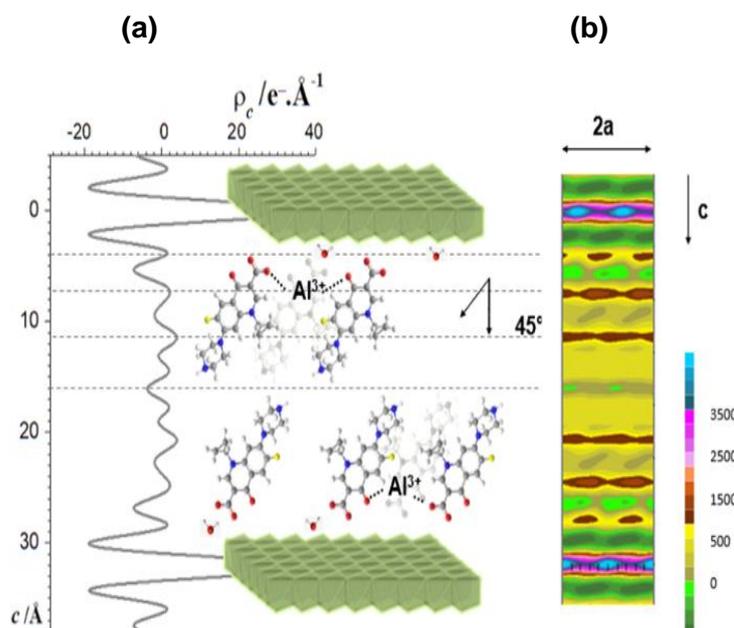


Figure 3.9 : Modèle structural de $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ déduite à partir de : **(a)** la courbe de densité électronique projeté suivant l'axe d'empilement c . **(b)** La carte de Patterson sommée entre 0 et 1 suivant l'axe b (l'échelle de densité électronique est donnée à droite en unité arbitraire). Les deux sont calculées à partir de l'affinement de profil des données de la DRX.

Les pics les plus intenses sont dus au feuillet hydroxyde qui contient les éléments Zn et Al. La présence des groupements carboxylates induit de petit maxima dans les parties externes de l'espace interlamellaire à une distance d'environ 3,0 Å du feuillet inorganique. Ainsi, ceci est compatible avec des interactions de type liaison hydrogène. Un minima localisé au centre traduit l'arrangement bicouche des ions CIP, positionnés sur chaque côté du centre. Le minimum est construit par deux petits maxima attribués au cycle pipérazine et situés à une distance d'environ 10,5 Å des groupements carboxylates. De plus, ceci permet de proposer une légère inclinaison des entités CIP par rapport aux feuillets hydroxyde. La carte de Patterson a également été calculée en considérant toutes les intensités intégrées extraites de l'ajustement de Le Bail. Comme le montre la [figure 3.9](#), la densité électronique dans l'espace interlamellaire de l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ est plutôt basse mais montre des distributions différentes des plans perpendiculaires à la direction d'empilement c et la coordonnée z sont conformes aux positions des maxima notés sur la carte 1D. La diffusion de la densité observée pour chacun de ces plans indique le désordre d'orientation des ions CIP. Les molécules d'eau sont certainement situées près du feuillet HDL dans le même plan que celui des groupements carboxylates formant ainsi des liaisons hydrogènes avec les groupes OH des feuillets HDL. Cependant, la quasi-absence d'une densité électronique au centre de l'espace interlamellaire, confirme l'arrangement en bicouche. De plus, l'observation de maxima locaux prononcés sur le plan situé entre le groupe cétone et la fonction carboxylate peut être attribuée à la présence

d'atomes lourds comme des cations Al^{3+} . Cette position est cohérente avec la participation des ces deux groupes dans la coordination de l'aluminium, comme il a été rapporté pour le complexe $(HCl.CIP)_3Al$.^[53]

L'intercalation de cations métalliques dans l'espace interlamellaire des HDL par chélation avec des ligands organiques par exemple l'éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ou l'acide nitrilotriacétique (NTA) a déjà été signalée.^[70] Dans certains cas, la formation du complexe donne lieu à un excédent de charge positive dans l'HDL, qui est compensé par l'intercalation d'anions supplémentaires présents en solution. De plus, les HDL sont aussi des minéraux appartenant au groupe des wermlandite.^[71] Ces derniers ont montré la possibilité d'intercaler des cations hydratés comme le Na^+ , le Ca^{2+} et plus récemment, le Li^+ et le K^+ , en présence d'anions sulfate et carbonate.^[72]

Conclusions

L'intercalation de la CIP, un antibiotique à large spectre, dans l'espace interlamellaire des phases HDL Zn_2Al et Mg_2Al a été étudiée dans le détail. En exerçant un contrôle strict sur les paramètres de synthèse, en particulier sur le rapport molaire CIP/Al utilisé, nous avons identifié une compétition entre les réactions de coprécipitation et de complexation, conduisant ainsi à la formation de deux différentes structures intercalées HDL-CIP. Ces dernières présentant des distances interlamellaires significativement différentes, à savoir : ~ 21 Å pour un rapport CIP/Al égal à 0,5 et de 32 Å pour un rapport CIP/Al = 1,0. Une analyse minutieuse des résultats obtenus de plusieurs techniques de caractérisations, telles que CHNS, ICP-AES, MEB-EDX pour l'analyse élémentaire, ATG, la spectrométrie IR-Raman, RMN, UV-vis et la MET à haute résolution, ainsi qu'une analyse détaillée des modèles DRX (affinement de profile et calcul de la densité électronique), nous a permis d'effectuer une étude physico-chimique précise et une étude structurale sur ces deux matériaux. Nous avons été en mesure de démontrer que, la structure avec la plus grande distance interlamellaire a incorporé à la fois les anions CIP et le complexe $Al(CIP)_3$. Ceci est un résultat nouveau et extrêmement intéressant pour des applications de libération de médicaments car il révèle la possibilité d'augmenter la quantité de la CIP en dépassant la capacité d'échange anionique des vecteurs HDL. Des tests de libération *in vitro* effectués dans un milieu intestinal simulé ont indiqué que le taux de libération était contrôlé par la diffusion et dépendait de la structure intercalée. Une libération rapide et complète de la CIP pourrait être atteinte en moins de 10 h *via* un mécanisme d'échange anionique pour la structure avec la plus grande distance interlamellaire, alors que seule une réaction de surface s'est produite pendant les 24 h du test pour l'autre

structure. Les résultats obtenus dans ce travail peuvent certainement être étendus à d'autres compositions HDL (Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , etc.) associés à d'autres complexes métalliques-CIP.

Références bibliographiques

- [1] L. Nicole, L. Rozes, C. Sanchez. *Adv. Mater.* 22 (2010) 3208–3214.
- [2] F.M. Fernandes, H. Baradari, C. Sanchez. *Appl. Clay Sci.* 100 (2014) 2–21.
- [3] D. Liu, F. Yang, F. Xiong, N. Gu. *Theranostics* 6 (2016) 1306–1323.
- [4] R.K. Kesrevani, A.K. Sharma. *In* : Nanoarchitectonics for smart delivery and drug targeting, pp. 35-56 Holban, A.M. and Grumezescu A.M., Eds.; Elsevier Ltd., Amsterdam, 2016,.
- [5] C. Taviot-Guého, V. Prévot, C. Forano, G. Renaudin, C. Mousty, F. Leroux. *Adv. Funct. Mater.* 28 (2018) 1703868.
- [6] M. Figueiredo, V. Cunha, F. Leroux, C. Taviot-Guého, M. Nakamae, Y. Kang, R. Souza, A.M. Martins, I. Koh, V.R.L. Constantino. *ACS Omega* 3 (2018) 18263–18274.
- [7] M. Rocha, P. Petersen, E. Teixeira-Neto, H. Petrilli, F. Leroux, C. Taviot-Guého, V.R.L. Constantino. *RSC Adv.* 6 (2016) 16419.
- [8] V. Rives, M. del Arco, C. Martín. *Appl. Clay Sci.* 88–89 (2014) 239–269.
- [9] S. Saha, S. Ray, R. Acharya, T.K. Chatterjee, J. Chakraborty. *Appl. Clay Sci.* 135 (2017) 493–509.
- [10] D. Chimene, D.L. Alge, A.K. Gaharwar. *Adv. Mater.* 27 (2015) 7261–7284.
- [11] S. Muthumariappan. *J. Pharm. Res.* 6 (2013) 437–441.
- [12] M. Sohail, M. Khurshid, H.G. Saleem, H. Javed, A.A. Khan. *Jundishapur J. Microbiol.* 8 (2015) e19272.
- [13] N. Mandras, V. Tullio, P.M. Furneri, J. Roana, V. Allizond, D. Scalas, A.M. Cuffini. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60 (2016) 1638–1641.
- [14] D. Jain, R.J. Banerjee. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 86 (2007) 105–112.
- [15] M. Shah, Y.K. Agrawal, K. Garala, A. Ramkishan. *Indian J. Pharm. Sci.* 74 (2012) 434–442.
- [16] H. Khattar, S. Singh, R.S.R. *Int. J. Drug Deliv.* 4 (2012) 316–325.
- [17] M. Shah, Y. Agrawal. *J. Microencapsul.* 29 (2012) 331–343; M. Shah, Y. Agrawal. *J. Dispers. Sci. Technol.* 34 (2013) 37–46.
- [18] Q. Wu, Z. Li, K. Yin, L. Tie. *Appl. Clay Sci.* 50 (2010) 204–211.
- [19] A. Rivera, L. Valdés, J. Jiménez, I. Pérez, A. Lam, E. Altshuler, L.C. de Ménorval, J.O. Fossum, E.L. Hansen, Z. Rozynek. *Appl. Clay Sci.* 124 (2016) 150–156.
- [20] E.C. dos Santos, Z. Rozynek, E.L. Hansen, R. Hartmann-Petersen, R.N. Klitgaard, A. Løbner-Olesen, L. Michels, A. Mikkelsen, T.S. Plivelic, H.N. Bordallo, J.O. Fossum. *RSC Adv.* 7 (2017) 26537–26545.
- [21] A.F.A. Latip, M.Z. Hussein, J. Stanslas, C.C. Wong, R. Adnan. *Chem. Central J.* 7 (2013) 119.
- [22] M. Sillion, M. I. Popa, G. Lisa, D. Hritcu. *Rev. Roum. Chim.* 53 (2008) 827–831.
- [23] D. Hesse, M. Badar, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, M. Kieke, P.P. Müller, K.-H. Esser, M. Stieve, N.K. Prenzler. *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 24 (2013) 129–136.
- [24] M. Badar, M.I. Rahim, M. Kieke, T. Ebel, M. Rohde, H. Hauser, P. Behrens, P.P. Müller. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 103 (2015) 2141–2149.
- [25] Z. Rezvani, M. Shahbaei. *Polym. Compos.* 36 (2015) 1819–1825.
- [26] Z. Zeng, X. Tan, Y. Liu, S. Tian, G. Zeng, L. Jiang, S. Liu, J. Li, N. Liu, Z. Yin. *Front. Chem.* 6 (2018) 80.
- [27] F. Varanda, M.J. Pratas de Melo, A.I. Caço, R. Dohrn, F.A. Markrydaki, E. Voutsas, D. Tassios, I.M. Marrucho. *Ind. Eng. Chem. Res.* 45 (2006) 6386–6374.
- [28] A.I. Caço, F. Varanda, M.J. Pratas de Melo, A.M.A. Dias, I.M. Marrucho. *Ind. Eng. Chem. Res.* 47 (2008) 8083–8089.
- [29] R. Endermann, H. Labischinski, C. Ladel, U. Petersen, B. Newton. Patent Application US 2004/0254194 A1, December 16, 2004.

- [30] P. J. McShane, J.G. Weers, T.E. Tarara, A. Haynes, P. Durbha, D.P. Miller, T. Mundry, E. Operschall, J.S. Elborn. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 50 (2018) 72–79.
- [31] X. Li, F. Zhi, Y. Hu. *Int. J. Pharma.* 328 (2007) 177–182.
- [32] C.S. Fellati, A.A. Ahumada, R.H. Manzo. *Acta Farm. Bonaerense* 13 (1994) 73–77.
- [33] S.A. Breda, A.F. Jimenez-Kairuz, R.H. Manzo and M.E. Olivera. *Int. J. Pharm.* 371 (2009) 106–113.
- [34] J. Rodriguez-Carvajal. *Commission on Powder Diffraction (IUCr) Newsletter.* 26 (2001) 12–19.
- [35] P. Thompson, D.E. Cox, J.B. Hastings. *J. Appl. Cryst.* 20 (1986) 79–83.
- [36] A.J. Jacobson, M.S. Whittingham. *Intercalation Chemistry : An Introduction in Intercalation Chemistry*, Jacobson, A.J.; Whittingham, M.S., Eds.; Academic Press, New-York, 1982, pp. 1–18.
- [37] T. Roisnel and J. Rodriguez-Carvajal in *Proceedings of the Seventh European Powder Diffraction conference*, Barcelona, may 20-23, 2000, ed. Delhez and E.J. Mitemeijer, Trans Tech Publications Inc., Switzerland, 2001, pp. 118-123.
- [38] B. Vaghela, R. Kayastha, N. Bhatt, N. Pathak, D. Rathod. *J. Appl. Pharm. Sci.* 1 (2011) 50–56.
- [39] M.L. Bruschi. *Mathematical Models of Drug Release in Strategies to Modify the Drug Release From Pharmaceutical Systems*, ed. M.L. Bruschi, Woodhead Publishing, Elsevier, 2015, 63.
- [40] M.C. Lin, F.T. Chang, J.Y. Uan. *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 6524–6530.
- [41] F.P.A. Fabbiani, B. Dittrich, A.J. Florence, T. Gelbrich, M.B. Hursthouse, W.F. Kuhs, N. Shankland, H. Sowa. *Cryst. Eng. Comm.* 11(7) (2009) 1396–1406.
- [42] I. Turel, A. Golobic. *Anal. Sci.* 19 (2003) 329–330.
- [43] D.G. Evans, R.C.T. Slade. *In : Structure and Bonding*, ed. X. Duan and D.G. Evans, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005, pp.1-87.
- [44] A.L. Troutier-Thuilliez, C. Taviot-Guého, J. Cellier, H. Hintze-Bruening, F. Leroux. *Prog. Org. Coat.* 64 (2009) 182–192.
- [45] M. Pourbaix. *Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions*, Pergamon Press, New York, 1966.
- [46] L. Desigaux, M. Ben Belkacem, P. Richard, J. Cellier, P. Léone, L. Cario, F. Leroux, C. Taviot-Guého, B. Bruno Pitard. *Nano Lett.* 2 (2006) 199–204.
- [47] C. Forano, U. Costantino, V. Prévot, C. Taviot-Gueho. *In : Handbook of Clay Science*, ed. F. Bergaya and G. Lagaly, Elsevier Amsterdam, 2013, 745-782.
- [48] M. Zupančič, R.C. Korošec, P. Bukovec. *J. Therm. Anal. Calorim.* 63 (2001) 787–795.
- [49] C. Gu, K.G. Karthikeyan. *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 9166-9173.
- [50] K. Nakamoto. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Wiley-Interscience, New York, 1997.
- [51] U. Neugebauer, A. Szeghalmi, M. Schmitt, W. Kiefer, J. Poppa, U. Holzgrabe. *Spectroc. Acta A* 61 (2005) 1505-1517.
- [52] L. Mafra, S.M. Santos, R. Siegel, I. Alves, F.A. Almeida Paz, D. Dudenko, H. W. Spiess. *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 71-74.
- [53] A.K. Chattah, Y.G. Linck, G.A. Monti, P.R. Levstein, S.A. Breda, R.H. Manzo, M.E. Olivera. *Magn. Reson. Chem.* 45 (2007) 850-859.
- [54] A.M. Khan, S.S. Shah. *J. Disper. Sci. Technol.* 30 (2009) 1247–1254.
- [55] M. Thakur, S. Pandey, A. Mewada, V. Patil, K. Monika, E. Goshi, M. Sharon. *J. Drug Delivery Vol.* 2014, Article ID 282193, 9 pages.
- [56] M. Zupančič, I. Turel, P. Bukovec. *Croat. Chem. Acta* 74(1) (2001) 61–74.
- [57] X. Bi, H. Zhang, L. Dou. *Pharmaceutics* 6 (2014) 298–332.
- [58] D. Pan, H. Zhang, T. Zhang, X. Duan. *Chem. Eng. Sci.* 65 (2010) 3762–3771.
- [59] Z. Meng, X. Li, F. Lv, Q. Zhang, P.K. Chu, Y. Zhang. *Colloids Surf. B* 135 (2015) 339–345.
- [60] W. Huang, H. Zhang, D. Pan. *AIChE J.* 57 (2011) 1936–1946.
- [61] S.J. Xia, Z.M. Ni, Q. Xu, B.X. Hu, J. Hu. *J. Solid State Chem.* 181 (2008) 2610–2619.
- [62] U. Costantino, M. Casciola, L. Massinelli, M. Nocchetti, R. Vivani. *Solid State Ion.* 97 (1997) 203–212.

- [63] J.M. Unagolla, A.C. Jayasuriya. *Eur. J. Pharm. Sci.* 114 (2018) 199–209.
- [64] P.L. Ritger, N.A. Peppas. *J. Control. Release* 5 (1987) 37–42.
- [65] Y. Gao, J. Zuo, N. Bou-Chacra, T. de Jesus A. Pinto, S.D. Clas, R.B. Walker, R. Löbenberg. *BioMed Research International* 2013, vol. 2013, Article ID 136590, 9 pages.
- [66] G. Mishra, B. Dash, D. Sethi, S. Pandey, B.K. Mishra. *Environ. Eng. Sci.* 34 (2017) 1–12.
- [67] V. Uivarosi. *Molecules* 18 (2013) 11153–11197.
- [68] A. Serafin, A. Stanczak. *Russ. J. Coord. Chem.* 35 (2009) 81–95.
- [69] D.H. Park, J.H. Yang, A. Vinu, A. Elzatahry, J.H. Choy. *Arabian J. Chem.* 9 (2016) 190–205.
- [70] K.A. Tarasov, D. O'Hare, V. P. Isupov. *Inorg. Chem.* 42 (2003) 1919–1927.
- [71] S.J. Mills, A.G. Christy, J.M.R. Genin, T. Kameda, F. Colombo. *Mineral. Mag.* 76 (2012) 1289–336.
- [72] A.R. Sotiles, L.M. Baika, M. TadeuGrassi, F. Wypych. *J. Am. Chem. Soc.* 141 (2019) 531–540.

Chapitre 4 :

Intercalation de l'Acide α -Lipoïque par des Structures HDL

L'acide α -lipoïque est un cofacteur enzymatique présentant des propriétés antioxydantes puissantes. Cependant, l'acide α -lipoïque présente certains inconvénients dont une solubilité moyenne dans l'eau et une instabilité lorsqu'il est exposé à la lumière, à la chaleur ou à de faibles pH. Ainsi, afin de stabiliser et de préserver ses propriétés thérapeutiques, il nous est apparu intéressant de tester son intercalation dans les matériaux HDL élaborés dans ce travail de recherche.

Dans ce chapitre, qui porte sur la synthèse, la caractérisation et l'étude physico-chimique de matériaux HDL et d'hybrides Lip@HDL, nous abordons les quatre points suivants : i) la préparation par coprécipitation d'une série de matériaux HDL dont la composition comprend divers cations métalliques parmi lesquels le Mg, le Cu, le Ga et le Zn, ainsi que leur caractérisation ; ii) l'intercalation de l'acide α -lipoïque dans les différentes compositions HDL ; et enfin, iii) l'obtention de suspensions colloïdales stables.

Introduction

L'acide α -lipoïque (ALA) ou l'acide 1,2-dithiolane-3-pentanoïque, molécule utilisée et étudiée dans ce travail, est un composé naturel, présent en très faibles quantités dans l'organisme. Isolée pour la première fois en 1951, la molécule a été officiellement nommée acide α -lipoïque en 1957.^[1] L'ALA est aussi appelé *antioxydant universel* car il est, à la fois hydro- et liposoluble. Par ailleurs, jouant le rôle de cofacteur dans le processus de production d'énergie^[2,3] il est également capable d'agir sur le métabolisme du glucose et de chélater les métaux lourds.^[4] Aussi, du fait de son atome de carbone chiral (en C6), l'acide α -lipoïque existe sous deux formes énantiomères : la forme R, produite naturellement par l'organisme et la forme synthétique S.^[5]

Dans l'organisme humain, l'ALA est apporté par l'alimentation suite à la consommation de produits d'origine animale (en particulier le foie et le rein), ou d'origine végétale comme les épinards, le brocoli et la tomate. Cependant, afin d'être en mesure d'obtenir un effet thérapeutique, notable, il faudrait avoir recours à des suppléments en ALA. Par ailleurs, son importante capacité anti-oxydante^[6] est exploitée pour le traitement de certaines maladies comme la neuropathie diabétique,^[7,8] le cancer,^[9] des maladies cardiovasculaires et anti-inflammatoires,^[10] le glaucome,^[11] la maladie d'Alzheimer^[12] et parfois pour prévenir la migraine.^[13] De nombreuses études ont également mis en évidence ses capacités à prévenir les symptômes du vieillissement cutané.^[14] D'un point de vue de ses caractéristiques physico-chimiques, l'acide α -lipoïque, également dénommé acide thioctique, est un dithiol dérivant de l'acide octanoïque^[1] (figure 4.1).

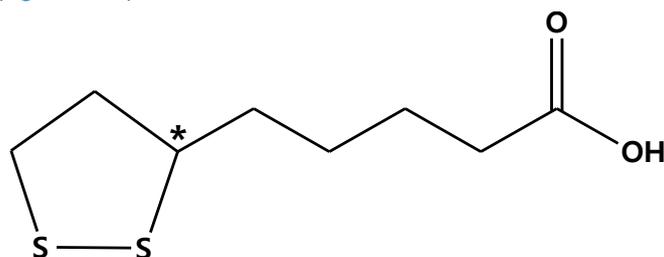


Figure 4.1: Structure chimique de l'acide α -lipoïque.

* indique la présence d'un carbone asymétrique.

L'ALA présente également les caractéristiques suivantes : *i*) en plus d'être un dithiol, c'est un acide carboxylique (pK_a (COOH)= 4,76-5,53)^[6], *ii*) sa base conjuguée est l'anion lipoate (Lip^-), *iii*) il est insoluble dans l'eau (0,224 g/L, à 25°C),^[15] *iv*) sa température de fusion est de 65-66°C.^[16] Outre ces propriétés, l'acide α -lipoïque présente une particularité supplémentaire mais importante rendant d'ailleurs sa manipulation et son utilisation complexes. Il s'agit de sa très forte instabilité.^[5] En effet, sous l'action de la lumière, de la

chaleur ou/et de fortes variations de pH, la molécule d'ALA subit une polymérisation qui induit une perte conséquente de ses activités biologique et thérapeutique ainsi que la formation d'une désagréable odeur sulfureuse.^[17,18] Afin de parer à cela, différentes stratégies ont été mises en place, parmi lesquelles nous pouvons citer : *i)* la co-formulation avec des molécules à effet stabilisant,^[19] *ii)* la stabilisation avec du chitosane,^[20] *iii)* la complexation de l'acide α -lipoïque avec des cyclodextrines,^[21,22] et, *iv)* la vectorisation par des NPs comme par exemple les liposomes et les polymères.^[23-25]

Ainsi dans ce travail, nous nous sommes inspirés de cette dernière stratégie afin de tenter de relever un premier défi qui est d'améliorer la biodisponibilité de l'acide α -lipoïque. En effet, dans la mesure où les HDL représentent de bons candidats pour la protection des molécules telles que les vitamines^[26] et les antioxydants^[27-29] leur permettant ainsi d'acquérir une stabilité vis-à-vis de la lumière, de la chaleur et de l'oxygène. Nous nous sommes intéressés à l'étude des phases HDL hybrides formées suite à l'association de feuillet HDL et de l'acide α -lipoïque. Jusqu'à présent, une seule étude a été rapportée dans la littérature avec peu d'éléments fournis concernant la synthèse et la caractérisation de l'hybride, l'étude étant centrée sur l'application en cosmétique.^[30]

Cependant, l'adoption de cette stratégie implique la maîtrise et le contrôle deux éléments essentiels des matériaux à savoir : *i)* leur comportement en solution et, *ii)* la taille des particules. En effet, il est d'une part reconnue que l'un des inconvénients des matériaux HDL est leur forte tendance à l'agrégation, ce qui en limite l'utilisation dans plusieurs domaines notamment dans le domaine biomédical. D'autre part, il a largement été démontré dans la littérature que la taille des particules d'un nanomédicament est un paramètre important quel que soit le mode d'administration de celui-ci (c'est-à-dire par voies orale, locale ou même par voie intraveineuse). En effet, des NPs dont la taille est comprise entre 1 et 20 nm de diamètre ont par exemple une durée de vie longue dans le système circulatoire et traversent lentement le système vasculaire pour atteindre les espaces interstitiels. En revanche, l'injection locale requiert l'administration de particules de tailles plus élevées, comprises entre 30 et 100 nm, mais celles-ci sont rapidement phagocytées par les cellules immunitaires de l'organisme hôte dont les macrophages. Enfin, les particules de tailles supérieures à 5 μ m peuvent entraîner une embolie (c'est-à-dire une occlusion d'un vaisseau sanguin).^[31] Par ailleurs, tel qu'il a été discuté dans le [chapitre 1](#) de ce manuscrit, le choix des méthodes de synthèse des nanomatériaux est primordial sur le contrôle de la taille et du degré d'agrégation des particules HDL. L'ensemble de ces éléments nous ont menés à penser que des suspensions mono-dispersées de NPs, obtenues par des méthodes de synthèse permettant un contrôle précis de la nucléation des particules et d'éviter les phénomènes d'agrégation, devront être utilisées. De

ce fait, le second défi de ce travail correspond à la préparation de solutions colloïdales des nanovecteurs Lip@HDL.

Pour cela, en utilisant la méthode de coprécipitation et des sels chlorures, nous avons optimisé les conditions d'intercalation de l'acide α -lipoïque dans divers nanomatériaux HDL (Lip@HDL) de compositions classiques telles que le Zn/Al et le Mg/Al et aussi moins conventionnelles faisant intervenir du gallium (Ga) et du Cu. Pour la préparation des suspensions colloïdales, nous avons mis au point une méthode de coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal.

4.1. Matériel et Méthodes

4.1.1. Synthèse des matériaux HDL et des hybrides Lip@HDL

4.1.1.1. Produits chimiques et réactifs

Nitrate de magnésium hexahydraté ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98%), nitrate d'aluminium nonahydraté ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 99 %), nitrate de zinc hexahydraté ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98%), chlorure de zinc hexahydraté ($\text{ZnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98%), chlorure de magnésium hexahydraté ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98%), chlorure d'aluminium hexahydraté ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98%), chlorure de gallium anhydre (GaCl, Acros Organics, 98%), chlorure de cuivre hexahydraté ($\text{CuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Acros Organics, 98%), hydroxyde de sodium (NaOH, Acros Organics, 98 %), acétone (CH_3COCH_3 , VWR Chemicals, 99 %), sel d'acide α -lipoïque (Sigma Aldrich), tous ces produits ont été utilisés tels quels.

4.1.1.2. Intercalation de l'anion lipoate par coprécipitation

Pour l'intercalation de l'ALA, nous avons d'abord préparé des phases HDL de différentes compositions cationiques intercalées avec des anions chlorure : Zn_2Al , Zn_2Ga , Cu_2Al , $\text{Zn}_1\text{Cu}_1\text{Al}$ et $\text{Zn}_1\text{Cu}_1\text{Ga}_1$; le montage expérimental est donné dans la partie matériel et méthodes de ce manuscrit (*c.f. chapitre 2, page 71*). De plus, le rapport molaire $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ égal à 2 a été choisi car il correspond à la capacité d'échange anionique la plus élevée pour le système HDL. Les concentrations des solutions de cations sont consignées dans le [tableau 4.1](#) avec une concentration totale en sels métalliques égales à 0,3 M. Dans le cas des phases à composition ternaire à savoir $\text{Zn}_1\text{Cu}_1\text{Al}$ et $\text{Zn}_1\text{Cu}_1\text{Ga}_1$, un rapport $\text{Cu}^{2+}/\text{M}^{2+}$ doit être inférieur ou égal à 1 permettant ainsi aux ions Cu^{2+} de se placer dans les sites octaédriques non déformés de la couche de type brucite. Par contre, si ce rapport est supérieur à 1, une partie des ions Cu^{2+} peut se placer dans des octaèdres déformés et donner ainsi des hydroxydes de cuivre.^[32] en effet, les HDL peuvent être construits avec tous les types de cations métalliques

divalents (de Mg^{2+} à Mn^{2+}), à l'exception des ions Cu^{2+} qui malgré son rayon ionique (72 pm) ne forment des HDL purs qu'avec d'autre cation divalent comme le Mg^{2+} , le Co^{2+} ou le Zn^{2+} .

Pour la synthèse des phases Lip@HDL, un excès molaire de 2 en anions lipoate par rapport à la quantité de cations trivalents a été solubilisé à pH 8,0, (pH ajusté par une solution NaOH 0,2 M) dans l'eau et placé dans le réacteur. Ce pH de coprécipitation utilisé correspond au domaine de stabilité de la forme anionique du principe actif en solution (figure 4.2). Ensuite, nous procédons à l'addition de la solution de sels métalliques avec un contrôle précis du pH grâce à l'addition simultanée d'une solution de soude (0,5 M).

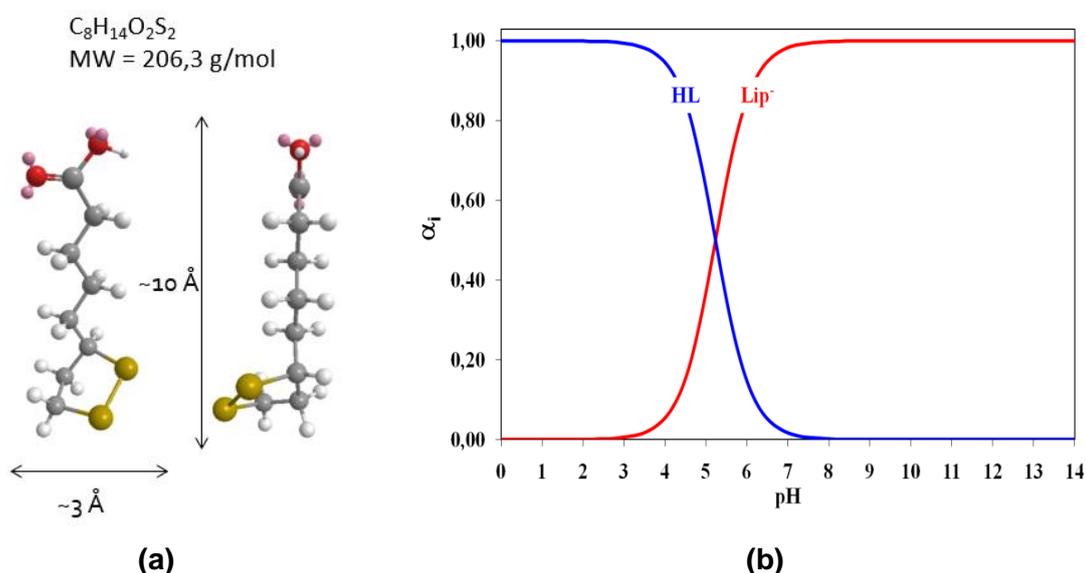
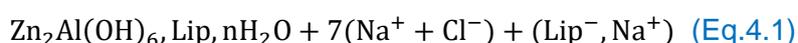
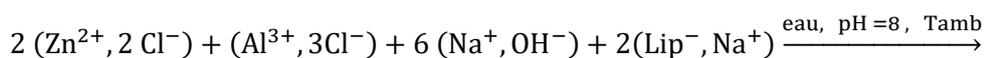


Figure 4.2 : Acide α -lipoïque. (a) Structure chimique et dimensions de la molécule d'ALA, (b) Diagramme de spéciation de l'ALA. α_i : fraction des espèces, HL : forme acide de l'ALA.

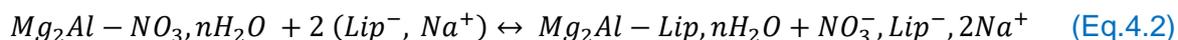
Tableau 4.1. Paramètres de synthèse utilisés pour la préparation des HDL.

HDL@Cl	Sels utilisés (mol/L)			pH
	$M^{II}Cl$	$M^{III}Cl$		
Zn_2Al	0,2	0,1		$7,5 \pm 0,3$
Zn_2Ga	0,2	0,1		$7,5 \pm 0,3$
Cu_2Al	0,2	0,1		$8,0 \pm 0,5$
	$M_1^{II}Cl$	$M_2^{II}Cl$	$M^{III}Cl$	
Zn_1Cu_1Al	0,1	0,1	0,1	$8,0 \pm 0,5$
Zn_1Cu_1Ga	0,1	0,1	0,1	$8,0 \pm 0,5$

Les additions ont été réalisées sous flux azote durant 3 h pour une vitesse d'addition de la solution de sels de 0,05 mL/min et à température ambiante. Le produit obtenu est ensuite soumis à un mûrissement pendant 24 h à température ambiante dans le milieu de synthèse, puis récupéré par trois cycles de lavage/centrifugation à l'eau déionisée et enfin séché dans une étuve à 60°C pendant 12 h.

4.1.1.3. Préparation des suspensions colloïdales Lip@HDL

Pour la préparation des suspensions colloïdales des hybrides, nous avons adapté le protocole expérimental proposé par Xu *et al.* [33,34] décrit dans le chapitre 2 (c.f. partie 2.1.2, page 73) de ce manuscrit. Brièvement, 10 mL d'une solution de sels métalliques, contenant 3 mmol de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ et 1 mmol de $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ sont immédiatement ajoutées à 40 mL d'une solution de soude (6 mmol), sous vive agitation, pendant 10 minutes. Le précipité $Mg_2Al@NO_3$ est ensuite récupéré par centrifugation et lavée deux fois à l'eau déionisée puis remis dans un excès de solution de Lip sous atmosphère N_2 à température ambiante en vue de réaliser un échange anionique NO_3^- -Lip (Eq.4.2). Sachant qu'il faut se mettre dans un excès par rapport au nombre de mole d'anions présent dans la phase HDL.



Après deux heures d'échange, le produit échangé est récupéré par deux cycles de lavage et centrifugation à l'eau déionisée afin d'éliminer l'excès d'ALA. Enfin, le précipité est remis en solution, puis placé dans un réacteur autoclave pour un traitement hydrothermal (TH) à 100°C et pression autogène pendant différentes durées, i.e. 5 h, 8 h, 16 h, et/ou 19 h. Chaque suspension obtenue est alors fractionnée en deux. Une partie est récupérée par ultracentrifugation puis séchée dans une étuve à 60°C pendant 12 h. La seconde fraction est diluée afin d'être utilisée pour des mesures de la taille des particules par DLS.

4.1.2. Caractérisation des matériaux élaborés

Les diffractogrammes X ont été enregistrés sur un diffractomètre Philips X'Pert Pro équipé d'une anticathode en cuivre dans un domaine angulaire de 2° à 80° en 2 θ avec un pas de 0,03°. Les spectres infrarouges à transformé de Fourier ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre Nicolet 5700 dans la gamme 400-4000 cm^{-1} , avec un nombre de scans de 64 et une résolution fixée à 8 cm^{-1} . Les mesures ont été réalisées en transmission sur pastilles de KBr contenant 1 % en masse de produit. L'analyse thermogravimétrique a été réalisée à l'aide d'une microbalance Perkin Elmer TGA7. Environ 20 mg d'échantillons sous forme de poudre sont placés dans des creusets ouverts en alumine et chauffés avec une vitesse de 5°C/min de 25 à 800°C sous flux d'air. Pour l'analyse MEB-EDX, les échantillons sont au préalable

métallisés à l'or sous vide. Les images MET ont été obtenues à l'aide d'un microscope Hitachi H-7650 à une tension d'accélération de 120 kV. Pour ces analyses MET, les échantillons ont été d'abord redispersés dans de l'eau ultrapure et soumis à un traitement aux ultrasons pendant 5 min. Ensuite, une goutte de la suspension a été déposée sur une grille en cuivre recouverte d'un film de carbone de 150 mesh puis, séchée à température ambiante. Le rayon hydrodynamique par DLS et le potentiel zêta de suspensions colloïdales ont été mesurés à l'aide de l'instrument Malvern Nanosizer Nano ZS.

4.2. Résultats et Discussion

4.2.1. Caractérisation physico-chimique des hybrides

4.2.1.1. Etude structurale par diffraction des rayons X

Nous avons préparé par la méthode de coprécipitation plusieurs phases HDL à savoir les phases de composition binaire et ternaire suivantes : $Zn_2Ga@Cl$, $Zn_2Al@Cl$, $Cu_2Al@Cl$, $Zn_1Cu_1Al@Cl$ et $Zn_1Cu_1Ga@Cl$. Les résultats de l'analyse DRX (figure 4.3) révèlent les points suivants :

Les diffractogrammes présentent un profil caractéristique de composés lamellaires avec des réflexions basales intenses à bas thêta. Dans le cas des phases HDL, l'indexation est réalisée dans une maille hexagonal avec le groupe d'espace $R3-m$.^[35] La position de la première harmonique $00l$ donne directement accès à la distance interlamellaire et celle-ci est souvent notée d_{003} . En première approximation, il est possible de déterminer les paramètres de maille a et c à partir de la position des raies 110 et 003, respectivement ($a = 2 \times d_{110}$ et $c = 3 \times d_{003}$).

Pour les phases $Zn_2Al@Cl$, $Zn_2Ga@Cl$, $Zn_1Cu_1Al@Cl$ et $Zn_1Cu_1Ga@Cl$ (figure 4.3-a, b, d et e), l'analyse DRX indiquent l'obtention de phase pures et bien cristallisées. La présence au voisinage de 60° en 2θ de la raie (110) considérée comme la réflexion la plus importante des raies $hk0$, est attribuée à la distance métal-métal du feuillet et reflète la conservation de la structure du matériau. Les résultats montrent aussi que la réflexion (110) se déplace vers les bas angles pour le couple Zn/Al par rapport au couple Zn/Ga, en bon accord avec l'augmentation du rayon ionique du Ga^{3+} (62 pm) qui est plus grand que celui de l' Al^{3+} (54 pm) (alors que le rayon ionique du Zn^{2+} est de 72 pm). Le paramètre de maille a (tableau 4.2) varie en fonction de la nature des cations métalliques et donc des rayons ioniques des cations, ce qui est en accord avec les résultats obtenus dans la littérature.^[36]

L'introduction du cuivre perturbe l'organisation des feuillets : ceci est visible sur le diffractogramme de la phase $Cu_2Al@Cl$ (figure 4.3-c). Il se traduit par l'élargissement des raies

h0l et 0kl, en raison de l'effet Jahn -Teller associé à l'ion Cu^{2+} et qui conduit à la formation d'octaèdres déformés.^[37] Les distances interlamellaires obtenues pour toutes les phases préparées suggèrent l'intercalation majoritaire d'anions chlorures avec la présence de phases carbonates probablement due à une contamination lors des étapes de lavages et de séchages qui se font au contact de l'air ambiant. *i)* la nature des cations métalliques et *ii)* une disposition différente des entités présentes (anions et les molécules d'eau) dans l'espace interlamellaire, peuvent être à l'origine des différences de valeurs observées.

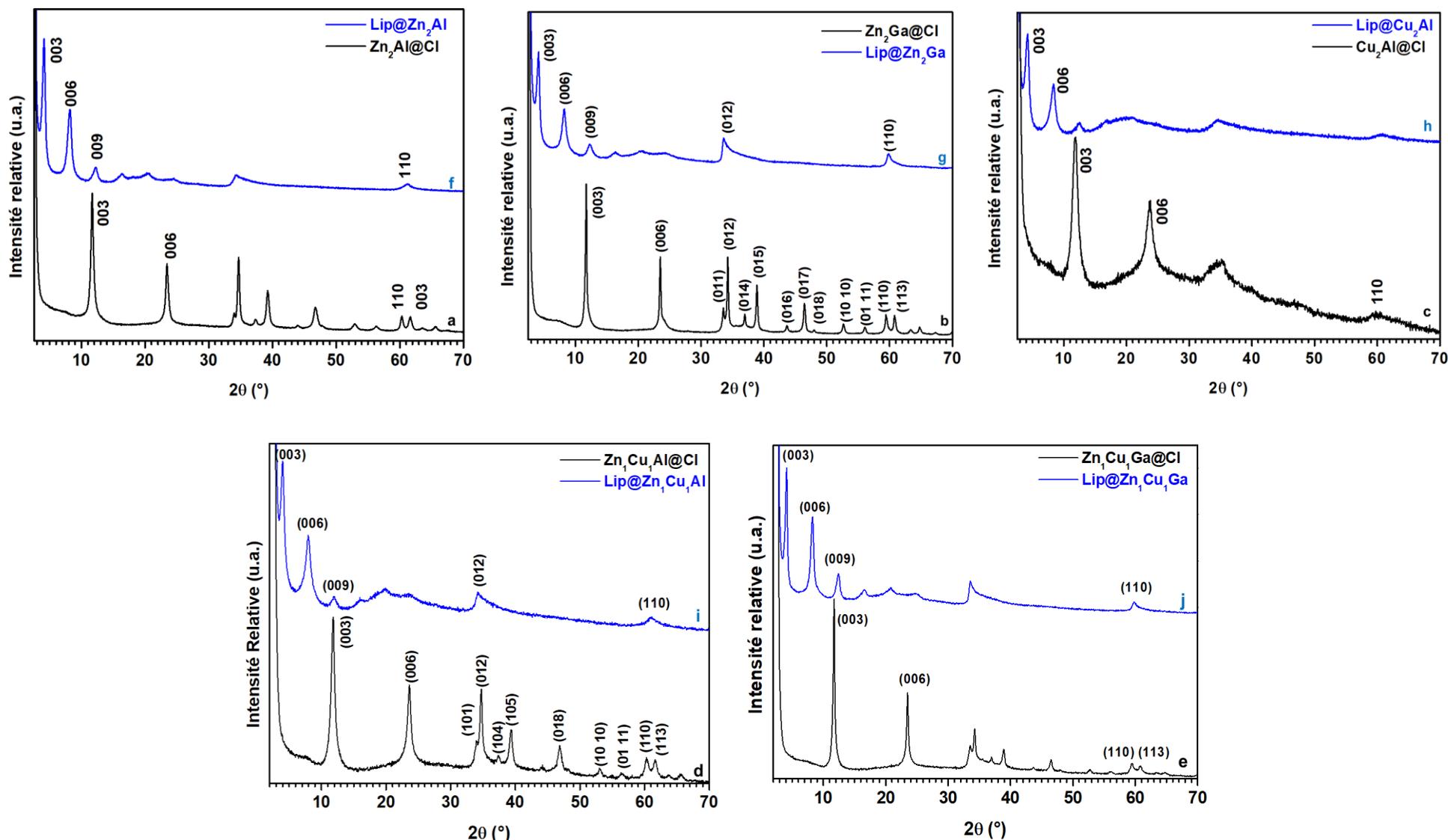


Figure 4.3 : Diffractogrammes X des échantillons HDL @CI : **(a)** $Zn_2Al@CI$, **(b)** $Zn_2Ga@CI$, **(c)** $Cu_2Al@CI$, **(d)** $Zn_1Cu_1Al@CI$, **(e)** $Zn_1Cu_1Ga@CI$ et des échantillons Lip@HDL : **(f)** Lip@ Zn_2Al , **(g)** Lip@ Zn_2Ga , **(h)** Lip@ Cu_2Al , **(i)** Lip@ Zn_1Cu_1Al et **(j)** Lip@ Zn_1Cu_1Ga .

Quant aux diffractogrammes X représentés dans la [figure 4.3-f, g, h, i et j](#), permettent de confirmer la formation de structures HDL intercalées par le Lipoate. En effet, les réflexions basales d_{003} sont observées à 20,59 Å, 21,57 Å, 20,67 Å, 20,83 Å et 21,25 Å pour les phases Lip@Cu₂Al, Lip@Zn₂Ga, Lip@Zn₂Al, Lip@Zn₁Cu₁Al et Lip@Zn₁Cu₁Ga, respectivement. La présence du lipoate entraîne une forte modification de l'ordre d'empilement des feuillets (les réflexions situées entre 30 et 50° sont larges par rapport aux matériaux précurseurs. On observe aussi, l'absence des réflexions supplémentaires due à des impuretés comme une phase chlorure résiduelle ou une phase carbonate) traduisant l'obtention d'un échange totale entre le lipoate et les anions chlorures. La conservation de la structure HDL est confirmée par la présence de la réflexion (110) après intercalation.

Les distances interlamellaires d_{003} ([tableau 4.2](#)) observées pour les phases intercalées sont presque identiques à celles rapportées par Pagano *et al.*^[30] Ces auteurs ont en effet, calculé une distance de 22 Å pour une intercalation effectuée par échange anionique avec deux précurseurs chlorés. Cette méthode a conduit à un pourcentage d'intercalation de 29 % et 41 % pour les phases HDL de composition ZnAl et MgAl, respectivement.

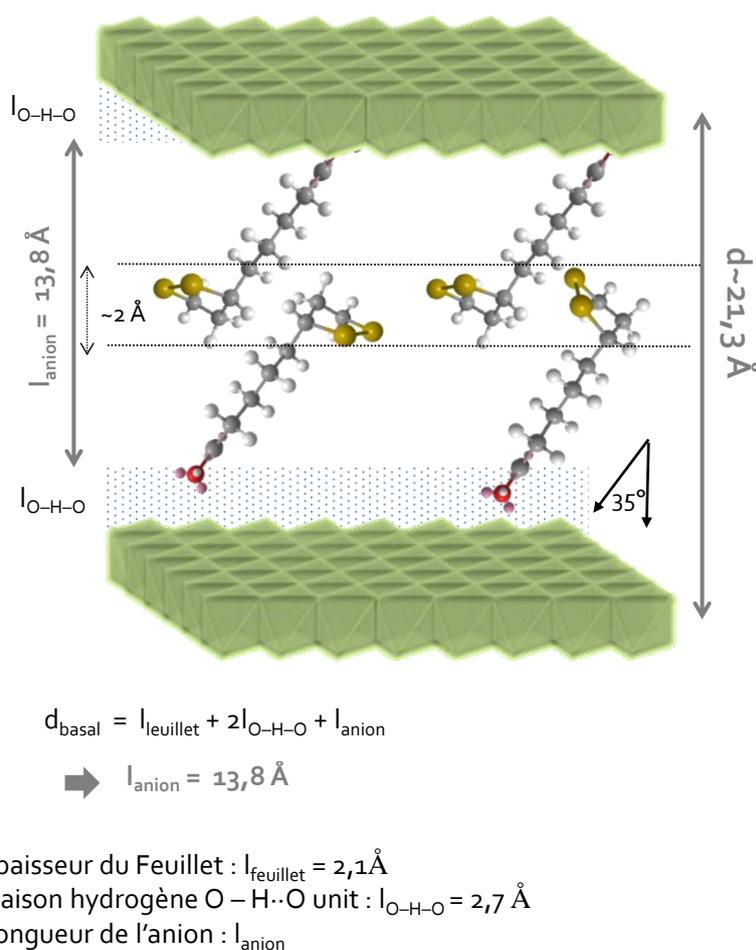
[Tableau 4.2.](#) Paramètres de maille pour les précurseurs chlorures et les phases intercalées.

Phase	d_{003} (Å)	a (Å)	c (Å)
Zn/Al			
Zn ₂ Al@Cl	7,59	3,06	22,77
Lip@Zn ₂ Al	20,676	2,99	62,028
Zn/Ga			
Zn ₂ Ga@Cl	7,58	3,11	22,74
Lip@Zn ₂ Ga	21,57	3,09	64,72
Cu/Al			
Cu ₂ Al@Cl	7,62	-	22,86
Lip@Cu ₂ Al	20,597	-	61,79
Zn/Cu/Al			
Zn ₁ Cu ₁ Al@Cl	7,47	3,07	22,41
Lip ₂ @Zn ₁ Cu ₁ Al	20,839	2,992	62,518
Zn/Cu/Ga			
Zn ₁ Cu ₁ Ga@Cl	7,54	3,112	22,576
Lip@Zn ₁ Cu ₁ Ga	21,25	3,094	63,09

*Orientation de l'anion Lip dans l'espace interlamellaire des HDL

Une des principales informations structurales qui peut découler des résultats des analyses DRX est d'identifier l'orientation de la molécule intercalée dans l'espace interlamellaire des phases HDL. Il s'avère ainsi, en se basant sur les résultats résumés dans le [tableau 4.2](#) que les distances observées après intercalation, varient peu en fonction des matrices utilisées. D'ailleurs une distance moyenne a été calculée qui est de 21,3 Å. En revanche, l'épaisseur du feuillet octaédrique est de 2,1 Å et la distance entre le plan d'oxygène du feuillet et le plan d'oxygène des fonctions carboxylates des anions organiques en interaction via des liaisons hydrogène est de l'ordre de 2,7 Å.

Par ailleurs, la distance disponible dans l'espace interlamellaire est de 13,8 Å. En prenant compte la taille de la molécule de lipoate, nous pouvons en déduire que l'arrangement des anions Lip est en bicouche avec les groupements carboxylates en interaction avec les feuillets HDL et une inclinaison estimée à 35° par rapport à la verticale au plan des feuillets ([figure 4.4](#)).



[Figure 4.4](#) : Représentation d'un feuillet HDL contenant du lipoate.

4.2.1.2. Caractérisation de Lip intercalé par Infrarouge à transformée de Fourier- Nature des interactions avec le feuillet HDL

La figure 4.5 présente les spectres IRTF des phases intercalées par le lipoate ainsi que le sel ALA. Les attributions des bandes observées sur ces spectres sont regroupées dans le tableau 4.4. Les spectres des phases ont la même allure voire quasiment identique. On observe également pour toutes les phases étudiées, d'une part, la disparition de la bande de vibration ν OH de la fonction acide de l'ALA^[38] à 1691 cm^{-1} (figure 4.5-a) initialement présente dans la molécule libre. D'autre part, il y a apparition des deux bandes de vibration de la fonction carboxylate à 1548 et 1408 cm^{-1} . De plus, l'apparition de ces deux bandes de vibrations est une indication d'une stabilisation électrostatique des molécules de l'ALA dans toutes les matrices HDL analysées.^[39,40]

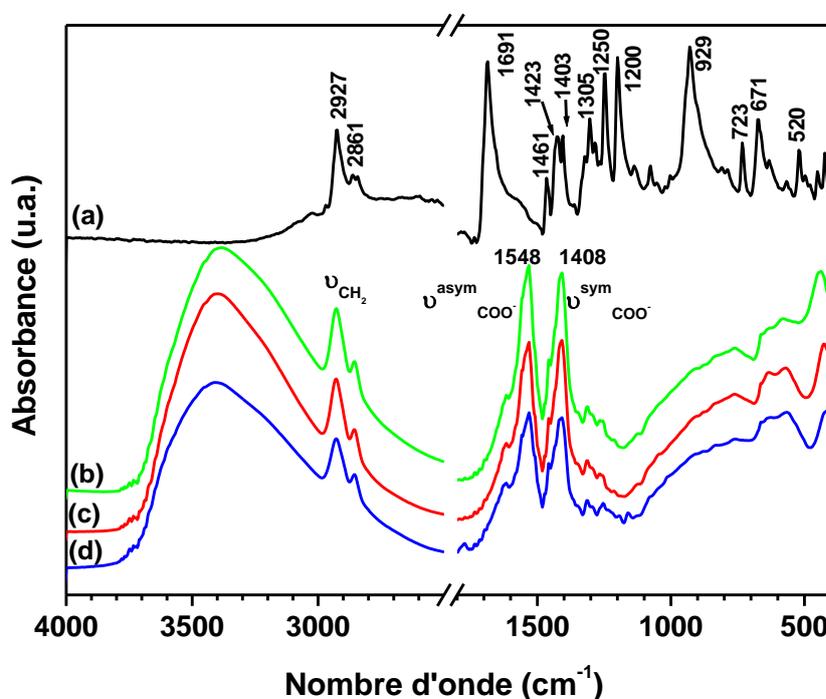


Figure 4.5 : Spectres IRTF (a) ALA, (b) Lip@Cu₂Al, (c) Lip@Zn₁Cu₁Al et (d) Lip@Zn₂Al.

Par ailleurs, les spectres IRTF des phases intercalées ressemblent au spectre IRTF rapportée pour une solution d'ALA d'une concentration $1 \times 10^{-1}\text{ mol/L}$ à pH 12. Les bandes les plus importantes qui ont été relevées sont : deux bandes très intenses à 1546 et 1408 cm^{-1} relatives aux bandes de vibrations symétrique et antisymétrique de la fonction carboxylate ; la bande de vibration des C-H à $2937\text{-}2864\text{ cm}^{-1}$.^[41] Ceci confirme que dans les phases hybrides c'est la forme anionique *i.e.* le lipoate qui est intercalé entre les feuillets HDL.

Tableau 4.3. Attributions des bandes observées sur les spectres IRTF.

Attribution	Acide α -lipoïque (cm^{-1})	Lip@Zn ₂ Al (cm^{-1})
-C-H	2927-2861	2927-2854
$\nu_{\text{C=O}}$ du COOH	1691	-
$\nu^{\text{asym}}_{\text{COO}^-}$	-	1548
$\nu^{\text{sym}}_{\text{COO}^-}$	-	1408
$\nu_{\text{C-S}}$	671	-
$\nu_{\text{S-S}}$	520	-

On remarque que les bandes ν_{OH} des M-OH et des molécules d'eau se superposent vers 3399 cm^{-1} . Notons aussi l'absence d'une contamination au carbonate (absence de la bande caractéristique à 1360 cm^{-1}) corroborant ainsi les résultats obtenus par DRX puisque aucune réflexion due à une phase carbonate n'est observée sur les diffractogrammes. En revanche, la bande de vibration de la liaison S-S est absente (ou de très faible intensité) dans les phases intercalées. Ce phénomène a déjà été observé et serait probablement dû à l'établissement d'une interaction avec un cation métallique ou avec une seconde molécule de lipoate.^[42]

La différence entre les modes d'élongations symétrique et antisymétrique des groupements carboxylates ($\Delta\nu = \nu^{\text{asym}}_{\text{COO}^-} - \nu^{\text{sym}}_{\text{COO}^-}$) renseigne sur le type de coordination susceptible de se développer en présence de cations métalliques.^[43] Nakamoto *et al.*, ont proposé trois types de coordination (ou de symétrie) de la fonction carboxylate en fonction du $\Delta\nu$ entre les bandes d'élongation antisymétriques et symétriques.^[44] Notons que, le carboxylate libre présente un $\Delta\nu$ égal à 144 cm^{-1} , alors qu'un $\Delta\nu > 144 \text{ cm}^{-1}$ est observé pour une symétrie unidentate. En revanche, un $\Delta\nu < 144 \text{ cm}^{-1}$ est associé à une symétrie bidentate alors qu'un $\Delta\nu = \pm 144 \text{ cm}^{-1}$ caractérise une symétrie pontante (figure 4.6).

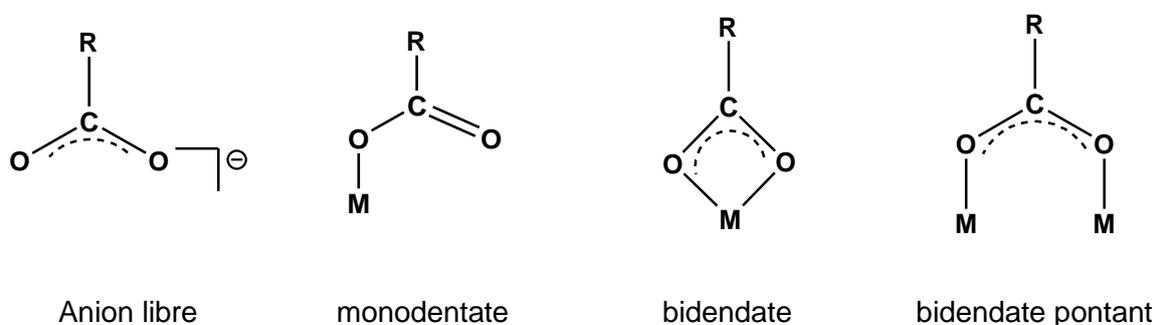


Figure 4.6 : Différentes types d'interactions possibles entre un groupement carboxylique et un ion métallique.^[45]

Dans notre étude, l'écart $\Delta\nu$ calculé pour les phases intercalées est constant et égal à $\Delta\nu = 140 \text{ cm}^{-1}$ (figure 4.7). Par comparaison avec le lipoate en solution à pH 12 ($\Delta\nu = 138 \text{ cm}^{-1}$), l'écart observé renseigne sur une interaction de type bidentate pontante entre la fonction carboxylate et les feuillettes HDL.

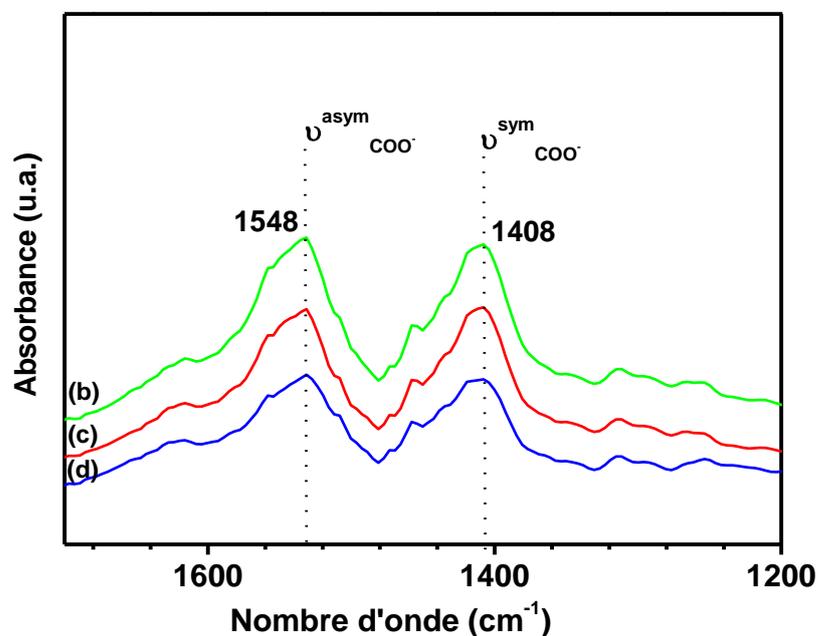


Figure 4.7 : Agrandissement dans la zone $1700\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$ pour les échantillons (b) $\text{Lip@Cu}_2\text{Al}$, (c) $\text{Lip@Zn}_1\text{Cu}_1\text{Al}$ et (d) $\text{Lip@Zn}_2\text{Al}$.

4.2.1.3. Etude de la stabilité thermique par analyse thermogravimétrique ATG et analyse enthalpique différentielle DSC

La figure 4.8 présente les résultats de l'analyse thermique réalisée sur l'ALA et les hybrides. Le signal DSC de l'ALA pur a révélé un endotherme de fusion avec un maximum à $66 \text{ }^\circ\text{C}$ qui correspond à la température de fusion de la forme cristalline de l'ALA.^[16] Plusieurs travaux ont rapporté que l'ALA subit une polymérisation lorsqu'il est chauffé au-dessus de son point de fusion.^[46] Une fois intercalé, le pic de fusion de l'ALA est absent dans les phases hybrides ce qui renseigne que l'insertion dans l'espace interlamellaire de l'HDL la forme cristalline de l'ALA disparaît au détriment de la forme anionique. Ce phénomène a également été observé pour les complexes d'inclusion ALA- β -cyclodextrine.^[47] Cependant, ces derniers ne présentent pas l'endotherme de fusion caractéristique de ALA. Ces résultats pourraient être considérés comme preuve supplémentaire de l'existence d'interactions moléculaires entre les molécules de l'ALA et les phases HDL au sein des hybrides.

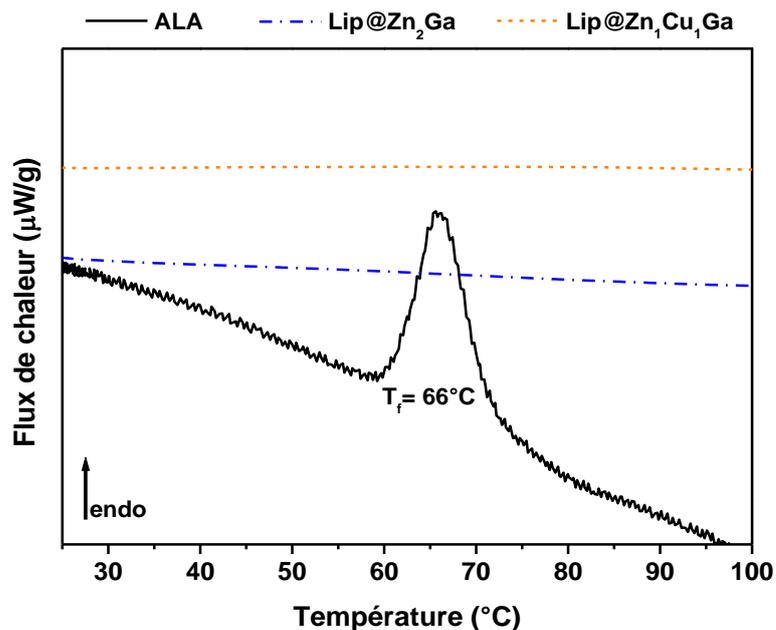


Figure 4.8 : Résultats de l'analyse DSC de l'ALA, Lip@Zn₂Ga et Lip@Zn₁Cu₁Ga.

Par ailleurs, lorsque l'ALA est analysé sous air, sa décomposition thermique débute vers 172 $^{\circ}$ C (figure 4.9.a), tandis que ce même processus commence approximativement vers 230 $^{\circ}$ C et 345 $^{\circ}$ C pour les matériaux hybrides Lip@Zn₂Ga et Lip@Zn₁Cu₁Ga, respectivement. Par conséquent, la stabilité thermique des molécules d'ALA immobilisées dans l'espace interlamellaire des feuillettes HDL a significativement été améliorée.

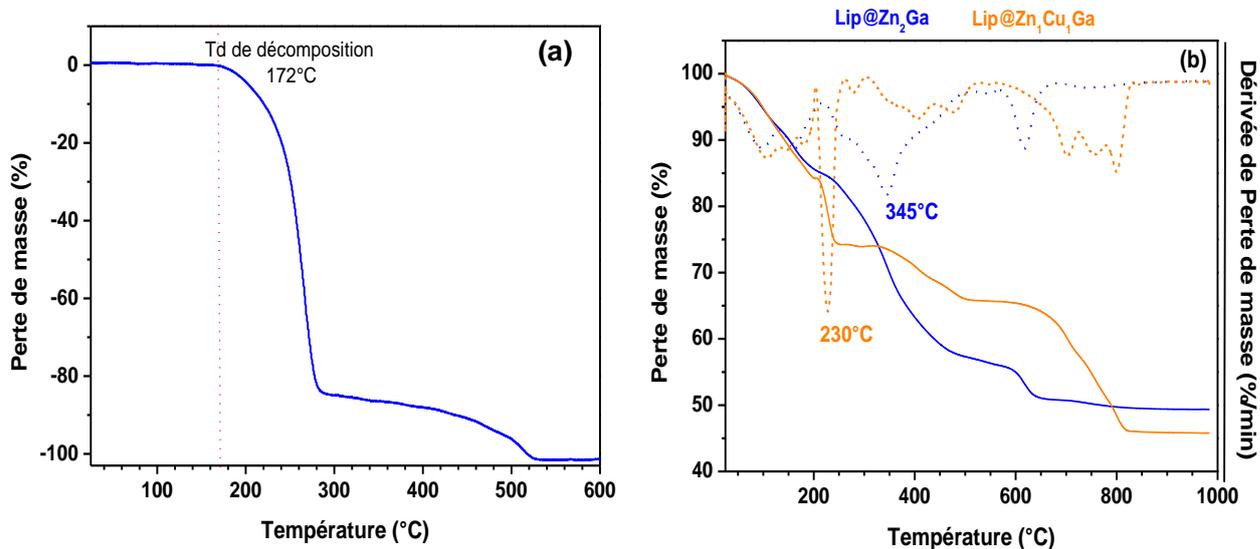


Figure 4.9 : Analyse thermogravimétrique réalisée sur (a) l'ALA, (b) les hybrides Lip@Zn₂Ga et Lip@Zn₁Cu₁Ga.

D'après les travaux de Chakraborty *et al.*^[48], nous pouvons estimer la quantité de Lip qui a été intercalée grâce à l'analyse ATG (figure 4.10). Ceci se fait comme suit : supposons que 100 g de Lip₂@Zn₂Ga contiennent x gr de Lip dont (100- 100) x/100 g de résidu à 1000°C. (zéro résidu)

(100-x) g Zn₂Ga@Cl dont 72 (100-x)/100 g de résidu à 1000°C.

Donc,

$0 \times x + 0,72(100-x) = 49,35$ (de résidu pour Lip₂@Zn₂Ga après un chauffage jusqu'à 1000 °C) ce qui donne lieu à 'x' égal à 31,45 % de Lip dans la phase Lip₂@Zn₂Ga.

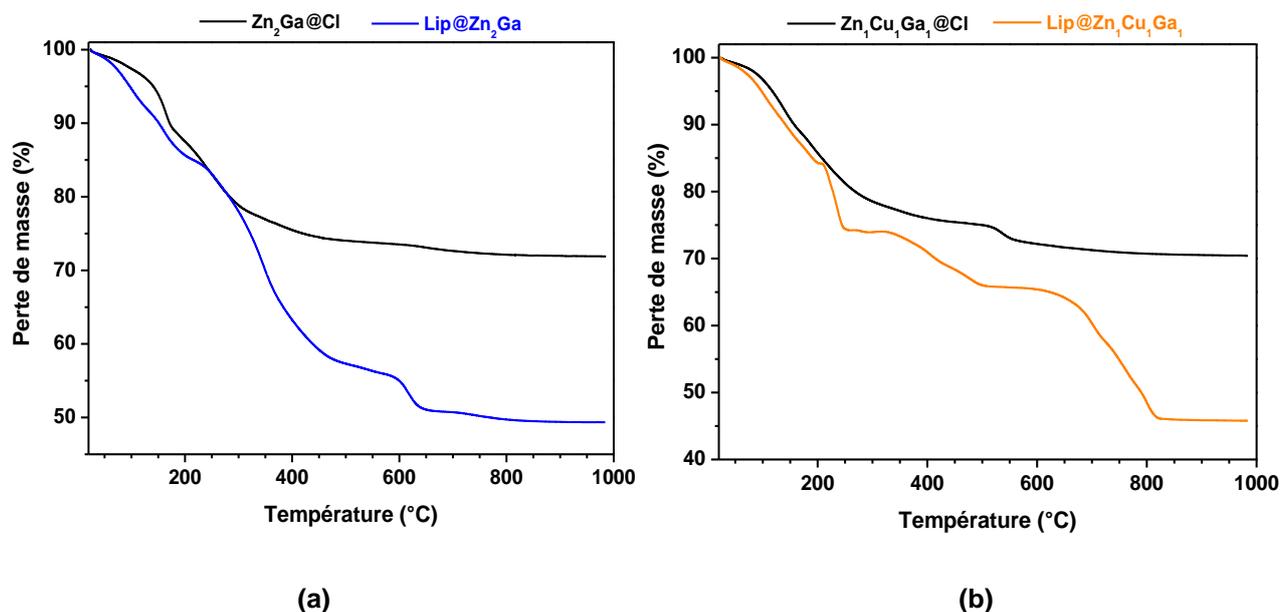


Figure 4.10 : Analyse thermogravimétrique réalisée sur les hybrides intercalés et les précurseurs de composition (a) Zn/Ga (b) ZnCu/Ga.

Nous avons aussi déterminé la quantité de molécules d'eau contenues dans les hybrides à partir des thermogrammes ATG. Illustrons le calcul pour la phase Zn₂Ga(OH)₆·Cl·n H₂O. La masse molaire totale de cette phase est $M_t = 2 \cdot M_{(Zn)} + M_{(Ga)} + 6 \cdot M_{(OH)} + M_{(Cl)} + n \cdot M_{(H_2O)} = 337,98 + 18 \cdot n$.

La 1^{ère} perte de masse correspond à la perte des molécules d'eau entre $100^\circ\text{C} \leq T \leq 200^\circ\text{C}$

$$\frac{\Delta m_1}{M_t} = 10 \% = \frac{18 \times n}{M_t}$$

Si cette dernière n'est pas n'est pas claire voire visible sur le thermogramme, nous pouvons utiliser la perte de masse totale :

$$\frac{\Delta m_t}{M_t} = 50 \% = \frac{\left((3 \times M_{H_2O}) + \left(\frac{1}{2} \times M_{Cl_2} \right) + (18 \times n) \right)}{M_t}$$

Ainsi, la quantité d'eau, le pourcentage de lipoate intercalé et la masse molaire des phases hybrides sont résumés dans le [tableau 4.4](#).

Tableau 4.4. Formules chimique théorique proposées pour les phases HDL et les hybrides.

Echantillon	Masse molaire	% en masse de Lip	Formule théorique
	(g/mol)	%	
Zn ₂ Ga@Cl	374,52	-	Zn ₂ Ga(OH) ₆ ·Cl·2,03 H ₂ O
Lip@Zn ₂ Ga	576,62	31,45	Zn ₂ Ga(OH) ₆ ·Lip·3,84 H ₂ O
Zn ₁ Cu ₁ Ga@Cl	373,36	-	Zn ₁ Cu ₁ Ga(OH) ₆ ·Cl·2,07 H ₂ O
Lip@Zn ₁ Cu ₁ Ga	547,90	35	Zn ₁ Cu ₁ Ga(OH) ₆ ·Lip·2,35 H ₂ O
Zn ₁ Cu ₁ Al@Cl	334,98	-	Zn ₁ Cu ₁ Al(OH) ₆ ·Cl·2,31 H ₂ O
Lip ₂ @Zn ₁ Cu ₁ Al	n.d	n.d	Zn ₁ Cu ₁ Al (OH) ₆ ·Lip·n H ₂ O

4.2.2. Préparation des suspensions colloïdales : Modulation de la taille des hybrides Lip@Mg₂Al

De manière simplifiée, l'élaboration des suspensions colloïdales des hybrides Lip@Mg₂Al a été réalisée en deux étapes principales. Elle a en effet compris : *i*) la préparation de suspensions de phases HDL précurseurs de type Mg₂Al@X (avec X = Cl⁻, NO₃⁻), suivie de l'intercalation de l'ALA par échange anionique, et *ii*) un traitement hydrothermal à 100 °C pendant différents temps. A titre de comparaison, des phases de type Mg₂Al@X ont également été préparées en suivant les deux étapes précédentes mais sans addition d'ALA.

4.2.2.1. Les suspensions précurseurs HDL Mg₂Al@X (avec X = Cl⁻, NO₃⁻)

Les synthèses des précurseurs HDL de type Mg₂Al@X, avec X = Cl⁻, NO₃⁻, ont été réalisées par coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal selon le protocole décrit dans le [chapitre 2](#) de ce manuscrit (*c.f. partie 2.1.2., page 73*). Ainsi, une fois le TH achevé, le réacteur autoclave est refroidi rapidement à l'eau froide et des suspensions colloïdales limpides des précurseurs HDL sont alors obtenues. L'aspect d'une solution colloïdale de l'échantillon Mg₂Al@Cl est illustré dans la [figure 4.11-a](#).

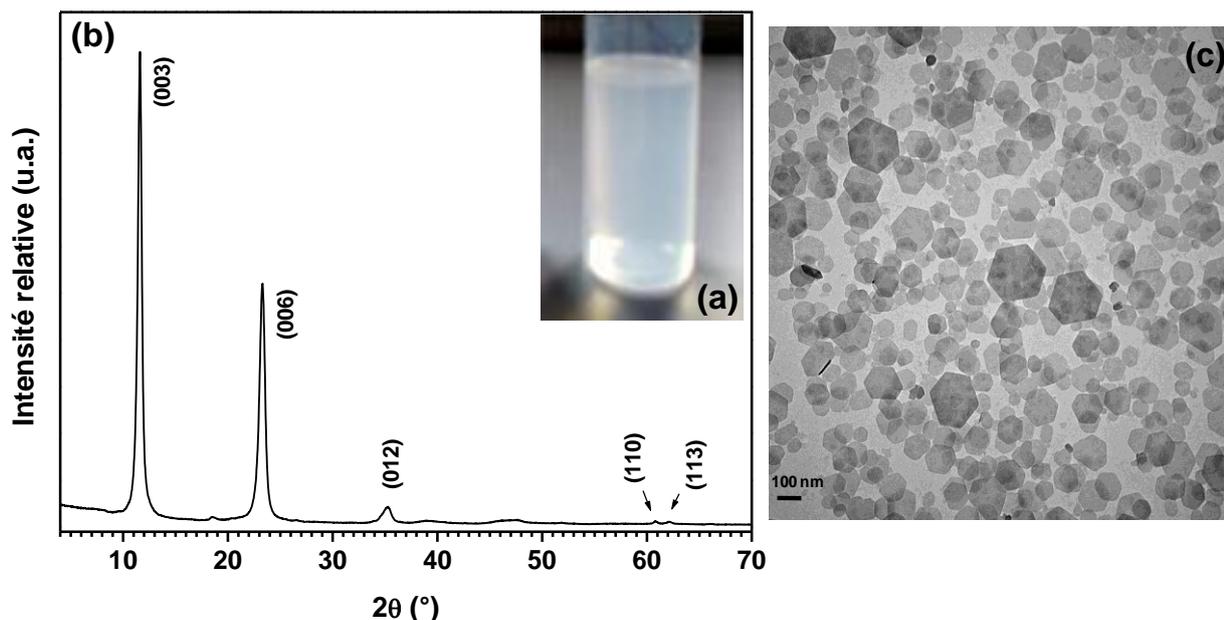


Figure 4.11 : Suspension colloïdale de NPs du précurseur $Mg_2Al@Cl$ obtenue après 16 h à $100^\circ C$. **(a)** photographie de la suspension colloïdale, **(b)** Diffractogramme X, **(c)** Micrographie des NPs observées par MET.

Le diffractogramme X de la phase $Mg_2Al@Cl$ préparé en présence d'un excès de Mg^{+2} est illustré dans la [figure 4.11-b](#). L'ajout brusque des sels métalliques chlorures dans le milieu basique provoque une nucléation rapide des nanoparticules. De plus, ce diffractogramme X montre des raies (00l) fines typiques d'un matériau bien cristallisé.^[33] La distance interlamellaire calculée à partir de la première raie 003, de l'ordre de $7,6 \text{ \AA}$, est caractéristique d'une phase HDL intercalée par des anions chlorure. Par ailleurs, l'analyse par MET ([figure 4.11-c](#)) confirme la formation de nanoparticules d'HDL de petite taille, présentant un diamètre latéral moyen de 110 nm, dont la morphologie plaquettaire hexagonale est mise en évidence.

Par ailleurs, nous avons en particulier souhaité étudier dans ce travail l'influence des sels métalliques chlorure et nitrate sur la taille et la charge de surface des suspensions de nanoparticules d'HDL précurseurs. Ainsi, le [tableau 4.5](#) regroupe les tailles des particules mesurées par DLS, leur potentiel zêta ainsi que la valeur de l'index de polydispersité qui ont été déterminés à partir des suspensions diluées.

Tableau 4.5. Taille des particules et potentiel zêta des phases HDL précurseurs en fonction des conditions de synthèse.

Phase HDL	TH (°C)	Temps (h)	Z _{ave} (nm)	PDI*	ζ (mV)
Mg₂Al@Cl	100	5	74,7	0,13	+ 16,8
Mg₂Al@Cl	100	16	103	0,13	+ 41,6
Mg₂Al@NO₃	100	5	125,2	0,17	+ 25,3
Mg₂Al@NO₃	100	8	182,5	0,24	+ 26,3
Mg₂Al@NO₃	100	16	89,8	0,15	+ 36,5

*indice de polydispersité

La grande stabilité des dispersions des nanoparticules des phases HDL préparées par la méthode de coprécipitation rapide suivie d'un TH est liée à leur potentiel zêta qui est positif allant de + 16,8 dans le cas des synthèses réalisées à 100 °C pendant 5 h à + 41,6 mV dans le cas des synthèses effectuées à 100°C durant 16 h. Ceci conduit ainsi à l'établissement d'une forte répulsion électrostatique particule-particule. De plus, les valeurs obtenues du ζ sont en parfait accord avec celles retrouvées dans la littérature.^[35] Notons également que le diamètre moyen des particules Mg₂Al@Cl (100°C durant 16 h) mesuré en milieu dilué est de 103 nm. Cette valeur peut être comparée à celle du diamètre moyen estimé par MET, *i.e.* 110 nm. On s'aperçoit ainsi que ces deux valeurs sont du même ordre de grandeur. De ce fait, l'obtention de particules individuelles par la méthode de coprécipitation rapide suivie d'un TH est confirmée.

4.2.2.2. Les suspensions colloïdales Lip@Mg₂Al

Après avoir observé l'influence des sels précurseurs sur les propriétés structurales des nanoparticules HDL, nous avons également étudié l'intercalation de l'ALA par la méthode d'échange anionique (*c.f.* partie 4.2.2). Après analyse par DRX, le diffractogramme X de l'échantillon Lip@Mg₂Al préparé avec un rapport molaire ALA/Al = 2 et traité en réacteur hydrothermal à 100°C pendant 16 heures a été comparé à une portion de l'échantillon isolée juste après échange anionique avec l'ALA mais avant le TH (figure 4.12).

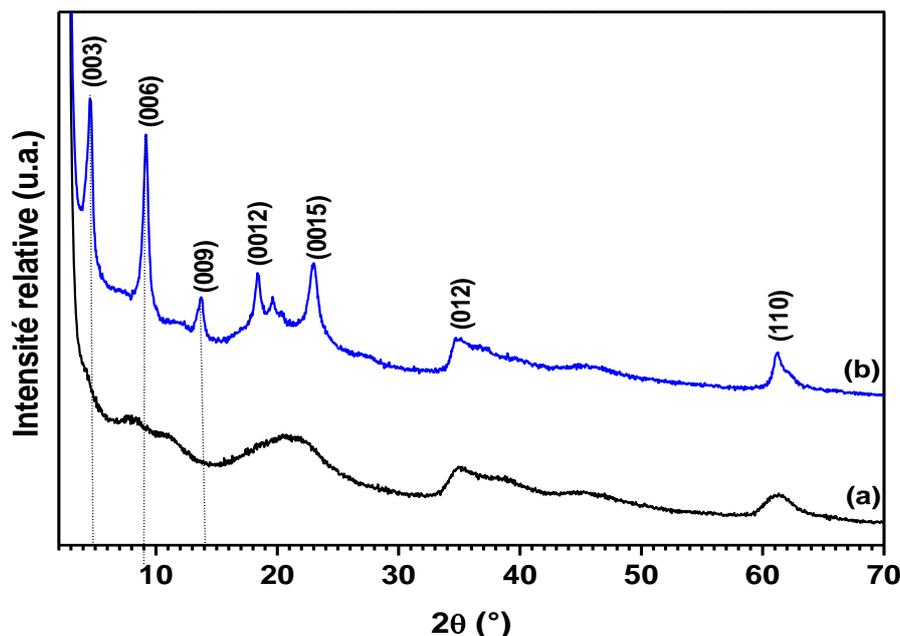


Figure 4.12 : Diffractogrammes X de la phase Lip@Mg₂Al obtenue **(a)** avant et **(b)** après TH à 100°C pendant 16 h.

Après échange anionique (figure 4.12.a.), il y a apparition des réflexions basales (110) et (012) qui confirme la formation du feuillet HDL. De plus, les réflexions basales (00 l) sont larges ce qui indiquerait une certaine désorganisation de la phase intercalée. Néanmoins, cette désorganisation disparaît après le traitement hydrothermal réalisé pendant 16 h à 100°C. En effet, l'apparition des raies (00 l) d'ordre élevé montre que le caractère lamellaire du matériau s'accroît selon la direction a - b avec une distribution uniforme des cations métalliques dans les feuillets et certainement une forme de cristallite plus régulière. Cependant, dans le cas où les cristallites sont soigneusement lavées, des facteurs autres que des interactions électrostatiques peuvent jouer un rôle clé dans la synthèse, parmi lesquels : le pH neutre, des températures/pressions élevées et des temps de réaction relativement plus longs.

Ainsi, après TH, le matériau obtenu est bien cristallisé, l'indexation de la première raie est réalisée avec une maille hexagonale dont les paramètres de maille sont : $a = 3,026 \text{ \AA}$ et $c = 57,68 \text{ \AA}$. La distance d_{003} égale à $18,59 \text{ \AA}$ suggère la réussite de l'intercalation du lipoate par le procédé de synthèse utilisé. Notons cependant que cette valeur est légèrement inférieure à celle obtenue par la technique de coprécipitation directe. Par ailleurs, la hauteur de l'espace interlamellaire est de 11 \AA . Cette valeur est très proche de la dimension de la molécule qui est de 10 \AA . En se basant sur ce résultat, un arrangement vertical monocouche des molécules de Lip entre les feuillets est proposé.

Afin de vérifier l'intercalation de l'ALA dans l'espace interlamellaire des feuillets HDL sous forme anionique, une analyse IRTF a été réalisée. Sur le spectre obtenu, la disparition du groupement carboxylique libre de l'ALA et l'émergence des bandes d'absorption de la fonction carboxylate sont observées (figure 4.13). Ceci montre clairement que l'intercalation et la préservation de l'intégrité chimique de l'anion lipoate entre les feuillets HDL a été réussie.

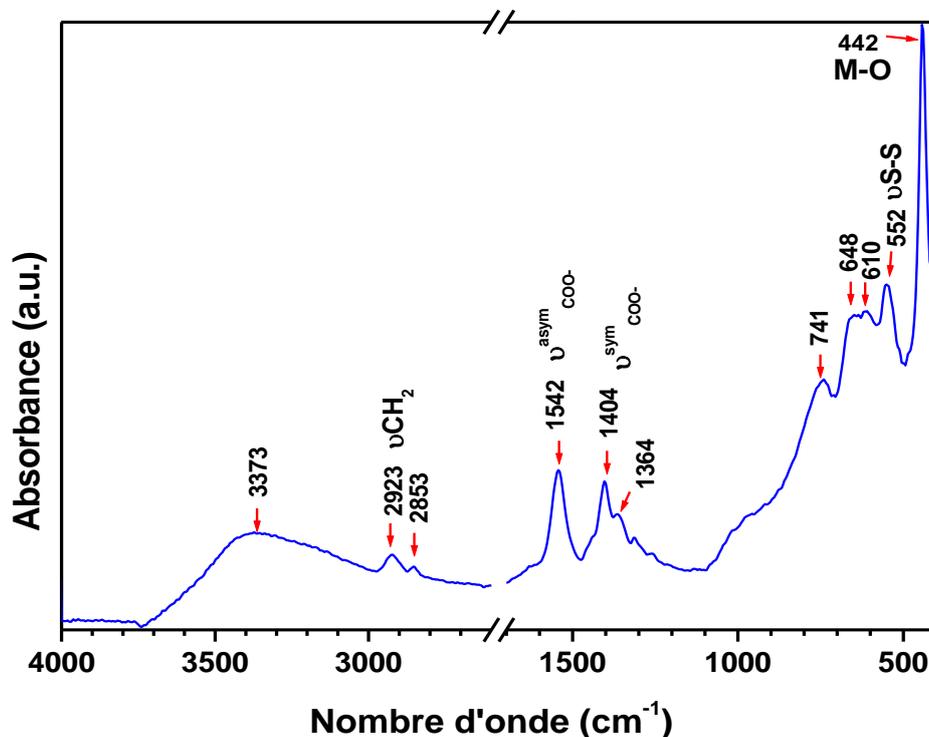


Figure 4.13 : Spectre IRTF de la phase Lip@Mg₂Al obtenue après TH à 100°C pendant 16 h.

De plus, la présence d'une bande d'une faible intensité vers 1364 cm⁻¹ est également observée. Cette bande reflète la présence d'anions carbonates et serait certainement due à des traces de CO₂ présents dans l'eau de lavage. Enfin, le spectre IRTF présente une bande fine et bien définie centrée à 442 cm⁻¹ dont l'intensité renseigne sur l'obtention d'une phase bien organisée/cristallisée.^[49]

Une analyse par DLS de suspensions diluées de la phase Lip@Mg₂Al obtenue après 16 h de TH à 100°C et avec un rapport molaire ALA/Al = 2 a été réalisée et les résultats obtenus sont représentés dans la figure 4.14

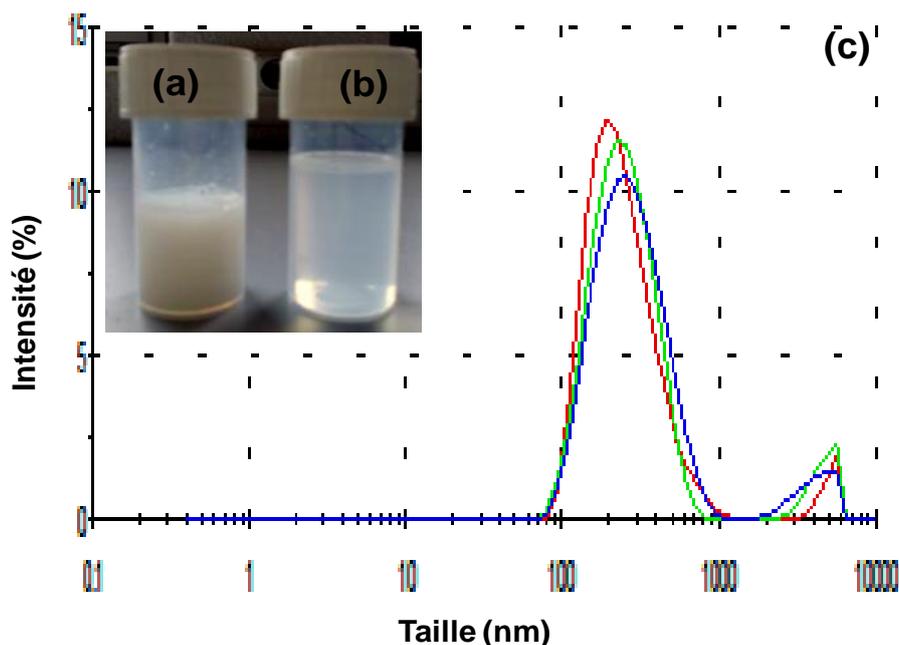


Figure 4.14 : Suspension colloïdale de la phase Lip@Mg₂Al. **(a)** Suspension fraîchement préparée, **(b)** suspension diluée. **(c)** Distribution de taille en intensité de la suspension mesurée en milieu dilué.

Nous observons que les distributions de taille obtenues sont bimodales avec un diamètre hydrodynamique moyen très intéressant de l'ordre de 227 nm et un indice de polydispersité de 0,24. Ces résultats très prometteurs offrent de grandes perspectives quant à l'utilisation de ce procédé de synthèse des hybrides Lip@Mg₂Al pour l'élaboration d'éventuelles formulations pharmaceutiques destinées à être administrées par voies orale ou intraveineuse.^[50]

a/ Influence de la concentration de l'ALA

Les diffractogrammes des hybrides Lip@Mg₂Al obtenus après TH à 100°C pendant 16 h avec des rapports ALA/Al de 1, 2 et 4 sont représentés dans la [figure 4.15](#). On observe ainsi que les diffractogrammes sont quasiment superposables et montrent des réflexions caractérisées par des distances interlamellaires d_{003} de l'ordre de 18,8 Å, 19,2 Å et 20,1 Å pour les rapports ALA/Al de 1, 2 et 4, respectivement. Par ailleurs, l'augmentation de la distance basale de 7,6 Å pour la phase chlorure de référence à une valeur moyenne de 19,3 Å, semble insuffisante pour envisager un arrangement de l'ALA en bicouche. En revanche, pour la phase préparée avec un rapport ALA/Al égal à 1, la présence d'une phase résiduelle MgAl@NO₃ est visible sur le diffractogramme.

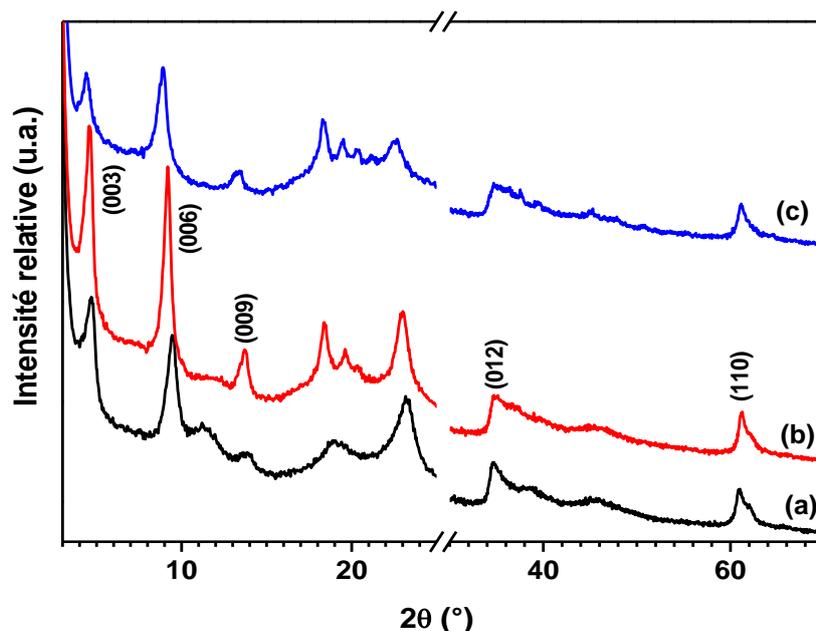


Figure 4.15 : Diffractogrammes X des phases Lip@Mg₂Al obtenues après TH à 100°C pendant 16 h avec un rapport ALA/Al égal à (a) 1, (b) 2 et (c) 4.

Les paramètres de maille calculés pour les trois échantillons sont résumés dans le [tableau 4.6](#). On remarque que le paramètre de maille *c* croît avec l'augmentation du rapport ALA/Al, passant de 56,46 Å pour un rapport ALA/Al de 1 à 60,48 Å lorsqu'il est égal à 4. Rappelons que la valeur du paramètre *c* dépend essentiellement de l'espèce anionique introduite dans l'espace interlamellaire.

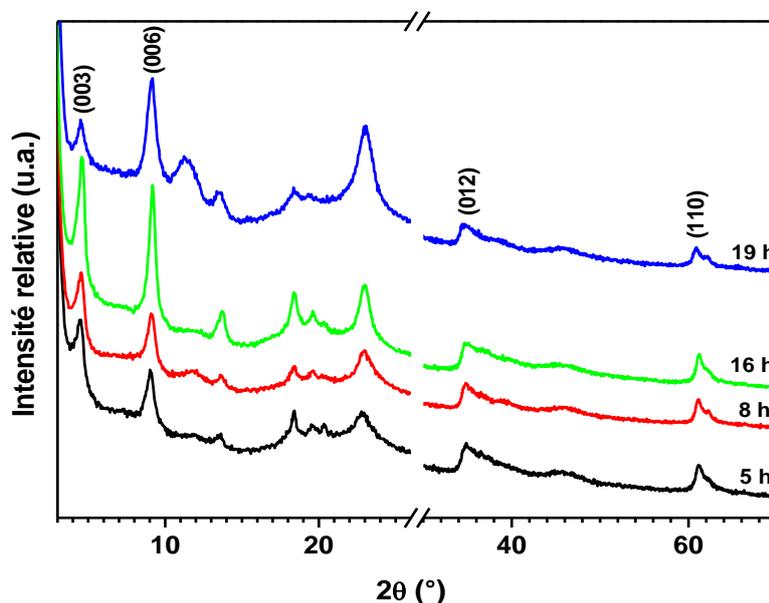
[Tableau 4.6](#). Paramètres de maille des phases Lip@Mg₂Al TH à 100°C pendant 16 h aux différents rapports ALA/Al.

Rapport molaire ALA/Al	d_{003} (Å)	d_{110} (Å)	<i>a</i> (Å)	<i>c</i> (Å)
1:1	18,82	1,519	3,038	56,46
2:1	19,22	1,513	3,026	57,68
4:1	20,16	1,514	3,028	60,48

Enfin, il était important de vérifier que les suspensions colloïdales synthétisées des phases Lip@Mg₂Al obtenues après TH 100°C pendant 16 h avec différents rapports molaires restent stables dans le temps. Pour cela, la mesure de la taille des particules par la technique DLS a été réalisée après 96 h. Dans le cas de l'hybride préparé avec un rapport molaire ALA/Al de 4, on s'aperçoit que ce rapport induit une importante sédimentation des particules dont la taille hydrodynamique mesurée supérieure à 1 μ m. C'est pour cela que le rapport molaire ALA/Al de 2 a été préférentiellement utilisé dans ce travail.

b/ Effet de la durée du traitement hydrothermal

Les diffractogrammes des hybrides Lip@Mg₂Al obtenus après TH à 100°C pendant 5, 8, 16 et 19 h pour un rapport molaire ALA/Al = 2 sont représentés dans la [figure 4.16](#).



[Figure 4.16](#) : Diffractogrammes X des phases Lip@Mg₂Al obtenus après TH à 100°C pendant 5, 8, 16 et 19 h avec un rapport ALA/Al = 2.

En effet, pour une durée supérieure à 16 h en TH, l'information sur l'empilement est presque perdue, la raie (001) est très faiblement définie. Il serait donc possible que cette phase soit légèrement exfoliée néanmoins un maintien de l'organisation du feuillet car la raie (110) vers $2\theta \approx 61^\circ$ demeure visible. Les paramètres de maille des quatre échantillons sont renseignés dans le [tableau 4.7](#).

[Tableau 4.7](#). Paramètres de maille des phases Lip@Mg₂Al préparés à 100°C avec un rapport ALA/Al = 2:1.

Temps de TH (h)	d_{003}	d_{110} (Å)	a	c
5	19,74	1,513	3,026	59,23
8 h	19,43	1,513	3,026	58,29
16 h	19,22	1,513	3,026	57,68
19 h	19,56	1,517	3,034	58,68

Par ailleurs, des mesures effectuées par DLS sur les différents hybrides Lip@Mg₂Al ont été réalisées. Les résultats obtenus sont reportés dans le [tableau 4.8](#).

Tableau 4.8. Récapitulatifs des conditions de synthèses et des résultats de mesure DLS des suspensions Lip@Mg₂Al.

Rapport molaire ALA/Al	Temps du TH à 100°C (h)	Taille moyenne (nm)	PDI
1:1	16	255-300	0,242
	8	146-1578	0,555
2:1	16	225-230	0,238
	19	270-291	0,269
4:1	16	3078	0,464

Il s'avère qu'un TH de 8 ou 19 h donne lieu des particules beaucoup plus grosses, indiquant la présence de particules agrégées. En effet, il semblerait que pour un TH de 8 h à 100 °C l'hybride est fortement polydispersé (PDI de 0,555), tandis que le traitement de 19 h produit des cristallites HDL un peu plus grosses.

Une étude morphologique par MEB, a été réalisée sur deux solides, Lip@Mg₂Al, récupérés après l'étape ultracentrifugation (figure 4.17). La taille nanométrique des échantillons a ainsi été confirmée.

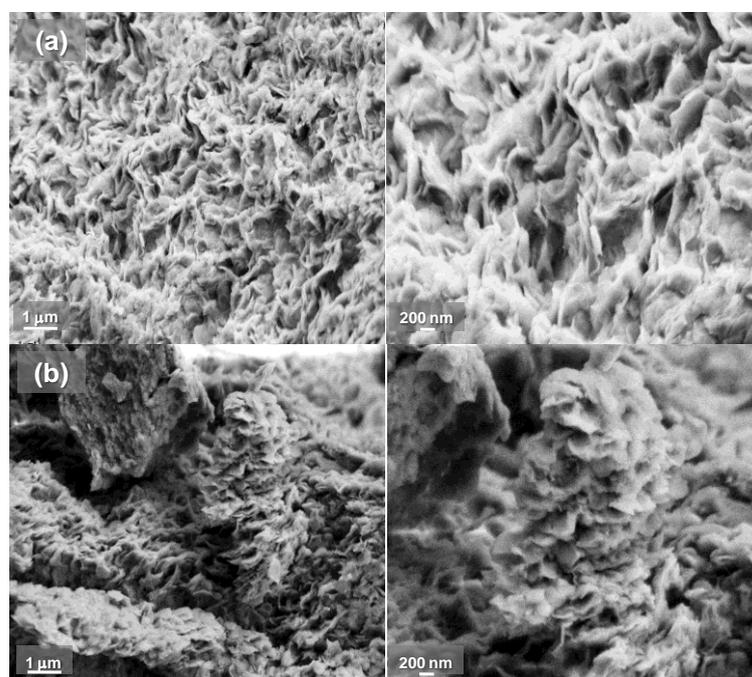


Figure 4.17 : Photographies des phases Lip@Mg₂Al obtenues après TH à 100°C **(a)** rapport ALA/Al = 1 pendant 16 h. **(b)** rapport ALA/Al = 2 durant 19 h, observées par MEB à deux grossissements différents.

De plus, nous avons constaté que sur des temps relativement longs, les suspensions ne peuvent pas être considérées comme étant restées parfaitement stables et homogènes lorsqu'elles sont au repos. Cependant, dans le cas de la suspension Lip@Mg₂Al préparée avec un rapport ALA/Al = 1, la suspension reste plus au moins stable comme le montre la figure 4.18.

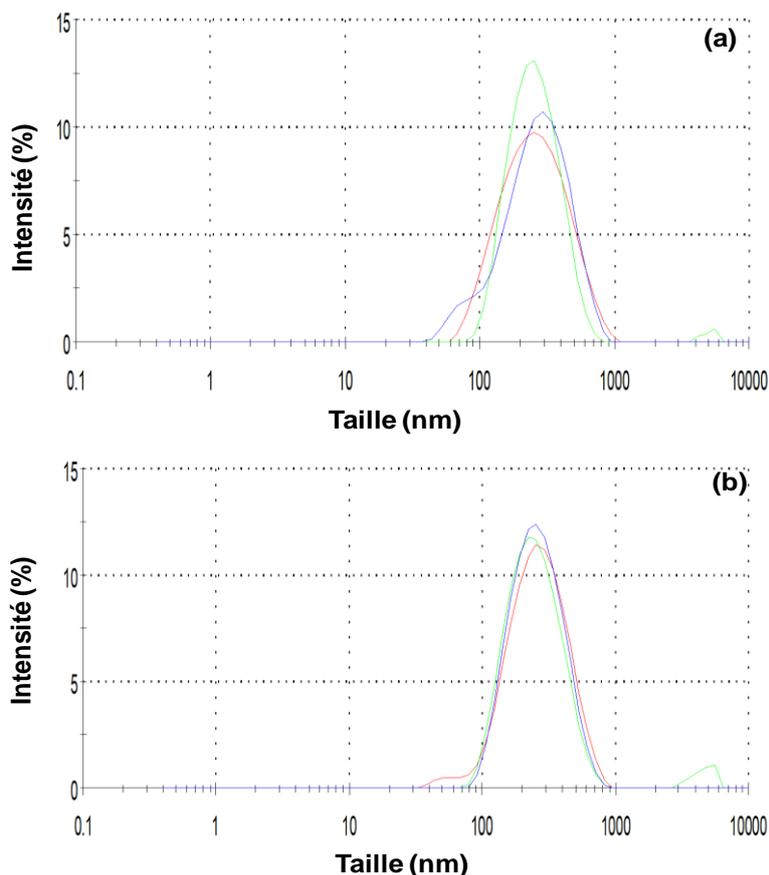


Figure 4.18 : Comparaison de la taille des nanoparticules Lip@Mg₂Al (ALA/Al = 1) **(a)** suspension fraîchement préparée, **(b)** mesure réalisée après 10 j.

Références bibliographiques

- [1] https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=acide_alpha_lipoique.
- [2] B. Zehnpfennig, P. Wiriyasermkul, D. A. Carlson, M. Quick. *J. Biol. Chem.* 290 (2015) 16372-16382.
- [3] A.V. Shindyapina, T.V. Komarova, E.V. Sheshukova, N.M. Ershova, V.N. Tashlitsky, A.V. Kurkin, I.R. Yusupov, G.V. Mkrtychyan, M.Y. Shagidulin, Y.L. Dorokhov. *Front. Neurosci.* 11 (2017) 651.
- [4] K.P. Shay, R.F. Moreau, E.J. Smith, T.M. Hagen. *Life* 60(6) (2008) 362-367.
- [5] N. Ikuta, A. Tanaka, A. Otsubo, N. Ogawa, H. Yamamoto, T. Mizukami, S. Arai, M. Okuno, K. Terao, S. Matsugo. *Int. J. Mol. Sci.* 15 (2014) 20469-20485.
- [6] A.R. Smith, S.V. Shenvi, M. Widlansky, J.H. Suh, T.M. Hagen. *Curr. Med. Chem.* 11 (2004) 1135-1146.
- [7] D. Ziegler, H. Nowak, P.A. Low. *Diabet. Med.* 21(2) (2004) 114-121.

- [8] R.J. Ruhnau, H.P. Meissner, J.R. Finn, M. Reljanovic, M. Lobisch, K. Schütte, D. Nehrdich, H.J. Tritschler, H. Mehnert, D. Ziegler. *Diabet. Med.* 16(12) (1999) 1040-10430.
- [9] M. Koufaki. *Expert Opin. Ther. Pat.* 24(9) (2014) 993-1005.
- [10] F.A. Moura, K.Q de Andrade, J.C.F. dos Santos, M. Oliveira, F. Goulart. *Curr. Top. Med. Chem.* 15 (2015) 458-483.
- [11] A.A. Filina, N.G. Davaydona, S.N. Endrikhovskii, A.M. Shamshinova. *Vest. Oftalmol.* 111 (1995) 6-8.
- [12] M. Rossini, V. Andrisano, M. Bartolini, M.L. Bolognisi, P. Hrelia, A. Minarini, A. Tarozzi, C. Melchiorre. *J. Med. Chem.* 48 (2005) 360-363.
- [13] D. Magis, A. Ambrosini, P. Sandor, J. Jacquy, P. Laloux, J. Schoenen. *Headache* 47 (2007) 52-57.
- [14] H. Beitner. *Br. J. Dermatol.* 149 (2003) 841-849.
- [15] G. Bjørklund, G. Crisponi, V. M. Nurchi, R. Cappai, A.B. Djordjevic, J. Aaseth. *Molecules* 24 (2019) 3247.
- [16] L. Zhao, V. Raval, N.E.B. Briggs, R.M. Bhardwaj, T. McGlone, I.D.H. Oswald, A.J. Florence. *Cryst. Eng. Comm.* 16 (2014) 5769-5780.
- [17] J. Zhang, L. Dang, H. Wei. *J. Therm. Anal. Calorim.* 111 (2013) 2063-2068.
- [18] Y.X Li, E.Y. Park, S.T. Lima. *Food Chem.* 242 (2018) 389-394.
- [19] A. Segall, M. Sosa, A. Alami, C. Enero, F. Hormaechea, M.T. Pizzorno, C. Bregni, R. Serrao. *J. Cosmet. Sci.* 55 (2004) 449-461.
- [20] K. Kofuji, M. Nakamura, T. Isobe, Y. Murata, S. Kawashima. *Food Chem.* 109 (2008) 167-171.
- [21] H. Takahashi, Y. Bungo, K. Mikuni. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75 (2011) 633-637.
- [22] H. Ikeda, N. Ikuta, D. Nakata, H. Fukumi, K. Terao. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* doi:10.1007/s10847-011-0082-8.
- [23] N. Xia, T. Liu, Q. Wang, Q. Xia, X. Bian. *J. Microencapsul.* 34 (2017) 571-581.
- [24] J. Wang, Q. Xia. *Drug Deliv.* 21:5 (2014) 328-341.
- [25] K. Kofuji, T. Isobe, Y. Murata. *Food Chem.* 115 (2009) 483-487.
- [26] M.S. Gasser. *J. Col. Surf. B* 73 (2009) 103-109.
- [27] F. Barahuie, M.Z. Hussein, S.H.H. Al-Ali, P. Arulselvan, S. Fakurazi, Z. Zainal. *Int. J. Nanomed.* 8 (2013) 1975-1987.
- [28] F. Barahuie, M.Z. Hussein, Arulselvan P. Arulselvan, S. Fakurazi, Z. Zainal. *Sci. Adv. Mater.* 5 (2013) 1983-1993.
- [29] X. Kong, L. Jin, M. Wei, X. Duan. *Appl. Clay Sci.* 49 (2010) 324-329.
- [30] C. Pagano, P. Calarco, M.R. Ceccarini, T. Beccari, M. Ricci, L. Perioli. *Cosmetics* 6 (2019) 35; doi:10.3390/cosmetics6020035.
- [31] A.H. Faraji, P. Wipf. *Bioorg. Medicinal Chem.* 17 (2009) 2950-2962.
- [32] L. Dussault. Thèse de doctorat. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2005.
- [33] Z.P. Xu, G. Stevenson, C.Q. Lu, G.Q. (Max) Lu. *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 16923-16929.
- [34] L. Li, W. Gu, J. Chen, W. Chen, Z.P. Xu. *Biomaterials* 35 (2014) 3331-3339.
- [35] A. De Roy, C. Forano, K. El Malki, J.P. Besse. 1992. Anionic clays: Trends in pillaring chemistry. In: M.L. Occelli and H.E. Robson (Editors), *Expanded Clays and Other Microporous Solids*. Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 108-169.
- [36] S. Kim, J. Fabel, P. Durand, E. André, C. Carteret. *Eur. J. Inorg. Chem.* 3 (2017) 669-678.
- [37] J. Li, S. Zhang, Y. Chen, T. Liu, C. Liu, X. Zhang, M. Yi, Z. Chua, X. Han. *RSC Adv.* 7 (2017) 29051-29057.
- [38] H. Wang, C. Jia, X. Xia, E. Karangwa, X. Zhang. *Food Chem.* 240 (2018) 736-742.
- [39] M.S. San Román, M.J. Holgado, B. Salinas, V. Rives. *Appl. Clay Sci.* 55 (2012) 158-163.

- [40] H.S. Panda, R. Srivastava, D. Bahadur. *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 15090-15100.
- [41] A.G. Young, D.P. Green, A.J. McQuillan. *Langmuir* 23 (2007) 12923-12931.
- [42] K. Chandraker, S.K. Vaishnav, R. Nagwanshi, M.L. Satnami. *J. Chem. Sci.* 127 (2015) 2183-2191.
- [43] G.B. Deacon, R.J. Phillips. *Coord. Chem. Rev.* 33 (1980) 227-250.
- [44] K. Nakamoto. *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds*, 6^{ème} ed., Wiley, Hoboken, N.J., 2009.
- [45] C.C.R. Sutton, G. da Silva, G.V. Franks. *Chem. Eur. J.* 21 (2015) 6801-6805.
- [46] A. Kisanuki, Y. Kimpara, Y. Oikado, N. Kado, M. Matsumoto, K. Endo. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 48 (2010) 5247-5253.
- [47] C.P. Racz, S. Santa, M. Tomoiaia-Cotisel, G. Borodi, I. Kacso, A. Pirnau, I. Bratu. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 76 (2013) 193-199.
- [48] M. Chakraborty, S. Dasgupta, C. Soundrapandian, J. Chakraborty, S. Ghosh, M.K. Mitra, D. Basu. *J. Solid State Chem.* 184 (2011) 2439-2445.
- [49] B. Grégoire, E. André, C. Ruby, C. Carteret. *Curr. Inorg. Chem.* 5:3 (2015) 169-183.
- [50] E. Bellido, M. Guillevic, T. Hidalgo, M.J. Santander-Ortega, C. Serre, P. Horcajada. *Langmuir* 20 (2014) 5911-5920.

Chapitre 5 :

Synthèse et Caractérisation de Nanostructures Magnétique@HDL comme Réservoirs de Flurbiprofène : Etude préliminaire

Ce chapitre est dédié à la préparation et à la caractérisation d'une structure hiérarchisée de type "cœur@HDL-PA". Ainsi, le PA à intercaler qui a été choisi est le Flurbiprofène (Flur), un anti-inflammatoire non stéroïdien ayant une faible solubilité aqueuse. Le cœur magnétique, quant à lui, correspond à des NPs, préparées via la voie HDL, appartenant à la famille des ferrites, à savoir le $MgFe_2O_4$. Pour cela, la coprécipitation a été utilisée pour assembler la structure finale $MgFe_2O_4@HDL-Flur$.

Les différents matériaux obtenus ont été par la suite caractérisés en utilisant plusieurs techniques à savoir : la DRX, l'ATG, la MEB et la MET, la spectroscopie IRTF, l'analyse texturale. Enfin, les propriétés magnétiques ont été déterminées au moyen d'un magnétomètre à échantillon vibrant (VSM).

Introduction

Au cours de la dernière décennie, les structures hiérarchiques à base d'HDL ont fait l'objet d'un intérêt croissant pour leur utilisation dans diverses applications spécifiques en raison de leurs propriétés multifonctionnelles.^[1] L'assemblage des HDL avec des ferrites est un domaine de recherche très prometteur. D'ailleurs, ces matériaux hybrides, sont déjà étudiés pour des applications potentielles notamment dans les domaines de la catalyse, de l'énergie et de la remédiation environnementale.^[2-5] En raison des propriétés remarquables issues de cette association, ces structures ont montré des applications intéressantes dans le domaine médical.^[6,7]

Un domaine où les HDL trouvent une grande importance est l'administration de médicaments anti-inflammatoires. En effet, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments dépourvus de noyau stéroïde qui possèdent à la fois une action anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique.^[8] Ces AINS sont l'une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde. Leur bénéfice thérapeutique est cependant limité par la survenue d'effets indésirables potentiellement graves dont (classé par ordre croissant de gravité) : une toxicité gastro-intestinale, l'apparition de saignements, l'aggravation d'une hypertension artérielle, l'apparition d'un accident vasculaire cérébral ou encore des atteintes hépatiques. Aussi, ces effets secondaires placent les AINS au premier rang de la pathologie iatrogène* médicamenteuse.^[9] Il s'avère cependant que l'intercalation des AINS dans des nanovecteurs inorganiques, telles que les HDL,^[10] permet d'augmenter leur solubilité et de contrôler leur libération dans l'environnement gastrique, tandis que leurs effets secondaires sur le tractus gastro-intestinal sont simultanément diminués.^[11]

La molécule modèle étudiée dans ce chapitre est un AINS de la classe des arylpropioniques : le Flurbiprofène (Flur) ou acide 2-(2-fluoro-4-biphényl) propionique) (figure 5.1). Comme tout AINS, il présente des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques. Il est généralement utilisé dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde.^[12] C'est une poudre cristalline blanche, pratiquement insoluble dans l'eau (0,034 mg/mL)^[13] mais soluble dans les alcools.^[14] Il s'agit d'un acide faible ($pK_a = 4,03$).^[15,16]

* Trouble, maladie provoquée par un acte médical ou par des médicaments, même en l'absence d'erreur du médecin.

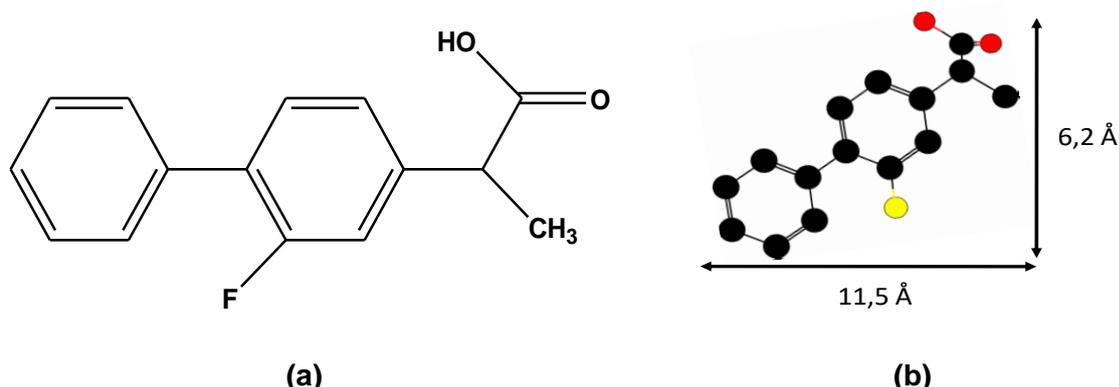


Figure 5.1 : Le Flurbiprofène. (a) Structure chimique et, (b) dimensions du Flur.

Dans ce travail, le Flur a été utilisé pour l'élaboration de matériaux hybrides et plus particulièrement de structures hiérarchisées contenant des nanoparticules de MgFe₂O₄. Ces nanoparticules ont été sélectionnées car elles sont composées d'éléments non toxiques, suggérant qu'elles présenteraient une meilleure biocompatibilité par rapport aux autres NPs de ferrite.^[17,18] La littérature rapporte des études relatives aux systèmes HDL@Flur^[19,20] mais peu d'entre elles associent une fonction magnétique à ces derniers.^[21,22] L'approche choisie pour obtenir le matériau MgFe₂O₄@HDL-Flur, a consisté d'abord à préparer des nanoparticules de ferrite de magnésium par calcination d'une phase HDL puis de préparer une seconde phase HDL intercalée par le Flur en présence de ces nanoparticules de manière à les incorporer et ainsi former un composite. Chaque étape de l'élaboration a été validée par différentes techniques de caractérisation : la DRX, l'IRTF, la microscopie électronique, la BET, l'ATG et les mesures de magnétisme.

5.1. Matériel et Méthodes

5.1.1. Réactifs

Les précurseurs des sels métalliques utilisés, fournis par Sigma-Aldrich sont : le nitrate de magnésium hexahydraté (Mg(NO₃)₂·6H₂O, 99 %), le nitrate d'aluminium nonahydraté (Al(NO₃)₃·9H₂O, 99 %) et le nitrate de fer nonahydraté (Fe(NO₃)₃·9H₂O, 98 %). Les réactifs suivants : hydroxyde de sodium (NaOH, Sigma-Aldrich, 98 %), Polyéthylène glycol BioUltra 2000 (H(OCH₂CH₂)_nOH PEG, Sigma, 99 %) et Flurbiprofène C₁₅H₁₃FO₂ (acide 2-(2-fluoro-4-biphényl) propionique, Sigma-Aldrich, 97 %) ont été utilisés tels quels.

5.1.2. Elaboration des matériaux

5.1.2.1. Synthèse du ferrite MgFe₂O₄ par la voie HDL

Le dispositif de synthèse des phases HDL, par la méthode de coprécipitation est décrit dans le détail dans le chapitre 2. De plus, un surfactant non ionique (le PEG) a été introduit

pendant la synthèse des précurseurs HDL Mg/Fe pour un effet template, susceptible d'influencer les propriétés physico-chimiques finales de la ferrite de magnésium. Les faibles quantités de PEG introduites dans la solution des sels métalliques ont pour objectifs, de modifier et/ou d'améliorer les propriétés texturales et la cristallinité des phases HDL. Rappelons que dans les surfactants non ioniques, le groupement hydrophile est de nature non dissociable, ce qui donne lieu à un groupement polaire non chargé.^[23] Ainsi, nous avons choisi des sels précurseurs type nitrates de Mg et de Fe ayant un rapport molaire Mg^{2+}/Fe^{3+} égal à 2. Dans les mêmes conditions expérimentales, les phases HDL Mg_2Fe ont été préparées en présence de 0,5, 2 et 5 % de PEG ayant un poids moléculaire moyen de 2000.

Les coprécipitations ont été réalisées durant 3 h, à pH constant égal à 11, sous air et à température ambiante. S'en est suivi un mûrissement de 20 h à 100 °C. Le précipité obtenu par la suite est lavé/centrifugé plusieurs fois à l'eau distillée puis séché dans une étuve à 70°C. Le solide est alors broyé finement dans un mortier. Il est enfin calciné à 900°C à l'air dans un four à moufle pendant trois heures avec une rampe de température de 3 °C/min.

5.1.2.2. Synthèse des hybrides $MgFe_2O_4@Mg_2Al$ -Flurbiprofène

Nous avons commencé par préparer l'hybride Flur@ Mg_2Al . La synthèse est réalisée selon la méthode de coprécipitation, à pH constant égal à 10. Les sels cationiques sont exclusivement des sels nitrates ($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 6,2 mmol et $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, 3,1 mmol). Le rapport molaire Flur/Al est fixé à 1,2. Le protocole de synthèse est similaire à celui présenté dans le chapitre 2 (c.f. paragraphe 2.1.1. page 71). Le précipité subit un mûrissement à 80 °C pendant 24 h avant les étapes de lavages. Le précipité est ensuite séché dans une étuve à 80 °C.

La synthèse des composites $MgFe_2O_4@Mg_2Al$ -Flur a été réalisée de manière identique à celle du Flur@ Mg_2Al . La coprécipitation simultanée des sels métalliques et d'une solution du Flur, dans 30 mL d'une suspension contenant 80 mg de $MgFe_2O_4$. La coprécipitation est réalisée à pH constant égal à 10, sous azote durant 3 h et à température ambiante. Le mûrissement quant à lui, est réalisé pendant 24 h à 80 °C. Ensuite, le précipité est lavé/centrifugé plusieurs fois à l'eau distillée puis est séché dans une étuve à 80 °C.

5.1.3. Caractérisations des matériaux synthétisés

Les diffractogrammes X ont été enregistrés sur un diffractomètre D8 Advance (Bruker) équipé d'une anticathode en cuivre délivrant une radiation filtrée $Cu K\alpha_{1,2}$ ($\lambda = 1,54050 \text{ \AA}$), dans un domaine angulaire de 2° à 70° en 2θ avec un pas de 0,02°. Les spectres infrarouges à transformé de Fourier ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre Alpha (Bruker) dans la gamme 400-4000 cm^{-1} . Les échantillons sous forme de poudre ont été analysés en mode ATR

moyennant 32 scans et une résolution de 4 cm^{-1} . L'analyse thermogravimétrique a été réalisée à l'aide d'une microbalance SDT Q600 TA Instrument. Les échantillons, sous forme de poudre, sont placés dans un creuset ouvert en alumine, qui est lui-même supporté par le fléau d'une balance située dans le four. L'analyse se déroule sous flux d'azote (100 mL/min) en chauffant à une vitesse de $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ dans l'intervalle de températures de 50 à $1000 \text{ }^\circ\text{C}$. Pour l'analyse MEB-EDX, les échantillons ont été analysés à l'aide d'un microscope Hitachi S-4800. Les images MET ont été observées à l'aide d'un microscope JEOL 1200 EX II fonctionnant à une tension d'accélération de 200 kV . Les isothermes d'adsorption/désorption d'azote ont été mesurées dans un analyseur ASAP2020 (Micromeritics) à $-196 \text{ }^\circ\text{C}$. Avant d'effectuer les mesures, les échantillons ont été dégazés à $80 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 6 h . Enfin, les mesures d'aimantation (M) en fonction de champ (H) ont été réalisées à température ambiante à l'aide d'un magnétomètre à échantillon vibrant (VSM) MicroSense EV9.

5.2. Résultats et Discussion

5.2.1. Caractérisation des phases HDL Mg_2Fe précurseur pour la synthèse de ferrite

5.2.1.1. Analyse par diffraction des rayons X

Les diffractogrammes RX des phases HDL précurseurs des ferrites $\text{Mg}_2\text{Fe@NO}_3$ préparées en absence et en présence de PEG sont représentés dans la [figure 5.2](#). L'allure générale des diffractogrammes est caractéristique des matériaux lamellaires de type HDL.^[24] Ils présentent en effet des pics intenses aux faibles valeurs de 2θ ainsi que des pics moins intenses aux valeurs plus élevées de 2θ .

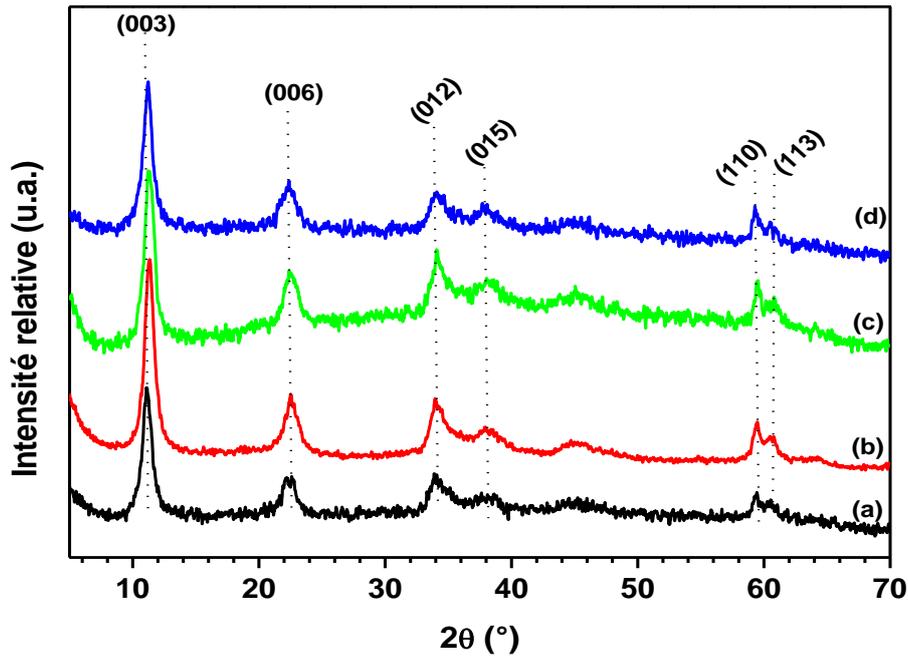


Figure 5.2 : Diffractogrammes RX des phases $Mg_2Fe@NO_3$ préparées en présence de (a) 0 %, (b) 0,5 % (c) 2 % et (d) 5 % de PEG.

En outre, si la synthèse des HDL en l'absence de carbonate comme réactif est réalisée sous air, le carbonate issu du dioxyde de carbone atmosphérique est souvent incorporé dans la région interlamellaire. Ainsi, la contamination par les anions carbonate est inévitable car les synthèses ont été réalisées à l'air. L'espace interlamellaire est occupé à la fois par des anions nitrate et carbonate. La réaction globale de la formation de la phase HDL peut s'écrire sous la forme suivante :



Par ailleurs, le diffractogramme RX de la phase $Mg_2Fe@NO_3$ préparée sans PEG (figure 5.2-a), présente les pics de diffraction attendus d'une phase pyroaurite ($Mg_6Fe_2OH_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$ (ICSD N° 27321, groupe d'espace R-3m).^[25] De plus, aucun pic relatif à la présence d'impuretés cristallines telles que le magnésium et/ou l'hydroxyde de fer n'est observé. En revanche, une nette amélioration de la cristallinité des phases préparées en présence de PEG est observée (figure 5.2-b, c et d). Pour toutes les phases HDL $Mg_2Fe@NO_3$, la valeur de la distance d_{003} varie entre 7,9-7,7 Å. Ces valeurs traduisent la présence d'anions carbonates dans l'espace interlamellaire.^[26]

Aussi, les raies (110) sont situées à des positions identiques sur tous les diffractogrammes, impliquant un rapport Mg/Fe similaire. Pour le paramètre c, qui est lié à la nature de l'espèce interlamellaire, les valeurs varient légèrement d'une phase à l'autre, bien que l'anion interlamellaire soit l'anion carbonate dans tous les cas.^[27] Autre que l'effet apporté

par la présence du surfactant, cette légère variation peut s'expliquer par la composition du feuillet et le taux d'hydratation. Ainsi, les paramètres de maille des phases obtenues correspondent à ceux rapportés dans la littérature.^[28,29]

Dans le [tableau 5.1](#), sont consignés les paramètres de maille calculés à partir des informations extraites des diffractogrammes X pour les différentes phases Mg₂Fe@NO₃ synthétisées. En ce qui concerne les phases HDL, plusieurs travaux ont rapportés des valeurs des distances interlamellaires d_{003} intercalées avec des anions NO₃⁻ de 8,7 Å^[30] et 8,9 Å.^[31] Alors que pour les phases HDL intercalées par des anions CO₃²⁻, et selon les études, des distances d_{003} sont de : 7,6 Å,^[32] 7,5 Å,^[33] et 7,86 Å.^[34] Ainsi, ces différentes valeurs des distances interlamellaires sont liées aux différentes orientations adoptées par ces anions entre les feuillets inorganiques qui peuvent être perpendiculaires, inclinées et planes. Des facteurs tels que la densité de charge des feuillets, l'état d'hydratation et les méthodes de synthèse utilisées peuvent affecter la position des anions entre les feuillets HDL. Une forte contamination par les anions carbonate pendant la synthèse et les cycles de lavage et séchage n'est pas à exclure aussi.

[Tableau 5.1](#). Propriétés structurales des phases HDL Mg₂Fe@NO₃.

Mg ₂ Fe@NO ₃	d_{003} (Å)	d_{110} (Å)	Paramètres de maille (Å)		Largeur à mi-hauteur ^a de la raie (003) (°)	Taille des cristallites ^b (003)(Å)
			a	c		
0 % PEG	7,96	1,556	3,113	23,88	0,881	89,60
0,5 % PEG	7,83	1,554	3,108	23,49	0,889	88,86
2 % PEG	7,81	1,551	3,103	23,43	0,923	85,56
5 % PEG	7,77	1,557	3,114	23,31	1,002	78,80

^a Full width half maximum. ^b Taille des cristallite selon l'axe c

La taille des cristallites est définie dans le plan *a-b* comme étant un diamètre de disque ; et selon l'axe cristallographique *c*, comme étant une épaisseur. Au moyen de l'équation de Scherrer, la taille des cristallites des particules HDL a été déterminée à partir de la largeur à mi-hauteur de la première raie (003) ([tableau 5.1](#)). Il s'avère ainsi que toutes les valeurs obtenues sont à l'échelle nanométrique. On remarque également que la taille moyenne des cristallites semble être peu affectée par la quantité de PEG utilisée. On note ainsi une réduction de 12 % de la taille des domaines ordonnées suivant *c*. La largeur instrumentale n'ayant pas été prise en compte, ces valeurs sont certainement sous estimées, mais cela ne remet pas en question la comparaison ou les évolutions constatées. Ceci permet d'émettre l'hypothèse que dans le milieu de précipitation des HDL, le PEG s'opposerait à la croissance cristalline de

l'HDL selon la direction *c*. Aussi, cette faible réduction est probablement due au faible pourcentage de PEG utilisé. En effet, la quantité de PEG a été volontairement limitée à 5 %, afin de minimiser de fortes perturbations du réseau HDL.

5.2.1.2. Analyse vibrationnelle par spectroscopie IRTF

Les spectres IRTF des matériaux $Mg_2Fe@NO_3$, mesurés en mode ATR dans la gamme 4000-400 cm^{-1} , sont illustrés dans la [figure 5.3](#). On remarque ainsi que tous les spectres sont quasiment identiques et possèdent l'allure générale et caractéristique des matériaux lamellaires de type HDL intercalant des anions carbonates.^[35] Ces résultats correspondent à ceux rapportés dans la littérature.^[36,37]

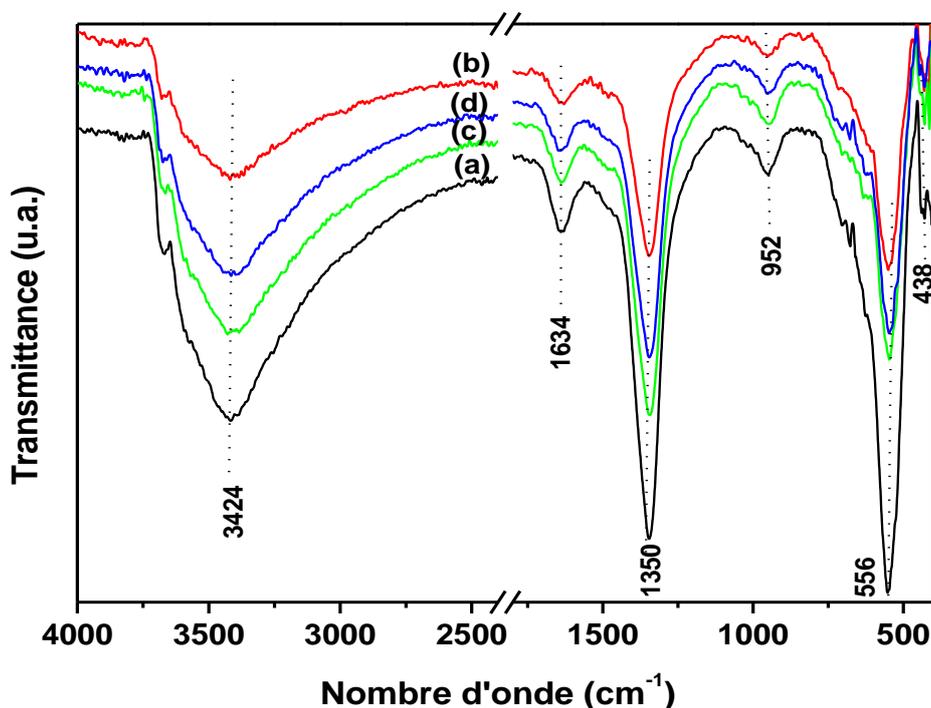


Figure 5.3 : Spectres IRTF des phases $Mg_2Fe@NO_3$ préparées en absence de PEG (a), et en présence de 0,5 % PEG (b) 2 % PEG (c) et enfin 5 % PEG (d).

En revanche, les bandes d'absorption suivantes : 841, 946, 1113, 1147, 2881 et 3412 cm^{-1} , relatives au PEG, ne sont pas observables sur les spectres IRTF.^[38]

De manière plus précise, les principales bandes de vibration identifiées sur ces spectres sont :

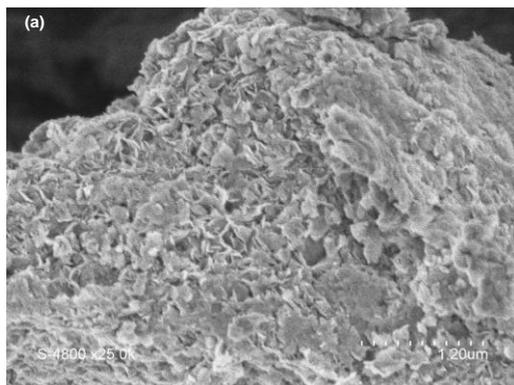
- i) Les larges bandes qui apparaissent à 3424 cm^{-1} . Elles correspondent à la présence des molécules d'eau interlamellaire, des OH structuraux et des différentes liaisons hydrogène ;
- ii) Les bandes d'absorption associées à la vibration de déformation des molécules d'eau qui apparaissent aux environs de 1630-1640 cm^{-1} ;

- iii) La bande intense et localisée à 1350 cm^{-1} indique la présence de l'anion carbonate.^[39] De plus, la bande de faible intensité, apparue à 952 cm^{-1} , peut être attribuée à la vibration d'élongation des ions carbonates non liés ou libres ν_{CO_3} ;
- iv) Les bandes apparaissant entre 555 cm^{-1} et 430 cm^{-1} correspondent à des fréquences d'étirement et de cisaillement des liaisons métal-oxygène-métal (M-O-M) formant le feuillet HDL.

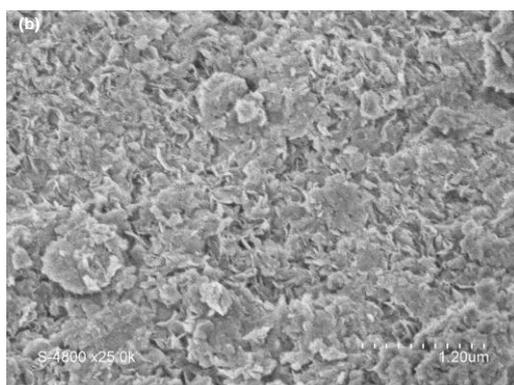
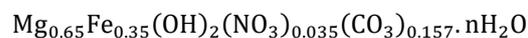
5.2.1.3. Analyse de la morphologie des matériaux

Par ailleurs, les micrographies des phases $\text{Mg}_2\text{Fe@NO}_3$ obtenues par MEB (figure 5.4) montrent des structures caractéristiques d'une structure lamellaire où une nette évolution de la cristallinité est observée. En effet, pour les phases $\text{Mg}_2\text{Fe@NO}_3$ préparées en absence de PEG ou en présence d'uniquement de 0,5 % PEG (figure 5.4-a et b) une agglomération type roses des sables mais très désorganisée avec des contours de plaquettes mal définis. De plus, les analyses par MEB permettent de confirmer l'amélioration de la cristallinité des phases HDL particulièrement dans le cas de la phase préparée avec 2 % de PEG. Aussi, elles corroborent parfaitement les résultats obtenus par l'analyse DRX.

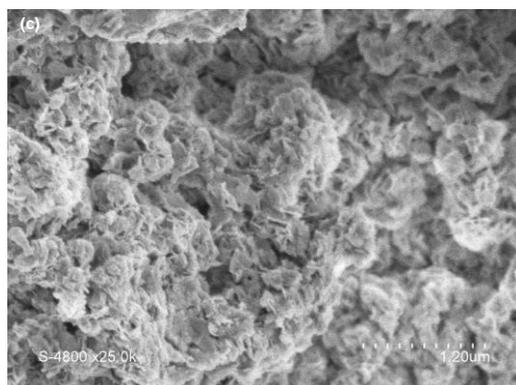
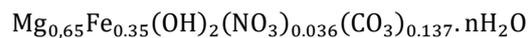
L'analyse EDX réalisée sur plusieurs cristaux montre des résultats homogènes et a permis d'identifier les pourcentages des éléments chimiques constituant les phases HDL. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux de la figure 5.4. Ainsi, les résultats sont en accord avec les compositions théoriques issues des concentrations en éléments chimiques initialement utilisés durant la synthèse, c'est-à-dire le Mg et le Fe. De plus, aucune autre impureté n'a été introduite lors de la préparation. L'analyse EDX permet également de déterminer la teneur en carbone des phases HDL. Cette teneur provient des anions carbonate. De la même manière pour le pourcentage d'azote déterminé est issu des sels nitrates utilisés. Enfin, la valeur moyenne du rapport Mg/Fe déterminée par EDX est égale à 1,81, valeur proche de la composition théorique, fixée à $\text{Mg/Fe} = 2$ lors de la synthèse. Ainsi, ces résultats confirment la formation des phases HDL souhaitées.^[40]



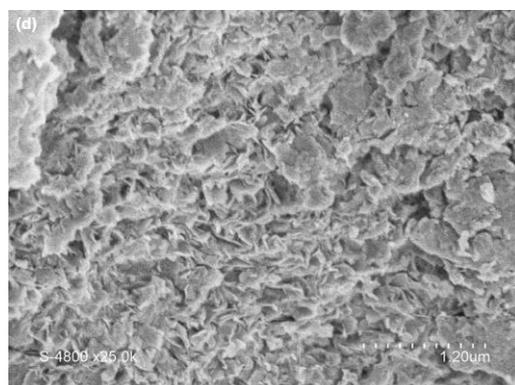
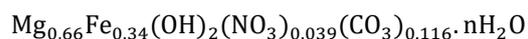
Pourcentage massique (%)				Mg/Fe
Mg ²⁺	Fe ³⁺	N	C	
21,30	26,93	0,48	3,77	1,82



Pourcentage massique (%)				Mg/Fe
Mg ²⁺	Fe ³⁺	N	C	
19,80	25,3	0,51	3,30	1,80



Pourcentage massique (%)				Mg/Fe
Mg ²⁺	Fe ³⁺	N	C	
21,00	25,50	0,55	4,00	1,89



Pourcentage massique (%)				Mg/Fe
Mg ²⁺	Fe ³⁺	N	C	
20,90	27,40	0,36	4,70	1,75

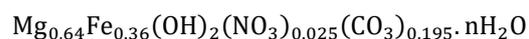
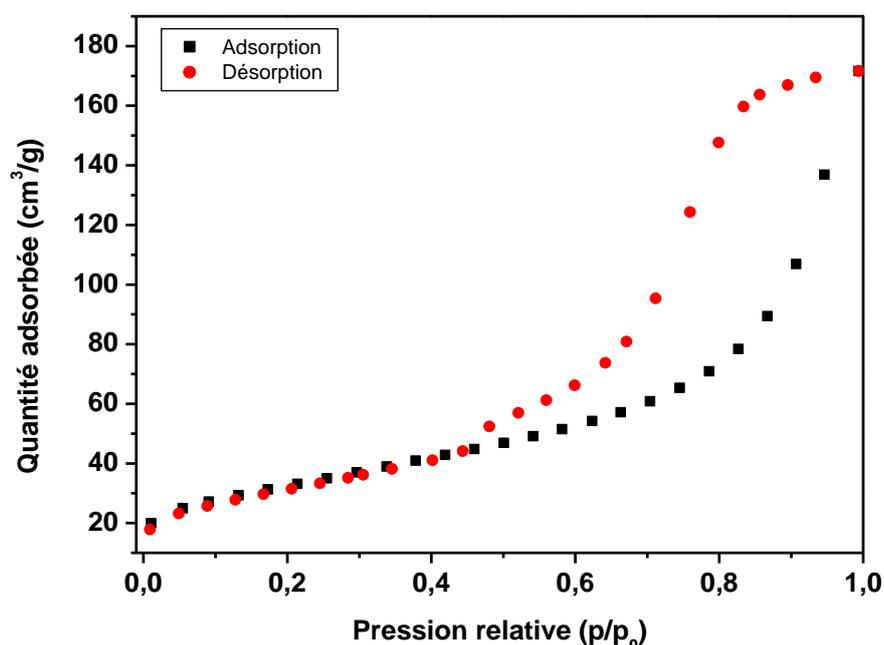


Figure 5.4 : Micrographies des phases Mg₂Fe@NO₃ préparées en (a) absence de PEG et en présence de (b) 0,5 % PEG ; (c) 2 % PEG et (d) 5 % de PEG obtenues par MEB.

5.2.1.4. Propriétés texturales des matériaux

La surface spécifique, a été déterminée par adsorption d'azote et calculée selon la méthode BET. Dans cette partie, deux phases ont été analysées le $Mg_2Fe@NO_3$ et $Mg_2Fe@NO_3$ (2 % PEG). La [figure 5.5](#) représente les isothermes d'adsorption et de désorption d'azote effectuées sur l'échantillon de référence $Mg_2Fe@NO_3$. Les isothermes sont de type IV selon la classification IUPAC, mettant ainsi en évidence le caractère mésoporeux de l'HDL préparé. Sachant que le type IV se caractérise par une inflexion, à une pression partielle relativement faible (dans ce cas, $p/p_0=0,44$),



[Figure 5.5](#) : Isothermes adsorption-désorption d'azote de l'échantillon référence $Mg_2Fe@NO_3$ (0 % PEG).

Le [tableau 5.2](#), regroupe les valeurs de la surface BET, du volume poreux total et du diamètre des pores. Le volume poreux total a été estimé comme le volume liquide d'adsorbant adsorbé (N_2) à une pression relative de 0,99 mmHg. La distribution en taille des pores des solides synthétisés est déterminée grâce à la méthode dite de BJH (Barrett, Joyner et Halenda) et appliquée à la branche de désorption.

[Tableau 5.2](#). Propriétés texturales de quelques phases $Mg_2Fe@NO_3$.

Echantillon	Surface BET (m^2/g)	Volume poreux (cm^3/g)	Diamètre des pores (nm)
$Mg_2Fe@NO_3$	116	0,26	7,01
$Mg_2Fe@NO_3$ (2 % PEG)	120	0,27	7,83

Ainsi, les deux matériaux présentent des surfaces spécifiques et la taille des pores légèrement différentes.^[41] Alors que le volume poreux total est identique (0,27 cm³/g). La taille des pores est centrée à 7 nm pour l'échantillon préparé sans PEG, alors qu'elle est de 7,8 nm pour l'échantillon préparé en présence de 2 % en PEG. Cette différence peut être due à la présence de molécules de PEG dans les pores de l'HDL. La surface spécifique obtenue pour la phase Mg₂Fe@CO₃ (2 % PEG) qui est de 120 m²/g, est supérieure à celle de la phase Mg₂Al@NO₃ (15% PEG₄₀₀) qui est de 107 m²/g obtenue par Mandal *et al.*^[42] Cet hybride a été préparé en mélangeant l'HDL et le PEG en solution aqueuse à 50°C pendant 4 h.

5.2.2. Caractérisation du ferrite MgFe₂O₄

- Préparation de la ferrite MgFe₂O₄ par calcination

Tel qu'il a été détaillé dans le chapitre 1 de ce manuscrit, les HDL présentent plusieurs avantages en tant que précurseurs des spinelles.^[43] En effet, une distribution uniforme des cations métalliques à l'échelle atomique dans les feuillets de type brucite, facilite la cristallisation d'une phase spinelle lors de la calcination.^[44]

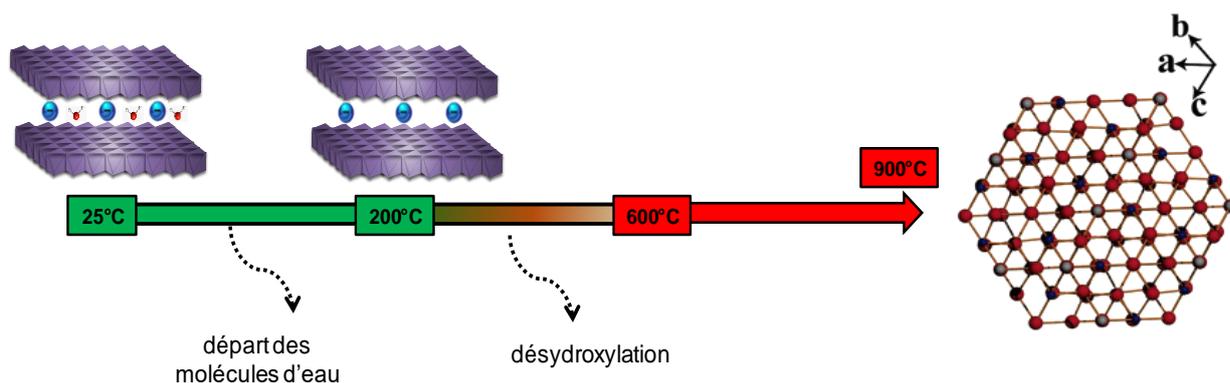


Figure 5.6 : Schéma représentant le processus de l'évolution thermique de l'HDL vers le spinelle.

5.2.2.1. Etude préliminaire du comportement thermique des phase HDL par analyse thermogravimétrique

Le comportement thermique des phases Mg₂Fe@NO₃ préparées en présence de PEG, est représenté dans la figure 5.7-A. A titre de comparaison, le thermogramme de la phase Mg₂Fe@NO₃ préparée sans PEG est quant à lui représenté dans la figure 5.7-B. Ces thermogrammes montrent que la décomposition des phases Mg₂Fe@NO₃ a lieu selon différents processus endothermiques présentant trois principales pertes de masse qui sont :

(1) La première perte de masse ayant eu lieu entre la température ambiante et 225°C correspond au départ des molécules d'eau faiblement liées et des molécules d'eau interlamellaires.^[45] ;

(2) La perte de masse se situant entre 225°C et 400°C, est attribuée au début de décomposition des anions interlamellaires et à la déshydroxylation des feuillets.^[46] ;

(3) Au-delà de 600°C, il y a déshydroxylation totale et décomposition complète de la structure.

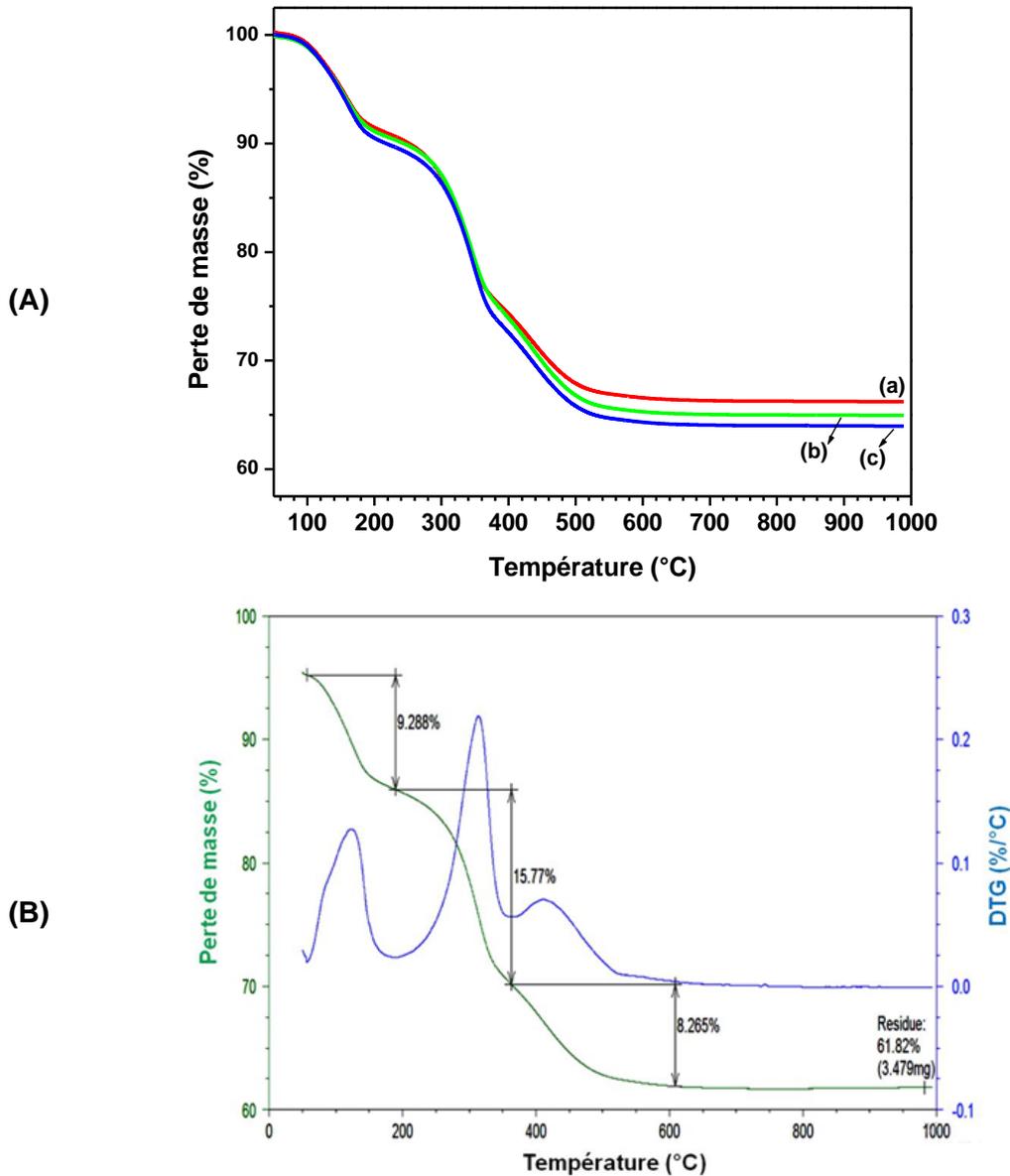


Figure 5.7 : (A) Résultats des analyses thermogravimétriques effectuées sur les HDL $Mg_2Fe@NO_3$ (a) 0,5 % PEG, (b) 2 % PEG, et (c) 5 % PEG. (B) Thermogramme ATG/DTG de l'échantillon $Mg_2Fe@NO_3$.

Ces mesures montrent que la décomposition thermique des phases HDL est obtenue dès 600°C. Les études rapportées dans la littérature ont montré qu'à cette température, nous sommes en présence d'un mélange d'oxydes (MgO , Fe_2O_3 et la phase spinelle ferrite). Afin d'obtenir uniquement la ferrite, une température de calcination de 900°C a été choisie.^[47]

5.2.2.2. Etude structurale du ferrite $MgFe_2O_4$

Ainsi, les phases $Mg_2Fe@NO_3$ préparées en absence et en présence du PEG ont été calcinées sous air à 900 °C pendant 3 h. La [figure 5.8](#) permet de comparer les diffractogrammes de ces échantillons. A première vue, ces derniers ne présentent aucune différence. Les diffractogrammes présentent des raies intenses, bien définies indiquant l'obtention de structures bien cristallisées.

Ainsi, après calcination à 900 °C, la structure HDL semble bien avoir été détruite au détriment de la formation d'une phase spinelle de $MgFe_2O_4$.

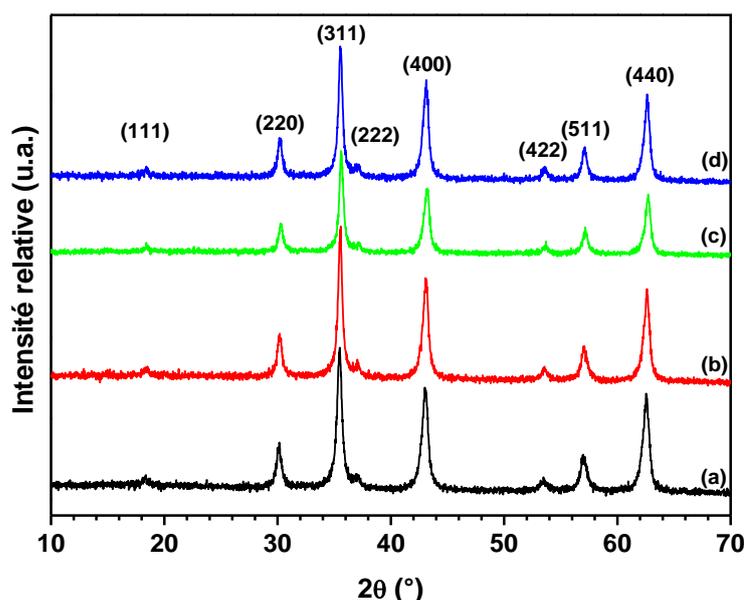


Figure 5.8 : Diffractogrammes DRX des NPs $MgFe_2O_4$ (a) 0 % PEG, (b) 0,5 % PEG, (c) 2 % PEG (d) 5 % PEG. (JCPDF 36-0398).

Par ailleurs, tous les diffractogrammes, présentent les raies de diffraction caractéristiques de la phase de ferrite de magnésium. Celle-ci étant la phase majoritaire.^[48] En effet, ces huit raies de diffraction sont localisées à 18,3° (111), 30,1° (220), 35,5° (311), 37° (222), 43,1° (400), 53,5° (422), 57,0° (511), et à 62,6° (440) JCPDS (36-0398). De plus, l'indexation des pics montre que ces échantillons cristallisent dans un système cubique à faces centrées (groupe d'espace $Fd3m$).

L'analyse DRX a permis de déterminer que les phases obtenues sont pures car aucune phase secondaire n'est donc observée. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les réflexions relatives à la présence d'une phase secondaire d'hématite ($\alpha-Fe_2O_3$) (JCPDS 04-0755), phase généralement identifiée par les raies situées à $2\theta = 33,2^\circ$ et $49,5^\circ$ ne sont pas observées^[49] En revanche, les raies caractéristiques de la phase MgO, habituellement observées à des valeurs de 2θ de $43,2^\circ$ et $62,7^\circ$ (JCPDS 45-0946) se superposent avec ceux du spinelle.

Le paramètre de maille a des NPs MgFe_2O_4 a été calculé en utilisant la raie (311) à l'aide de l'équation 2.4 (c.f. chapitre 2, page 85). Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 5.3. Le paramètre de maille calculé pour la phase préparée sans PEG est de 8,415 Å. En revanche, ce paramètre varie en fonction de la teneur en PEG et les valeurs calculées correspondent aux valeurs relevées dans la littérature.^[50]

Tableau 5.3. Paramètres de maille et taille des particules des NPs MgFe_2O_4 .

Echantillon	Paramètre a (Å)	Largeur à mi-hauteur de la raie (311) (°)	Taille des particules DRX (nm)
MgFe_2O_4 (0 % PEG)	8,415	0,554	14,88
MgFe_2O_4 (0,5 % PEG)	8,393	0,498	16,55
MgFe_2O_4 (2 % PEG)	8,388	0,462	17,86
MgFe_2O_4 (5 % PEG)	8,393	0,461	17,89

Néanmoins, cette variation dans le paramètre de maille semble être une indication sur un éventuel réarrangement des cations dans les sites octaédriques et tétraédriques de la phase spinelle. L'introduction de PEG entraîne dans tous les cas une diminution du paramètre de maille qui passe par un minimum pour 2 % de PEG ($a \sim 8,38$ Å). Ceci peut être dû à une variation des quantités respectives de cations Mg^{2+} et Fe^{3+} au sein du spinelle. Cependant, cette variation est plus particulièrement liée à la distribution de cations Fe^{3+} dans les sites tétraédriques (Td) ou octaédriques (Oh).^[51] La ferrite de magnésium nécessite des températures de frittage élevées de l'ordre de 1350°C pour obtenir le contrôle souhaité sur la distribution des ions Mg^{2+} sur les sites octaédriques et tétraédriques. Enfin, plusieurs travaux scientifiques ont mis en évidence l'influence de la méthode de préparation des NPs MgFe_2O_4 sur leurs propriétés physico-chimiques et sur leurs performances (tableau 5.4). La coprécipitation *via* la voie HDL n'étant pas seule méthode de synthèse existante pour obtenir ces NPs. Shen *et al.*^[52] ont par exemple montré que la méthode solvothermale pouvait être une méthode adéquate pour la préparation de spinelles de magnésium et de fer. D'autres groupes comme celui de Holec *et al.*, ont rapporté que la méthode de préparation par microémulsion donne des valeurs d'aimantation à saturation élevées.^[53] Aussi, Feng *et al.*, ont eux aussi réussi à préparer ces NPs mais cette fois-ci par la méthode sol-gel.^[49] Cependant, l'inconvénient de cette dernière méthode réside dans l'utilisation de précurseurs onéreux comme les alcoxydes. Il s'avère ainsi que parmi toutes ces méthodes de préparation des phases spinelles, la coprécipitation des précurseurs métalliques semble être la méthode la plus simple, la plus rapide et la moins coûteuse.^[52,55]

Tableau 5.4. Propriétés des NPs $MgFe_2O_4$ obtenus par différentes voies de synthèses.

Méthode de synthèse	Réactifs utilisés	Agent précipitant	Mode de Préparation	Paramètre de maille (Å)	Diamètre (nm)	Réfs
Coprécipitation par la voie HDL	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ $FeCl_2 \cdot 4H_2O$	$NaOH/Na_2CO_3$	Calcination 1100 °C/2 h	8,379	85	[46]
	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	$NaOH/K_3[Fe(CN)_6]$	Calcination 900 °C/2 h	8,390	50	[48]
	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ $FeCl_2 \cdot 4H_2O$	$NaOH$	Calcination 900 °C/2 h	-	46	[54]
	$MgCl_2$ $FeCl_3$	$NaOH/NaHCO_3$	Calcination sous champ magnétique (0T et 10 T) 800 °C/ 2 h	-	-	[55]
	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ PVA	-	Calcination 800 °C/2 h	8,407	43	[49]
Solvothermale	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ Éthylène glycol	$NaAc / PEG$	Calcination 200 °C / 22 h	-	12,8	[52]
Microémulsion	$Mg(OCH_3)_2$ $Fe(OCH_2CH_3)_3$ Cyclohexane 1-octanol	C_2H_5ONa	Calcination 900 °C / 1 h	-	32	[53]
Coprécipitation	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ $FeCl_2 \cdot 4H_2O$	$Na_2SiO_4 \cdot 9H_2O$	Calcination 800°C/ -	8,43	8,2	[51]
	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	$NaOH$	Calcination 500°C/ 3 h	8,380	12,1	[56]
Réaction à l'état solide	$Mg(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	$NaOH$	Calcination 700°C/ 2 h	8,4076	-	[57]

$K_3[Fe(CN)_6]$: Ferricyanure de potassium. PVA : Alcool polyvinylique. C_2H_5ONa : Ethanolate de sodium. NaAc : Acétate de sodium. PEG : Polyéthylène glycol. $Na_2SiO_4 \cdot 9H_2O$: Métasilicate de sodium nonahydraté.

5.2.2.3. Analyse vibrationnelle par spectroscopie IRTF

La [figure 5.9](#) représente les spectres IRTF des échantillons MgFe_2O_4 . Après traitement thermique à 900 °C, les spectres obtenus révèlent encore une fois, l'absence de bandes caractéristiques de la phase HDL. En effet, la littérature révèle que dans la gamme allant de 1000 à 100 cm^{-1} , la présence de bandes d'absorption IRTF sont généralement attribuées à des vibrations des ions métalliques dans le réseau cristallin.^[58] Chez tous les spinelles, et en particulier dans la ferrite MgFe_2O_4 , les deux principales bandes M-O sont observées. La bande la plus intense ν_1 , observée dans la gamme 520-600 cm^{-1} , correspond aux vibrations d'étirement du métal au niveau des sites tétraédriques ($M_{\text{tétra}}\text{-O}$), tandis que la bande la plus basse ν_2 , observée vers 396-425 cm^{-1} , est attribuée aux vibrations d'étirements ($M_{\text{octa}}\text{-O}$) du métal situé dans les sites octaédriques.^[59]

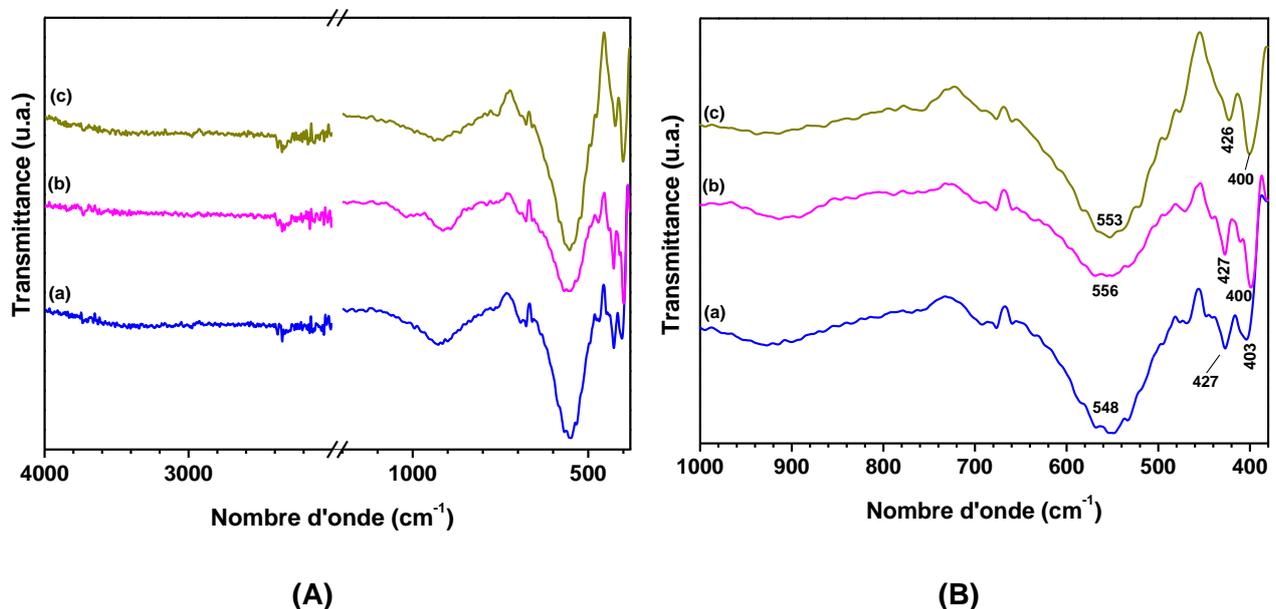


Figure 5.9 : Spectres IRTF des NPs MgFe_2O_4 préparées en présence de **(a)** 0,5 %, **(b)** 2 % et **(c)** 5 % de PEG dans les domaines spectraux **(A)** 4000-400 cm^{-1} et **(B)** 1000-400 cm^{-1} .

5.2.2.4. Etude de la morphologie des ferrites

Les micrographies MEB des spinelles obtenus après calcination des phases HDL préparé sans PEG et en présence de 2 % de PEG sont représentés dans les [figures 5.10-a et b](#), respectivement. Aucun changement dans la morphologie des échantillons analysés n'est observé. L'allure générale des matériaux correspond en fait à l'allure caractéristique des précurseurs lamellaires de départ. Ceci démontre clairement, la décomposition de type topotactique lors de la formation des spinelles.^[60,61] Le cliché MET quant à lui ([figure 5.10-c](#)) montre des NPs de ferrite magnésium avec des particules fortement agrégées.

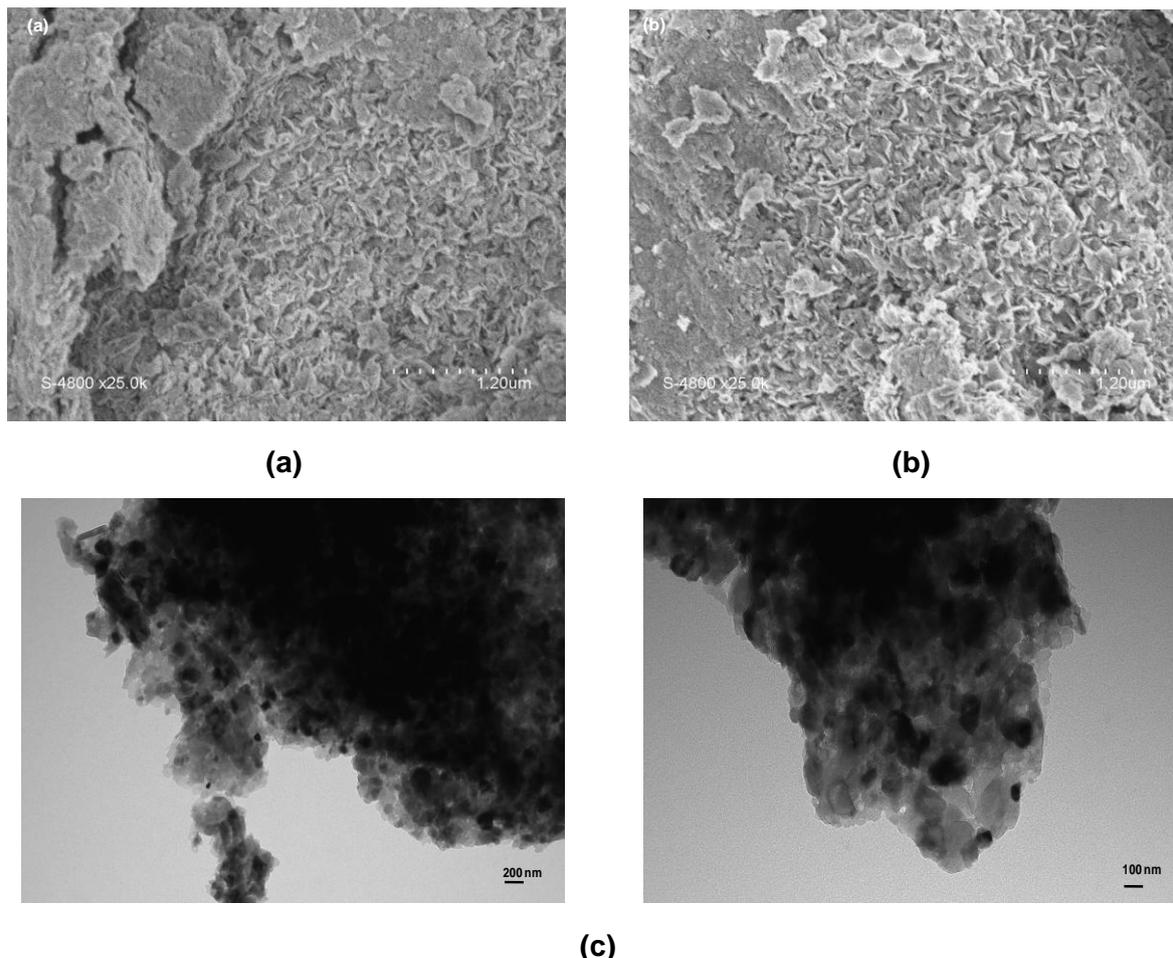


Figure 5.10 : Micrographies des NPs $MgFe_2O_4$. **(a)** 0 % PEG ; **(b)** 2 % PEG, observées par MEB. **(c)** Micrographies de NPs $MgFe_2O_4$ (2 % PEG) observées par MET.

5.2.3. Caractérisation des hybrides $MgFe_2O_4@Mg_2Al$ -Flurbiprofène

- Sélection des échantillons pour l'intercalation

Le développement de procédés de synthèse permettant l'obtention de NPs de ferrite de magnésium de taille contrôlée, nous a permis d'élaborer une large gamme d'échantillons dont la taille varie de dix nanomètres à une vingtaine de nanomètres. Néanmoins, pour la préparation de matériaux hybrides contenant le Flur, nous avons sélectionné la phase HDL : $Mg_2Al@NO_3$ pour la préparation du matériau $Mg_2Al@Flur$ et les NPs de $MgFe_2O_4$ sont issues de la voie HDL préparées avec 2 % en PEG pour former le cœur magnétique de l'hybride $MgFe_2O_4@Mg_2Al$ -Flur. L'étude structurale a été menée sur ces trois matériaux.

De plus, nous savons que durant le processus de synthèse des matériaux d'intérêt, le choix du pH du milieu réactionnel est important car il gouverne le déroulement de l'intercalation du PA. En effet, en tenant compte du diagramme de spéciation de Flur ([figure 5.11](#)) dont le pKa est égal à 4,03. Ce dernier montre clairement qu'à partir d'un pH de 7, l'espèce unique dissociée en solution est l'anion flurbiprofène.

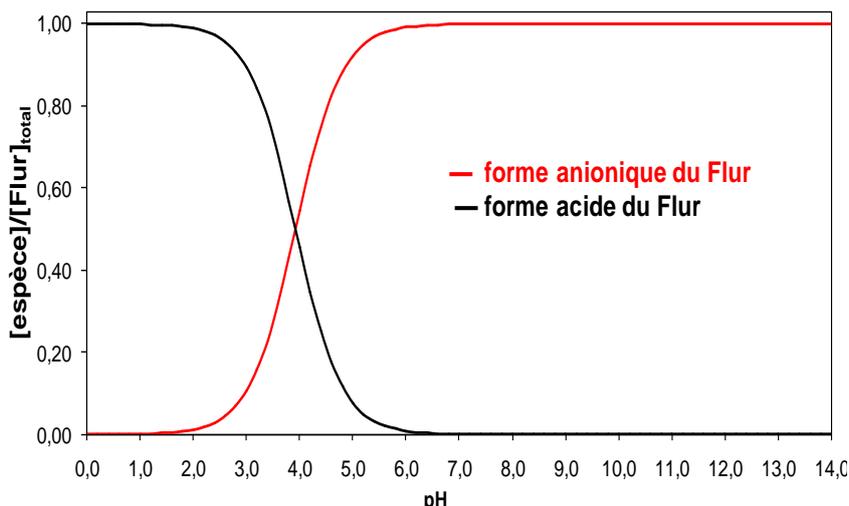


Figure 5.11 : Diagramme de spéciation du Flur.

Nous avons par conséquent, réalisé l'intercalation du Flur par coprécipitation à pH 10, qui est aussi, le pH adéquat pour la coprécipitation de la phase MgAl.

5.2.3.1. Analyse structurale par DRX

Les diffractogrammes des composés biohybrides $Mg_2Al@Flur$ et $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$ obtenus sont représentés dans la figure 5.12. Ils sont comparés au diffractogramme obtenu pour la phase précurseur le $Mg_2Al@NO_3$.

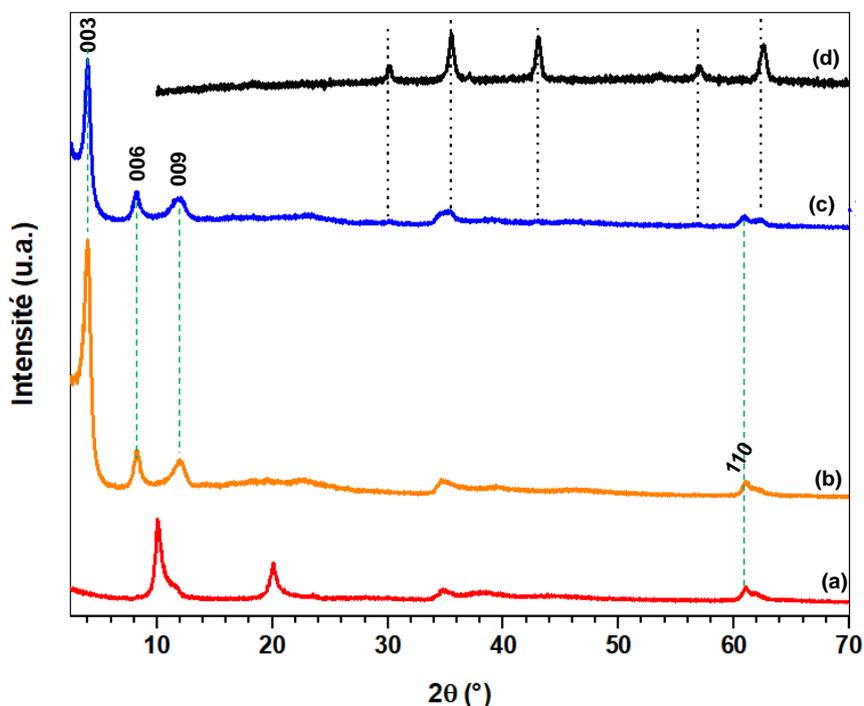


Figure 5.12 : Diffractogrammes RX des échantillons préparés par coprécipitation. (a) $Mg_2Al@NO_3$, (b) $Mg_2Al@Flur$, (c) $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$ et (d) NPs de $MgFe_2O_4$.

Dans un premier temps, la distance réticulaire d_{003} de 8,7 Å a été déterminée pour la phase $Mg_2Al@NO_3$ et confirme ainsi la présence d'anions nitrate dans le domaine interlamellaire. Dans un deuxième temps, le diffractogramme de l'échantillon $Mg_2Al@Flur$, met en évidence un changement notable par rapport à la phase précurseur $Mg_2Al@NO_3$. En effet, le déplacement de la raie (003) vers les faibles valeurs de 2θ , traduit l'accroissement de la distance interlamellaire de 8,7 Å à 22,22 Å. Cette augmentation est attribuée à l'incorporation des anions Flur entre les feuillets HDL. La présence de la raie (113) semble indiquer la présence d'une phase supplémentaire, probablement une phase carbonate. Néanmoins, la cristallinité des feuillets, ne semble pas avoir été affectée ni modifiée. Enfin, le diffractogramme de l'échantillon $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$ (figure 5.12-c), permet de mettre en évidence : *i*) une constance au niveau de la distance interlamellaire d_{003} (de 22,23 Å) par rapport à celle du composé $Mg_2Al@Flur$ et la présence de la série de pics harmoniques (00*l*) de la phase HDL. Ainsi, à faible teneur de NPs $MgFe_2O_4$, l'intercalation du Flur n'est pas perturbée ; *ii*) les pics caractéristiques de la phase $MgFe_2O_4$ sont visibles aux valeurs de 2θ (°) suivantes : 30,2 ; 35,6 ; 43,2 ; 57,1 et 62,7. Ceci indique que les NPs magnétiques sont bien présentes dans le biohybride $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$ et que sa structure cristalline n'est pas modifiée au sein de l'hybride ; et *iii*) On note également, que la cristallinité du $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$ reste identique à celle du $Mg_2Al@Flur$.

Les paramètres de maille *a* et *c* des matériaux à base d'HDL ont été déterminés à partir de la position des réflexions 003 et 110, respectivement (tableau 5.5).

[Tableau 5.5.](#) Distances réticulaires et paramètres de maille des échantillons préparés.

Echantillon	Maille spinelle (Å)		Maille HDL (R-3m) (Å)		
	<i>a</i>	d_{003}	d_{110}	<i>a</i>	<i>c</i>
MgFe₂O₄	8,388	-	-	-	-
Mg₂Al@NO₃	-	8,754	1,517	3,034	26,262
Mg₂Al@Flur	-	22,226	1,517	3,034	66,678
MgFe₂O₄@Mg₂Al-Flur	8,388	22,231	1,518	3,036	66,693

Une distance moyenne de 22,2 Å a pu être calculée pour les hybrides $Mg_2Al@Flur$ et $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$, ce qui suggère que les anions Flur sont arrangés en bicouche, légèrement inclinés avec des groupements carboxylates en interaction avec les feuillets HDL.

Dans leurs travaux, Berber *et al.*, ont intercalé le Flur dans une phase HDL $Mg_2Al@NO_3$ par coprécipitation. Cette dernière a été réalisée à pH 9 (solution KOH, 2M) sous atmosphère inerte, à partir de précurseurs métalliques de type chlorures avec un mûrissement à 80 °C durant 18 h.^[19] Ainsi, la valeur de la distance interlamellaire d_{003} déterminée pour l'hybride $Mg_2Al@Flur$ synthétisé

par Berber *et al.* est égale à 23,9 Å. Elle est inférieure à celle trouvée pour l'hybride Flur@Mg₂Al synthétisé dans ce travail (22,226 Å). En revanche, Perioli *et al.*, qui ont déterminé une distance d supérieure aux deux précédentes. En effet, ces derniers ont intercalé du Flur par échange anionique dans une phase Mg₃Al@Cl, à 60°C pendant 7 jours dans un mélange mixte eau/alcool ce qui les a menés à une distance d₀₀₃ égale à 24,2 Å.^[20] Dans notre cas, cette distance est certainement due à la présence d'une phase supplémentaire de type carbonate impliquant ainsi un échange anionique incomplet.

5.2.3.2. Analyse vibrationnelle par spectroscopie IRTF

La figure 5.13 présente les spectres infrarouges obtenus pour le Flur, le Mg₂Al@NO₃, le Mg₂Al@Flur et l'hybride MgFe₂O₄@Mg₂Al-Flur dans la gamme spectrale 4000-400 cm⁻¹. Concernant le spectre IRTF du Flur, les bandes d'absorption sont situées aux nombres d'ondes suivants : 1690, 1230 et 1070 cm⁻¹. Ils sont associés aux groupements carbonyle, aux vibrations du groupements C=C et à la vibration d'élongation de la liaison C-C, respectivement. La bande de faible intensité localisée vers 3000 cm⁻¹ est attribuée aux vibration de la liaison C-H.^[62,63]

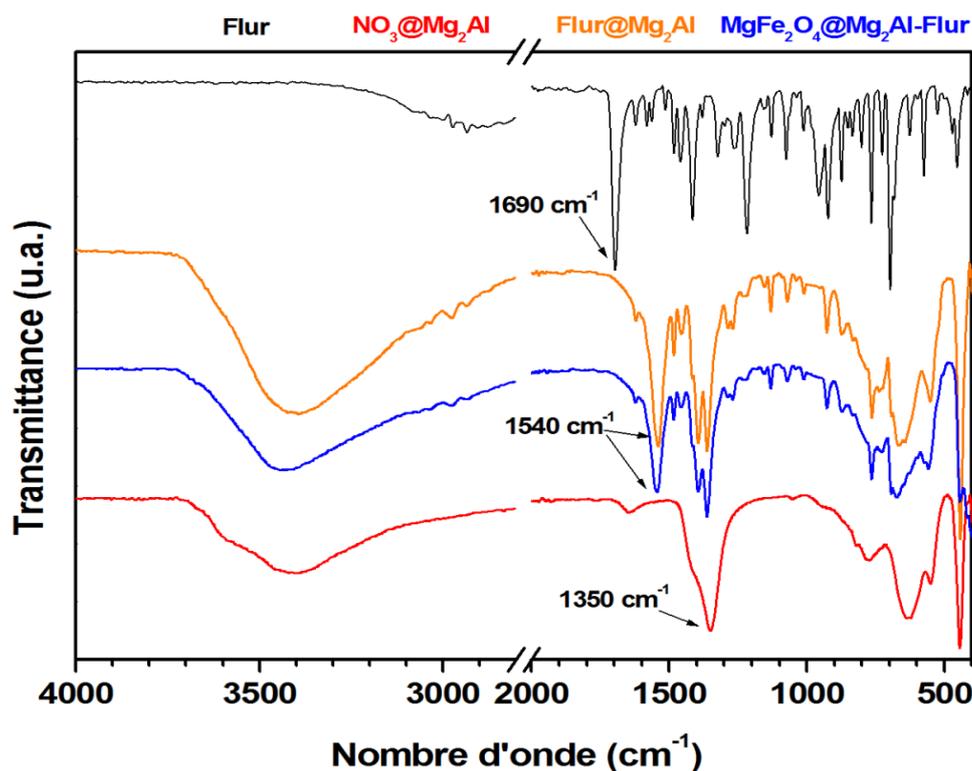


Figure 5.13 : Spectres IRTF du Flur, Mg₂Al@NO₃, Mg₂Al@Flur et MgFe₂O₄@Mg₂Al-Flur.

Les spectres IRTF des deux composés intercalés par le Flur sont identiques. On peut relever certaines bandes caractéristiques liée à la présence du Flur comme celles localisées à 2959, 1540, 1394 et à 1362 cm⁻¹. La présence de ces bandes démontrent ainsi, la réussite de l'intercalation des anions Flur par coprécipitation.^[20] Plus particulièrement, la présence du Flur se traduit par : i) De

faibles bandes observées entre 2800 et 3000 cm^{-1} , attribuées aux vibrations d'élongation de la liaison C-H aliphatique du Flur ; *ii*) La disparition de la bande de vibration située à 1690 cm^{-1} caractéristique du carboxyle du Flur libre et l'apparition de nouvelles bandes d'absorption de vibration symétrique ($\nu_s\text{COO}$) et antisymétrique ($\nu_{as}\text{COO}$) situées à 1540 et 1394 cm^{-1} , respectivement. Ces bandes d'absorption sont caractéristiques du groupement carboxylate.

En revanche, la bande localisée à 1362 cm^{-1} nous laisse penser que des anions carbonate sont présents dans ces matériaux, qui serait certainement due à la contamination par des anions carbonate, issus de l'air. Il est important de souligner, que les deux bandes d'absorption ν_1 et ν_2 du spinelle MgFe_2O_4 ne sont pas détectées sur le spectre de l'hybride $\text{MgFe}_2\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al}$ -Flur, mais sont probablement masquées par les bandes de vibration M-O du feuillet HDL.

Une fois l'intercalation du Flur confirmée, nous avons identifié le type d'interactions développé entre ce dernier et les feuillets MgAl formant les phases hybrides. L'agrandissement du spectre IRTF, entre 2000 et 1000 cm^{-1} , (figure 5.14) montre plus clairement les bandes caractéristiques assignées aux vibrations symétrique et antisymétrique d'élongation des liaisons C–O de la fonction carboxylate. Le faible écart entre les modes de vibration $\nu_{as}\text{COO}$ (1540 cm^{-1}) et $\nu_s\text{COO}$ (1394 cm^{-1}) ($\Delta\nu_{as-s} = 146 \text{ cm}^{-1}$), est caractéristique de fonctions carboxylates pontantes. Ce qui traduit une forte interaction électrostatique avec le feuillet HDL.^[64]

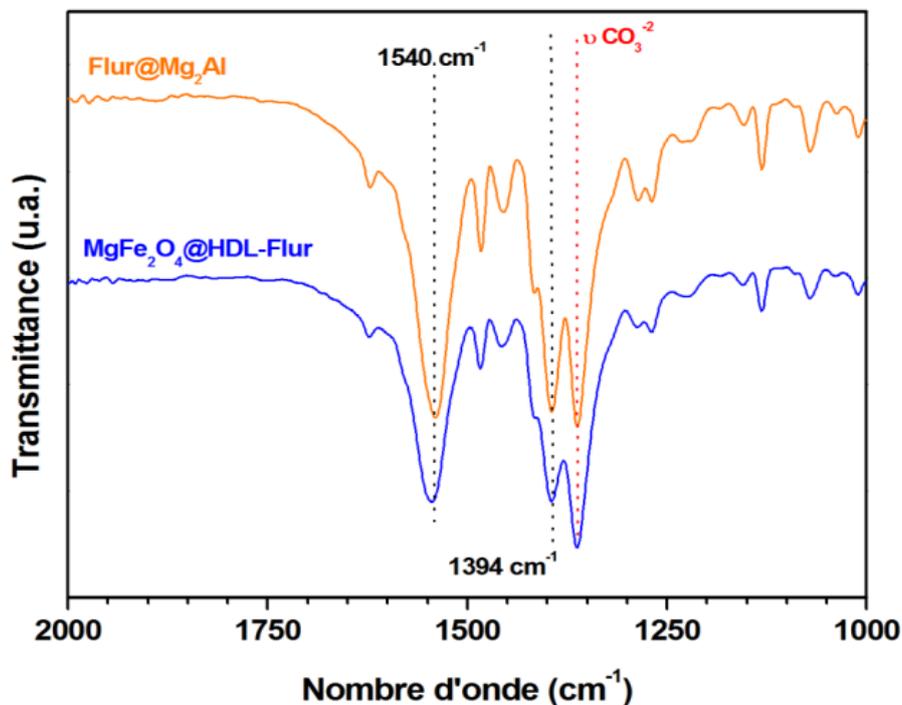
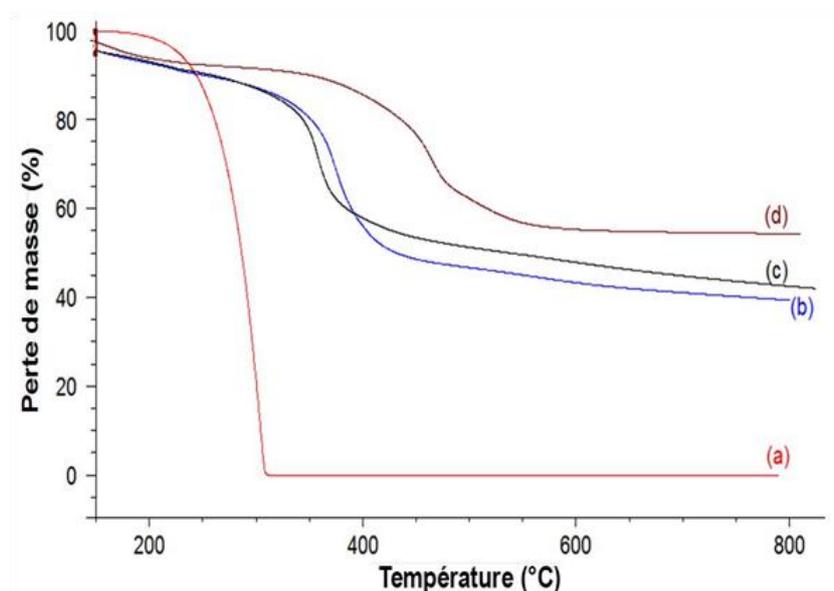


Figure 5.14 : Spectres IRTF des hybrides $\text{Mg}_2\text{Al}@Flur$ et $\text{MgFe}_2\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al}$ -Flur dans la zone 2000-1000 cm^{-1} .

5.2.3.3. Analyse thermogravimétrique des hybrides

Les résultats de l'analyse thermogravimétrique effectuée sur le sel Flur et les phases $Mg_2Al@NO_3$, $Mg_2Al@Flur$ et $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$, est présenté dans la [figure 5.15](#). Le profil ATG du sel est totalement différent de celui des phases à base d'HDL. Le Flur présente un seul palier de perte de masse observé à 302 °C ([figure 5.15-a](#)) et qui correspondrait à la dégradation du Flur. Les phases intercalées présentent trois pertes de masse dont la plus importante est située à 364°C pour $Mg_2Al@Flur$ et à 328°C pour l'hybride $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flu$. Ces températures indiquent la stabilité acquise par le Flu une fois intercalé entre les feuillets.



[Figure 5.15](#) : Thermogrammes ATG des échantillons **(a)** Flur, **(b)** $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flu$, **(c)** $Mg_2Al@Flur$ et **(d)** $Mg_2Al@NO_3$.

5.2.3.4. Mesures magnétiques

L'aimantation à saturation (M_s), l'aimantation rémanente (M_r), le champ coercitif (H_c), des NPs $MgFe_2O_4$ et $MgFe_2O_4@HDL-Flur$, ont été déterminés à l'aide de cycle d'hystérésis. Les courbes $M(H)$ ont été mesurées par un magnétomètre à échantillon vibrant (VSM) à température ambiante entre - 50000 Oe et + 50000 Oe. La magnétisation à saturation est déterminée en prenant en compte la masse de l'échantillon. Les courbes d'hystérésis sont représentées dans la [figure 5.16](#), et les valeurs M_s , M_r et H_c obtenues sont récapitulées dans le [tableau 5.6](#).

La forme des cycles $M(H)$ est caractéristique d'un matériau ferromagnétique doux c'est-à-dire que les cycles sont étroits et présentent une faible coercivité.^[65] Un tel comportement magnétique à température ambiante est caractéristique du régime paramagnétique.

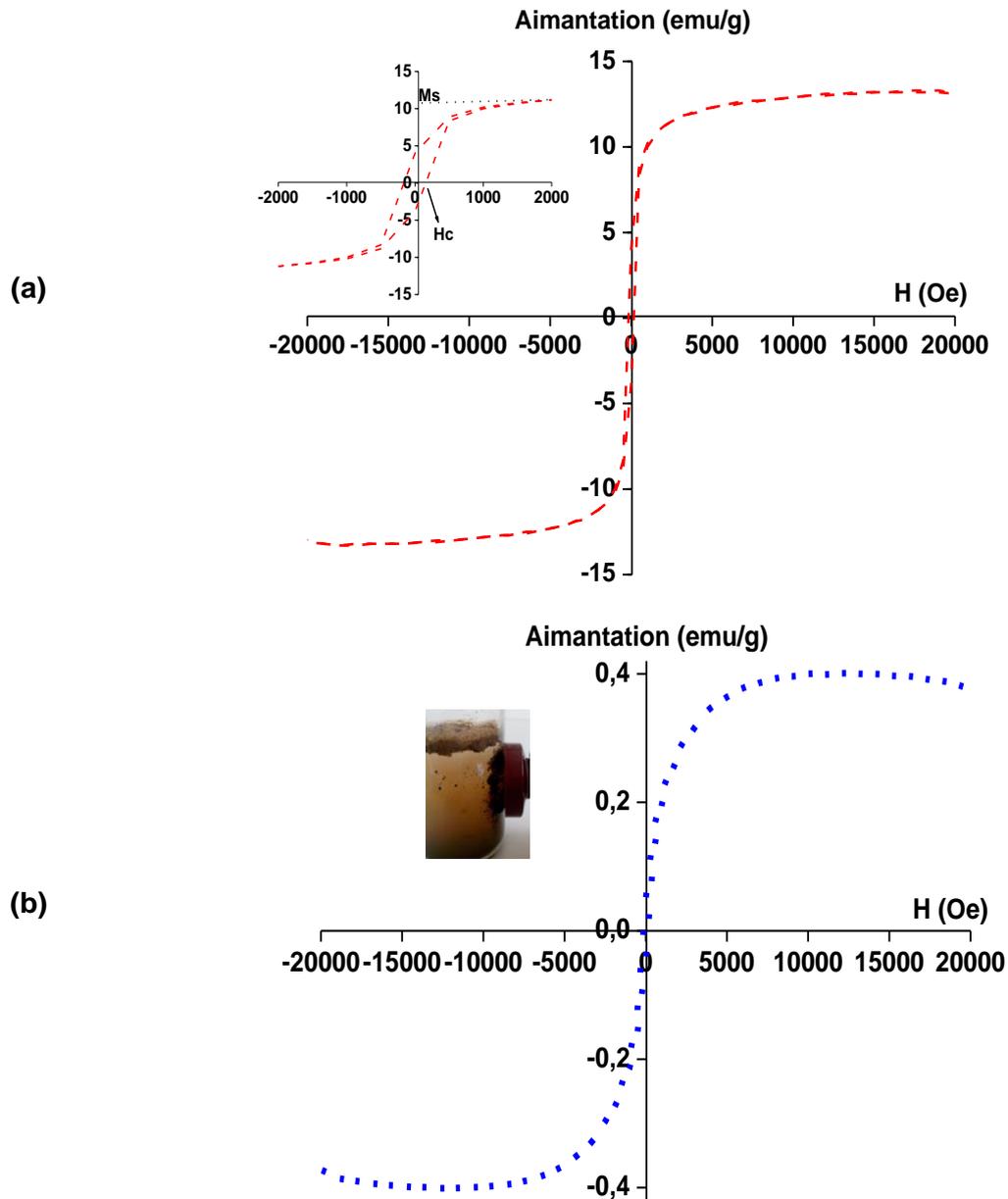


Figure 5.16 : Courbes d'aimantation $M(H)$ des NPs (a) $MgFe_2O_4$ et, (b) $MgFe_2O_4@Mg_2Al-Flur$.

Tableau 5.6. Valeurs des paramètres des mesures magnétiques.

Echantillons	H_c (Oe)	M_s (emu g^{-1})	M_r (emu g^{-1})	M_r/M_s
$MgFe_2O_4$	153	10,73	4	0,37
$MgFe_2O_4@HDL-Flur$	0,0025	0,36	0,044	0,122

a) Cas des NPs $MgFe_2O_4$

Les différentes informations extraites de la courbe d'aimantation (figure 5.16), réalisée à température ambiante, sont reportées dans le tableau 5.6.

La valeur de l'aimantation à saturation M_s des NPs $MgFe_2O_4$ dans ce travail est de 10,73 emu/g. Cette valeur est inférieure à celle décrite pour la ferrite de magnésium à l'état massif (où M_s

= 27 emu/g à T = °C).^[66] Cette diminution, a d'ailleurs été systématiquement relevée dans la littérature.^[38,53,58] La disparité des propriétés magnétiques de ces NPs est intimement dépendante de la taille des particules et de la méthode de préparation comme l'indique le [tableau 5.7](#). Cette diversité est très probablement liée principalement à une répartition cationique différente entre les deux sites Td et Oh de la structure spinelle. En effet, la valeur Ms obtenue dans ce travail est inférieure à celle rapportée par Li *et al.*,^[37] qui ont préparé des NPs par calcination de la phase HDL à 900 °C pendant 2 h. Ainsi, en se basant sur les études retrouvées dans la littérature, l'aimantation à saturation d'un matériau est d'autant plus faible que la taille des particules le constituant est faible. En effet, la diminution de l'aimantation des NPs magnétiques peut être causée par : *i*) des effets de surface comme une surface désordonnée ou, *ii*) l'existence d'une zone non magnétique (organique comme dans notre cas le PEG) à la surface des NPs. De plus, la quantité relative en ions Fe³⁺ en position dans les sites Td et Oh, peut fortement diminuer la magnétisation maximale. Ceci pourrait être dû au fait que les spins des ions dans les sites Td et Oh se magnétisent à l'opposé les sous-réseaux correspondants dans la structure spinelle inverse incomplète. Néanmoins, les NPs obtenues dans ce travail se démarquent compte tenu de la faible valeur du champ coercitif et de la magnétisation rémanente. Ceci indique que la plupart de ces NPs présentent un comportement superparamagnétique (Mr/Ms = 0,37, [tableau 5.6](#)).

[Tableau 5.7](#). Comportement magnétique et taille des NPs MgFe₂O₄ synthétisées par diverses méthodes.

Méthode de synthèse	Taille (nm)	Ms (emu·g ⁻¹)	Hc (Oe)	Réfs
Coprécipitation	6	4,6	-	[67]
Sol-gel	6	15,3	-	[67]
Combustion	40	31,56	182	[68]
Broyage assisté par ultrasons	20	54,8	-	[69]

b) Cas des NPs MgFe₂O₄@HDL-Flur

L'impact de la couronne d'HDL contenant du Flur autour des NPs MgFe₂O₄ sur les propriétés magnétiques de l'hybride n'est pas négligeable. En effet, la valeur de l'aimantation à saturation de cet échantillon, est de 0,36 emu/g, représentée par le plateau atteint à 15000 Oe sur la [figure 5.16-b](#). Cette faible valeur est due à l'existence des feuilletts d'HDL entourant les NPs MgFe₂O₄ qui ont un effet écran. Avec une faible valeur de Mr, on peut conclure que cet échantillon présente des propriétés superparamagnétiques ou ferromagnétiques. La valeur du rapport Mr/Ms est entre 0 et 1, ce qui confirme la propriété paramagnétique de l'hybride.^[70] Il est vrai que, la valeur de l'aimantation à saturation varie beaucoup lorsqu'il est question de NPs confinées. Dans la littérature des résultats

similaires ont été obtenus par divers auteurs. Zhang *et al.*^[70] ont ainsi constaté que la valeur de M_s du cœur $MgFe_2O_4$ de 23 emu/g décroît à 1,53 emu/g lorsque ces NPs sont entourés d'une couche d'HDL ZnAl@5-ASA (5-ASA : acide 5-aminosalicylique). Le même constat a été fait, lorsqu'ils ont assemblé par coprécipitation l'hybride $MgFe_2O_4$ @MgAl-Dic (Dic : Diclofénac).^[72] Dans ce cas, la valeur de M_s est de 5,5 emu/g, contre 28 emu/g pour les NPs $MgFe_2O_4$. Le même groupe a également préparé une série d'hybrides $MgFe_2O_4$ @MgAl-Ibu (Ibu : Ibuprofène), par coprécipitation, en présence de quantités croissantes de NPs de ferrite.^[73] Ils ont ainsi constaté que l'aimantation M_s passait alors de 28 emu/g pour les NPs vierges à 2,2-8,2 emu/g pour les hybrides.

Afin de confirmer ces résultats, nous avons eu recours à la MET afin de visualiser la structure finale de l'hybride $MgFe_2O_4$ @HDL-Flur (figure 5.17). Des variations de densités électroniques sont observées pour les deux micrographies. Les parties claires représentent les HDL, les zones sombres voire noires correspondent aux NPs de $MgFe_2O_4$. Ainsi, l'augmentation de l'épaisseur de la couronne HDL contribue à la diminution de l'aimantation tandis que les NPs $MgFe_2O_4$ se retrouvent figées dans la matrice HDL. Notons cependant que la structure obtenue rend compte d'un composite plutôt que d'une structure cœur couronne proprement dite.

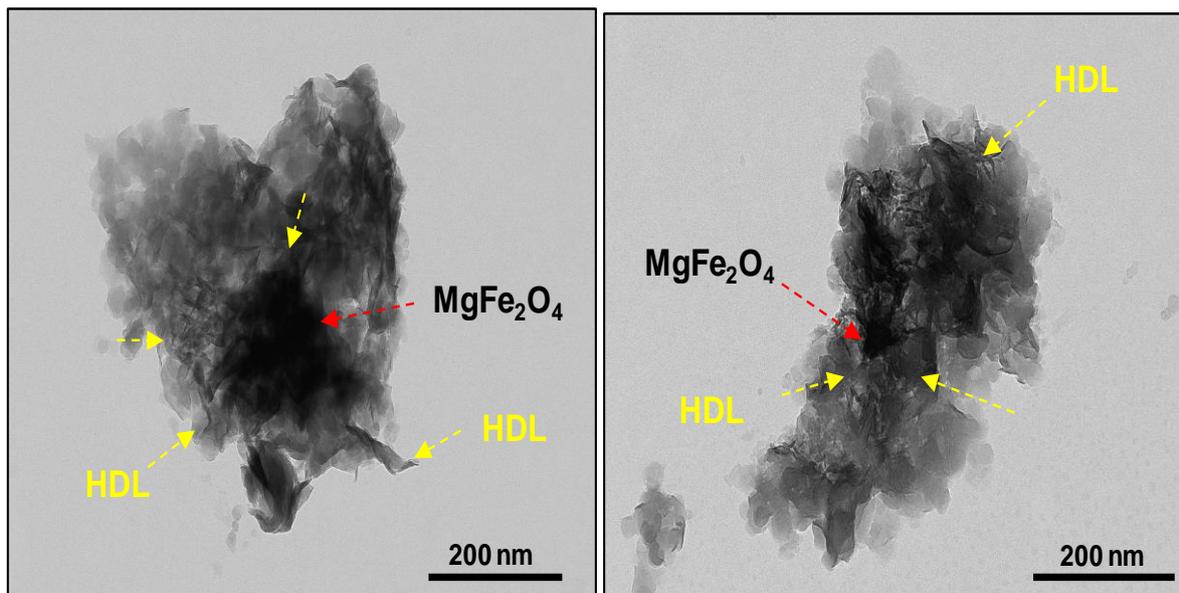


Figure 5.17 : Clichés de l'hybride $MgFe_2O_4$ @HDL-Flur, observés par MET.

Néanmoins, le comportement magnétique reste perceptible et la valeur de l'aimantation mesurée rend l'hybride $MgFe_2O_4$ @HDL-Flur parfaitement utilisable pour des applications magnétiques appropriées dans le domaine biomédical.

Références Bibliographiques

- [1] J. Han, M. Wei, D. G. Evans, X. Duan. *In* : Advanced Hierarchical Nanostructured Materials publié par Q. Zhang et F. Wei. **2014** Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. p 231-266.
- [2] H. Zhang, R. Qi, D.G. Evans, X. Duan. *J. Solid State Chem.* 177 (**2004**) 772-780.
- [3] M. Taei, M. Fouladgar, F. Hasanpour, F. Hasheminasab. *Nano* 15 (**2020**) 2050037.
- [4] M. Ghanbarian, M. Ghanbarian, A.H. Mahvi, T. Tabatabaie. *Int. J. Biol. Macromol.* 148 (**2020**) 574-590.
- [5] H. Palzaa, K. Delgado, J. Govan. *Appl. Clay Sci.* 183 (**2019**) 105350.
- [6] Y. Kuthati, R.K. Kankala, C.H. Lee. *Appl. Clay Sci.* 112-113 (**2015**) 100-116.
- [7] S. Javanbakht, M. Shadi, R. Mohammadian, A. Shaabani, M. Ghorbani, G. Rabiee, M.M. Amini. *Mater. Chem. Phys.* 247 (**2020**) 122857.
- [8] M. Moulin, A. Coquerel. *Pharmacologie*. 2^{ème} édition **2002**. Edition MASSON.
- [9] S.H. Bencedira. Rapport : AINS : réévaluation du rapport bénéfice/risque. **2014**.
- [10] V. Rives, M. del Arco, C. Martín. *J. Control. Release* 169 (**2013**) 28-39.
- [11] N'guadi Blaise Allou, P. Saikia, A. Borah, R.L. Goswamee. *Colloid. Polym. Sci.* 295 (**2017**) 725-747.
- [12] R.N. Brogden, R.C. Heel, T.M. Speight, G.S. Avery. *Drugs* 18 (**1979**) 417-438.
- [13] S. Tavorovipas, F. Hirayama, H. Arima, K. Uekama, T. Ishiguro, M. Oka, K. Hamayasu, H. Hashimoto. *Int. J. Pharma.* 249 (**2002**) 199-209.
- [14] B. Tian, Y. Feng, X. Li, J. Yang, Z. Ding, X. Huang, Q. Yin, C. Xie, H. Hao. *J. Mol. Liq.* 296 (**2019**) 11744.
- [15] L. Cheng, T. Li, L. Dong, X. Wang, Q. Huo, H. Wang, Z. Jiang, X. Shan, W. Pan, X. Yang. *J. Pharm. Sci.* 107 (**2018**) 1434-1442.
- [16] D.H. Oh, Y.J. Park, J.H. Kang, C.S. Yong, H.G. Choi. *Drug Deliv.* 18 (**2011**) 46-53.
- [17] H.L. Karlsson, P. Cronholm, J. Gustafsson, L. Möller. *Chem. Res. Toxicol.* 21 (**2008**) 1726-1732.
- [18] K. Konishi, T. Maehara, T. Kamimori, H. Aono, T. Naohara, H. Kikkawa, Y. Watanabe, K. Kawachi. *J. Magn. Magn. Mater* 272-276 (**2004**) 2428-2429.
- [19] M.R. Berber, K. Minagawa, M. Katoh, T. Mori, M. Tanaka. *Eur. J. Pharm. Sci.* 35 (**2008**) 354-360.
- [20] L. Perioli, V. Ambrogi, L. di Nauta, M. Nocchetti, C. Rossi. *Appl. Clay Sci.* 51 (**2011**) 407-413.
- [21] A.N. Ay, D. Konuk, B. Zümreoğlu-Karan. *Mater. Sci. Eng. C* 31 (**2011**) 851-857.
- [22] A.N. Ay, B. Zümreoğlu -Karan, A.G. Kalinichev, V. Rives, R. Trujillano, A. Temel. *J. Porous Mater.* 27 (**2020**) 735-743.
- [23] C. Bonnevie. Thèse de doctorat. Université de Savoie (**1998**).
- [24] F. Cavani, F. Trifiro, A. Vaccari. *Catal.Today.* 11 (**1991**) 173-301.
- [25] H.E. Swanson, H.F. Mc Murdie, M.C. Moris, E.H. Evans, B. Paretzkin. *Standard X-ray Diffraction Powder Patterns Section 10-Data for 84 Substances*. U.S. Government Printing Office. Washington D.C. Novembre **1972**.
- [26] K. Nejati, Z. Rezvani, M. Mansurfar, A. Mirzaee, M. Mahkam. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 637 (**2011**)1573-1579.
- [27] T. Kameda, M. Tochinali, T. Yoshioka. *J. Ind. Eng. Chem.* 39 (**2016**) 21-26.
- [28] Y.C. Zhang, T.T. Chen, L. Yang. *Adv. Mat. Res.* 690-693 (**2013**) 342-350.
- [29] A. Halajnia, S. Oustan, N. Najafi, A.R. Khataee, A. Lakzian. *Appl. Clay Sci.* 70 (**2012**) 28-36.
- [30] S. Miyata. *Clay Miner.* 31(4) (**1983**) 305-311.
- [31] Q.Z. Yang, D.J. Sun, C.G. Zhang, X.J. Wang, W.A. Zhao. *Langmuir* 19(14) (**2003**) 5570-5574.
- [32] D.G. Cantrell, L.J. Gillie, A.F. Lee, K. Wilson. *Appl. Catal. A Gen.* 287(2) (**2005**) 183-190.
- [33] U. Costantino, F. Marmottini, M. Nocchetti, R. Vivani. *Eur. J. Inorg. Chem.* 10 (**1998**) 1439-1446.
- [34] O.P. Ferreira, O.L. Alves, D.X. Gouveia, A.G.S. Filho, A.C. Pavia, J.M. Fiiho. *J. Solid State Chem.* 117 (**2004**) 3058.
- [35] V.R. L. Constantino, T.J. Pinnavaia. *Inorg. Chem.* 34 (**1995**) 883-892.
- [36] F. Li, J. Lui, D.G. Evans, X. Duan. *Chem. Mater.* 16 (**2004**) 1597-1602.
- [37] W. Tang, Y. Su, Q. Li, S. Gao, J. K. Shang. *Water Res.* 47 (**2013**) 3624-3634.
- [38] C.Ö. Dinça, A. Güner. *Bulg. Chem. Commun.* 49 (**2017**) 15-20.
- [39] C. Peng, J. Dai, J. Yu, J. Yin. *AIP Advances* 5 (**2015**) 057138.

- [40] T.H. Kim, L. Lundehøj, U. Gro Nielsen. Appl. Clay Sci. 189 (2020) 105521.
- [41] X.D. Li, W.S. Yang, F. Li, D.G. Evans, X. Duan. J. Phys. Chem. Solids 67 (2006) 1286-1290.
- [42] S. Mandal, S. Kalaivanan, A.B. Mandal. ACS Omega 4 (2019) 3745-3754.
- [43] J. Liu, F. Li, D.G. Evans, X. Duan. Chem. Commun. (2003) 542-543.
- [44] M. Vucelic, W. Jones, G.D. Moggridge. Clays Clay Miner. 45 (1997) 803.
- [45] J. Pérez-Ramirez, G. Mul, J.A. Moulijn. Vib. Spectrosc. 27 (2001) 75-88.
- [46] C.S. de Matos, M.M. Nóbrega, M.L.A. Temperini, V.R.L. Constantino. Appl. Clay Sci. 174 (2019) 152-158.
- [47] J. Tronto, L.P. Cardoso, J.B. Valim. Mol. Cryst. Liq. Cryst. 390 (2003) 79-89.
- [48] W. Meng, F. Li, D.G. Evans, X. Duan. J. Mater. Sci. 39 (2004) 4655-4657.
- [49] Y. Feng, S. Li, Y. Zheng, Z. Yi, Y. He, Y. Xu. J. Alloy. Compd. 699 (2017) 521-525.
- [50] M. Gaudon, N. Pailhe, A. Wattiaux, A. Demourgues. Mater. Res. Bull. 44 (2009) 479.
- [51] Y. Ichiyangi, M. Kubota, S. Moritake, Y. Kanazawa, T. Yamada, T. Uehashi. J. Magn. Mater. 310 (2007) 2378-2380.
- [52] Y. Shen, Y. Wu, X. Li, Q. Zhao, Y. Hou. Mater. Lett. 96 (2013) 85-88.
- [53] P. Holec, J. Plocek, D. Nižňanský, J.P. Vejpravová. J. Sol-Gel Sci. Technol. 51 (2009) 301-305.
- [54] S. Thankachan, S. Xavier, B. Jacob, E.M. Mohammed. J. Exp. Nanosci. 8(3) (2013) 347-357.
- [55] H. Zhang, D. Pan, X. Duan. J. Phys. Chem. C 113 (2009) 12140-12148.
- [56] A. Nakahira, H. Murase. J. Appl. Phys. 101 (2007) 09N516.
- [57] G. Tuncelli, A.N. Ay, B. Zümreoglu-Karan. Mater. Sci. Eng. C 55 (2015) 562-568.
- [58] K. Roberto, T. Walther, D. Hesse, S.G. Ebbinghaus. J. Mater. Sci. 48 (2013) 6509-6518.
- [59] S.K. Durrani, S. Naz, M. Mehmood, M. Nadeem, M. Siddique. J. Saudi Chem. Soc. 21 (2017) 899-910.
- [60] M. Bellotto, B. Rebours, O. Clause, J. Lynch, D. Bazin, E. Elkaim. J. Phys. Chem. 100 (1996) 8535.
- [61] L. Zou, F. Li, X. Xiang, D.G. Evans, X. Duan. Chem. Mater. 18 (2006) 5852-5859.
- [62] J.K. Kim, M.S. Kim, J.S. Park, C.K. Kim. J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 64 (2009) 265-272.
- [63] C. Yang, T. Zhu, J. Wang, S. Chen, W. Li. RSC Adv.5 (2015) 69423-69429.
- [64] L. Yang, S.K. Choi, H.J. Shin, H.K. Han. Int. J. Nanomedicine 8 (2013) 4147-4155.
- [65] D.S. Schmool, D. Markó, (2018). *In* : Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. doi:10.1016/B978-0-12-803581-8.11413-4.
- [66] A. Goldman. Modern Ferrite Technology, 2 ed., Springer, Pittsburgh, PA, USA, 2006.
- [67] C.P. Liu, M.W. Li, Z. Cui, J.R. Huang, Y.L. Tian, T. Lin, W.B. Mi. J. Mater. Sci. 42 (2007) 6133-6138.
- [68] V.M. Khot, A.B. Salunkhe, M.R. Phadatare, S.H. Pawar. Mater. Chem. Phys. 132 (2012) 782-787.
- [69] D. Chen, D.Y. Li, Y.Z. Zhang, Z.T. Kang. Ultrason. Sonochem. 20 (2013) 1337-1340.
- [70] J. Nonkumwong, P. Pakawanit, A. Wipatanawin, P. Jantaratana, S. Ananta, L. Srisombat. Mater. Sci. Eng. C 61 (2015) 123-132.
- [71] H. Zhang, K. Zou, H. Sun, X. Duan. J. Solid State Chem. 178 (2005) 3485-3493.
- [72] H. Zhang, D. Pan, K. Zou, J. He, X. Duan. J. Mater. Chem. 19 (2009) 3069-3077.
- [73] H. Zhang, D. Pan, X. Duan. J. Phys. Chem. C 113 (2009) 12140-12148.

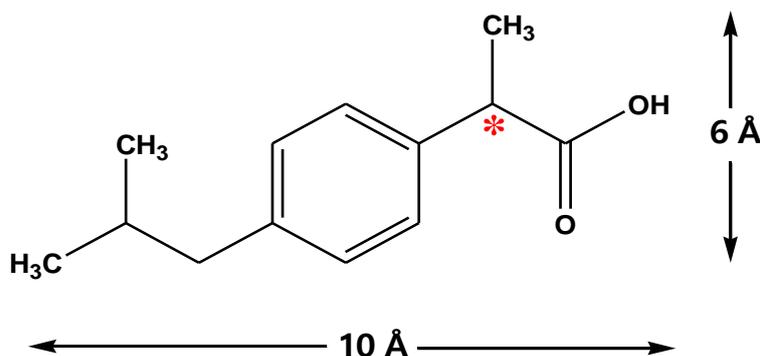
Chapitre 6 :

Synthèse de Nanostructures Magnétique@HDL de type Multi-Cœurs- Couronne et Application comme Nanovecteurs pour l'Ibuprofène

Ce chapitre est consacré à la préparation, par coprécipitation à pH constant, d'une structure hiérarchisée de type Fe_3O_4 @HDL-Ibuprofène. Afin d'évaluer les propriétés physico-chimiques des hybrides et de déterminer la présence et l'arrangement des molécules d'AINS dans l'espace interlamellaire des HDL, des caractérisations par diffraction RX, MET, MEB et spectrométrie IRTF ont été réalisées sur les matériaux Fe_3O_4 @HDL-Ibu, Ibu@HDL, et Fe_3O_4 @Mg₂Al. De plus des analyses thermogravimétriques et des mesures magnétiques ont été effectuées sur ces mêmes matériaux. Les NPs de magnétite (Fe_3O_4), correspondant au cœur magnétique de ces structures, ont été élaborées par la voie solvothermale. Enfin, le profil de libération de l'Ibu à partir de ces structures a été étudié. Ainsi, une corrélation entre les morphologies observées et le comportement de libération de l'Ibu a été mis en évidence.

Introduction

La molécule modèle choisie dans cette dernière partie du travail est un médicament appartenant à la famille des AINS, à savoir l'ibuprofène, Ibu [ou acide 2-(4-isobutylphényl) propionique]. Selon l'OMS, l'Ibu, dont la structure chimique est représentée dans la [figure 6.1](#), est l'un des produits pharmaceutiques les plus consommés dans le monde. D'ailleurs, il est répertorié dans la liste modèle* de l'OMS des médicaments essentiels.^[1]



[Figure 6.1](#) : Structure chimique et dimension de la molécule d'ibuprofène.

* indique la présence d'un carbone asymétrique.

L'Ibu est largement utilisé comme analgésique/antipyrétique et comme anti-inflammatoire.^[2,3] En tenant compte des précautions d'emploi et des contre-indications, les effets indésirables de l'Ibu sont dose dépendante et essentiellement de nature gastro-intestinaux. Néanmoins, l'Ibu est considéré comme étant le PA le moins ulcérogène de tous les anti-inflammatoires.^[4-7] En outre, l'Ibu est rapidement absorbé par l'organisme. En effet, les concentrations plasmatiques et/ou l'apparition de l'effet analgésique maximum sont atteints dans les 2 heures suivant l'administration de cette molécule par voie orale.^[8] Une autre caractéristique importante de l'Ibu est sa forte lipophilie ($\log P \approx 3,7$). Cette lipophilie élevée explique aussi la forte affinité pour de nombreux tissus. Elle permet également à la molécule d'Ibu de franchir plus facilement les membranes biologiques.^[6] L'ibuprofène est aussi un acide faible ($pK_a = 4,44$),^[9] et insoluble dans l'eau (0,021 mg/mL à 25°C).^[10] Néanmoins, sa solubilité est pH-dépendante. En effet, la dissociation de l'Ibu augmente à mesure que le pH devient plus basique et dépasse son pK_a . Ainsi, au-delà du pK_a de l'Ibu, la prédominance de la forme anionique est fortement observée.^[11]

L'intercalation de l'Ibu dans des phases HDL a déjà été reportée dans la littérature. Pour cela, différentes voies de synthèse ont en effet été utilisées telles que l'échange anionique,^[12]

* Liste destinée à être décliné localement par les autorités sanitaires des différents pays pour répondre à leurs besoins prioritaires en matière de santé publique. Les médicaments retenus doivent être essentiels pour répondre à ces besoins prioritaires et doivent présenter des preuves suffisantes de leur innocuité, de leur efficacité, d'un rapport coût/efficacité acceptable et d'une disponibilité suffisante sur le marché.

la reconstruction,^[13] la coprécipitation^[14] ou encore la délamination/réempilement.^[15] Par Ailleurs, des brevets concernant l'amélioration des techniques de synthèse des phases HDL@Ibu ont été déposés.^[16]

Ainsi, l'objectif principal du dernier travail effectué au cours de cette thèse est de combiner la bioactivité des phases HDL (de type Mg₂Al-HDL) et les propriétés magnétiques de la magnétite (Fe₃O₄) au sein d'une seule et même structure hiérarchisée de type cœur-couronne en utilisant l'Ibu comme PA modèle.

6.1. Matériel et Méthodes

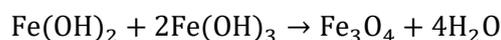
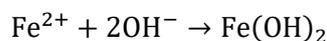
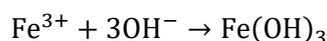
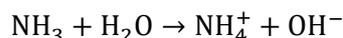
6.1.1. Réactifs

Les précurseurs des sels métalliques utilisés et fournis par Sigma-Aldrich sont : le nitrate de magnésium hexahydraté (Mg(NO₃)₂·6H₂O, 99%), le nitrate d'aluminium nonahydraté (Al(NO₃)₃·9H₂O, 99 %) et le chlorure de fer hexahydraté (FeCl₃·6H₂O, 98 %). Les réactifs suivants : l'hydroxyde de sodium (NaOH, Sigma-Aldrich, 98%), l'éthylène glycol ou EG (HO-CH₂CH₂-OH, Sigma, 99,8 %), l'acétate de sodium (C₂H₃NaO₂, Sigma-Aldrich, 98 %), l'urée (CH₄N₂O, Sigma, 98 %) et l'ibuprofène sodique (C₁₃H₁₇O₂Na, Fluka, 99%), ont été utilisés tels quels. Le tampon phosphate (SIGMA) utilisé est constitué de NaCl (0,0138 M), de KCl (0,0027 M), de Na₂HPO₄ (0,01M) et de KH₂PO₄ (0,0018 M).

6.1.2. Elaboration des matériaux

6.1.2.1. Synthèse des NPs de magnétite par la méthode solvothermale

Le protocole de synthèse des NPs par voie solvothermale est détaillé dans le [paragraphe 2.1.4.1. du chapitre 2](#). La synthèse de NPs de taille et de forme bien contrôlées nécessite bien souvent le recours à des méthodes spécifiques par lesquelles il est possible de maîtriser le processus de nucléation et de croissance. Parmi ces méthodes nous pouvons citer la méthode solvothermale. Celle-ci qui s'appuie sur la capacité du polyol, à hydrolyser des sels métalliques à haute température. De plus, cette méthode ne nécessite pas un ajustement de pH.^[17] Ainsi, dans le procédé de synthèse choisi dans ce travail, l'éthylène glycol (EG) joue un double rôle. C'est en effet un solvant mais également un agent réducteur. Le chlorure de fer quant à lui correspond à la source de fer. Enfin, l'acétate de sodium (AcNa) et/ou l'urée génèrent les ions hydroxyle (OH⁻). La réaction de formation des NPs de Fe₃O₄ en présence d'urée, peut s'écrire comme suit :^[18]



L'objectif de l'utilisation de l'AcNa ou de l'urée est d'étudier l'influence de la nature de la concentration chimique de la base sur la taille et la morphologie des NPs de magnétite. (tableau 6.1).

Tableau 6.1. Paramètres de synthèses des NPs de magnétite par voie solvothermale.

FeCl₃. 6H₂O	Urée	CH₃COONa	Volume EG	Conditions de réaction		a	Taille
(mol)	(mol)	(mol)	(mL)	Durée (h)/T (°C)		(Å)	(nm)
0,04	-	0,3	200	24	200	8,37	39,1
0,04	-	0,3		24	210	8,36	55,5
0,04	0,12	-		12	200	8,37	26,5
0,04	0,12	-		24	200	8,38	88,6

Par ailleurs, l'influence de la température et de la durée de synthèse par la voie solvothermale sur la formation, la taille et le paramètre de maille des NPs de magnétite a également été étudiée.

6.1.2.2. Assemblage des NPs Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibuprofène

Le matériau hybride Ibu@Mg₂Al considéré comme matériau de référence est préparé selon la méthode de coprécipitation conventionnelle à pH constant égal à 10. La solution des sels métalliques (sels de nitrates de Mg (0,04 mol) et d'Al (0,02 mol)) et la solution d'Ibu (0,04 mol d'Ibu dissoute dans 100 ml d'un solvant mixte H₂O-éthanol 50-50) sont coprécipitées simultanément. Le protocole de synthèse par coprécipitation est détaillé dans le chapitre 2 de ce manuscrit. Après mûrissement à 80°C pendant 20 h, le précipité est lavé puis séché.

Les nanocomposites magnétiques Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu sont préparés dans les mêmes conditions, mais la coprécipitation est réalisée en présence de 30 ml d'une dispersion aqueuse contenant 40 mg des NPs de Fe₃O₄. L'hybride Fe₃O₄@Mg₂Al a également été préparé pour comparaison mais dans ce cas, la coprécipitation a été réalisée en absence d'Ibu.

6.1.3. Caractérisations des matériaux synthésés

Les matériaux préparés ont été caractérisés par : diffraction des rayons X (DRX), infrarouge à transformé de Fourier (IRTF), analyse thermogravimétrique (ATG), microscopie électronique (MEB-EDX et MET), adsorption/désorption d'azote et les mesures d'aimantation. Les conditions et les équipements utilisés sont décrits dans le [chapitre 5 \(c.f. paragraphe 5.1.3, page 160\)](#).

La cinétique de libération de l'Ibu a été étudiée en utilisant la méthode de centrifugation. Les expériences de libération de l'Ibu *in vitro* ont ainsi été réalisées sur une roue d'agitation dans les conditions suivantes : agitation constante (20 tr/min), à température ambiante, dans un milieu tampon phosphate salin (0,01 M, pH 7,4) et durant 200 min ([c.f. paragraphe 2.2. du chapitre 2](#)). Les échantillons sont répartis dans différents tubes de volume égal à 20 mL. Dans chaque tube, 10 mg de matériaux sont introduits dans 10 mL de la solution tampon. A intervalle de temps précis, le tube est centrifugé (10 min à 4500 tr/min) puis le surnageant est analysé par spectrophotométrie UV-Visible à une longueur d'onde $\lambda = 265$ nm. Le pourcentage d'Ibu libéré à partir des matériaux à un temps (t) donné a été calculé en faisant le rapport entre la quantité libérée au temps t (M_t) et la quantité d'Ibu utilisée initialement (M_i) selon la formule suivante :

$$\% Ibu_{libéré} = \frac{M_t}{M_i} \times 100$$

6.2. Résultats et Discussion

6.2.1. Caractérisation structurale des NPs de magnétite

La [figure 6.2](#) présente le diffractogramme de rayons X des NPs élaborées. L'indexation des pics montre que l'échantillon cristallise dans un système cubique à faces centrées (groupe d'espace Fd3m). La maghémite (Fe_2O_3) et la magnétite (Fe_3O_4) cristallisant dans ce même groupe d'espace, il est donc difficile de prime abord d'être certain de la nature de la phase formée. Cependant, l'identification a pu se faire par l'évaluation du paramètre de maille (a), qui est différent pour les deux oxydes de fer. En effet, le paramètres de maille a est égal à 8,39 Å (JCPDS 19-0629) pour la magnétite et à 8,33 Å (JCPDS 39-1346) pour la maghémite. Le paramètre de maille a déterminé à partir de nos résultats DRX ([tableau 6.1](#)) est inférieur à celui de la magnétite pure ($a = 8,396$ Å), indiquant ainsi que les NPs préparées sont légèrement oxydées.^[19]

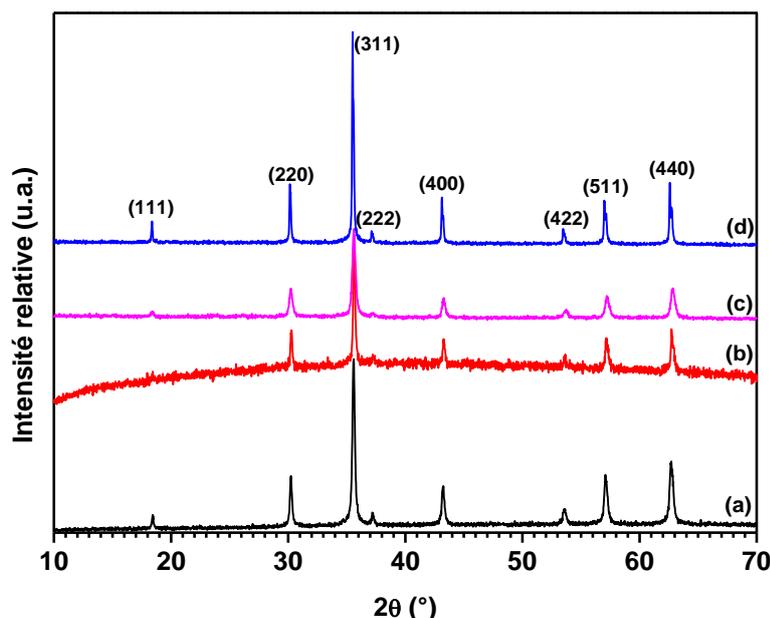


Figure 6.2 : Diffractogrammes RX des NPs de Fe_3O_4 préparées dans différentes conditions. En présence d'AcNa **(a)** à $200^\circ C/24h$, **(b)** à $210^\circ C/24h$ ou en présence d'urée **(c)** à $200^\circ C/12h$ et **(d)** à $200^\circ C/24h$.

Les tailles moyennes des NPs estimées à partir de l'équation de Debye Scherrer (sur le pic principal (311)) sont récapitulées dans le [tableau 6.1](#). La taille des cristallites est comprise entre 26 et 88 nm et à tendance à augmenter avec l'allongement du temps de traitement thermique. Ainsi, si l'on prend l'exemple des NPs préparées en présence d'urée à $200^\circ C$ pendant 12 h et 24 h, la taille des particules passe de 26 nm à 88 nm, respectivement. En effet, l'allongement du temps de réaction favorise le processus de croissance des NPs. Par ailleurs, la synthèse a été effectuée à deux températures différentes $200^\circ C$ et $210^\circ C$ ([tableau 6.1](#)). Ainsi, comme précédemment, on observe une augmentation de la taille moyenne des particules ainsi que du paramètre de maille avec la température de synthèse.

Il convient également de noter que les NPs élaborées sont très agglomérées. C'est ce qui est en effet observé sur les clichés obtenus après analyses par MEB ([figure 6.3-a](#)) et MET ([figure 6.3-b](#)) et qui montrent des NPs de magnétite de forme sphérique, plus au moins agrégées.

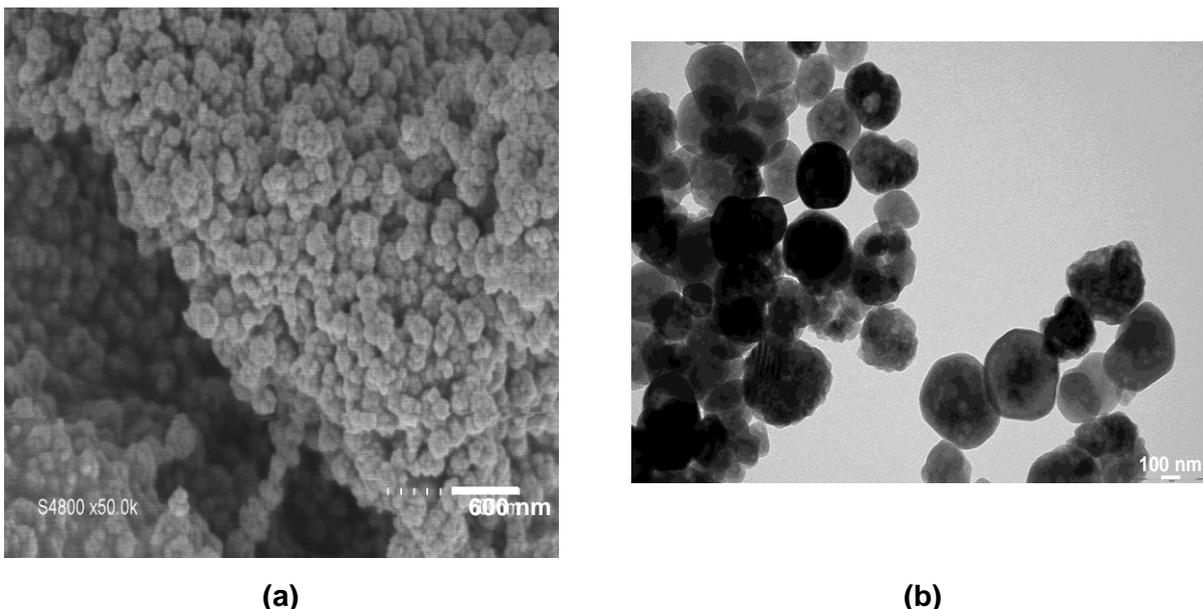


Figure 6.3 : Caractérisation de la magnétite élaborée en présence d'AcNa à 200°C/24 h par **(a)** MEB et par **(b)** MET.

Ainsi, les tailles des NPs de Fe_3O_4 mesurées par MET sont différentes de celles déterminées par DRX. Cette différence est due au fait que certaines NPs les plus grosses, observées par MET sont composées de plusieurs cristallites agglomérées, alors que la formule de Scherrer appliquée aux pics de diffraction X conduit à l'estimation de la taille des cristallites et non des nanoparticules. De plus, une autre source d'erreur peut venir de la mesure manuelle des tailles des NPs à partir des clichés MET. En effet, certaines grosses NPs peuvent cacher des NPs plus petites sur les clichés MET, celles-ci étant en revanche prises en compte par DRX.

L'analyse IRTF, notamment dans le domaine des vibrations comprises entre 400 et 800 cm^{-1} (figure 6.4), montre la présence des bandes d'absorption à 630 et 576 cm^{-1} correspondent aux vibrations de la liaison Fe-O-Fe des NPs de magnétite.^[20]

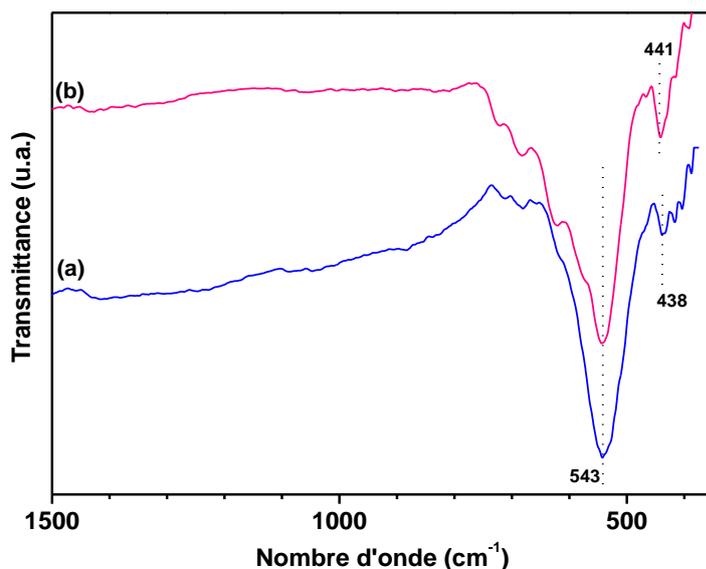


Figure 6.4 : Spectre IRTF des NPs de Fe_3O_4 préparées en présence d'AcNa à (a) $200^\circ C/24$ h et (b) $210^\circ C/24$ h.

6.2.2. Caractérisations structurales des hybrides $Fe_3O_4@Mg_2Al$ -Ibu

6.2.2.1. Caractérisation par diffraction des rayons X

La caractérisation structurale des matériaux $Mg_2Al@HDL$, $Fe_3O_4@Mg_2Al$, $Ibu@Mg_2Al$ et $Fe_3O_4@Mg_2Al$ -Ibu a été effectuée par DRX. Les diffractogrammes obtenus sont représentés dans la figure 6.5.

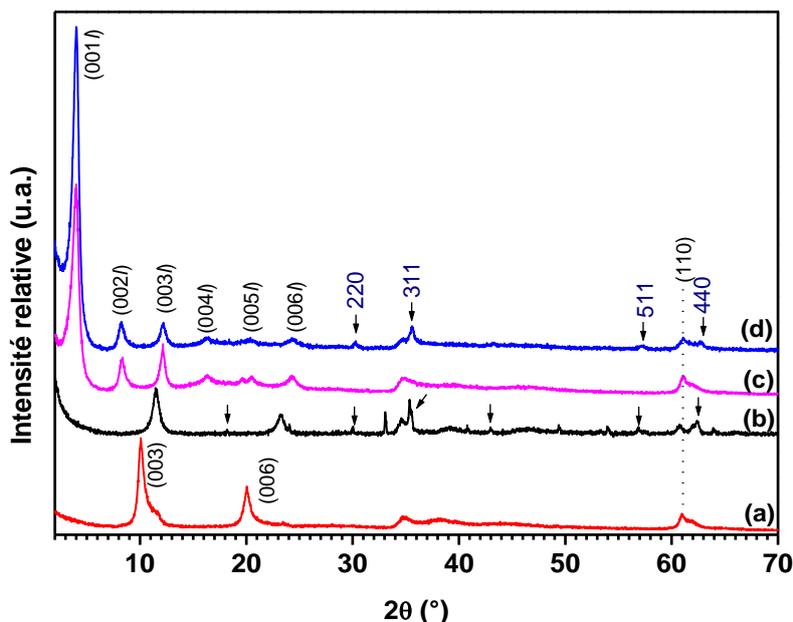


Figure 6.5 : Diffractogrammes RX des phases (a) $Mg_2Al@HDL$, (b) $Fe_3O_4@Mg_2Al$, (c) $Ibu@Mg_2Al$ et, (d) $Fe_3O_4@Mg_2Al$ -Ibu.

Le diffractogramme de l'échantillon de référence Ibu@Mg₂Al (figure 6.5-c) fait apparaître un décalage des réflexions (00*l*) vers les bas angles par rapport à la phase Mg₂Al@NO₃ correspondante. Ceci se traduit par une augmentation de d_{003} de 8,9 à 22 Å. En passant de Mg₂Al@NO₃ à Ibu@Mg₂Al. Comme cela était attendu, le diffractogramme est caractéristique d'une symétrie rhomboédrique adoptant le groupe d'espace R-3m hexagonal d'une phase HDL intercalée par de l'Ibu. La valeur d_{003} déterminée correspond à la somme des épaisseurs d'une bicouche d'Ibu (environ 10-11 Å) et du feuillet HDL (4,8 Å).^[21,22] L'intensité élevée de la réflexion à $d_{009} = 7,34$ Å est due à la superposition des réflexions : *i*) (009) des feuillets intercalés par l'Ibu, et *ii*) (003) de ceux intercalés par les anions CO₃²⁻. La présence de ces derniers étant probablement due à une contamination au cours des lavages réalisés en atmosphère ambiante. Par ailleurs, l'échantillon de référence, Ibu@Mg₂Al, présente une haute cristallinité. En effet, les pics de diffraction sont intenses et fins indiquant ainsi que les structures hybrides sont bien ordonnées et présentent un empilement régulier des feuillets. Ces résultats sont semblables à ceux rapportés par Zhang *et al.*, qui ont intercalé l'Ibu par coprécipitation dans des phases HDL avec un rapport molaire Mg/Al égal à 2.^[23]

Le diffractogramme des nanocomposites Fe₃O₄@Mg₂Al (figure 6.5-b) montre à la fois les pics de diffraction caractéristiques des structures bien cristallisées de la phase HDL Mg₂Al@HDL (figure 6.5-a) et des structures bien identifiées, correspondant à des NPs de Fe₃O₄, dans la plage de 2θ de 30 à 50°.

En ce qui concerne les nanocomposites de Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu, les pics caractéristiques des phases Ibu@Mg₂Al et Fe₃O₄ sont détectés dans les diffractogrammes (figure 6.5-b, c et d). Il est intéressant de constater que la cristallinité de la phase apparait plus élevée en présence de Fe₃O₄. Enfin, les raies de diffraction (200, 311, 511, 440) observées correspondent aux pics les plus intenses des NPs de Fe₃O₄.

Les paramètres de maille *c* et *a* ont été calculés à partir de la position des pics de diffraction (003) et (110). Les résultats sont résumés dans le tableau 6.2.

Tableau 6.2. Caractéristiques des phases préparées.

Echantillon	Mg ²⁺ /Al ³⁺	Fraction molaire <i>x</i>	<i>a</i> (Å)	<i>c</i> (Å)	d_{003} (Å)
Mg ₂ Al@HDL	1,9	0,35	3,034	26,67	8,89
Fe ₃ O ₄ @Mg ₂ Al	1,9	0,35	3,034	22,96	7,70
Ibu@Mg ₂ Al	2,1	0,32	3,030	66,03	22,01
Fe ₃ O ₄ @Mg ₂ Al-Ibu	1,8	0,36	3,030	66,42	22,13

On observe ainsi que les valeurs du paramètre de maille c ($c = 3 \times d_{003}$) sont cohérentes avec l'intercalation de l'Ibu (66 Å et 66,4 Å). Des distances interlamellaires de 21,7 Å ont en effet été rapportées pour une phase Ibu@Mg₂Al totalement échangée. Dans ce cas, l'arrangement des molécules d'Ibu en monocouches partiellement superposées a été suggéré pour l'Ibu. De plus, une distance interlamellaire de 24,5 Å a été supposée pour de l'Ibu arrangé en bicouche dont l'axe principal est perpendiculaire aux feuillettes HDL. [12,22] Cependant, on observe que le paramètre de maille c de l'échantillon Fe₃O₄@Mg₂Al (23 Å) est inférieur à celui de l'échantillon Mg₂Al@HDL correspondant (23 Å). Ceci est dû au fait que le CO₃²⁻ est le principal anion compensateur dans Fe₃O₄@Mg₂Al au lieu de NO₃⁻ dans Mg₂Al@HDL l'HDL parent. En revanche, les paramètres de maille a sont très proches dans les deux familles d'échantillons, ce qui est en accord avec leurs fractions molaires similaires en aluminium. Les résultats des analyses élémentaires (tableau 6.2) montrent que les rapports atomiques expérimentaux sont en accord avec les rapports théoriques, validant ainsi les synthèses effectuées avec le rapport 2.

6.2.2.2. Caractérisation par microscopie électronique en transmission

La morphologie de l'échantillon Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu a été observée par MET. La figure 6.6 représente la micrographie obtenue pour l'hétérostructure élaborée par coprécipitation. Cette dernière montre clairement une organisation du matériau en une structure multi-cœurs-couronne. De plus, certaines NPs de Fe₃O₄ ont une morphologie granulaire constituée de particules quasi sphériques et très agglomérées. Ces dernières sont par ailleurs entourées/confinées par une couronne d'HDL.

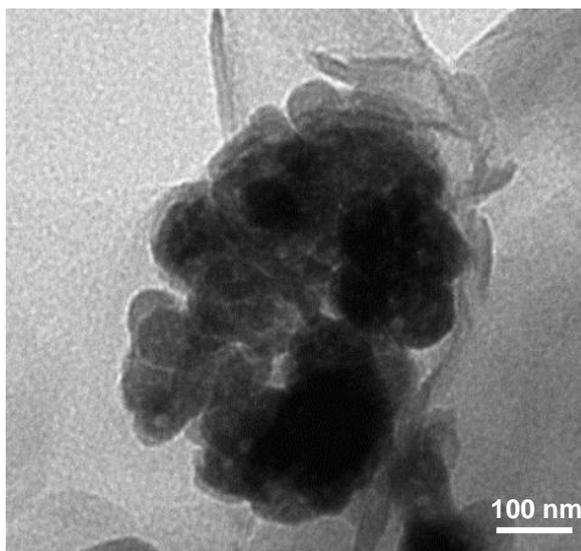


Figure 6.6 : Micrographie caractéristique d'une structure multi cœurs-couronne de l'échantillon $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$, observée par MET.

6.2.2.3. Détermination de la composition chimique des matériaux

La détermination des formules chimiques des différents matériaux (tableau 6.3) a été effectuée à partir de l'analyse thermogravimétrique et des analyses élémentaires réalisées par EDX. La teneur en eau a été estimée à partir de la première perte de masse dans la plage de températures située entre 50 et 200 °C de l'analyse ATG.

Tableau 6.3. Composition et formules chimiques des matériaux préparés.

Echantillon	Mg	Al	Fe	N	C	H ₂ O	Ibu ^a	Ibu
	%	%	%	%	%	%	% en masse ads	% en masse
Ibu@Mg ₂ Al	8,7	4,5	-	-	28	5,8	3	
	Mg _{0,68} Al _{0,32} (OH) ₂ (Ibu) _{0,32} · 0,44 H ₂ O ; 0,02 Ibu							
Fe ₃ O ₄ @Mg ₂ Al-Ibu	13,4	8,6	3,3	-	34	7,1	5,4	36
	43,5 [Mg _{0,65} Al _{0,35} (OH) ₂ (Ibu) _{0,207} (CO ₃) _{0,076} · 0,54 H ₂ O] ; 1,6 Ibu.							
					Fe ₃ O ₄			

^a déterminé à partir des résultats ATG.

L'augmentation importante de la teneur en C dans les hybrides Ibu@Mg₂Al et Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu, confirme la présence d'Ibu dans les matériaux. Les pertes totales quant à elles, comprises entre 38,5 et 48,5 % en poids, sont proches des valeurs théoriques calculées en supposant la décomposition de la composante minérale en un mélange de MgO, Al₂O₃ et

Fe₂O₃ en quantités relatives déterminées à partir de la formule proposée pour les différentes phases HDL.

6.2.2.4. Caractérisations vibrationnelles par IRTF

La figure 6.7 présente les spectres infrarouges de l'Ibu et des échantillons Ibu@Mg₂Al et Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu. Les attributions des bandes de vibration observées sont consignées dans le tableau 6.4.

Cette analyse montre la présence de la bande d'absorption située à 1711 cm⁻¹ dans le spectre IRTF de l'Ibu pur et qui est responsable de la vibration asymétrique du groupement acide carboxylique (-COOH). Cette dernière est en revanche absente dans les spectres des échantillons intercalés (figure 6.7-b et c). On observe également l'apparition de deux bandes, vers 1394 et 1545 cm⁻¹, qui sont responsables de la vibration d'élongation symétrique et asymétrique du groupe carboxyle, respectivement.^[24] La présence de ces entités atteste de l'intercalation de l'Ibu sous sa forme anionique entre les feuillettes HDL.^[25]

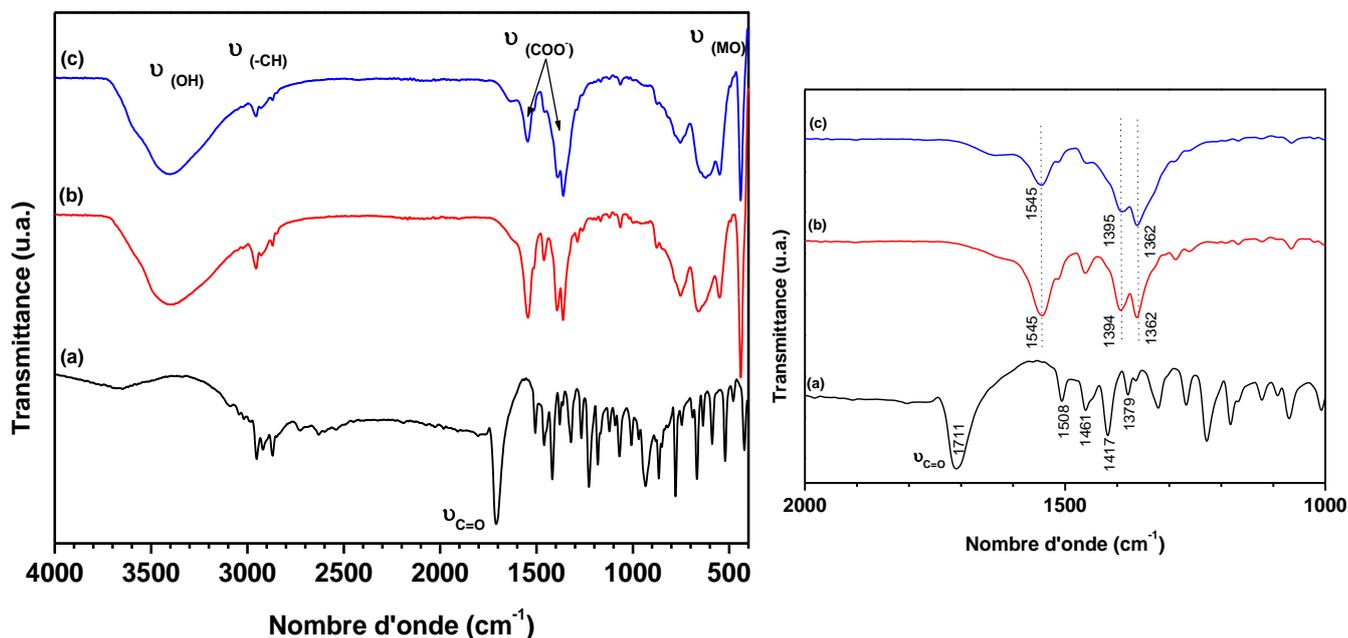


Figure 6.7 : Spectres IRTF enregistés dans le domaine 400-4000 cm⁻¹ (à gauche) et le domaine 2000-1000 cm⁻¹ (à droite) des échantillons (a) Ibu, (b) Ibu@Mg₂Al et (c) Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu.

Tableau 6.4. Bandes d'absorption IRTF caractéristiques de l'Ibu et des hybrides préparés.

Ibu	Nombre d'onde (cm ⁻¹)		Liaison et type de vibration
	Ibu@Mg ₂ Al	Fe ₃ O ₄ @Mg ₂ Al-Ibu	
1711	-	-	Elongation du C=O du (COOH)
2952	2955	2955	Elongation antisymétrique du CH ₃
2869	2869	2869	Elongation symétrique du CH ₃
1460	1461	1461	Elongation du CH ₂
-	1394	1395	Elongation symétrique C=O du (COO ⁻)
-	1545	1545	Elongation asymétrique C=O du (COO ⁻)
-	660	628	Elongation M-OH du feuillet
-	440	440	Elongation M-O du feuillet

Les bandes d'absorption situées entre 2800 et 3000 cm⁻¹ sont dues aux vibrations d'élongation des groupements alkyle de l'Ibu. Rappelons que la structure de la molécule d'Ibu contient de nombreux groupes méthyle. Après intercalation, les modes de vibration symétrique et asymétrique des méthyles observés à 2955 et 2869 cm⁻¹, dans les échantillons intercalés sont bien résolus, et leurs positions ne montrent aucune différence significative par rapport à ceux de l'Ibu libre. Aussi, la bande supplémentaire à 1362 cm⁻¹ indique une certaine contamination par du CO₃²⁻, qui est difficile à exclure de la synthèse des HDL. Enfin, les modes d'élongation caractéristiques du feuillet M-OH à environ 420 et 620 cm⁻¹ sont bien définis dans l'hybride intercalé, indiquant que la structure interlamellaire de l'HDL n'est pas affectée lors de l'intercalation de molécules d'ibuprofène.

La spectroscopie IRTF a également été utilisée pour identifier l'existence ou non d'une interaction entre l'Ibu et le feuillet HDL. Dans la littérature, l'écart $\Delta\nu$ calculé entre les bandes de vibration du sel IbuNa est de : $\Delta\nu = 1584 - 1409 = 175 \text{ cm}^{-1}$.^[26]

Dans notre étude, l'écart $\Delta\nu$ calculé pour les phases HDL intercalées est constant et égal à 151 cm⁻¹. Cet écart plus faible que celui rapporté dans la littérature, renseigne sur la formation de liaisons hydrogènes de type bidentate pontante, entre la fonction carboxylate et les feuillets HDL^[27] confirmant ainsi l'interaction entre les molécules d'Ibu et l'HDL.

6.2.2.5. Caractérisations magnétiques

La figure 6.8 représente les tracés des cycles d'aimantation en fonction du champ (M vs H.) des NPs de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$, réalisés à 300 K. Les figure 6.8-a et b représentent les cycles d'hystérésis enregistrés entre -20 kOe et +20 kOe. Un agrandissement dans la plage -2000 Oe, +2000 Oe est également représenté.

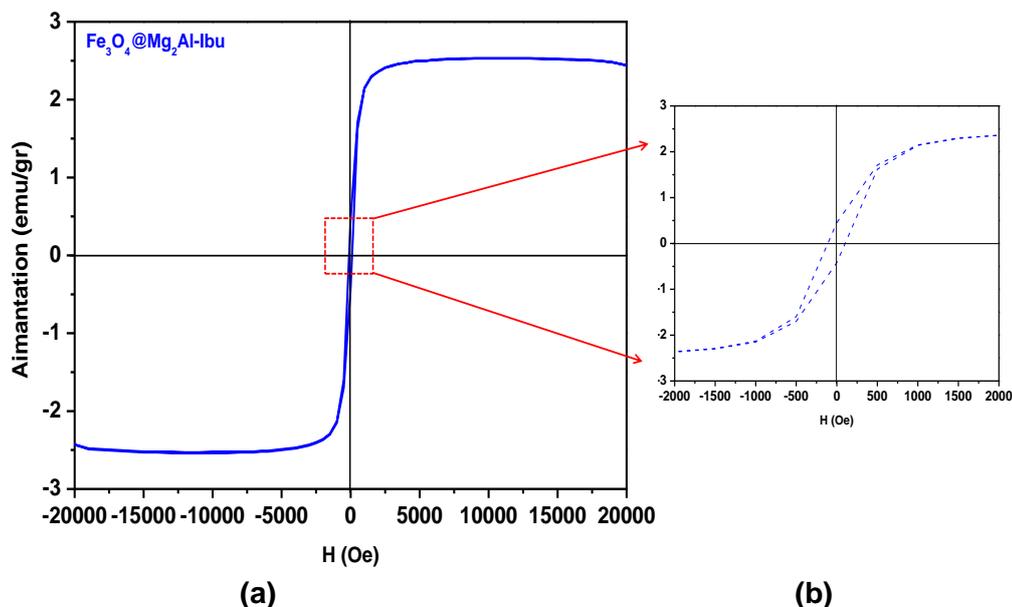


Figure 6.8 : Courbes d'aimantation $M(H)$ des NPs $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ib}$: (a) Enregistrées entre -20 kOe et +20 kOe. (b) Agrandissement de la zone -2000 Oe, +2000 Oe.

Le tableau 6.5 récapitule les paramètres magnétiques déterminés pour les deux NPs de Fe_3O_4 et $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$.

Tableau 6.5. Valeurs des paramètres des mesures magnétiques.

NPs	M_s (emu/g)	M_r (emu/g)	H_c (Oe)
Fe_3O_4	61	13	134,93
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$	2,54	0,435	106,2

On constate que la valeur de l'aimantation à saturation M_s des NPs de magnétite est plus faible que la valeur théorique rapportée pour de la magnétite massive (~ 92 emu/g).^[28,29] En effet, les propriétés magnétiques des NPs de Fe_3O_4 dépendent de leur taille et de leur méthode de préparation. Aussi, la valeur de la rémanence de 13 emu/g ainsi que le champ coercitif de 134 Oe semblent indiquer que les NPs préparées par la voie solvothermale, possèdent un comportement ferrimagnétique à température ambiante. Ce résultat est en accord avec celui rapporté dans la littérature qui donne le diamètre limite pour que les NPs aient un comportement superparamagnétique de l'ordre de 20 nm. Dans le cas de l'hybride

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$, la valeur de la magnétisation à saturation est de 2,5 emu/g. Cette valeur est inférieure à celle des NPs de Fe_3O_4 préparées (61 emu/g), mais suffisante pour une application dans le ciblage magnétique.^[30] En effet, une valeur de M_s relativement plus faible par rapport au fer massif est généralement obtenue pour les matériaux nanocomposites magnétiques. Le confinement des NPs magnétiques dans une matrice d'argile peut également être responsable de cette diminution de M_s .^[31] Par conséquent dans le cas des composites de cette étude, la faible valeur de M_s peut s'expliquer par la présence d'une forte concentration de feuillets contenant de l'Ibu agissant comme écran autour des particules magnétiques agglomérées.^[32] De plus, les très faibles valeurs de H_c et de M_r indiquent que la phase $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$ est un aimant doux.^[33] Ce comportement est une propriété importante pour l'administration magnétique de médicaments.

Par ailleurs, afin de localiser les NPs magnétiques au sein des hybrides, nous avons tenté d'utiliser la technique de MEB combinée à l'EDX. Cette association permet de dresser une cartographie chimique de l'échantillon en analysant les rayons X émis par les atomes bombardés par des électrons. En effet, un faisceau électronique traversant l'échantillon provoque l'ionisation des atomes et émet également des rayons X lors de sa désexcitation. L'énergie du rayonnement émis est caractéristique de la nature chimique de l'échantillon. Ceci permet donc de réaliser une analyse élémentaire, c'est-à-dire de déterminer quels sont les atomes présents dans l'échantillon. Dans ce travail, la [figure 6.9](#) représente la cartographie des éléments Mg, Al, Fe, C et oxygène dans l'échantillon $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$. On observe alors que la couronne de la structure est constituée des éléments Mg, Al et oxygène et que ces derniers sont uniformément répartis. Aussi, la cartographie chimique réalisée démontre clairement le positionnement du Fe entre les autres éléments^[34] et confirme les observations effectuées à partir des clichés obtenus par MET.

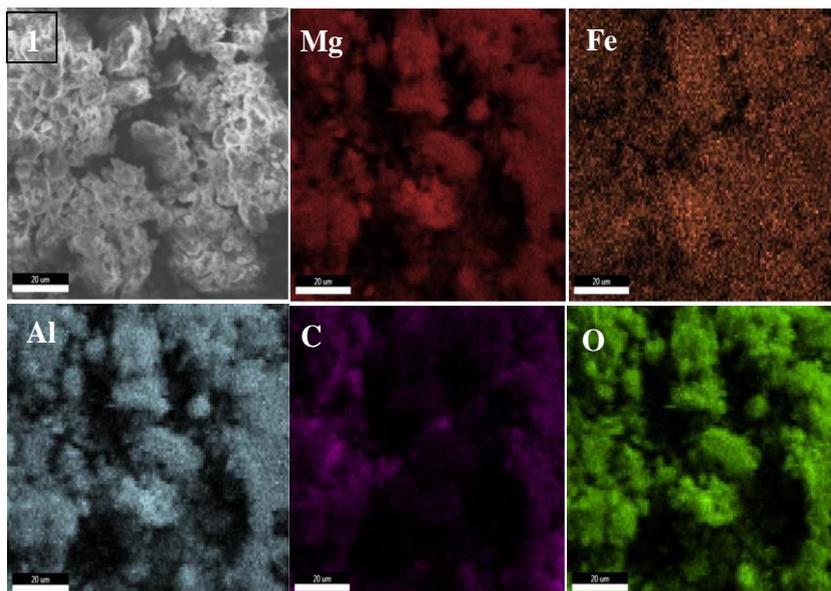


Figure 6.9 : Cartographies des éléments Mg, Al, Fe, C et O dans $Fe_3O_4@Mg_2Al-Ibu$.

6.2.3. Etude de la cinétique de libération de l'Ibu par la méthode de centrifugation

6.2.3.1. Cinétique de libération de l'Ibu proprement dite

Les expériences de libération de l'Ibu ont été réalisées sur une roue d'agitation à température ambiante et les échantillons ont été analysés par spectrophotométrie UV-Visible. La linéarité obtenue entre l'absorbance et la concentration a été établie dans l'intervalle de concentrations compris entre $2 \cdot 10^{-2}$ et $4 \cdot 10^{-1}$ $mg \cdot mL^{-1}$ (figure 6.10).

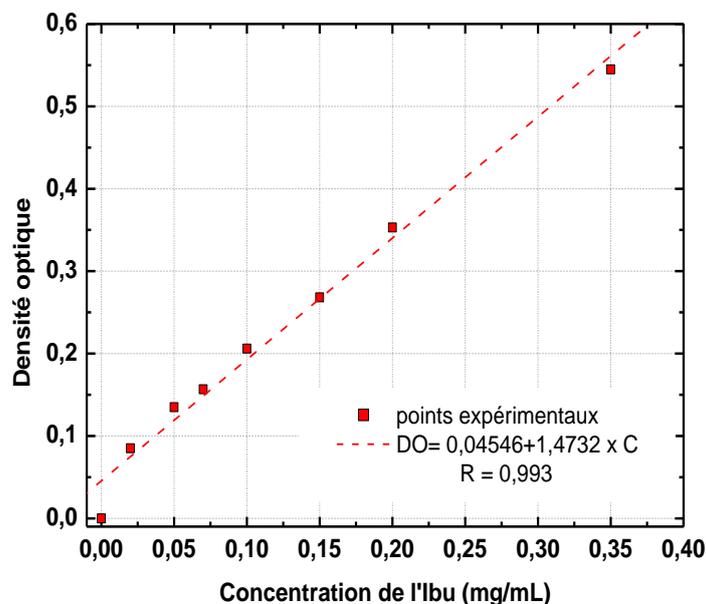


Figure 6.10 : Droite d'étalonnage représentant l'absorbance à 265 nm en fonction de la concentration d'Ibu, réalisée dans du PBS à pH 7,4.

La figure 6.11 représente le profil des cinétiques de libération de l'Ibu en fonction du temps dans un tampon phosphate salin pH 7,4, réalisées à température ambiante à partir des deux matériaux $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Mg}_2\text{Al-Ibu}$ et $\text{Ibu}@\text{Mg}_2\text{Al}$.

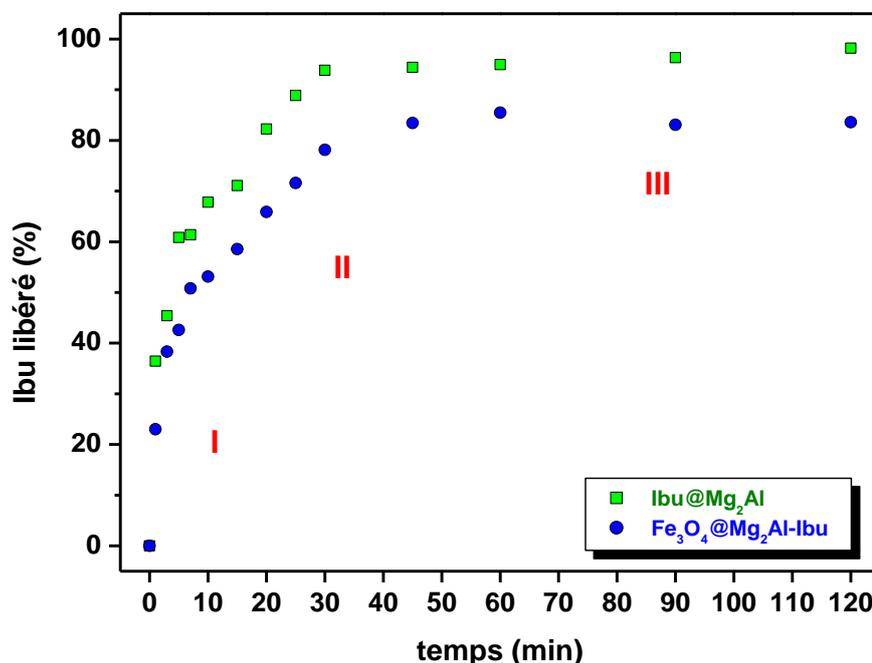


Figure 6.11 : Comparaison des profils de libération de l'Ibu à partir des hybrides Ibu@Mg₂Al et Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu, réalisée dans un tampon PBS à pH 7,4.

Les cinétiques de libération de l'Ibu à partir des deux matériaux, mettent en évidence un profil similaire sur les deux heures de l'expérience que l'on peut scinder en trois étapes : *i*) une **étape I** (entre 0 et 10 min) où la libération est immédiate et rapide ; *ii*) entre 10 et 40 min, une **étape II** avec une libération modérée et enfin, *iii*) à partir de 30 min et jusqu'à la fin de l'expérience, une **étape III** caractérisée par un palier.

Même si l'allure des deux profils est similaire, le taux de libération de l'Ibu à partir de ces deux phases est différent. En effet, on observe après 30 min, une libération de 90 % pour le matériau Ibu@Mg₂Al alors qu'elle est de l'ordre de 80 % pour la phase Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu. Le palier de l'**étape III**, montre un taux d'équilibre autour de 95 % et 83 % pour Ibu@Mg₂Al et Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu, respectivement. En effet, comme le montre la figure 6.11, la cinétique de libération de l'Ibu est plus lente pour la phase Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu, ceci peut être attribué à un meilleur confinement moléculaire dû à la présence des NPs Fe₃O₄ et à une affinité entre les composants de l'hétérostructure.

Il est néanmoins intéressant de rappeler que la vitesse de libération d'un PA est directement proportionnelle à sa solubilité dans le milieu de dissolution. Ainsi, l'**étape I**, caractérisée par un effet « burst »^[35] est probablement liée à la libération de l'Ibu adsorbé à la

surface des particules et/ou localisées sur la surface externe des phases HDL. D'ailleurs, les analyses chimiques ([tableau 6.3](#)) montrent la présence de 3 % et 5,4 % en poids d'Ibu libre. Ce dernier se libère immédiatement et en premier lieu au contact du milieu de libération (l'Ibu est ionisé à pH 7,4 ce qui facilitera sa dissolution). Alors que les **étapes (II et III)** caractérisent probablement la libération de l'Ibu intercalé dans l'espace interlamellaire, qui diffuse à travers ce dernier et s'échange avec les anions phosphate du milieu de libération.

6.2.3.2. Modélisation des mécanismes de libération de l'Ibu

Afin de simuler les courbes de libération réalisées *in vitro* et d'identifier le mécanisme de libération à partir de la forme pharmaceutique, des modèles mathématiques basés sur les théories interfaciales des transferts de matière ont été utilisés.^[36] Nous avons ainsi appliqué quatre modèles dont les expressions mathématiques et la nature du mécanisme correspondant sont répertoriés dans le [tableau 6.6](#).

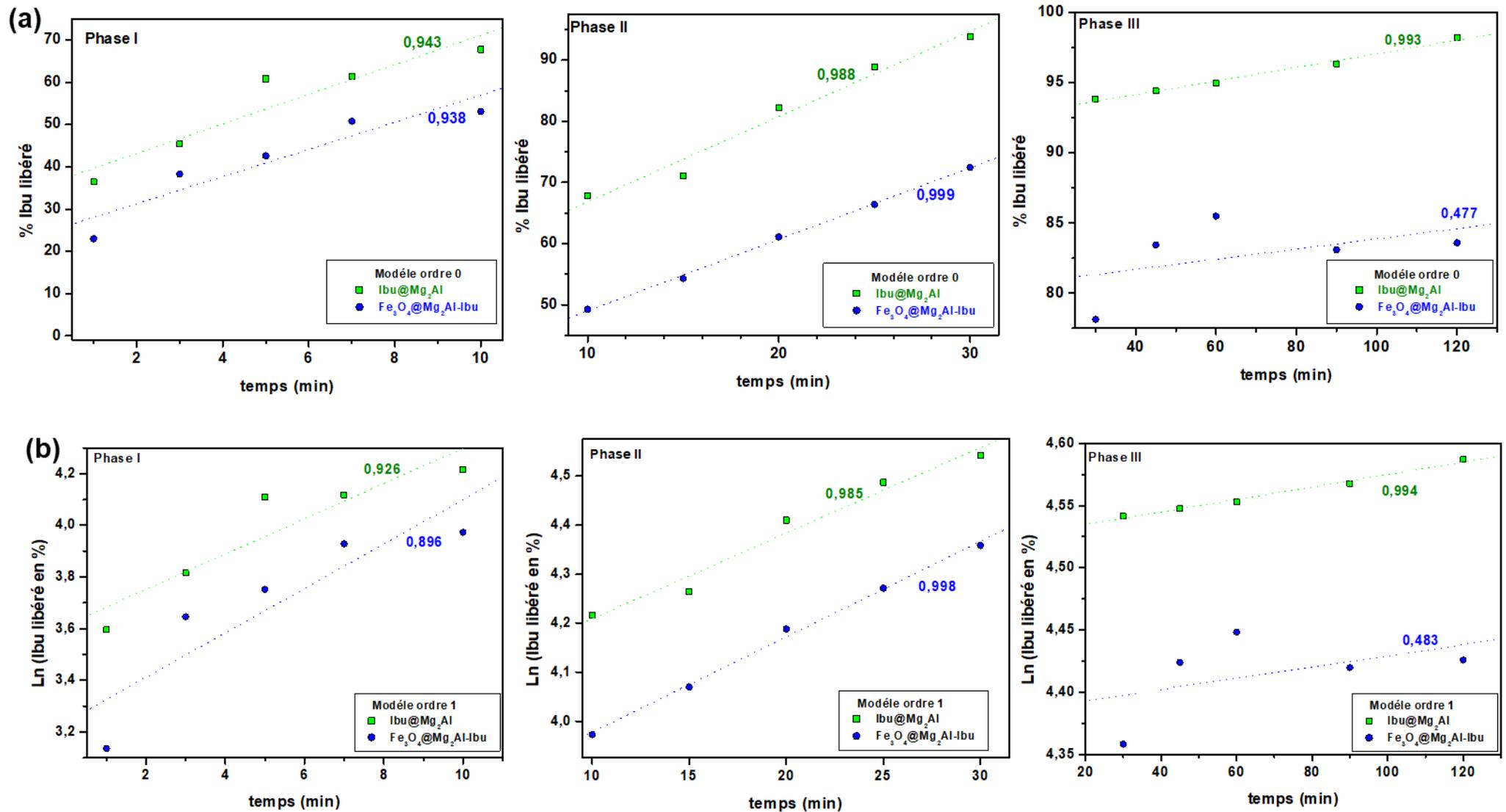
[Tableau 6.6](#). Caractéristiques des modèles mathématiques appliqués.

Modèles	Equation	Représentation graphique	Nature du mécanisme
Ordre zéro	$M_t = M_0 + k \times t$	Ibu libéré (%) = f (t)	Une libération indépendante de la concentration du PA
Premier ordre	$\ln M_t = \ln M_0 + k \times t$	Log Ibu libéré (%) = f (t)	Une libération dépendante de la concentration du PA
Higuchi	$M_t = k \times t^{1/2}$	Ibu libéré (%) = f (t ^{1/2})	Une libération gouvernée par diffusion
Korsmeyer-Peppas	$M_t = M_0 + k \times t^n$	Log Ibu libéré (%) = f (Log t)	Une libération gouvernée par diffusion

M_t , M_0 , t , k , n sont respectivement, la quantité de PA libérée à l'instant t, la quantité initiale de PA dans la formulation pharmaceutique, le temps de libération, la constante cinétique des modèles et l'exposant de diffusion.^[37]

Les résultats expérimentaux ont été analysés à l'aide de ces quatre modèles par le tracé des quantités expérimentales d'Ibu libérées selon les équations correspondants aux modèles ([tableau 6.6](#)). Le choix du meilleur modèle est basé sur la valeur du coefficient de corrélation « R² », obtenu par ajustement des résultats expérimentaux selon les équations correspondants aux modèles étudiés.^[38]

La [figure 6.12](#) regroupe l'ensemble des courbes modélisant la cinétique de libération de l'Ibu. Les valeurs obtenues des coefficients de corrélation, des constantes de vitesse pour tous les modèles ainsi que « n », l'exposant caractéristique du modèle de Korsmeyer-Peppas sont rassemblés dans le [tableau 6.7](#).



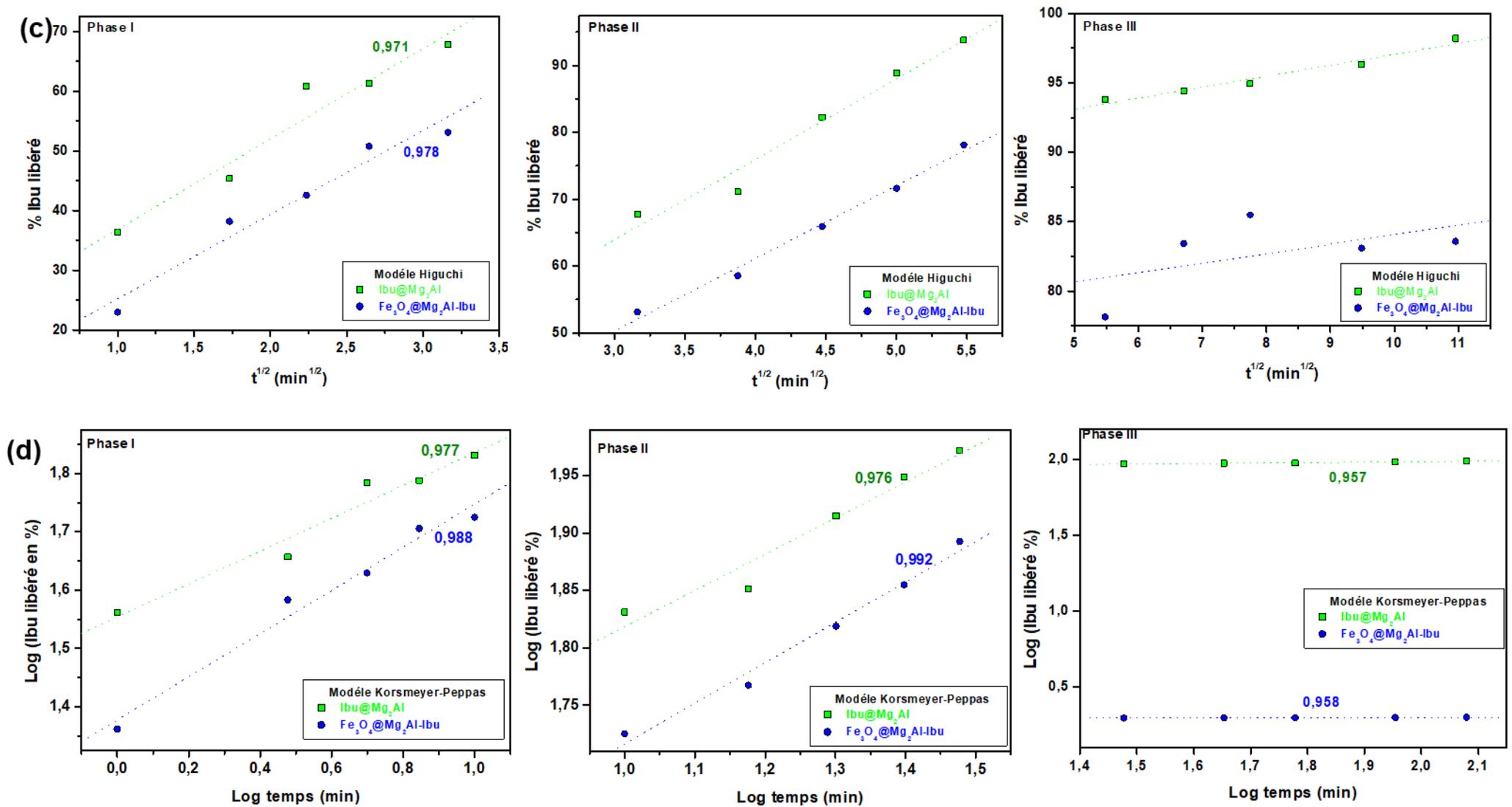


Figure 6.12 : Représentations graphiques des cinétiques de libération selon les modèles : (a) Ordre 0, (b) Ordre 1, (c), Higuchi et (d) Korsmeyer-Peppas.

Tableau 6.7. Coefficients de corrélation (R^2) et paramètres cinétiques obtenus selon les modèles appliqués dans les trois zones du profil de libération.

Modèle	Ibu@Mg ₂ Al			Fe ₃ O ₄ @Mg ₂ Al@Ibu			
	Etape	I	II	III	I	II	III
Ordre 0	R ²	0,943	0,987	0,993	0,938	0,999	0,477
	k (%/min ⁻¹)	3,50	1,396	0,0483	3,217	1,169	0,0363
Ordre 1	R ²	0,925	0,985	0,994	0,896	0,998	0,483
	k (%/min ⁻¹)	0,0683	0,0175	5.10 ⁻⁴	0,0862	0,0195	4,5.10 ⁻⁴
Higuchi	R ²	0,972	0,984	0,980	0,978	0,996	0,5766
	K (%/min ⁻¹)	15,13	12,04	0,7898	13,07	10,085	0,687
Korsmeyer-Peppas	R ²	0,977	0,976	0,957	0,988	0,992	0,958
	n	0,28	0,31	0,031	0,37	0,35	0,007

I, II et III représentent les plages de temps suivantes : 0-10 min, 10-30 min et 30-120 min, respectivement.

En analysant les coefficients de corrélation obtenus pour les modèles appliqués au biohybride Ibu@Mg₂Al, on voit que l'**étape I** est mieux décrite par les modèles de Korsmeyer-Peppas et d'Higuchi, alors que les quatre modèles peuvent être utilisés pour décrire la libération de l'Ibu durant l'**étape II**. Les modèles d'ordre 0 et d'ordre 1 s'appliquent mieux aux données de libération de l'**étape III**.

En ce qui concerne le biohybride Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu, l'**étape I** est mieux décrite par le modèle Korsmeyer-Peppas, alors que les quatre modèles peuvent être utilisés pour décrire la libération de l'Ibu durant l'**étape II**. En revanche, pour l'**étape III**, le modèle Korsmeyer-Peppas est mieux corrélé aux résultats de libération.

Par ailleurs, la linéarité du modèle Korsmeyer-Peppas est claire durant tout le processus de libération pour les deux phases étudiées, mais R^2 s'ajuste mieux pour la phase Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu ($0,958 < R^2 < 0,992$). Par contre, dans l'**étape III** les pentes de ces droites sont égales à 0,031 et 0,007 et ne correspondent pas à la gamme des valeurs de n relevées dans la littérature. Pour les **étapes I** et **II**, les valeurs de l'exposant n sont comprises entre 0,28 et 0,37 ($n < 0,45$), ce qui signifie que la vitesse de libération est contrôlée par la diffusion de l'Ibu à travers l'espace interlamellaire des particules *via* un mécanisme d'échange anionique.^[40] En effet, la libération est fortement corrélée à la localisation des molécules d'Ibu et aux interactions qu'elles développent avec le feuillet, les NPs magnétiques et le milieu de libération.^[39]

De manière plus synthétique, les profils de libération d'Ibu sont caractérisés par une phase initiale de libération (étape I) rapide de molécules d'Ibu situées à la surface des NPs HDL. Cette libération étant contrôlée par un phénomène de diffusion. Dans la deuxième et troisième phases (étapes II et III), les anions Ibu sont libérés par un processus de diffusion à travers l'espace interlamellaire des nanoparticules HDL *via* un échange anionique avec les anions PBS. Il s'en suit alors une libération de l'Ibu qui se trouve en interaction avec les NPs magnétiques.^[41]

Ainsi, la différence entre les trois phases de libération est probablement due à : *i*) une très forte interaction entre l'Ibu et la matrice HDL, et, *ii*) à la quantité d'Ibu adsorbée/intercalée et qui dépend de la méthode de préparation. En effet, la coprécipitation permet une grande diffusion des molécules d'Ibu au sein des feuillets HDL et donc de créer de fortes liaisons favorisant une libération moyennement longue du PA ainsi qu'un contrôle plus efficace.^[43] Wei *et al.* ont rapporté un comportement identique en analysant la libération de Lévodopa² (L-dopa) dans un tampon aux pH 7,6 et 6,4 à partir d'une phase hybride L-dopa@MgAl synthétisée par deux réactions successives d'échange anionique. Toutefois la libération totale de la L-dopa était presque terminée après 40 min.^[42] Ainsi, la coprécipitation permet une grande disponibilité de l'Ibu pour sa libération de manière contrôlée et/ou prolongée.

Il est à noter que de façon générale, de nombreux autres paramètres liés aux caractéristiques des vecteurs peuvent influencer la cinétique de libération des PA encapsulés, parmi lesquels nous pouvons citer la taille des particules, la surface de contact, la vitesse d'agitation, la viscosité du milieu de dissolution, et les conditions *sink*.^[44]

Par ailleurs, comme nous l'avons mentionné précédemment, l'étude de la cinétique de libération adoptée dans ce travail nécessite de réaliser à un temps *t* prédéterminé, une centrifugation suivie d'un dosage du PA à l'aide de la spectrométrie UV-Vis. Malgré sa capacité à mesurer directement les quantités de PA libérées par les particules HDL, la méthode est fastidieuse et ne permet pas de quantifier avec précision le profil de libération de PA en temps réel en raison du délai et de la perte de PA au cours du processus de centrifugation. De plus, la force de centrifugation peut comprimer ou même écraser les particules, ce qui entraîne une surestimation de la libération de PA.^[45]

Néanmoins, le système de vectorisation Fe₃O₄@Mg₂Al-Ibu est fort intéressant car il offrirait plusieurs avantages cliniques, à savoir : *i*) le ciblage magnétique, *ii*) la possibilité de la réduction de la fréquence du dosage, *iii*) la réduction des fluctuations des concentrations

² La lévodopa est utilisée dans la prise en charge de la maladie de Parkinson.

plasmatiques du PA, *iii*) une meilleure efficacité du PA et une faible incidence d'effets secondaires.

Références Bibliographiques

- [1] World Health Organization, Model Lists of Essential Medicines, 15th ed. World Health Organization, Geneva, **2007**.
- [2] E.M. Laska, A. Sunshine, I. Marrero, N. Olson, C. Siegel, N. McCormick. Clin. Pharmacol. Ther. 40 (**1986**) 1–7.
- [3] M. Skoumal, R.M. Rodríguez, P.L. Cabot, F. Centellas, J.A. Garrido, C. Arias, E. Brillas. Electrochim. Acta 54 (**2009**) 2077–2085.
- [4] C. De Palma, R. Di Paola, C. Perrotta, E. Mazzon, D. Cattaneo, E. Trabucchi, S. Cuzzocrea, E. Clementi, Pharmacological Research 60 (**2009**) 221-228.
- [5] J.F. Fries, B. Bruce. J. Rheumatol. 30 (**2003**) 2226-2233.
- [6] G. Olive. Thérapie 61 (2) (**2006**) 151–160.
- [7] F.L. Lanza, U.K. Marathi, B.S. Anand, L.M. Lichtenberger. Aliment Pharmacol. Ther. 28(4) (**2008**) 431–442.
- [8] P.M. Dewland, S. Reader, P. Berry. BMC Clinical Pharmacology (**2009**) 9:19, 10 pages.
- [9] L.R. Shaw, W.J. Irwin, T.J. Grattan, B.R. Conway. Drug Dev. Ind. Pharm. 31 (**2005**) 515–525.
- [10] T. Scheytt, P. Mersmann, R. Lindstädt, T. Heberer. Chemosphere 60 (**2005**) 245–253.
- [11] R. Cristofolletti, J.B. Dressman. J. Pharm. Sci. 106 (**2017**) 92-99.
- [12] V. Ambrogi, G. Fardella, G. Grandolini, L. Perioli. Int. J. Pharmaceutics 220 (**2001**) 23–32.
- [13] C.R. Gordijo, C.A.S. Barbosa, Ana M. Da Costa Ferreira, V.R.L. Constantino, D. De Oliveira Silva. J. Pharm. Sci. 94 (**2005**) 1135–1148.
- [14] R. Sousa, J. Jouin, O. Masson, F. Remondiere, A. Lemarchand, M. Colas, P. Thomas, J. Lameira, G.N.T. Bastos, A.B. Lima, J.L.M. Nascimento, M. Anicete-Santos, W. R. Monteiro, C.N. Alves. J. Am. Ceram. Soc. 100 (**2017**) 2712–2721.
- [15] X. Lu, L. Meng, H. Li, N. Du, R. Zhang, W. Hou. Mater. Res. Bull. 48 (**2013**) 1512–1517.
- [16] C. Thompson, M.L. Bravo Cordero, D.M. O'Hare. US Patent 2015/0258212 A1.
- [17] S. Jiao, M. Xu, Y. Zhang, G. Pang, S. Feng. J. Nanosci. Nanotechnol. 10 (**2010**) 8405–8407.
- [18] Y. Chen, J. Zhang, Z. Wang, Z. Zhou. Appl. Sci. **2019**, 9, 5157.
- [19] G. Thomas, F. Demoisson, R. Chassagnon, E. Popova, N. Millot. Nanotechnology 27 (**2016**) 135604.
- [20] R.Y. Hong, T.T. Pan, H.Z. Li. J. Magn. Mater. 303 (**2006**) 60–68.
- [21] A.I. Khan, A. Ragavan, B. Fong, C. Markland, M. O'Brien, T.G. Dunbar, G.R. Williams, D. O'Hare. Ind. Eng. Chem. Res. 48 (**2009**) 10196-10205.
- [22] J. Wang, J. Zhou, Z. Li, Y. Song, Q. Liu, Z. Jiang, M. Zhang. Chem. Eur. J. 16 (**2010**) 14404-14411.
- [23] H. Zhang, D. Pan, K. Zou, J. He, X. Duan. J. Mater. Chem. 19 (**2009**) 3069-3077.
- [24] L. Mohanambe, S. Vasudevan. J. Phys. Chem. B 109 (**2005**) 15651–15658.
- [25] P. Gunawan, R. Xu. J. Pharm. Sci. 97 (**2008**) 4367-4378.
- [26] R. Rodriguez, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro. Eur J Pharm Sci. 20 (**2003**) 429–438.
- [27] W. Huang, H. Zhang, D. Pan. AIChE Journal 57 (**2011**) 1936-1946.
- [28] D.H. Han, J.P. Wang, H.L. Luo. J. Magn. Mater. 136 (**1994**) 176-182.
- [29] L.S. Ganapathe, M.A. Mohamed, R.M. Yunus, D. Duryha Berhanuddin. Magnetochemistry **2020**, 6, 68.
- [30] Wang, J. Zhou, Z. Li, Y. Song, Q. Liu, Z. Jiang, M. Zhang. Chem. Eur. J. 16 (**2010**) 14404 –14411.

- [31] S. Sadighian, K. Rostamizadeh, H. Hosseini-Monfared, M. Hamidi. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 117 (2014) 406-413.
- [32] G. Tuncelli, A.N. Ay, B. Zumreoglu-Karan. *Mat. Sci. Eng. C.* 55 (2015) 562-568.
- [33] A. Manikandan, J.J. Vijaya, M. Sundararajan, C. Meganathan, L.J. Kennedy, M. Bououdina. *Superlattices Microstruct.* 64 (2013) 118–131.
- [34] X. Liu, J. Wang, W. Hu. *J. Magn. Mater.* 523 (2021) 167576.
- [35] X. Huang, C.S. Brazel. *J. Controlled Release* 73 (2001) 121–136.
- [36] P. Costa, J.M. Sousa Lobo. *European J. Pharm. Sci.* 13 (2001) 123–133.
- [37] M.L. Bruschi. *Mathematical Models of Drug Release in Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, ed. M.L. Bruschi, Woodhead Publishing, Elsevier, 2015, 63.
- [38] C. Reppas and E. Nicolaidis. *Analysis of Drug Dissolution Data. In: Oral Drug Absorption Prediction and Assessment.* ed. J.B. Dressman and H. Lennernäs. Marcel Dekker, Inc. New York, 2000, 229.
- [39] H. Zhang, D. Pan, K. Zou, J. He, X. Duan. *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 3069-3077.
- [40] M. del Arco, A. Fernandez, C. Martin, V. Rives. *J. Solid State Chem.* 183(12) (2010) 3002–3009.
- [41] G.R. Williams, D. O'Hare. *J. Mater. Chem.* 16(30) (2006) 3065.
- [42] M. Wei, M. Pu, J. Guo, J. Han, F. Li, J. He, D.G. Evans, X. Duan. *Chem. Mater.* 20 (2008) 5169–5180.
- [43] M.A. Djebbi. Thèse de doctorat. Université Claude Bernard. Lyon. 2017.
- [44] J.H. Yang, Y.S. Han, M. Park, T. Park, S.J. Hwang, J.H. Choy. *Chem. Mater.* 19 (2007) 2679–2685.
- [45] Y. Zhou, C. He, K. Chen, J. Ni, Y. Cai, X. Guo, X. YuWu. *J. Control. Release* 243 (2016) 11–20.

CONCLUSION
GENERALE

Conclusion Générale & Perspectives

Voici les principaux résultats d'une thèse de doctorat pluridisciplinaire, particulièrement attrayante qui a rassemblé, en son sein de nombreux défis car il a fallu couvrir plusieurs disciplines différentes mais complémentaires dont : la chimie des matériaux, la physique, le domaine médical, et celui de la pharmacie. Néanmoins, l'approche principale pour réaliser l'ensemble du travail de recherche fut basée sur la vision de chercheurs en chimie des matériaux.

De manière générale, ce travail a concerné l'intercalation de PA synthétiques dans des argiles anioniques de type HDL, elles-mêmes associées à des ferrites AFe_2O_4 . En effet, des structures hybrides de type PA@HDL ainsi que des structures composites multifonctionnelles de type cœur-couronne AFe_2O_4 @HDL-PA ont été élaborées. L'objectif étant de pouvoir les utiliser dans le domaine de la vectorisation de médicaments. Afin de vérifier cela, ces matériaux ont été caractérisés, puis, la libération des PA intercalés depuis ces structures particulières, a été réalisée et étudiée dans un tampon mimant les milieux biologiques. De plus, afin de mieux appréhender la relation existante entre profil de libération et les structures des hybrides ainsi que d'expliquer le mécanisme de libération du PA intercalé, des modèles mathématiques ont été appliqués. Plusieurs méthodes de synthèse ont été utilisées pour la préparation des matériaux parmi lesquelles la coprécipitation à pH constant, qui représente l'une des méthodes les plus simples pour la préparation de phases HDL. Ainsi, ce procédé nous a permis de synthétiser avec succès : *i*) les précurseurs HDL@X (où X a été un anion NO_3^- , CO_3^{2-} ou Cl^-), et, *ii*) les différents HDL intercalés par les PA d'intérêt, *i.e.* PA@HDL (CIP, ALA, Flur, Ibu). Il nous a également permis l'assemblage des structures AFe_2O_4 @HDL- CO_3 et AFe_2O_4 @HDL-PA. De plus, l'intercalation de PA sensibles aux conditions environnementales dans des matrices HDL a permis de préserver leurs propriétés, d'améliorer leur stabilité thermique, photochimique ou encore leur solubilité. Les NPs magnétiques utilisées dans ce travail sont les ferrites, à savoir : la ferrite de magnésium (MgFe_2O_4) et la magnétite (Fe_3O_4), dont la synthèse par voie chimique a été bien maîtrisée. En effet, ces NPs ont été obtenues par deux méthodes : *i*) la coprécipitation par la voie HDL (pour les NPs MgFe_2O_4), *ii*) la méthode solvothermale sans ajustement de pH (pour les NPs de Fe_3O_4). Nous savons que la synthèse de NPs de tailles et de formes contrôlées nécessite bien souvent le recours à des méthodes spécifiques par lesquelles il est possible de maîtriser le processus de nucléation et de croissance des particules. De par nos travaux, il s'est ainsi avéré que quel que soit la voie

de synthèse employée, les techniques de caractérisation utilisées pour évaluer les propriétés physico-chimiques de ces NPs vont dans le même sens. Elles mettent en effet en évidence la présence d'uniquement de phases spinelles, bien cristallisées sans présence d'impuretés. Les NPs sont de taille nanométrique ayant une forme assez homogène et présentent de bonnes propriétés magnétiques. Ainsi, ces méthodes de synthèses sont à la fois, simples à mettre en œuvre, rapides et sélectives avec une bonne reproductibilité. Il convient également de mentionner que les propriétés magnétiques des ferrites sont très sensibles à la distribution cationique. Ainsi, pour une compréhension complète des propriétés magnétiques des échantillons synthétisés, il sera nécessaire de compléter ces travaux par l'utilisation de techniques de caractérisation complémentaires telles que le Mössbauer, la spectroscopie d'absorption de rayons X, ou encore la diffraction des neutrons.

Plus spécifiquement, les quatre résultats les plus importants de ce travail de recherche sont illustrés dans la [figure 7.1](#).

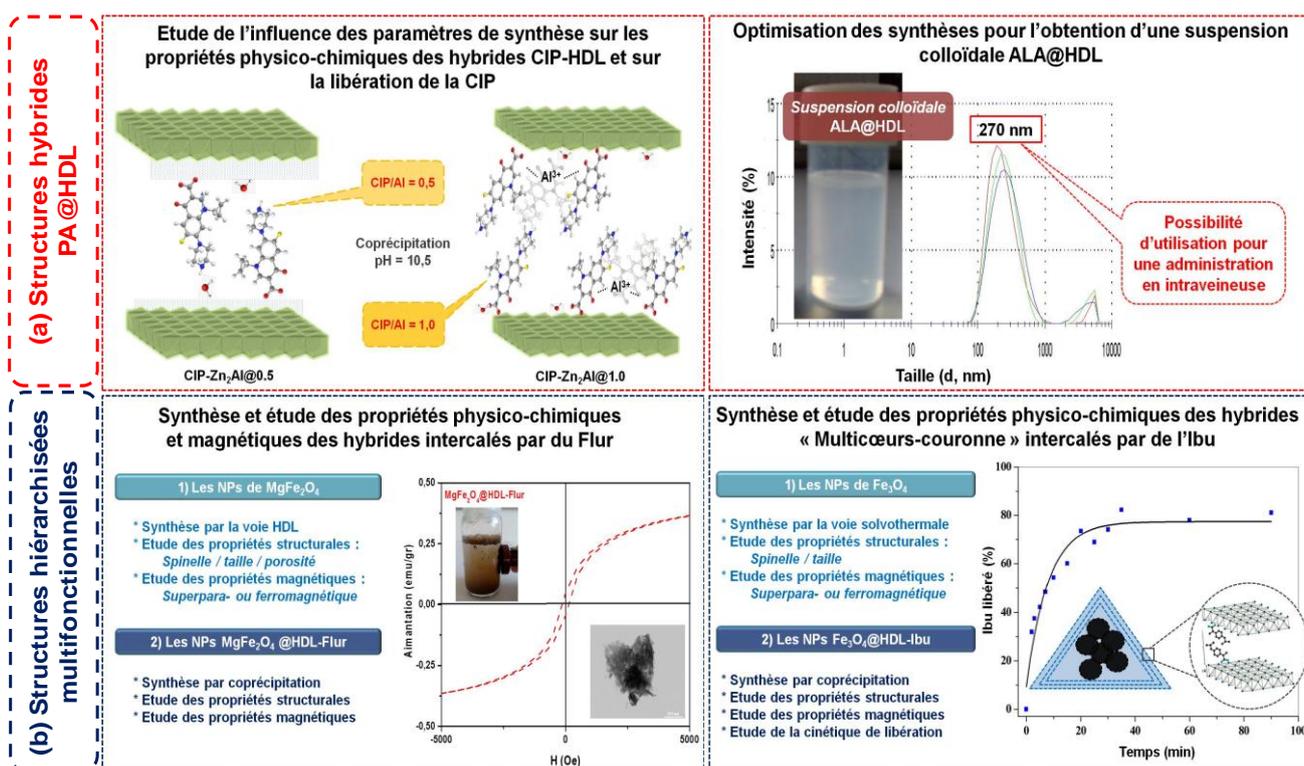


Figure 7.1 : Schéma illustrant la démarche et les principaux résultats de cette thèse.

La synthèse des hybrides CIP-HDL est détaillée dans la première partie de ce travail. Deux structures intercalées par la CIP ayant des distances interlamellaires différentes (22 Å - 31 Å) ont été obtenues par la méthode de coprécipitation à pH constant (pH 10.5) dans le cas de la phase HDL ZnAl. Le résultat le plus important de ce travail est que nous avons pu

intercaler une quantité de CIP supérieure à la capacité d'échange de la phase HDL préparée avec un rapport molaire Zn/Al = 2. Afin de mettre en évidence ce résultat, nous avons comparé l'efficacité d'encapsulation des HDL par rapport à d'autres vecteurs particuliers de nature organique/inorganique mais contenant de la CIP, qui ont été retrouvés dans la littérature (tableau 7.1).

Tableau 7.1. Quantité maximale de CIP encapsulée dans quelques vecteurs particuliers.

Composite	Procédé	Quantité encapsulée	Réfs
CIP-HDL	Coprécipitation	500 mg de CIP/1g de composite	Ce travail
CIP-LiFh ^a	Echange ionique durant 24h	277 mg de CIP/1g de composite	Rivera <i>et al.</i> [*]
PVA-CIP-PLGA ^b	Cross linking	244 mg de CIP /1g de composite	Choipang <i>et al.</i> [†]
CIP-CaCO ₃ ^c	Spray drying	350 mg de CIP /1 g de composite	Tewes <i>et al.</i> [‡]
Cyclodextrine	Inclusion en milieu aqueux	62 mg de CIP/1g de composite	Blancheman <i>et al.</i> [§]
CIP-AuNPs	Adsorption	400 mg de CIP/1g de composite	Sreedharan <i>et al.</i> ^{**}

^aLiFh : fluorohectorite (argile cationique de type smectite). ^bPVA: poly (alcool vinylique) ; PLGA : acide poly(lactique co-glycolique). ^cCaCO₃ : carbonate de calcium.

Aussi, nous avons développé, pas à pas, un protocole d'intercalation de PA dans les NPs d'HDL *via* la méthode de coprécipitation rapide suivie d'un traitement hydrothermal. C'est un autre résultat important, qui concerne l'obtention d'un nanovecteur de taille contrôlée ayant un grand degré de dispersion dans les milieux biologiques. L'étude préliminaire réalisée a donné des résultats très prometteurs avec l'acide α -lipoïque intercalé dans la phase MgAl (ALA@HDL). Les paramètres optimaux pour l'obtention d'une suspension colloïdale ALA@HDL sont : traitement hydrothermal à 100°C pendant 16 h pour les NPs d'HDL ; Une concentration en PA égale à 1 mmol par rapport à la concentration en cation trivalent ; L'échange anionique est réalisé durant 2 h à température ambiante. Ces conditions nous ont permis d'obtenir une suspension colloïdale dotée des propriétés suivantes : un diamètre hydrodynamique de 227 nm avec un indice de polydispersité égal à 0,24 et un potentiel zêta égal à + 33 mV. Ainsi, cette voie de synthèse offre de grandes possibilités pour une administration de ces nanovecteurs par voie intraveineuse.

Dans une seconde partie, la méthode de coprécipitation comme approche d'assemblage, a été suivie pour élaborer des hybrides magnétiques organiques/inorganiques

^{*} Rivera *et al.*, Appl. Clay Sci. 124 (2016) 150.

[†] Choipang *et al.*, Drug Deliv. Sci. Technol. 47 (2018) 106-114.

[‡] Tewes *et al.*, Am. Chem. Soc. 13 (2015) 100-112.

[§] Blancheman *et al.*, Carbohydr. Polym. 90 (2012) 1695-1703.

^{**} Sreedharan *et al.*, Int. J. Nanomedicine 14 (2019) 9905-9916.

$\text{AFe}_2\text{O}_4\text{@HDL-PA}$ de structure cœur-couronne. Rappelons que les PA concernés sont des espèces anioniques d'anti-inflammatoires non stéroïdiens : le flurbiprofène et l'ibuprofène. Par coprécipitation *in situ* de solutions contenant les sels métalliques et le PA d'intérêt dans la solution des NPs magnétiques, nous avons pu :

i) Réussir l'intercalation des deux PA (Flur et Ibu) dans les structures hybrides PA@HDL et les structures multifonctionnelles $\text{AFe}_2\text{O}_4\text{@HDL-PA}$;

ii) Confirmer la préparation de structure cœur-couronne dans le cas de l'échantillon $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-Ibu}$ alors qu'il s'agit d'un composite dans le cas $\text{MgFe}_2\text{O}_4\text{@HDL-Flur}$ et ce, *via* les caractérisations effectuées par microscopie électronique ;

iii) Confirmer le maintien de la structure cristalline des deux PA (Flur et Ibu) après leur intercalation dans les phases $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-Ibu}$ et $\text{MgFe}_2\text{O}_4\text{@HDL-Flur}$; en utilisant la DRX et la spectroscopie IRTF,

Le caractère fonctionnel des NPs confèrent leurs propriétés magnétiques aux matériaux HDL leur permettant ainsi d'être facilement utilisés dans des applications ciblant le domaine biomédical.

En ce qui concerne l'hybride $\text{MgFe}_2\text{O}_4\text{@HDL-Flur}$ et la phase Flur@MgAl , les résultats présentés pour ces deux composés devront d'être complétés par d'autres techniques telles que la RMN du ^{13}C et l'analyse chimique. Néanmoins, le comportement magnétique reste perceptible et la valeur de l'aimantation mesurée rend l'hybride $\text{MgFe}_2\text{O}_4\text{@HDL-Flur}$ (0,36 emu/g) utilisable pour des applications magnétiques appropriées dans le domaine biomédical. Quant aux résultats des structures multi-cœurs-couronne $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-Ibu}$, ils ont été comparés à ceux des phases de référence Ibu@HDL et $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL}$. Ainsi, nous avons été en mesure de déterminer la composition chimique, de quantifier le taux d'intercalation de l'Ibu et de déterminer la pureté des phases, et ce, en vue de l'évaluation *in vitro* de la cinétique de libération de l'Ibu *in vitro*.

Enfin, la troisième partie de ce travail, a été consacrée à l'étude de la cinétique de libération de l'Ibu à partir des phases $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-Ibu}$ et Ibu@HDL , réalisée dans un milieu PBS pH = 7.4. En effet, à partir du matériau $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-Ibu}$, une libération prolongée est obtenue, alors que la cinétique de la phase HDL@Ibu est très rapide. La présence des NPs en multi-cœur dans l'hybride, font probablement retenir l'Ibu au sein de l'espace interlamellaire, d'où la libération progressive et prolongée. Le modèle Korsmeyer-Peppas est celui qui représente au mieux le profil de libération de la phase $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@HDL-Ibu}$. Ce modèle décrit le mécanisme de libération comme étant un mécanisme basé sur le principe d'échanges anioniques externes des molécules d'Ibu avec les phosphates du tampon, s'ensuit une diffusion des molécules de la surface vers le milieu de libération. Les résultats montrent

l'efficacité de l'intercalation pour le développement des systèmes de libération contrôlée de médicaments. Aussi, Il serait intéressant à l'avenir d'explorer la possibilité de former des structures multifonctionnelles par simple auto-assemblage pour la vectorisation de PAs.

ANNEXES



Cite this: *New J. Chem.*, 2020, 44, 10076

New insights into two ciprofloxacin-intercalated arrangements for layered double hydroxide carrier materials†

Nawal Fodil Cherif,^{abc} Vera Regina Leopoldo Constantino,^d Oualid Hamdaoui,^e Fabrice Leroux^a and Christine Taviot-Guého^{*,a}

This paper describes the intercalation of ciprofloxacin (CIP), a bactericidal antibiotic, into the interlayer space of layered double hydroxides (LDHs). To counter the problem of bacterial resistance and also to improve the properties of the CIP drug, the drug carrier approach promises significant benefits. Through the tight control over the synthesis parameters, particularly the amounts of CIP with respect to aluminum ions, two different LDH-CIP-intercalated structures were obtained with significantly different interlayer distances, namely, 21 and 32 Å. The samples were fully characterized in terms of composition, structure, and morphology. Interestingly, the structure with the largest interlayer distance incorporated both CIP anions and Al(CIP)₃ complex, exhibiting the possibility to increase the CIP drug loading beyond the anionic-exchange capacity of the LDH carrier. *In vitro* release in a simulated intestinal fluid (phosphate-buffered solution at pH 7.5) confirmed that LDH was a potentially efficient carrier to deliver CIP in a sustained manner *via* the anion-exchange mechanism. Different release rates were observed depending on the intercalated structure, which were also influenced by the morphological characteristics.

Received 3rd January 2020,
Accepted 3rd February 2020

DOI: 10.1039/d0nj00045k

rs.c.li/njc

Introduction

In the recent years, a number of studies have addressed the use of organic–inorganic hybrid materials as smart drug carriers to promote the sustained and target-specific delivery of bioactive species in organisms.^{1–4} In this area, layered double hydroxides (LDHs) have attracted considerable attention as host materials for functional species.^{5–7} In particular, a wide variety of pharmaceutical drugs have been intercalated into LDHs, namely, antibiotics, anticancer drugs, vitamins, anticardiovascular agents, diabetes drugs, antifibrinolytic agents, antihypertensives, antimycotic agents, anticoagulants, osteoporosis, antioxidants,

immunosuppressant corticosteroids, nonsteroidal antiinflammatory drugs, and nucleosides.^{8,9} Intercalated drugs can be released either by deintercalation through anion exchange with the surrounding external anions by mass action law or by the acidic dissolution of LDH layers. When compared with other carrier systems, LDHs are simpler to synthesize in the laboratory, cost-effective, have good biocompatibility, high drug-loading capacity, high drug-transportation efficiency, low toxicity to the target cells or organs, and can offer excellent protection to the loaded molecules from undesired enzymatic degradation.¹⁰

The present work focuses on the intercalation of ciprofloxacin (CIP), a fluoroquinolone antibiotic, into the interlayer space of LDHs. CIP (4-oxo-7-(1-piperazinyl)-6-fluoro-1-cyclopropyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid) exhibits potent broad-spectrum bactericidal activity against most Gram-positive cocci and Gram-negative bacteria, and it is frequently used to treat urinary tract infections, respiratory infections, otitis media treatment, and external ocular infections.¹¹ To counter the problem of bacterial resistance and improve the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of CIP drugs, approaches involving nanosized drug carriers promise significant benefits.^{12,13} CIP-Loaded polymeric and lipid nanoparticles have, therefore, been described in the recent years.^{14–17} There have also been a few reports in using two-dimensional nanomaterials such as synthetic silicate clays,^{18–20} layered single hydroxides (LSHs),²¹ and LDHs.^{22–26} Most of these works deal with CIP hydrochloride

^a Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, UMR-CNRS 6296,

Université Clermont Auvergne, Campus des Cézeaux, 24 avenue des Landais, B.P. 800 26, 63171 Aubière, France. E-mail: christine.taviot-gueho@uca.fr

^b Laboratory of Environmental Engineering, Badji Mokhtar-Annaba University, P.O. Box 12, 23000 Annaba, Algeria

^c Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques, B.P. 384, Zone Industrielle Bou-Ismaïl, Tipaza, Algeria

^d Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes 748, 05508-000 São Paulo, Brazil

^e Chemical Engineering Department, College of Engineering, King Saud University, P.O. Box 800, Riyadh 11421, Saudi Arabia

† Electronic supplementary information (ESI) available: Includes XRD patterns, TGA-DTG and TGA-MS thermograms, FTIR and FT-Raman spectra, ¹³C NMR data and fitting of the drug release data with kinetic equations. See DOI: 10.1039/d0nj00045k

salts (CIP_{HCl}), the most commonly used form of CIP in oral and parenteral formulations. Its solubility in water is about two orders of magnitude higher than that of the zwitterionic form (CIP_{zw}).^{27,28} These two types of CIP drugs can demonstrate different efficiencies, as shown in the treatment of respiratory infections.^{29,30}

Only a few studies have been reported so far on the intercalation/loading of CIP in LDHs and they have revealed differing results.^{22–25} Hesse *et al.* performed *in vivo* tests and concluded that more upstream work is needed on the CIP release from LDH carrier before considering its biomedical applications.²³ Therefore, the present study aimed to provide a better comprehension of the synthesis of LDH-CIP hybrid materials and their structural features, as well as to identify the key parameters to ultimately produce improved materials. Both CIP hydrochloride salts and CIP zwitterions were used as the reagents to intercalate drugs into Mg₂Al and Zn₂Al LDHs by the coprecipitation method. By varying the amounts of CIP with respect to Al³⁺, an interplay was observed between the precipitation and complexation reactions, leading to two different LDH-CIP-intercalated structures. In order to explain the formation mechanisms, investigate the arrangements of CIP drug confined in LDH interlayer space, and examine the morphology and surface characteristics, a set of complementary techniques were used: chemical elemental analysis (CHNS); inductively coupled plasma atomic emission (ICP-AES); energy-dispersive X-ray (EDX); X-ray powder diffraction (XRD); thermogravimetric analysis (TGA); UV-visible (UV-vis) absorption spectrometry; Fourier-transform infrared (FTIR) and Raman (FT-Raman) spectrometries; solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance (¹³C NMR); scanning (SEM) and high-resolution transmission electron (HRTEM) microscopies; surface area analysis (Brunauer–Emmett–Teller, BET); and zeta potential measurements. A thorough investigation of the XRD data allowed the detailed description of such LDH-CIP assemblies. Finally, the *in vitro* evaluation of the release performed in simulated intestinal fluid (phosphate-buffered solution (PBS) at pH 7.5) showed kinetics and release rates depending on the LDH-CIP-intercalated structure, as well as that on the surface characteristics.

Experimental

Chemicals

Magnesium nitrate hexahydrate (Mg(NO₃)₂·6H₂O, Acros Organics, 98%), aluminum nitrate nonahydrate (Al(NO₃)₃·9H₂O, Acros Organics, 99%), zinc nitrate hexahydrate (Zn(NO₃)₂·6H₂O, Acros Organics, 98%), sodium hydroxide (NaOH, Acros Organics, 98%), acetone (CH₃COCH₃, VWR Chemicals, 99%), and potassium phosphate monobasic (KH₂PO₄, Sigma-Aldrich, 99%) were used. C₁₇H₁₈FN₃O₃ (CIP, 4-oxo-7-(1-piperazinyl)-6-fluoro-1-cyclopropyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid, Sigma-Aldrich, 98%) and ciprofloxacin hydrochloride monohydrate C₁₇H₁₈FN₃O₃·HCl·H₂O (Sigma-Aldrich, 99%), abbreviated as CIP_{zw} and CIP_{HCl}, respectively, were used as received.

Syntheses

Attempts to intercalate CIP into MgAl and ZnAl LDH materials were performed using both anion-exchange and coprecipitation methods. Moreover, two forms of CIP drugs were used: the hydrochloride salt CIP_{HCl} and the zwitterionic CIP_{zw}. CIP molecule possess a carboxylic acid group (pK_{a1} = 6.1) and a piperazine basic group (pK_{a2} = 8.7). Therefore, CIP can exist in different ionic states as a function of pH, *i.e.*, cationic at acidic pH (pH < 5.0), zwitterionic at pH encompassing the pK_a (6.0 < pH < 8.5), and anionic at basic pH (pH > 9.2).^{31–33} To obtain CIP in its anionic form, CIP_{HCl} and CIP_{zw} were dissolved in ultrapure Milli-Q water at pH 10.7 by the slow addition of 0.1 mol L⁻¹ NaOH.

Preparation of LDH-NO₃ precursors. Mg₂Al-NO₃ and Zn₂Al-NO₃ LDH having a M²⁺/Al³⁺ molar ratio of 2 (M²⁺:Mg²⁺ or M²⁺:Zn²⁺) intercalated with nitrate anions were prepared by NaOH-induced coprecipitation from solutions containing Mg(NO₃)₂·6H₂O/Al(NO₃)₃·9H₂O or Zn(NO₃)₂·6H₂O/Al(NO₃)₃·9H₂O. The pH value was fixed to 9 for Mg₂Al-NO₃ and 7 for Zn₂Al-NO₃. After an ageing step of 24 h under a N₂ atmosphere at room temperature, the precipitates were washed with deionized water and dried at 40 °C in air.

Anion-exchange intercalation procedure. Approximately 50 mg of finely ground LDH-NO₃ precursors were dispersed into 50 mL water containing different excesses of CIP as compared to the LDH anion-exchange capacity (5 times molar excess at 2.0 and 1.0). The experiments were carried out under a N₂ atmosphere at room temperature. The pH of the exchange medium was adjusted to 10.5 by the slow addition of 0.1 mol L⁻¹ NaOH. The mixtures were stirred for 24 h. The resultant products were collected by thoroughly washing the precipitates with deionized water/acetone and were dried at 40 °C in air.

Coprecipitation intercalation procedure. Here, 20 mL aqueous solutions containing 2 mmol M²⁺(NO₃)₂·6H₂O and 1 mmol Al(NO₃)₃·9H₂O, leading to a M²⁺/Al³⁺ molar ratio equal to 2, were added dropwise (0.11 mL min⁻¹) using peristaltic pumps to a stirred reactor vessel containing 100 mL CIP solutions in 2 different concentrations as compared to the amount of Al³⁺ (CIP/Al = 0.5 and CIP/Al = 1.0). With CIP_{zw}, due to its low solubility,²⁸ the syntheses were performed only for CIP/Al = 0.5. The pH value was maintained constant during the reaction at a value of 10.5 by the simultaneous addition of 0.5 mol L⁻¹ NaOH solution. The resulting slurry was aged for 24 h at room temperature. The solids recovered by centrifugation were washed 3 times with deionized water and dried in air at 40 °C. These samples were denoted as M²⁺₂Al-CIP_{HCl@0.5}, M²⁺₂Al-CIP_{HCl@1.0}, and M²⁺₂Al-CIP_{zw@0.5}, where the “@0.5/1.0” notation referred to the CIP/Al ratio.

Elemental analysis

The percentages of carbon, nitrogen, and hydrogen in the hybrids were determined using a Flash 2000 CHNS elemental analyzer from Thermo Fisher Scientific. The metal contents of the samples were measured by an ICP-AES instrument from Jobin Yvon Horiba ULTIMA C and by SEM with EDX performed on a field-emission scanning electron microscope, namely, Zeiss SUPRA 55VP. For the ICP-AES analysis, approximately

5 mg of the samples were dissolved in 5 mL concentrated nitric acid before dilution and measurement. For the SEM-EDX analysis, the samples were deposited on double-sided tapes and then Au was metalized by sputtering in a vacuum. TGA was conducted using a PerkinElmer TGA7 apparatus. Powdered samples (~20 mg) were placed in alumina open pans. The temperature was scanned at 5 °C min⁻¹ from 25 to 800 °C under an air atmosphere. Mass-coupled thermal analysis (TGA-DSC-MS) was performed using a Netzsch TGA/DSC 490 PC Luxx thermal analyzer coupled to an 403 C Aëolos mass spectrometer at the heating rate of 5 °C min⁻¹ under an air atmosphere (air flow: 50 mL min⁻¹).

Structural and morphological characterizations

XRD patterns were recorded using a Philips X'Pert Pro diffractometer equipped with an X'Celerator detector that used Cu-K $\alpha_{1,2}$ radiation. The instrument was used in the θ - θ reflection mode, fitted with a nickel filter, 0.04 rad Soller slits, 10 mm mask, 1/2° fixed divergence slit, and 1/4° fixed antiscatter slit. The XRD data were measured over a 2 θ range of 2–80° with a step size of 0.0167° and a total counting time of about 3 h. The Le Bail method comprising the full-pattern decomposition of the XRD pattern of the powdered sample was used to determine the cell parameters of Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0} assuming the $R\bar{3}m$ space group, which is typical for LDH materials, and to determine the intensities of the diffraction peaks. The refinement was carried out using the FullProf software.³⁴ The pseudo-Voigt Thompson, Cox, and Hastings profile functions were selected to analyze the peak profiles.³⁵ The one-dimensional electron density distribution along the c -stacking axis was calculated for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0} from the intensity of the 00 l diffraction lines according to the following equation (in the case of centrosymmetric structures):

$$\rho(z) = \frac{2}{L_z} \sum_l F_{00l} \cdot \left(\frac{\cos 2\pi l}{c} \right) \cdot \cos \phi_{00l} \quad (1)$$

where c is the unit cell parameter, z is the fractional coordinate along the c -stacking axis, F_{00l} are the structure factors, and ϕ_{00l} is the "phase" of the 00 l reflection equal to 0° or 180°.³⁶ Here, 11 isolated 00 l diffraction lines were used for calculating the 1D plots. The signs of the structure factors, *i.e.*, the phases, were obtained from the scattering contributions of the hydroxide layers by assuming a relatively small contribution of the intercalated molecules. The Patterson map for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0} was calculated using the GFourier program³⁷ by employing the observed structure factors, F_{obs} , extracted from the Le Bail whole-powder diffraction pattern decomposition and plotted in the form of contour plots summed from 0 to 1 along the a/b -axis.

The UV-vis spectra were recorded on a Shimadzu UV-2600 spectrometer equipped with an integrating sphere attachment. A suspension of LDH-CIP materials (10 mg mL⁻¹) was stirred for 2 h, dropped on a high-quality glass substrate, and allowed to dry at 50 °C for 2 h. The resulting solid thin films were measured in the transmittance mode in the range of 200–800 nm. The FTIR spectra were obtained with a Nicolet 5700 spectrometer in the range of 400–4000 cm⁻¹ at an average of 64 scans at a resolution of 8 cm⁻¹ and using the KBr pellet method with

approximately 1% weight of the samples. FT-Raman spectra were recorded from 200 to 3500 cm⁻¹ at room temperature using a FT-Raman spectrometer (Bruker FRS-100/S) at an excitation wavelength of 1064 nm (Nd:YAG laser, Coherent Compass 1064-500 N), laser power of 80 mW, Ge detector, spectral resolution of 4 cm⁻¹, and 256 scans. The ¹³C solid-state NMR experiments were performed on a 300 Bruker Advance spectrometer operating at 75.47 MHz at room temperature. The experiments were carried out under the magic-angle spinning (MAS) condition at 10 kHz and 4 mm-diameter zirconia rotor. The ¹³C spectra were obtained by using the proton-enhanced cross-polarization method (CP; contact time of 1 ms and recycling time of 5 s) and are referenced to the carbonyl of glycine calibrated at 176.03 ppm. Data were phased using the TOPSPIN software.

The HRTEM images were acquired using a JEOL 2100F microscope operating at an accelerating voltage of 200 kV. The samples were dispersed in water and subject to ultrasonic treatment for 5 min. Then, a drop of the suspension was deposited on a 150 mesh Formvar carbon-coated copper grid and dried at room temperature.

The surface area measurements were performed using the BET method. N₂ adsorption/desorption isotherms were collected using a Micromeritics ASAP2020 analyzer at -196 °C. Prior to the measurements, the samples were degassed at 80 °C for 12 h. Photon correlation spectroscopy was conducted to record the zeta potential of the dilute suspensions of powders using a Malvern Nanosizer Nano ZS instrument.

Drug release experiments

An accurately weighted amount of Zn₂Al@CIP (around 30 mg) was dispersed in 250 mL PBS (pH 7.5) release medium simulating the intestinal fluid. The drug release experiments, in duplicate, were performed at 25 °C under constant stirring (200 rpm) and under sink conditions, *i.e.*, with maximum CIP concentrations that were very low as compared to its saturation solubility at pH 7.5.³⁸ At defined time intervals, 3 mL of the release medium was withdrawn, filtered, and replaced with an equivalent amount of fresh PBS. The amount of the released CIP was determined by UV-vis absorption (Shimadzu UV-2600) at $\lambda = 271$ nm. The dependence of the absorbance on the concentration was linear in the investigated range between 1 × 10⁻³ and 1 × 10⁻⁴ mg mL⁻¹. Higuchi and Korsmeyer–Peppas diffusion kinetic models were employed to fit the drug release behavior of Zn₂Al@CIP nanohybrids in PBS.³⁹

Results

Synthesis and characterization of LDH-CIP nanohybrids

The intercalation of CIP into Zn₂Al and Mg₂Al LDH was investigated using the anion-exchange and coprecipitation methods, starting from different CIP/Al molar ratios (0.5, 1.0, 2.0, and 5.0) and using two forms of CIP drugs, *i.e.*, the hydrochloride salt (CIP_{HCl}) and the zwitterionic form (CIP_{zw}). The pH applied for all the synthesis tests around 10.5 corresponds to the anionic form of CIP suitable for its intercalation into the LDH host.

It should be noted that the solubility of CIP_{zw} in water (0.067 mg mL⁻¹ at neutral pH²⁸ and approximately 2 mg mL⁻¹ at pH 10.5) is much lower than that of CIP_{HCl} (30 mg mL⁻¹ at neutral pH);²⁷ then, synthesis with CIP_{zw} was attempted only for CIP/Al = 0.5.

The first important result in this study is that all our attempts to prepare the materials through the anion-exchange method starting from nitrate or chloride precursors failed. As evidenced by the XRD analysis (Fig. ESI1, ESI†), either the exchange did not take place (yielding an XRD pattern similar to the LDH precursor) or the decomposition/dissolution of LDH layers was observed with the disappearance of the 110/113 characteristic double peak. On the other hand, using the coprecipitation method, the intercalation of CIP was obtained but only for CIP/Al molar ratios lower than or equal to 1, which implied sub-excess conditions as compared to the intercalation capacity of LDH. Moreover, depending on the CIP/Al molar ratio of 1.0 or 0.5, 2 different interlayer distances were observed.

For CIP/Al = 0.5, with CIP_{zw} and CIP_{HCl}, the XRD data (Fig. 1A) reveal very similar diffraction patterns with a similar shift in the 00*l* diffraction peaks to low 2θ angles (as compared to the nitrate LDH precursors, Fig. ESI2, ESI†), which are

consistent with the enlargement of the interlayer distance *d*. Often, with LDH systems, the Zn₂Al LDH host composition leads to better crystallinity than its Mg₂Al counterpart. The observation of the 110/113 double peak at 2θ = ~62° confirms the formation of LDH layers. The *d*-spacing values estimated from the position of the first 00*l* diffraction line are about 20.8 Å for Zn₂Al-CIP_{zw@0.5}, 21.2 Å for Zn₂Al-CIP_{HCl@0.5}, 23.3 Å for Mg₂Al-CIP_{zw@0.5}, and 21.5 Å for Mg₂Al-CIP_{HCl@0.5}. In all the samples, additional peaks can be observed, particularly at 2θ = 11.6° (7.6 Å) and 2θ = 22.9° (3.8 Å), indicating the presence of LDH-CO₃, which was predictable given the low excess of CIP used. In fact, LDH-NO₃ was certainly formed first and turned entirely or partly into LDH-CO₃ during the washing and drying processes; further, it was in contact with CO₂ gas from the ambient atmosphere.⁴⁰ Furthermore, the peak observed at 2θ = 6.3° (14 Å) may be attributed to the residual free CIP (Fig. ESI3, ESI†).⁴¹

For CIP/Al = 1.0, with the Zn₂Al LDH host, an important expansion of the interlayer space was observed on the XRD pattern (Fig. 1B), leading to an interlayer distance of around 32.0 Å. Up to 11 00*l* diffraction lines are visible for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0}, suggesting a rather well-ordered packing in the interlayer space. In contrast, much lower crystallinity was observed with the Mg₂Al host and there is no clear evidence of CIP intercalation. The first intense peak located at 2θ = 6.3° (about 14 Å) on the XRD pattern can be probably attributed to the CIP salt.

As the first approach, the gallery heights can be calculated by subtracting the value of the hydroxide layer thickness (~2.1 Å) as well as the hydrogen bonding distance (~2.7 Å)⁴³ from the observed *d*-spacing values. This leads to values ranging from 13.3 to 15.8 Å for the series of samples prepared at CIP/Al = 0.5; when compared with the length of the molecule (11.3 Å, Fig. 2), the formation of a monolayer and interdigitated arrangement can be assumed. A slight variation in the interlayer water content can explain the different interlayer distances. On the other hand, for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0}, a much larger gallery height is obtained, *i.e.*, 24.5 Å, indicating the formation of a double layer without interdigitation.

The relatively high crystallinity of the Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0} sample, as well as the absence of impurities, allowed us to obtain the entire diffraction pattern profile refinement. Our data are consistent with the *R*3*m* space group (Fig. 3), which is often reported for LDH materials.⁴³ An interlayer distance of *d* = 32.15 Å is deduced from

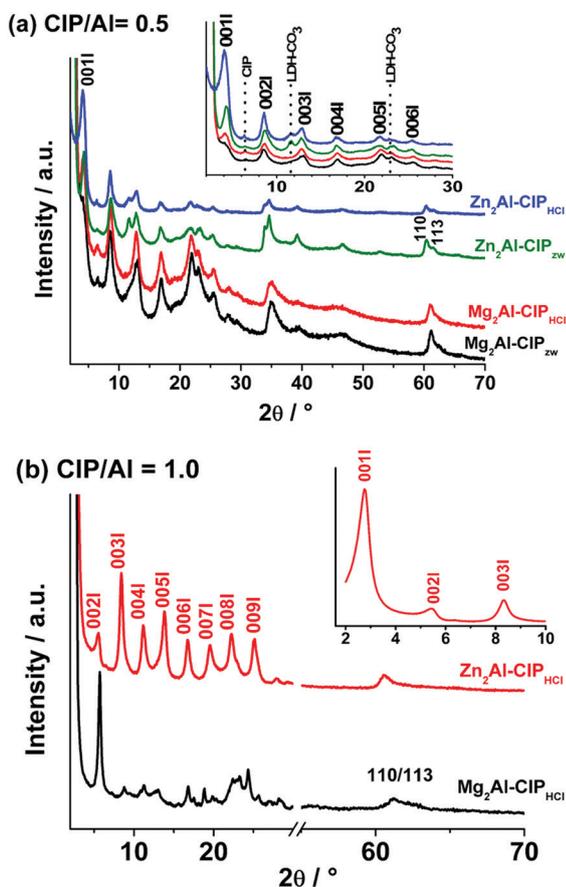


Fig. 1 PXRD patterns of Zn₂Al-CIP and Mg₂Al-CIP samples obtained by coprecipitation at (a) CIP/Al = 0.5 and (b) CIP_{HCl}/Al = 1.0. Insets show the 00*l* diffraction peaks at low 2θ; the vertical dashed lines denote the presence of LDH-CO₃ and free CIP impurities. The entire diagram for (b) is shown in Fig. ESI4 (ESI†).

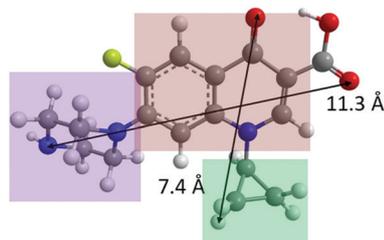


Fig. 2 Molecular structure of the CIP drug molecule extracted from the crystal structure of the hydrochloride 1.34-hydrate.⁴² Quinolone, piperazine, and cyclopropane rings are highlighted in pink, purple and green colors, respectively.

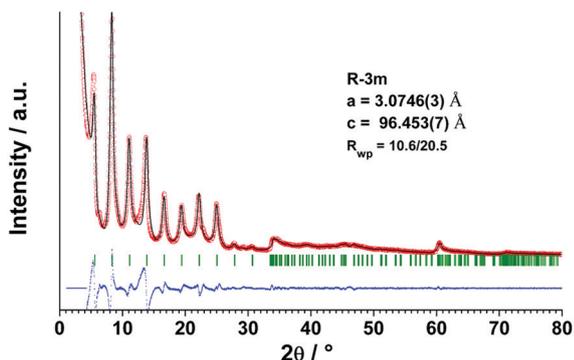


Fig. 3 Profile analysis of the XRD pattern of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$: experimental X-ray diffraction (circles), calculated (line), Bragg reflections (ticks), and difference profiles. Refinement in a hexagonal cell with the $R\bar{3}m$ space group. R_{wp} denotes the reliability factor.

the value of the c parameter of the hexagonal cell; $c = 96.453(7) \text{ \AA} = 3 \times d$. Moreover, the value obtained for the cell parameter $a = 3.0746(3) \text{ \AA}$ indicates a Zn/Al molar ratio of 2.57,⁴⁴ which is higher than that applied during the synthesis process, namely, 2. This is not surprising considering the high value of pH (10.5) during synthesis. Indeed, above a pH of 9, Al can enter back into the solution as soluble aluminate ions, *i.e.*, $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, thereby leading to an increase in the Zn/Al ratio.⁴⁵ Secondly, the preparation of hybrid LDHs by the coprecipitation method should be viewed as a self-assembly process with the possible adjustment of the composition/charge density of the hydroxide layer for better accommodation of the interlayer species.⁴⁶

The HRTEM images (Fig. 4) show the well-developed layered structures, and the different distances can be estimated between the parallel fringes, namely, $\sim 28 \text{ \AA}$ for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ and 19 \AA for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$, which are close to the d -spacing values determined by XRD, confirming the existence of these two intercalated structures.

Owing to the better crystallinity observed for the ZnAl-LDH system, only these phases will be considered in the following discussion. The chemical compositions listed in Table 1 were obtained by combining the CHNS, ICP, EDX, and TGA data. Marginal differences are observed in the Zn/Al molar ratios between the ICP analysis of the bulk and the EDX analysis

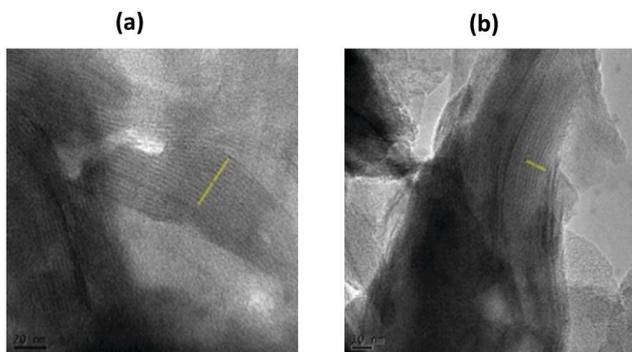


Fig. 4 HRTEM images of (a) $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ (scale bar: 20 nm) (b) and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ (scale bar: 10 nm).

of the crystals in the case of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ samples, indicating certain heterogeneity for these samples related to the presence of $\text{Zn}_2\text{Al-CO}_3/\text{NO}_3$ impurities, as evidenced by the XRD data. For expressing the chemical formula of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ samples, the average Zn/Al ratio of 2.15 was assumed, as determined by the ICP analyses. The CHNS analysis was used to calculate the amount of intercalated CIP, also considering the presence of NO_3^- and CO_3^{2-} ions, as well as the residual free CIP as shown in the XRD data. A relatively good agreement was obtained between the calculated and experimental values with the compositions of the mixtures, as listed in Table 1.

On the other hand, for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$, the EDX values were repeatable and similar to the ICP results, confirming the purity of this sample with Zn/Al = 2.15. Interestingly, this value is much lower than that deduced from the XRD analysis from the refinement of the cell parameter a , namely, 2.57. Since the value of the cell parameter a relates only to the composition of the hydroxide layers, this discrepancy indicates the presence of additional Al^{3+} ions probably located in the interlayer space. Furthermore, the CHNS analysis reveals an important amount of carbon, larger than those measured in the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}/\text{HCl}@0.5}$ samples and also larger than the amount of CIP needed to compensate the positive charge of the LDH layers. Therefore, we could confirm the cointercalation of CIP anions and Al^{3+} cations. One part of CIP compensates the charges of the LDH layer and the other part, *i.e.*, the excess, is associated to the presence of Al^{3+} cations. Hence, the following chemical formula is proposed for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$: $\text{Zn}_{2.14}\text{Al}_{0.86}(\text{OH})_6(\text{CIP})_{0.86}(\text{CIP}_{2.9}\text{Al})_{0.14} \cdot 8.0\text{H}_2\text{O}$.

Similar TGA curves are observed for the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ samples (Fig. ESI5, ESI†) that are both intercalated with anionic CIP that start decomposing at $300 \text{ }^\circ\text{C}$, similar to that observed in both the CIP salts.⁴⁷ On the other hand, the thermal profile of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}/\text{HCl}@0.5}$ samples are very different from that obtained for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ in the $250\text{--}500 \text{ }^\circ\text{C}$ range, indicating the influence of the drug arrangement between the layers in the decomposition processes. TG-MS analysis results of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ sample (Fig. ESI6, ESI†) show pertinent weight loss above $450 \text{ }^\circ\text{C}$, which can be attributed to the release of CO_2 in large amounts due to the high content of intercalated CIP. If we consider that fluoride remains and forms metal fluoride residues, the total weight losses observed by TGA are consistent with the chemical formulas of the samples, as shown in Table 1. As reported for the thermal decomposition of the metal complexes with CIP,⁴⁸ metal cations from the LDH layers could combine with CIP, probably leading to the formation of metal oxides or fluoride residues.

In the range of $1700\text{--}1300 \text{ cm}^{-1}$, the FTIR spectra of all the CIP-intercalated LDH samples (Fig. ESI7, ESI†) are rather similar to the reported spectrum of the CIP solution at pH 9⁴⁹ with the main bands at 1628 , 1580 , 1385 , and 1360 cm^{-1} , confirming the intercalation of the CIP drug in the anionic form regardless of the salt and CIP/Al ratio. The band assigned to the $\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$ vibrational mode is observed as a shoulder at about 1580 cm^{-1} , but that related to $\nu_{\text{s}}\text{COO}^-$ overlaps with the bands of nitrate anions ($\nu_3\text{NO}_3$) at 1384 cm^{-1} and carbonate anions

Table 1 Chemical analysis and proposed formulae for CIP-intercalated samples

Zn ₂ Al-samples	C ^{a,b} (wt%)	N ^{a,b}	H ^{a,b}	Zn/Al molar ratio ^b ICP/EDX	Total weight loss ^{c,d} (wt%)	Drug loading ^e
CIP _{zw} @0.5	22.01 (22.08)	5.04 (5.04)	3.63 (3.63)	2.10/2.1–2.6 (2.05)	57.5 (60.4)	41.7 ± 1.0
63% Zn _{2.0} Al _{1.0} (OH) ₆ (CIP) _{1.0} 3.0H ₂ O + 23% Zn _{2.0} Al _{1.0} (OH) ₆ (NO ₃) _{1.0} 3.0H ₂ O + 9% Zn _{2.2} Al _{0.8} (OH) ₆ (CO ₃) _{0.4} 2.0H ₂ O + 5% CIP	22.61 (22.76)	4.96 (4.96)	3.78 (3.78)	2.10/2.1–2.6 (2.11)	61.0 (60.5)	41.9 ± 1.0
66% Zn _{2.0} Al _{1.0} (OH) ₆ (CIP) _{1.0} 3.5H ₂ O + 11% Zn _{2.0} Al _{1.0} (OH) ₆ (NO ₃) _{1.0} 3.0H ₂ O + 19.5% Zn _{2.2} Al _{0.8} (OH) ₆ (CO ₃) _{0.4} 2.0H ₂ O + 3.5% CIP	31.00 (31.00)	6.40 (6.40)	4.39 (4.39)	2.15/2.2–2.3 (2.15)	67.60 (71.30)	50.3 ± 0.5
Zn _{2.14} Al _{0.86} (OH) ₆ (CIP) _{0.86} CIP _{0.41} Al _{0.14} ·8.0H ₂ O						

^a CHN ± 0.05 wt%. ^b Values in the brackets are deduced from the proposed formulae. ^c TGA analysis ± 0.01 wt%. ^d Values in the brackets are calculated assuming that the fluoride remain. ^e CIP loading calculated considering the total amount of CIP, *i.e.*, intercalated and free CIP.

($\nu_3\text{CO}_3$) at 1360 cm⁻¹ from LDH-NO₃ and LDH-CO₃ impurities, respectively. As a consequence, we could not identify the type of interaction between the carboxylate function and LDH layers based on the separation of bands, *i.e.*, $\Delta\nu = \nu_{\text{asCOO}^-} - \nu_{\text{sCOO}^-}$, as proposed elsewhere.⁵⁰ By comparing the relative intensity of the bands at 1620 and 1384 cm⁻¹ (I_{1620}/I_{1384}),⁵⁰ a lower intensity ratio can be obtained for Zn₂Al-CIP_{zw}@0.5 as compared to that for Zn₂Al-CIP_{HCl}@0.5, indicating a higher amount of nitrate anion in the former case. This corroborates the compositions proposed for these materials, as listed in Table 1. In the FT-Raman spectra (Fig. ESI8, ESI†), the region between 1480 and 1440 cm⁻¹ is related to the hydrogen deformation modes of the piperazine group and undergoes modifications whether the nitrogen atom is protonated or not.⁵¹ The modifications observed in this spectral region for LDH-CIP materials are very similar to those reported in the literature for CIP at pH 11 in an aqueous solution,⁴⁹ indicating that the terminal nitrogen of the piperazine group is not protonated in LDH-CIP materials.

The solid-state CP MAS ¹³C NMR spectra of the LDH-CIP materials and CIP salts are shown in Fig. 5. The assignment of the chemical shifts (Table ESI1, ESI†) was done by referring to the NMR characterization of the CIP_{zw} salt⁵² and the aluminum complexes of CIP reported by Chattah *et al.*⁵³ The signals in the ¹³C NMR spectrum of CIP can be classified into three groups corresponding to the three main components of the drug, namely, quinolone moiety (C4, C3a), piperazine ring (C2'6'3'5'), and cyclopropane ring (C1a and C1b). One interesting difference between CIP_{HCl} and CIP_{zw} is with respect to C3a, which appears at 168 ppm in CIP_{HCl}, while it is shifted to higher ppm in CIP_{zw} overlapping with C4 resonance at 178 ppm. This difference is consistent with the carboxyl group deprotonation in the zwitterionic form. The analysis of the intercalated samples, showing the same three groups of signals as those in the CIP salts, initially confirms the preservation of the CIP structural integrity upon intercalation into LDH. Marginal shifts in the positions can be observed probably due to the confinement of CIP into the LDH interlayer space. In particular, an upshift in the C3a resonance could be observed in all the samples from 168 to 172 ppm as compared to CIP_{HCl}; this suggests the deprotonation of the carboxylic group, which is consistent with the intercalation of CIP in its anionic form. The splitting observed for the cyclopropane ring is due to the presence of other CIP entities since such splitting cannot be observed by nuclei couplings averaged by MAS. In the case of the Zn₂Al-CIP_{zw}/CIP_{HCl}@0.5 samples, we can

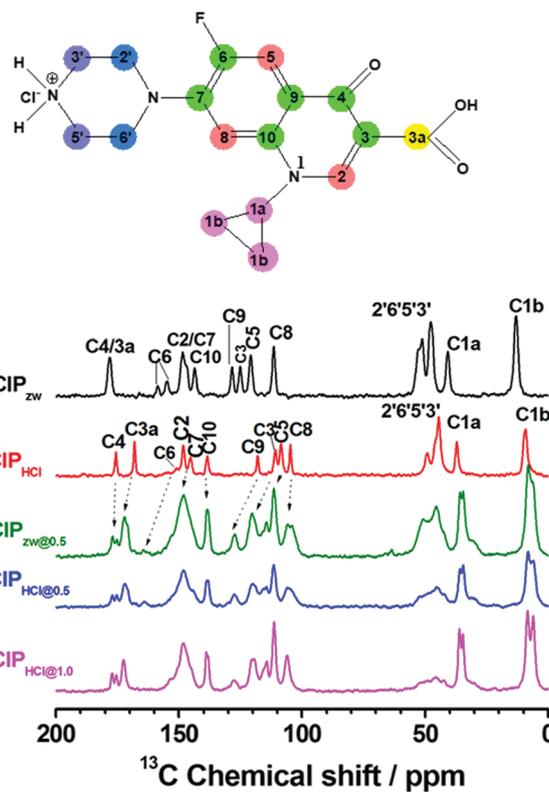


Fig. 5 Chemical structure of CIP showing the labels used to assign the ¹³C CP MAS NMR spectra (top). The ¹³C NMR spectra of CIP salts and Zn₂Al-CIP-intercalated samples (bottom).

attribute this to the presence of residual free CIP, as evidenced from the XRD and chemical analysis data. In the case of the Zn₂Al-CIP_{HCl}@1.0 sample, the splitting can be ascribed to the presence of different environments for these carbon atoms related to the coexistence of both free and complex forms of CIP in the interlayer space. Both quinolone and piperazine moieties also undergo NMR peak broadening upon intercalation. Chemical shifts for CIP are averaged with the presence of π electrons in the quinolone backbone. Moreover, the shift induced by the change in the electrostatic binding on C3a is effectively transmitted through the quinolone form because of its partly conjugated structure. The situation is different for the piperazine ¹³C nuclei that exhibits σ bonding. It is well known that the ¹³C NMR peak profile (broadening) in the ¹³C CPMAS

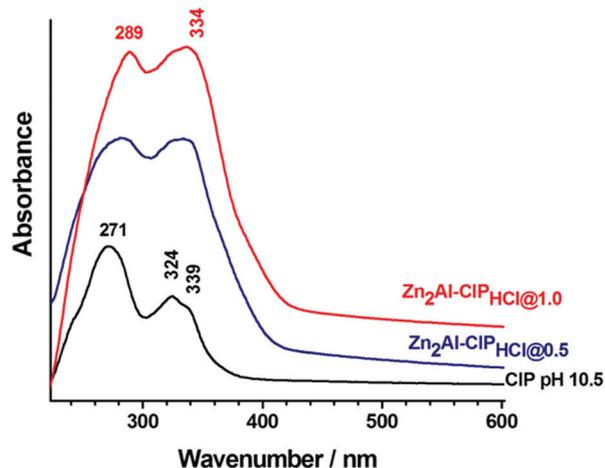


Fig. 6 UV-vis spectra of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ as solid thin films and $1 \times 10^{-4} \text{ mg mL}^{-1}$ CIP_{HCl} solution at pH 10.5.

sequence is related to the efficiency of the magnetization transfer during the CP time. The relaxation profiles also depend on the molecular dynamics and associated relaxation dispersion of the longitudinal relaxation (spin–lattice) rate. Therefore, the fact that the signals of the piperazine ring overlap to form wide resonances in the intercalated samples can be explained by a higher degree of freedom of motion of the piperazine ring for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$, dangling in the LDH interlayer, as compared to the quinolone moieties closer to the layers.

The UV-vis absorption spectra of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ samples are compared to those of the CIP_{HCl} solution at pH 10.5, as shown in Fig. 6. The absorption bands for CIP appear at 271 nm (band I) and 324/339 nm (band II) corresponding to the $\pi \rightarrow \pi^*$ and $n \rightarrow \pi^*$ transitions of the fluorobenzene moieties and quinolone ring, respectively.^{54,55} The $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ sample shows an obvious shift in the $\pi \rightarrow \pi^*$ transition to 289 nm. Similar bathochromic shifts have already been reported for the complex formation of CIP with metal cations in an aqueous solution,^{11,56} thereby supporting the presence of the CIP–Al complex in the interlayer space of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ sample.

CIP release tests

In vitro CIP release tests were performed with Zn_2Al samples at 25 °C in simulated intestinal fluid at pH 7.5 the using PBS medium. The drug release profiles, *i.e.*, the percentage of CIP released into the PBS medium *vs.* time (Fig. 7a), show the differences between the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}/\text{HCl}@0.5}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ samples. First, the release profiles indicate the occurrence of bursts in the case of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ with about 70% of the CIP released after 1 h, while the lower release of CIP was found with the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}/\text{HCl}@0.5}$ samples with the release of 30% after 1 h. Then, for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$, the release steeply increases, reaching 100% after 10 h. On the other hand, the amounts of CIP released for the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ samples reach a plateau in about 12 h at 50% and 60%, respectively, and no longer change thereafter.

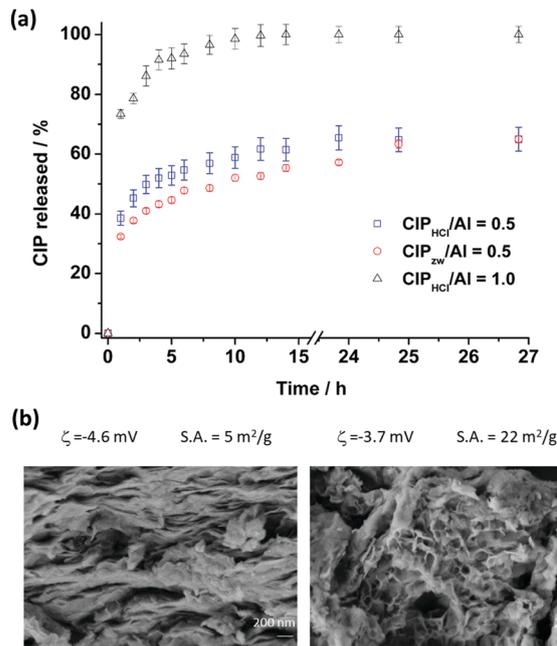


Fig. 7 (a) CIP cumulative release percentage (%) profiles for the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}$ samples performed in PBS at pH 7.50. (b) SEM images of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ (left) and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ (right) with their zeta potential and surface area values.

It is well known that the kinetic release profiles of the drug from LDH systems in alkaline or neutral media involve an anion-exchange mechanism.⁸ In the present case, the first stage of the release process can be attributed to the release of CIP drug that is weakly adsorbed on the surface of the particles and/or located on the external part (edges) of the structure.^{57–60} It should be noted that the presence of 3.5 wt% free CIP for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$, as deduced from the chemical analysis (Table 1) and probably in the form of CIP_{HCl} salt, is, therefore, relatively soluble at pH 7.5. This may explain the higher release rate observed for this sample as compared to the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ containing 5% CIP that is probably less soluble in the form of CIP_{zw} salt. The release in the second stage is dependent on the anion exchange between the interlayer CIP and phosphate species in the medium. The large interlayer distance in the case of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ facilitates the internal diffusion through the LDH particles and CIP anions can be completely exchanged/released. These results are comparable to those obtained by Xia *et al.*⁶¹ for a series of LDH-hypertensive samples exhibiting different interlayer structures and release kinetics.

The XRD data of the samples recovered after a contact time of 24 h (Fig. ESI9, ESI[†]) confirm the total release of the interlayer CIP anions in the case of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ sample with important changes for the $00n1$ reflections as a result of the exchange with the phosphate species.⁶² On the other hand, only a loss in crystallinity is observed for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ with no modification of the position of the $00n1$ reflections, indicating the presence of intercalated CIP. In both the cases, it is worth noting that the 110/113 double peak is still visible, indicating a preservation of LDH layers after a contact time

Table 2 Kinetic constants obtained for the CIP release from the LDH host in a PBS medium

	Higuchi		Korsmeyer–Peppas	
	$\frac{M_t}{M_0} = k\sqrt{t}$	R^2	$\log\left(\frac{M_t}{M_0}\right) = \log k + n \log t$	n
Zn ₂ Al-CIP _{HCl@0.5}	0.935	34.3	0.978	0.178
Zn ₂ Al-CIP _{zw@0.5}	0.970	26.6	0.982	0.185
Zn ₂ Al-CIP _{HCl@1.0}	0.982	68.1	0.963	0.139

R^2 , M_t , M_0 , t , k , and n are the correlation coefficient, amount of drug quantity released at time t , initial amount of the drug in the pharmaceutical formulation, release time, kinetic constant, and diffusional exponent, respectively.³⁹

of 24 h. The morphological characteristics of the samples are also informative, explaining the differences observed in the first step. All the samples display similar and slightly negative values of the zeta potential, ζ , namely, ~ -4.6 mV for Zn₂Al-CIP_{HCl@0.5} and -3.7 mV for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0} related to the presence of CIP anions on the particle surfaces. On the other hand, the SEM images show the different agglomeration states of the crystallites (Fig. 7b), stacked in a more compact way in the case of Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0}, resulting in a lower surface area of $5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ against the value of $22 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ for Zn₂Al-CIP_{HCl@0.5}. This higher surface area for Zn₂Al-CIP_{HCl@0.5} indicates that the external part of the particles is more exposed to the PBS medium and it is likely that only CIP anions located on the surface/edges of the particles participate in the release process measured for Zn₂Al-CIP_{HCl@0.5}, as shown in Fig. 7a.

Diffusion kinetic models can be applied to further investigate the CIP drug release process from the LDH carriers (Table 2 and Fig. ESI10, ESI†).^{63–65} The importance of the process of diffusion in controlling the release rate of CIP was checked by applying the Higuchi model. This model fits fairly well with the release data for all the samples, and the calculated values of the rate constants indicate a much faster release for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0} ($68.1\% \text{ h}^{-0.5}$) than that for Zn₂Al-CIP_{HCl@0.5} ($34.3\% \text{ h}^{-0.5}$). Interlayer diffusion takes a longer time than surface diffusion; CIP interparticle diffusion is the rate-limiting step of the release process and it is dependent on the interlayer distance. The application of the Korsmeyer–Peppas model also yielded good fits, confirming the diffusion mechanism. Furthermore, the calculated values of the diffusional exponent n are less than 0.45 for all the samples, which means that the CIP release rate is controlled by diffusion from the interlayer of the particles *via* anion exchange.

Discussion

Based on the XRD analysis, along with the chemical, TGA, IR, Raman, ¹³C NMR, UV-vis, and HRTEM analyses data, the formation of two Zn₂Al-CIP-intercalated structures with very different interlayer distances of 21.2 and 32.1 Å was observed. Similar results were obtained when using the Mg₂Al LDH host, although the crystallinity of the samples was lower.

As mentioned earlier, there are only a few reports on the intercalation of CIP into LDH, but some of the published

results are questionable. Sillion *et al.*²² were the first to report the intercalation of CIP by the coprecipitation and ion-exchange methods in Zn₂Al LDH and obtained very close interlayer distances of 20.61 and 20.37 Å, respectively. Both these syntheses were carried out at pH 7.5, which corresponded to the zwitterionic form of CIP and not the anionic form. Moreover, the position of the 110/113 double peak observed below 60° (2θ with Cu-K α) is actually not consistent with the formation of the LDH phase, but the LSH phase. Hesse *et al.*²³ implanted ear prostheses coated with Mg₂Al-SO₄ LDH impregnated with CIP in white rabbits. Although no characterization of the impregnated LDH nanoparticles was provided, the study clearly showed the ability of this LDH/CIP physical mixture to combat local bacterial infections in the middle ear of rabbits. Similarly, Badar *et al.*²⁴ investigated a physical mixture of CIP and Mg₂AlSO₄ LDH deposited on porous titanium discs as coating implants: a prolonged drug release was observed in an infected mouse implant. Recently, Rezvani *et al.*²⁵ reported the preparation of alginate/Zn₂Al-CIP and chitosan/Zn₂Al-CIP nanocomposites with Zn₂Al-CIP obtained by the coprecipitation method at pH 8.5 followed by an ageing step at 70 °C. An interlayer distance of 30.04 Å was observed, which was comparable to the length of CIP, leading the authors to propose a bilayer arrangement. This interlayer is comparable to the value obtained for Zn₂Al-CIP_{HCl@1.0}; however, their XRD diffraction pattern is very different from that measured particularly with the relative intensities of successive $00nl$ diffraction peaks. Release studies carried out under different pH values by simulating the sequences in the gastrointestinal tract (pH 1.2, 6.8, and 7.4) revealed a faster release rate (92%) for CIP-LDH/alginate than that for CIP-LDH/chitosan (39%). Finally, Mishra *et al.*⁶⁶ reported the intercalation of a series of antibacterial agents, *i.e.*, CIP, sulfanilamide, and oxazolidinone, into Zn₂Al LDH by the anionic exchange of sulfate anions at pH 10 and 60 °C in a water–ethanol solvent mixture. An interlayer distance of 20.7 Å was reported as obtained from the position of the first peak at a lower angle on the XRD pattern; however, the positions of the subsequent peaks, which are assumed to be $00nl$ harmonics, are not consistent with the repetition of d -spacing.

Our results suggest the occurrence of parallel and competitive reactions of precipitation and complexation, which have not been observed in earlier studies. For the synthesis carried out for CIP/Al > 1, the formation of the LDH layer is prevented by the predominance of complexation reactions between CIP and the present metal cations. Indeed, CIP is known to form metal complexes at high pH values of the solution and the formation constant of CIP chelates decrease in the order of Al³⁺ > Fe³⁺ > Cu²⁺ > Zn²⁺ > Mn²⁺ > Mg²⁺.⁶⁷ The CIP binding to Al³⁺ is stronger than that to other metals, and a substantial increase in the solubility of fluoroquinolones subsequent to complexation was reported.⁶⁸ On the other hand, for CIP/Al less than or equal to 1, the precipitation of the cations in their hydroxide forms is found to prevail, leading to the formation of an LDH phase intercalated with CIP in its anionic form. Finally, for CIP/Al close to 1, an interplay between the precipitation and complexation reactions would enable the cointercalation of CIP in its anionic form and Al³⁺ cations, leading to drug loading

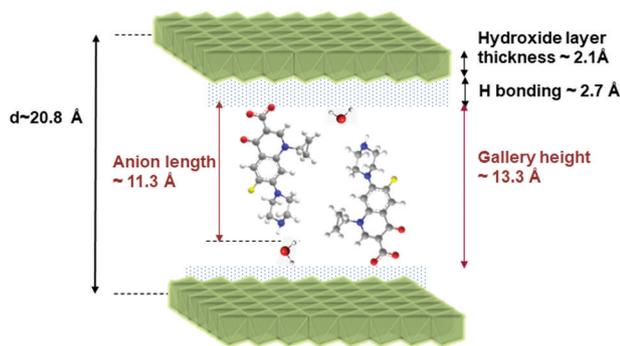


Fig. 8 Schematic arrangement of CIP anions in the interlayer space of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ and a representative of the structure of all the samples prepared with $\text{CIP}/\text{Al} = 0.5$.

higher than that solely achievable by anion exchange. Interestingly, the amount of excess CIP and that of Al^{3+} correspond exactly to the reported⁵³ stoichiometry of the aluminum CIP complex of $(\text{HCl-CIP})_3\text{Al}$, thereby suggesting the intercalation of both CIP anion and $(\text{CIP})_3\text{Al}$ complex in $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$. The presence of this complex is also supported by the UV-vis absorption measurements.

The full characterization done on the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ and $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ samples did not show any differences in the features of intercalated CIP in its anionic form in both the cases. A similar d -spacing of about 21 Å was obtained probably resulting from a monolayer and interdigitated arrangement of the CIP anions, as reported by Latip *et al.*²¹ for layered zinc hydroxide (LZH) nitrate (Fig. 8).

In the case of $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$, the large number of 00l diffraction peaks (almost eleven are visible) allowed us to probe the structure of the interlayer space by the calculation of a one-dimensional electron density map from the analysis of the integrated intensities of the 00l peaks extracted from the above Le Bail profile decomposition and Fourier transformation.³⁶ This approach has been successfully applied to the structural characterization of several intercalative nanohybrids.⁶⁹ The resulting 1D plot is shown in Fig. 9a. The most intense peaks are due to the hydroxide layers containing elemental Zn and Al. The carboxylate groups result in small maxima on the outer parts of the interlayer space at a distance of about 3.0 Å from the inorganic layers, which is consistent with hydrogen bond interactions. The central minimum supports the bilayer arrangement with the CIP ions positioned on either side of the center. This minimum is framed by two small maxima attributable to the piperazine ring, and its distance from the carboxylate groups (~ 10.5 Å) permits the slightly inclined orientation of the CIP species with respect to the hydroxide layers. The Patterson map was also calculated by considering all the integrated intensities extracted from the Le Bail fitting. As shown in Fig. 9, the electron density in the interlayer space of the $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ sample is fairly low; nonetheless, it shows distribution in different planes perpendicular to the c -stacking direction and the z -coordinates are consistent with the positions of the maxima noted on the 1D plot. The spreading of the density observed for each of these planes indicates the orientational disorder of the CIP ions. Water

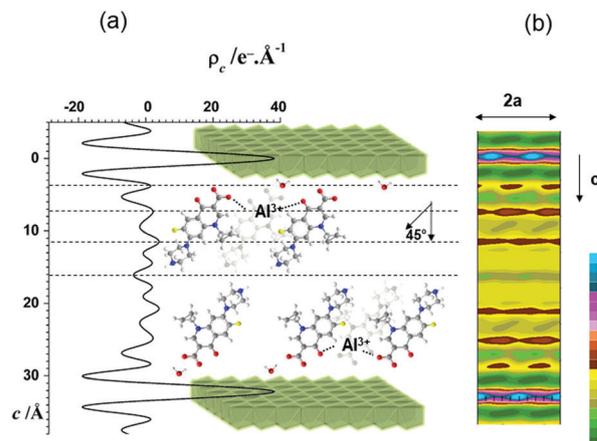


Fig. 9 Structural model for $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ deduced from (a) the one-dimensional electron density projected along the c -stacking axis and (b) Patterson contoured map summed from 0 to 1 along the b -axis (the electron density scale shown on the right-hand side is in arbitrary units). Both were calculated from the profile refinement of the XRD data.

molecules are most certainly located near the LDH layer in the same plane as that of the carboxylate groups, forming hydrogen bonding with the OH groups of the LDH layers. The quasi-absence of electron density in the middle of the interlayer space confirms the bilayer arrangement. In addition, the observation of the pronounced local maxima on a plane located between the ketone group and carboxylate function may be attributed to the presence of heavy atoms, such as Al^{3+} cations. This location is consistent with the participation of these two groups in the coordination to aluminum, as that reported for the $(\text{HCl-CIP})_3\text{Al}$ complex.⁵³

The intercalation of metal cations in the interlayer space of LDH *via* chelation with organic ligands, *e.g.*, ethylenediaminetetraacetate (EDTA) or nitrilotriacetate (NTA), has already been reported.⁷⁰ In some cases, complex formation leads to an excessively positive charge in the LDH, which is compensated by the intercalation of the additional anions present in the solution. On the other hand, LDH compounds belonging to the wermlandite group⁷¹ have also shown the ability to intercalate hydrated cations such as Na^+ , Ca^{2+} and, more recently, Li^+ and K^+ in the presence of sulfate and carbonate anions.⁷²

Conclusions

The intercalation of CIP, a broad-spectrum antibiotic, into the interlayer space of Zn_2Al and $\text{Mg}_2\text{Al-LDH}$ has been comprehensively investigated. By exercising tight control over the synthesis parameters, particularly the CIP/Al molar ratio, we identified the interplay between the coprecipitation and complexation reactions, leading to the formation of 2 different LDH-CIP-intercalated structures with significantly different interlayer distances, namely, ~ 21 Å for $\text{CIP}/\text{Al} = 0.5$ and 32 Å for $\text{CIP}/\text{Al} = 1.0$. A careful analysis of the data obtained from several characterization techniques, such as CHNS, ICP-AES, SEM-EDX for elemental analysis, TGA, IR-Raman, NMR, and UV-vis spectrometry, and HRTEM, as well as a detailed analysis of the XRD patterns

(whole-pattern fitting and Fourier electron density map), allowed us to perform an accurate physicochemical and structural investigation of both these structures. Remarkably, the structure with the largest interlayer distance incorporated both CIP anions and Al(CIP)₃ complex. This is a novel result and extremely interesting for drug delivery applications since it reveals the possibility to increase the CIP drug loading beyond the anionic-exchange capacity of LDH carriers. *In vitro* CIP release tests performed in simulated intestinal fluid indicated that the release rate was controlled by diffusion and dependent on the intercalated structure. A fast and complete CIP release could be achieved in less than 10 h by the anion-exchange mechanism for the structure with the largest interlayer distance, while only a surface reaction took place during the 24 h of the test for the other structure. The results obtained here can certainly be extended to other LDH compositions (Ca²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, etc.) associated to other CIP metal complexes.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

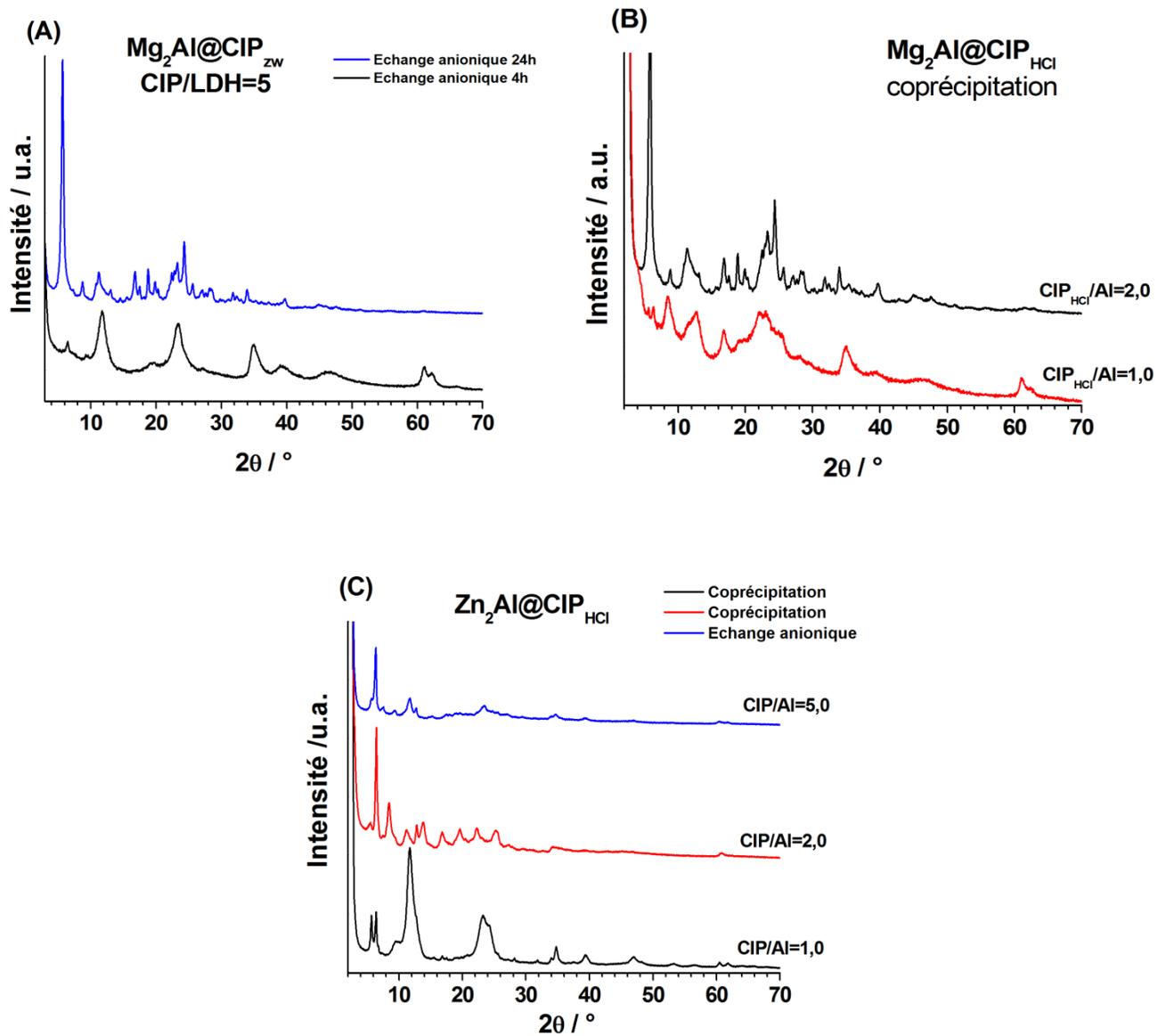
Acknowledgements

This work was supported by the Research Academic Cooperation Agreement CNRS/FAPESP-PRC project 1688 (France) and SPRINT-São Paulo Researchers in International Collaboration 2016/50317-9 (Brazil). Laboratório de Espectroscopia Molecular (LEM, Instituto de Química – USP) is acknowledged for the Raman spectra recording. Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research is acknowledged for the PhD fellowship (National Exceptional Program PNE 2018–2019).

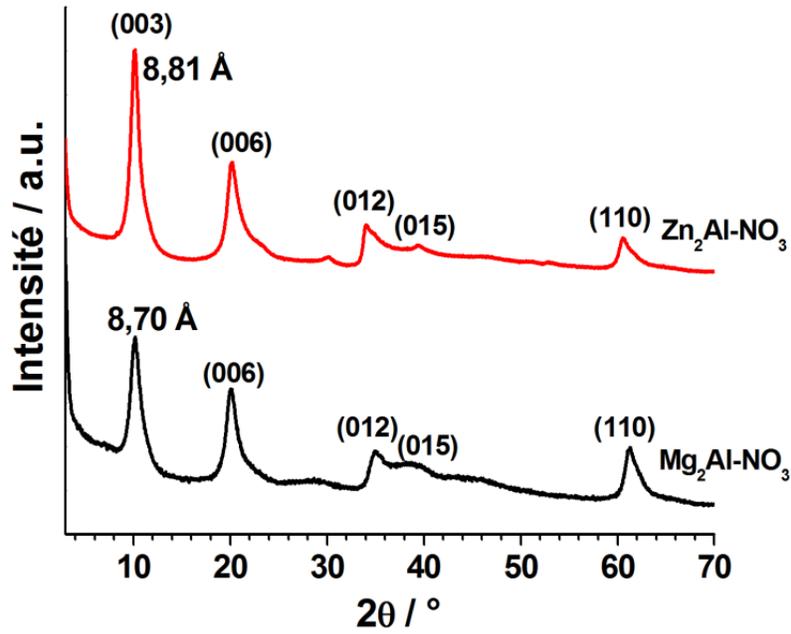
References

- L. Nicole, L. Rozes and C. Sanchez, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 3208.
- F. M. Fernandes, H. Baradari and C. Sanchez, *Appl. Clay Sci.*, 2014, **100**, 2.
- D. Liu, F. Yang, F. Xiong and N. Gu, *Theranostics*, 2016, **6**, 1306.
- R. K. Kesrevani and A. K. Sharma, in *Nanoarchitected Biomaterials: Present Status and Future Prospects in Drug Delivery in Nanoarchitectonics for Smart Delivery and Drug Targeting*, ed. A. M. Holban and A. M. Grumezescu, Elsevier, Amsterdam, 2016, pp. 35–56.
- C. Taviot-Guého, V. Prévot, C. Forano, G. Renaudin, C. Mousty and F. Leroux, *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**, 1703868.
- M. Figueiredo, V. Cunha, F. Leroux, C. Taviot-Guého, M. Nakamae, Y. Kang, R. Souza, A. M. Martins, I. Koh and V. R. L. Constantino, *ACS Omega*, 2018, **3**, 18263.
- M. Rocha, P. Petersen, E. Teixeira-Neto, H. Petrilli, F. Leroux, C. Taviot-Guého and V. R. L. Constantino, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 16419.
- V. Rives, M. del Arco and C. Martín, *Appl. Clay Sci.*, 2014, **88–89**, 239.
- S. Saha, S. Ray, R. Acharya, T. K. Chatterjee and J. Chakraborty, *Appl. Clay Sci.*, 2017, **135**, 493.
- D. Chimene, D. L. Alge and A. K. Gaharwar, *Adv. Mater.*, 2015, **27**, 7261.
- S. Muthumariappan, *J. Pharm. Res.*, 2013, **6**, 437.
- M. Sohail, M. Khurshid, H. G. Saleem, H. Javed and A. A. Khan, *Jundishapur J. Microbiol.*, 2015, **8**, e19272.
- N. Mandras, V. Tullio, P. M. Furneri, J. Roana, V. Allizond, D. Scalas and A. M. Cuffini, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2016, **60**, 1638.
- D. Jain and R. J. Banerjee, *J. Biomed. Mater. Res., Part B*, 2007, **86**, 105.
- M. Shah, Y. K. Agrawal, K. Garala and A. Ramkishan, *Indian J. Pharm. Sci.*, 2012, **74**, 434.
- H. Khattar, S. Singh and R. S. R. Murthy, *Int. J. Drug Delivery*, 2012, **4**, 316.
- M. Shah and Y. Agrawal, *J. Microencapsulation*, 2012, **29**, 331; M. Shah and Y. Agrawal, *J. Dispersion Sci. Technol.*, 2013, **34**, 37.
- Q. Wu, Z. Li, K. Yin and L. Tie, *Appl. Clay Sci.*, 2010, **50**, 204.
- A. Rivera, L. Valdés, J. Jiménez, I. Pérez, A. Lam, E. Altshuler, L. C. de Ménorval, J. O. Fossum, E. L. Hansen and Z. Rozynek, *Appl. Clay Sci.*, 2016, **124**, 150.
- E. C. dos Santos, Z. Rozynek, E. L. Hansen, R. Hartmann-Petersen, R. N. Klitgaard, A. Løbner-Olesen, L. Michels, A. Mikkelsen, T. S. Plivelic, H. N. Bordallob and J. O. Fossuma, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 26537.
- A. F. A. Latip, M. Z. Hussein, J. Stanslas, C. C. Wong and R. Adnan, *Chem. Cent. J.*, 2013, **7**, 119.
- M. Sillion, M. I. Popa, G. Lisa and D. Hritcu, *Rev. Roum. Chim.*, 2008, **53**, 827.
- D. Hesse, M. Badar, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, M. Kieke, P. P. Müller, K.-H. Esser, M. Stieve and N. K. Prenzler, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2013, **24**, 129.
- M. Badar, M. I. Rahim, M. Kieke, T. Ebel, M. Rohde, H. Hauser, P. Behrens and P. P. Müller, *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, 2015, **103**, 2141.
- Z. Rezvani and M. Shahbaei, *Polym. Compos.*, 2015, **36**, 1819–1825.
- Z. Zeng, X. Tan, Y. Liu, S. Tian, G. Zeng, L. Jiang, S. Liu, J. Li, N. Liu and Z. Yin, *Front. Chem.*, 2018, **6**, 80.
- F. Varanda, M. J. Pratas de Melo, A. I. Caço, R. Dohrn, F. A. Markrydaki, E. Voutsas, D. Tassios and I. M. Marrucho, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2006, **45**, 6386.
- A. I. Caço, F. Varanda, M. J. Pratas de Melo, A. M. A. Dias and I. M. Marrucho, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2008, **47**, 8083.
- R. Endermann, H. Labischinski, C. Ladel, U. Petersen and B. Newton, US 2004/0254194 A1, 2004.
- P. J. McShane, J. G. Weers, T. E. Tarara, A. Haynes, P. Durbha, D. P. Miller, T. Mundry, E. Operschall and J. S. Elborn, *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 2018, **50**, 72.
- X. Li, F. Zhi and Y. Hu, *Int. J. Pharm.*, 2007, **328**, 177.
- C. S. Fellati, A. A. Ahumada and R. H. Manzo, *Acta Farm. Bonaerense*, 1994, **13**, 73.

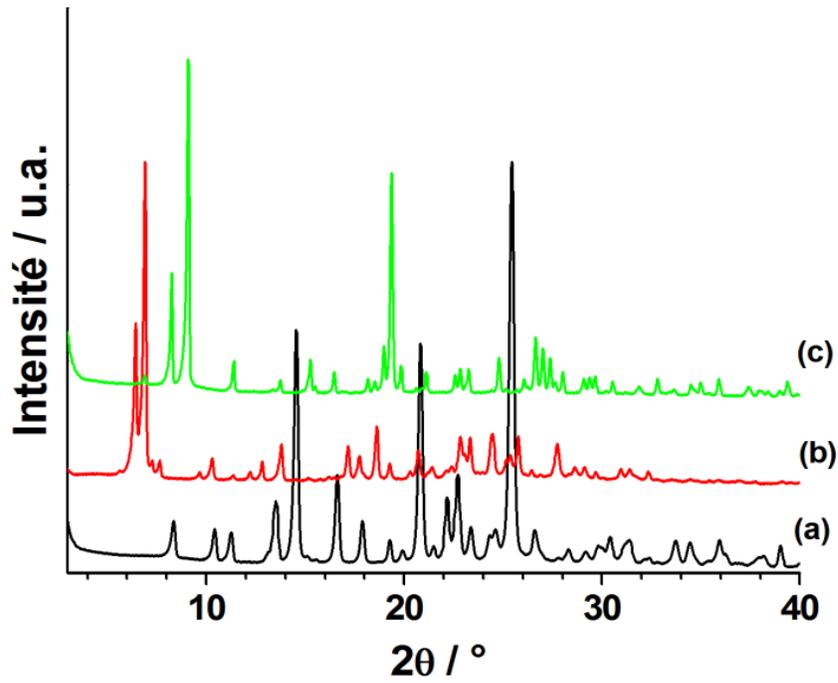
- 33 S. A. Breda, A. F. Jimenez-Kairuz, R. H. Manzo and M. E. Olivera, *Int. J. Pharm.*, 2009, **371**, 106.
- 34 J. Rodriguez-Carvajal, *Commission on Powder Diffraction (IUCr) Newsletter*, 2001, vol. 26, pp. 12–19.
- 35 P. Thompson, D. E. Cox and J. B. Hastings, *J. Appl. Crystallogr.*, 1986, **20**, 79.
- 36 A. J. Jacobson and M. S. Whittingham, *Intercalation Chemistry*, Academic Press, New York, 1982, p. 67.
- 37 T. Roisnel and J. Rodriguez-Carvajal, in *Proceedings of the Seventh European Powder Diffraction conference*, Barcelona, May 20–23, 2000, ed. R. Delhez and E. J. Mitemeijer, Trans Tech Publications Inc., Switzerland, 2001, pp. 118–123.
- 38 B. Vaghela, R. Kayastha, N. Bhatt, N. Pathak and D. Rathod, *J. Appl. Pharm. Sci.*, 2011, **1**, 50.
- 39 M. L. Bruschi, in *Mathematical Models of Drug Release in Strategies to Modify the Drug Release From Pharmaceutical Systems*, ed. M. L. Bruschi, Woodhead Publishing, Elsevier, 2015, p. 63.
- 40 M. C. Lin, F. T. Chang and J. Y. Uan, *J. Mater. Chem.*, 2010, **20**, 6524.
- 41 F. P. A. Fabbiani, B. Dittrich, A. J. Florence, T. Gelbrich, M. B. Hursthouse, W. F. Kuhs, N. Shankland and H. Sowa, *CrystEngComm*, 2009, **11**, 1396.
- 42 I. Turel and A. Golobic, *Anal. Sci.*, 2003, **19**, 329.
- 43 D. G. Evans and R. C. T. Slade, in *Structure and Bonding*, ed. X. Duan and D. G. Evans, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2005, pp. 1–87.
- 44 A. L. Troutier-Thuilliez, C. Taviot-Guého, J. Cellier, H. Hintze-Bruening and F. Leroux, *Prog. Org. Coat.*, 2009, **64**, 182.
- 45 M. Pourbaix, *Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions*, Pergamon Press, New York, 1966.
- 46 L. Desigaux, M. Ben Belkacem, P. Richard, J. Cellier, P. Léone, L. Cario, F. Leroux, C. Taviot-Guého and B. Bruno Pitard, *Nano Lett.*, 2006, **6**, 199.
- 47 C. Forano, U. Costantino, V. Prévot and C. Taviot-Gueho, in *Handbook of Clay Science*, ed. F. Bergaya and G. Lagaly, Elsevier, Amsterdam, 2013, 745–782.
- 48 M. Zupancic, R. C. Korosec and P. Bukovec, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2001, **63**, 787.
- 49 C. Guand and K. G. Karthikeyan, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, **39**, 9166.
- 50 K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Wiley-Interscience, New York, 1997.
- 51 U. Neugebauer, A. Szeghalmi, M. Schmitt, W. Kiefer, J. Poppa and U. Holzgrabe, *Spectrochim. Acta, Part A*, 2005, **61**, 1505.
- 52 L. Mafra, S. M. Santos, R. Siegel, I. Alves, F. A. Almeida Paz, D. Dudenko and H. W. Spiess, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 71.
- 53 A. K. Chattah, Y. G. Linck, G. A. Monti, P. R. Levstein, S. A. Breda, R. H. Manzo and M. E. Olivera, *Magn. Reson. Chem.*, 2007, **45**, 850.
- 54 A. M. Khan and S. S. Shah, *J. Dispersion Sci. Technol.*, 2009, **30**, 1247.
- 55 M. Thakur, S. Pandey, A. Mewada, V. Patil, K. Monika, E. Goshi and M. Sharon, *J. Drug Delivery*, 2014, **2014**, 282193.
- 56 M. Zupančič, I. Turel and P. Bukovec, *Croat. Chem. Acta*, 2001, **74**, 61.
- 57 X. Bi, H. Zhang and L. Dou, *Pharmaceutics*, 2014, **6**, 298.
- 58 D. Pan, H. Zhang, T. Zhang and X. Duan, *Chem. Eng. Sci.*, 2010, **65**, 3762.
- 59 Z. Meng, X. Li, F. Lv, Q. Zhang, P. K. Chu and Y. Zhang, *Colloids Surf., B*, 2015, **135**, 339.
- 60 W. Huang, H. Zhang and D. Pan, *AIChE J.*, 2011, **57**, 1936.
- 61 S. J. Xia, Z. M. Ni, Q. Xu, B. X. Hu and J. Hu, *J. Solid State Chem.*, 2008, **181**, 2610.
- 62 U. Costantino, M. Casciola, L. Massinelli, M. Nocchetti and R. Vivani, *Solid State Ionics*, 1997, **97**, 203.
- 63 J. M. Unagolla and A. C. Jayasuriya, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2018, **114**, 199.
- 64 P. L. Ritger and N. A. Peppas, *J. Controlled Release*, 1987, **5**, 37.
- 65 Y. Gao, J. Zuo, N. Bou-Chacra, T. de Jesus, A. Pinto, S. D. Clas, R. B. Walker and R. Löbenberg, *BioMed Res. Int.*, 2013, **2013**, 136590.
- 66 G. Mishra, B. Dash, D. Sethi, S. Pandey and B. K. Mishra, *Environ. Eng. Sci.*, 2017, **34**, 1.
- 67 V. Uivarosi, *Molecules*, 2013, **18**, 11153.
- 68 A. Serafin and A. Stanczak, *Russ. J. Coord. Chem.*, 2009, **35**, 81.
- 69 D. H. Park, J. H. Yang, A. Vinu, A. Elzatahry and J. H. Choy, *Arabian J. Chem.*, 2016, **9**, 190.
- 70 K. A. Tarasov, D. O'Hare and V. P. Isupov, *Inorg. Chem.*, 2003, **42**, 1919.
- 71 S. J. Mills, A. G. Christy, J. M. R. Genin, T. Kameda and F. Colombo, *Mineral. Mag.*, 2012, **76**, 1289.
- 72 A. R. Sotiles, L. M. Baika, M. TadeuGrassi and F. Wypych, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 531.



B.1. Diffractogrammes X des échantillons HDL préparés par échange anionique et par coprécipitation en fonction de différents excès de CIP_{HCl} .

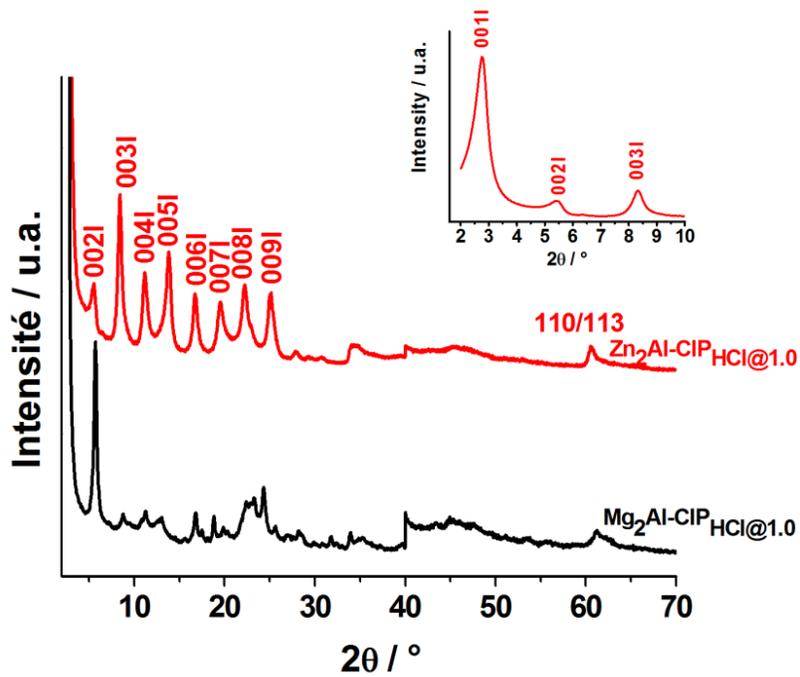


B.2. Diffractogrammes X des HDL précurseurs $\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$ et $\text{Zn}_2\text{Al-NO}_3$.



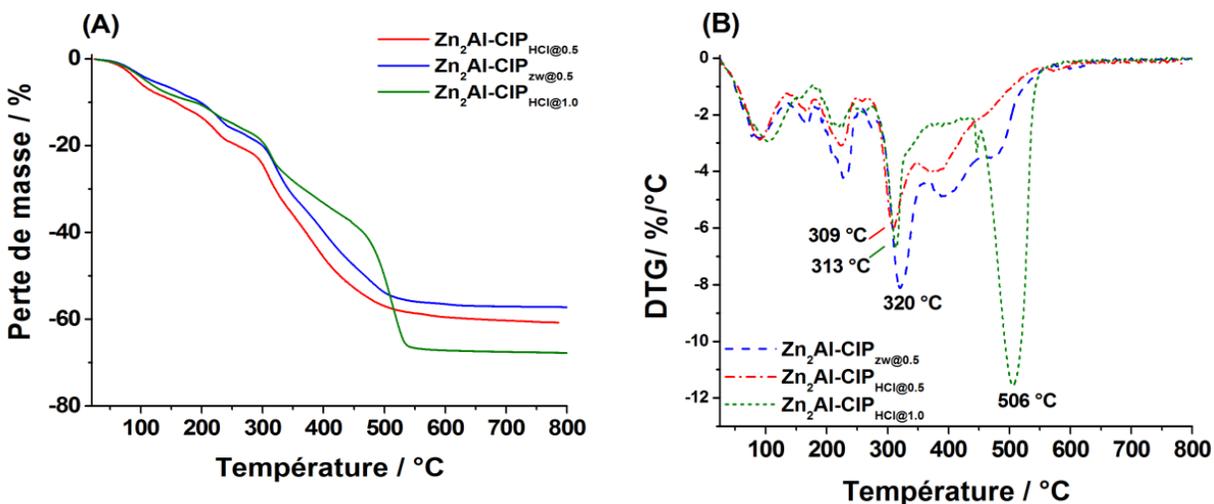
B.3. Diffractogrammes X de (a) sel CIP_{ZW} zwitterion, (b) CIP_{ZW} après dissolution dans l'eau et recristallisation après séchage et, (c) sel CIP_{HCl} .

Comme le montre la [Figure B.3](#), le diffractogramme X de CIPzw reprécipité (après dissolution dans l'eau et recristallisation par évaporation à 50°C) est modifié et correspond probablement à l'un des différents polymorphes de la CIP.^[1]



B.4. Diffractogrammes X des échantillons $Zn_2Al-CIP$ et $Mg_2Al-CIP$ obtenus par coprécipitation en utilisant un rapport $CIP_{HCl}/Al = 1,0$.

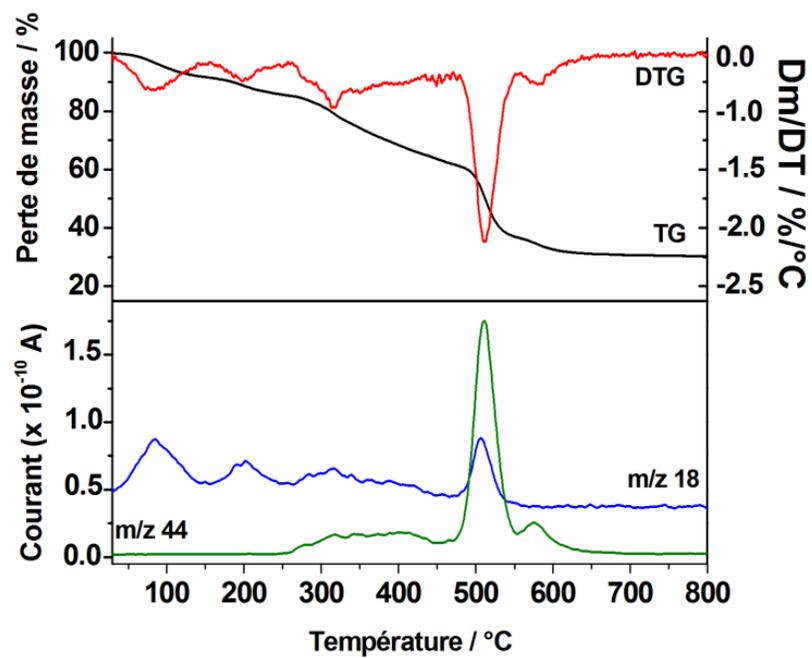
¹ F.P.A. Fabbiani, B. Dittrich, A.J. Florence, T. Gelbrich, M.B. Hursthouse, W.F. Kuhs, N. Shankland, H. Sowa, *Cryst. Eng. Comm.* 11 (2009) 1396.



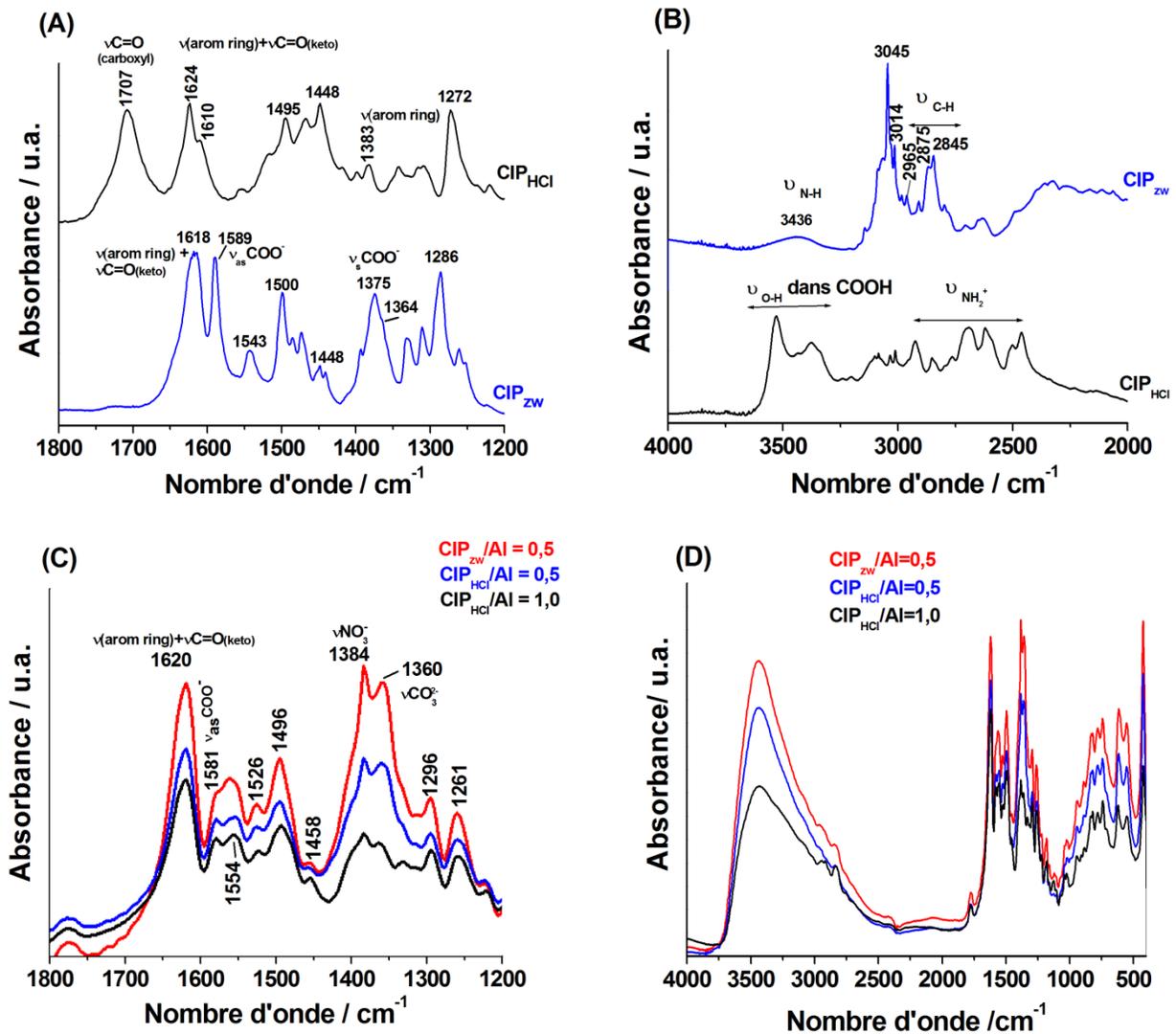
B.5. (A) Thermogrammes ATG et (B) DTG des composés Zn₂Al-CIP.

Pour tous les échantillons, on note une perte de masse continue jusqu'à 550°C (B.5 A) avec cinq points d'inflexion identifiés par les courbes DTG (B.5 B) dans les domaines de température 80-110°C, 150-180°C, 210-240°C, 280-350°C et 350-580°C. La première et la deuxième étapes de perte de masse sont attribuées à l'élimination des molécules d'eau interlamellaire tandis que la troisième est attribuée à la déshydroxylation des feuillets HDL. [2] Les étapes suivantes sont associées à la décomposition de la CIP comme en le démontre l'analyse ATG-SM réalisée sous air (B.6) sur les sels CIP_{HCl} et CIP_{zw}. (données non affichées). Sur ces deux sels CIP, l'analyse indique un processus de décomposition thermique similaire avec d'abord l'élimination des molécules H₂O (m/z rapport masse/charge = 18) vers 150°C et 300°C. Pour CIP_{HCl} le dégagement des molécules HCl (m/z = 36) est également observée vers 300°C. Enfin, le dégagement de CO₂ (m/z = 44) est détecté entre 300-600°C pour CIP_{HCl} et 300-700°C pour CIP_{zw}.

² C. Forano, U. Costantino, V. Prévot, C. Taviot-Gueho in Handbook of Clay Science, ed. F. Bergaya, G. Lagaly, Elsevier, Amsterdam, 2013, 745-782



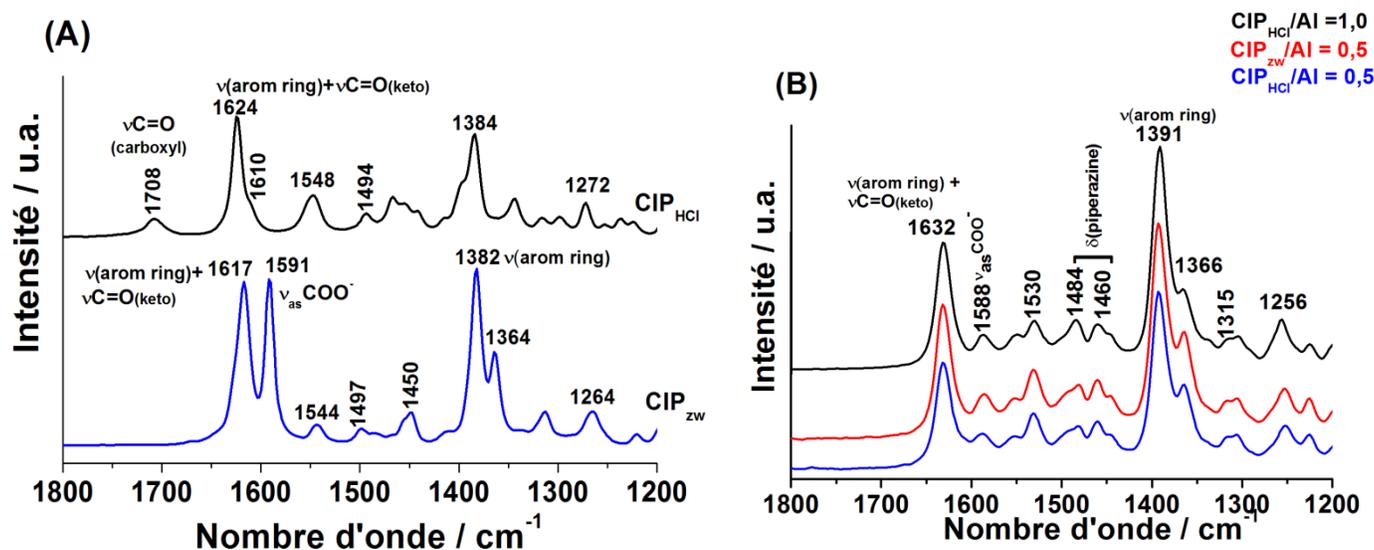
B.6. Analyse par ATG-DTG-SM de l'échantillon $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$.



B.7. Spectres IRTF des sels CIP dans le domaine spectral **(A)** 1800-1200 cm⁻¹, **(B)** 4000-2000 cm⁻¹ et des échantillons Zn₂Al-CIP dans le domaine **(C)** 1800-1200 cm⁻¹ et **(D)** 4000-400 cm⁻¹.

La [Figure B.7A](#) montre les bandes de vibration les plus caractéristiques des sels CIP dans le domaine spectral 1800-1200 cm⁻¹. La bande observée vers 1707 cm⁻¹ dans le spectre de CIP_{HCl} peut être attribué au mode d'étirement C=O du groupe carboxylique (νCOOH). Cette bande est absente sur le spectre de CIP_{ZW}. Ceci confirme la forme zwitterion *i.e.* il ya déprotonation du groupe carboxylique. Au lieu de cela, une bande vers 1590 cm⁻¹ est observée et qui correspond à une combinaison de vibration d'étirement du groupe cétone (νC=O) et d'étirement antisymétrique du groupe carboxylate (ν_{as}COO⁻), et aussi la bande qui apparaît à 1375 cm⁻¹ est attribuée à une combinaison de bandes de vibration d'étirement du cycle aromatique et

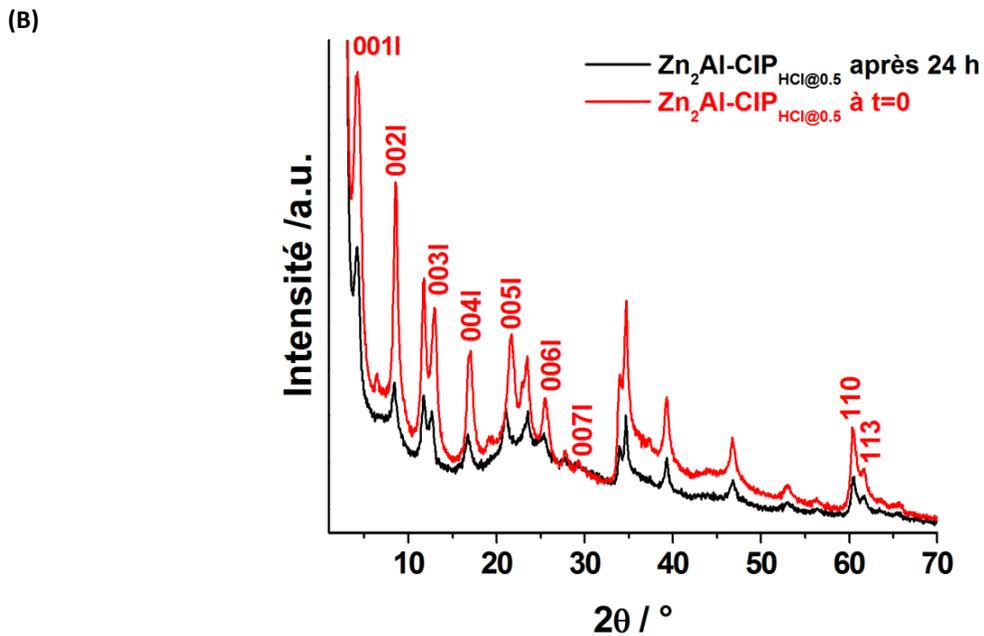
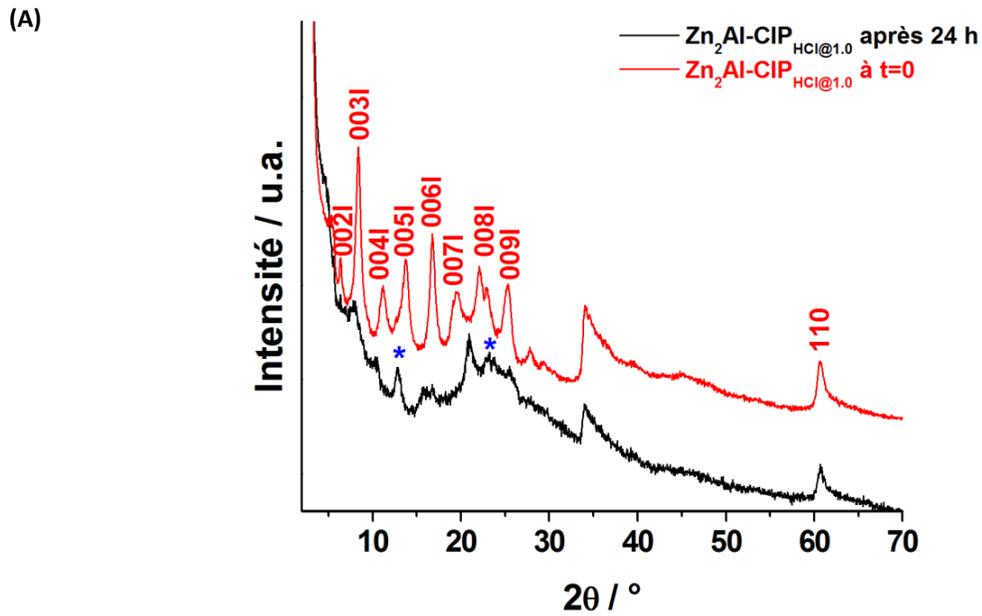
d'étirement symétrique du groupe carboxylate ($\nu_s\text{COO}^-$).^[3] Les bandes observées à 1624 et 1610 cm^{-1} pour CIP_{HCl} (B.7 A), ainsi que la bande vers 1618 cm^{-1} pour CIP_{zw} , correspondent au mode d'étirement du cycle quinolone aromatique ($\nu\text{C}=\text{C}$ et $\nu\text{C}=\text{N}$) combiné au mode d'étirement du groupe cétone.^[3] Pour CIP_{HCl} , les différentes bandes de vibration observées entre 2800 et 2300 cm^{-1} (B.7 B) sont attribuées aux vibrations d'étirement du groupe pipérazinium (νNH_2^+) et celles situées aux environ de 3500 et 3200 cm^{-1} sont assignées au vibration d'étirement $\nu\text{O}-\text{H}$ du groupe carboxylique.^[4] CIP_{zw} a montré de larges bandes d'absorption de faible intensité autour de 3500-3400 cm^{-1} qui correspondent à la vibration d'étirement NH (B.7 B).



B.8. Spectres FT-Raman des : (A) sels CIP, (B) échantillons intercalés Zn₂Al-CIP.

³ U. Neugebauer, A. Szeghalmi, M. Schmitt, W. Kiefer, J. Poppa, U. Holzgrabe. Spectroc. Acta A 61 (2005) 1505.

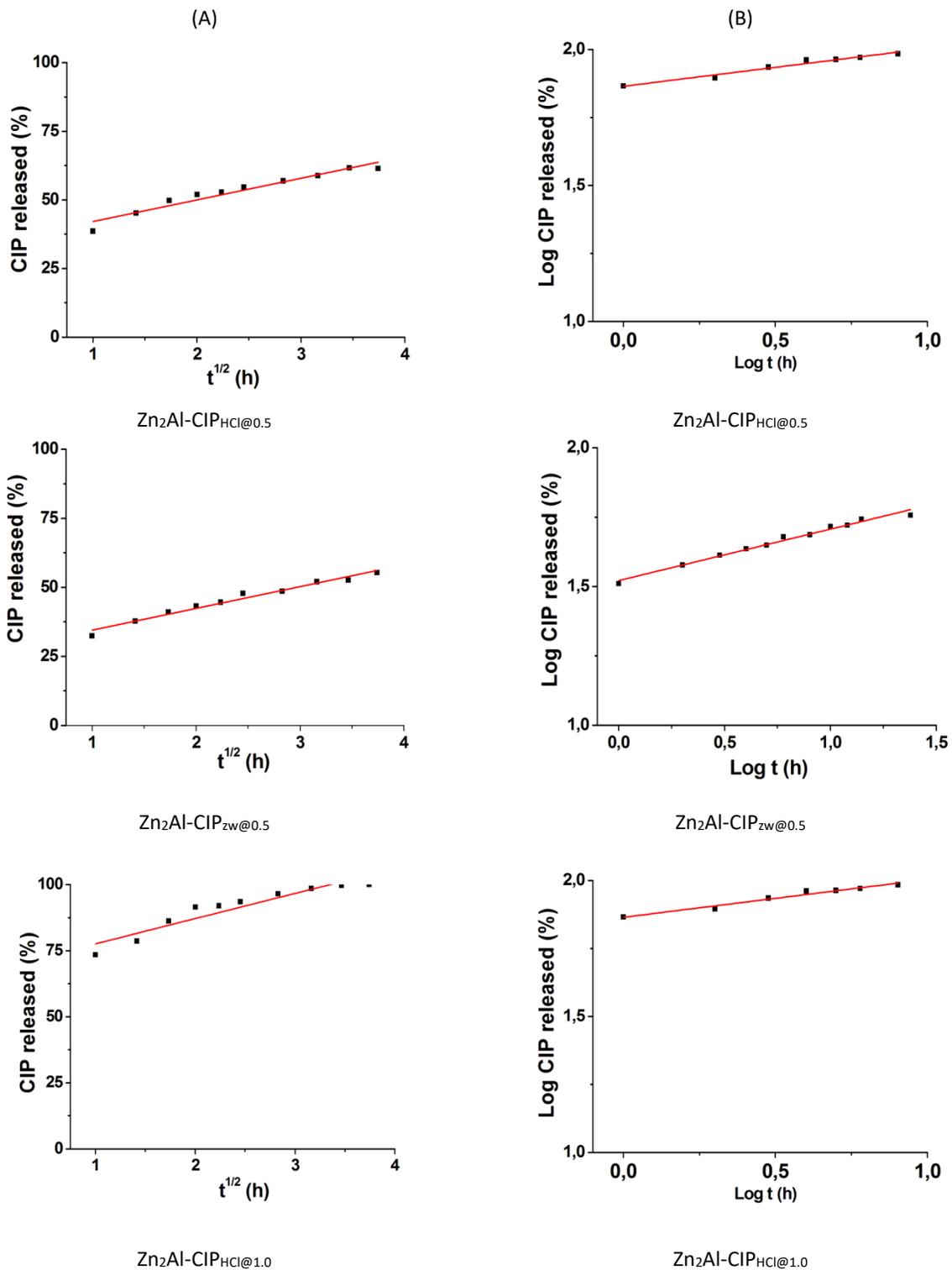
⁴ V.L. Dorofeev, Pharm. Chem. J. 38 (2004) 693; V.L. Dorofeev, Pharm. Chem. J. 38 (2004) 698.



B.9. Diffractogrammes X des échantillons récupérés après 24h de dans une solution PBS avec

(A) $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ et (B) $\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$.

Les symboles * désignent les pics de diffraction dus aux espèces phosphate.



B.10. Représentations graphiques des cinétiques de libération de la CIP à partir des échantillons $Zn_2Al-CIP$ en solution PBS selon les modèles (A) Higuchi et (B) Korsmeyer-Peppas.^[5]

⁵ M.L. Bruschi in *Mathematical Models of Drug Release in Strategies to Modify the Drug Release From Pharmaceutical Systems*, ed. M.L. Bruschi, Woodhead Publishing, Elsevier, **2015**, 63-86.

Tableau B.1. ^{13}C CPMAS déplacements chimique pour les sels CIP et les échantillons intercalés $\text{Zn}_2\text{Al-LDH}$.^[6]

Echantillon Attribution	CIP_{HCl} (ppm)	$\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@0.5}$ (ppm)	$\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{HCl}@1.0}$ (ppm)	CIP_{zw} (ppm)	$\text{Zn}_2\text{Al-CIP}_{\text{zw}@0.5}$ (ppm)
C4	175,5	177 ; 175,5	177 ; 175,5	178	177 ; 175
C3a	168,0	172	172,4	178	172
C6	151,2	164	153	158 ; 154	164
C2	148,2	148,1	148,2	148	148
C7	145	144	148,2	148	148
C10	138,4	138,1	138,8	143	138,5
C9	1180	127,6	127,7	128	127,3
C3	110,0	119,9	119,4	125	120,2
C5	108,5	111,5 ; 114,6	111,3 ; 114	120	111,4 ; 114
C8	104,0	105,9	106	115	105,7 ; 104
C2'6'	49,0			51,26	50,9
C3'5'	45,5	45,47	45,57	47,80	45,4
C1a	37,1	36,19 ; 34,50	36,04 ; 34,31	40,77	35,9 ; 34,5
C1b	9,2	8,12 ; 5,72	8,31 ; 6,26	13	8,02

⁶ L. Mafrá, S.M. Santos, R. Siegel, I. Alves, F.A. Almeida Paz, D. Dudenko, H. W. Spiess, J. Am. Chem. Soc. 134 (2012) 71; A.K. Chattah, Y.G. Linck, G.A. Monti, P.R. Levstein, S.A. Breda, R.H. Manzo, M.E. Olivera, Magn. Reson. Chem. 45 (2007) 850.