

Résumé

Titre de la these: QDs dopés Ag-In-Zn-S et Ag-In-Ga-Zn-S: synthèse et potentiel en tant que sondes bimodales pour l'imagerie par résonance magnétique et fluorescence des cellules

Mots clés: quantum dots (QDs), I-II-III-VI QDs, synthèse one-pot, synthèse mono-précurseur, nanoparticules magnétiques, toxicité, imagerie de fluorescence, sondes pour l'imagerie bimodale.

Aujourd'hui, la nanotechnologie, qui étudie les méthodes de synthèse, les propriétés, les caractéristiques et les applications des particules nanométriques, trouve sa place dans de nombreux domaines de l'industrie et de la vie, de l'électronique et la catalyse à l'agriculture, l'agroalimentaire et la médecine. Les particules semi-conductrices dont la taille varie de 1 à 10 nm sont appelées points quantiques (QD). Les QD sont considérés comme des matériaux intermédiaires entre les molécules et les matériaux dits en vrac et leurs propriétés diffèrent fortement des matériaux en vrac, et en raison de leur petite taille, les QD sont soumis à l'effet de confinement quantique qui se traduit par une discrétisation des niveaux d'énergie (augmentation de l'énergie de bande interdite avec la taille décroissante des QD). De plus, leurs propriétés physiques, optiques et magnétiques dépendent de la taille, de la forme et de la composition.

La composition à plusieurs composants des QD fluorescents modernes (tels que les QD I-III-VI ou I-II-III-VI) permet de changer la stoechiométrie, ce qui permet d'ajuster la position du pic PL dans la zone visible et la zone proche-infrarouge. Le dopage des QD avec des ions supplémentaires est l'un des moyens de conférer des propriétés supplémentaires et / ou de modifier les propriétés existantes. Par exemple, pour donner des propriétés magnétiques aux QD, on utilise un dopage avec des ions paramagnétiques tels que le manganèse. Dans de nombreux cas, le dopage avec des ions Mn^{2+} s'est reflété dans le spectre d'émission de photoluminescence (PL) avec un pic à environ 600 nm provenant de la transition $Mn^{2+} \ ^4T_1 \rightarrow \ ^6A_1$. Cependant, dans certains cas, le dopage avec des ions Mn^{2+} peut affecter la position du pic d'émission PL. Cela montre que le dopage avec Mn^{2+} confère des propriétés magnétiques aux QD et affecte le mécanisme de fluorescence.

Le diagnostic, en particulier le diagnostic précoce, est important dans la lutte contre le cancer. L'imagerie par fluorescence (FI) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) sont parmi les outils de diagnostic les plus efficaces. Les QD fluorescents ont déjà montré des avantages par rapport aux colorants organiques en tant que sondes fluorescentes en raison de leurs propriétés de taille ajustable, de leurs surfaces modifiables, de leurs caractéristiques optiques, etc. Les QD

magnétiques sont d'un grand intérêt dans l'utilisation de l'imagerie par résonance magnétique comme agents de contraste. La combinaison de ces propriétés dans une seule sonde permettrait d'améliorer l'efficacité, la sensibilité et la précision du diagnostic.

Ce travail examine la synthèse et la caractérisation des QD pour une utilisation en biomédecine, et en particulier comme sondes bimodales pour l'imagerie par fluorescence et par résonance magnétique.

Tout d'abord, les QD Ag-In-Zn-S (AIZS) hautement fluorescents émettant des émissions vertes et oranges non dopées et dopés au Mn ont été synthétisés dans des milieux organiques via une approche en une étape utilisant des acétates d'argent, d'indium et de zinc, le stéarate du manganèse et la thiourée comme précurseurs, le 1-dodécane-thiol (DDT) et l'oléylamine (OAm) comme ligands de coiffage. L'influence du dopage au Mn sur les propriétés fluorescentes et magnétiques des QD a été discutée. Le réglage de l'émission de photoluminescence des QD AIZS dopés au Mn provenant d'une émission donneur-accepteur en modifiant la quantité de dopage au Mn a été démontré et le mécanisme possible a été étudié.

L'émission PL de Mn: AIZS provient des transitions D-A et peut facilement être réglée en faisant varier le rapport stoechiométrique de Ag / In / Zn / Mn. Un décalage vers le rouge de l'émission PL est observé lors de l'augmentation de la charge Mn^{2+} . Cette dépendance du pic d'émission PL avec la teneur en Mn^{2+} suggère qu'un nouvel état de piège dépendant de Mn^{2+} situé au-dessus de l'état 6A_1 et avec une énergie progressivement plus élevée apparaît tout en augmentant la charge Mn^{2+} des QD AIZS. Il a également été démontré que les QD Mn: AIZS présentent des propriétés ferromagnétiques et paramagnétiques. Leur longue durée de vie PL, qui permet de différencier leurs signaux du fond à décomposition rapide et des systèmes biologiques PL, et leurs propriétés magnétiques devraient permettre aux QD Mn: AIZS d'avoir un potentiel élevé pour les applications de bioimagerie.

Ensuite, la synthèse en phase aqueuse de QD AIZS dopés au Mn, au Gd ou au Fe a été réalisée en utilisant du L-glutathion (GSH) comme ligand de coiffage. En plus de la morphologie, l'analyse élémentaire, les propriétés optiques et magnétiques, les colloïdales et photostabilités ainsi que les cytotoxicités in vitro de ces particules ont été étudiées. De plus, ces particules ont été testées comme sondes fluorescentes en imagerie fluorescente. Pour adopter ces particules pour des tests biologiques, la surface des QD a été modifiée par l'acide folique (FA). Pour l'assemblage de FA sur la surface des QD coiffés de GSH, le conjugué PEI-FA (PEI, polyéthylèneimine ramifié) a d'abord été préparé. Pendant la formation du conjugué PEI-FA, les groupes amine primaire de PEI réagissent avec les groupes carboxyliques de FA en utilisant le 1-éthyl-3-(3-diméthyl aminopropyl) carbodiimide (EDC) comme agent de couplage et le N-hydroxysuccinimide (NHS)

comme activateur. Ensuite, le conjugué PEI-FA chargé positivement s'associe à des groupes carboxylate chargés négativement de QD coiffés par GSH.

Pour le test de cytotoxicité des QD, la viabilité des cellules KB a été mesurée en fonction des concentrations de QD. Le test standard de viabilité cellulaire est basé sur la réduction du bromure de 3- (4,5-diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényltétrazolium (MTT) jaune en formazan violet dans les cellules vivantes. Les résultats du test MTT indiquent que les QD AIZS dopés au Mn, au Gd ou au Fe, au GSH et au GSH-PEI présentent une bonne biocompatibilité: toutes les particules ne présentent qu'une faible toxicité jusqu'à une concentration de 1 mg / mL. Les mêmes résultats de cytotoxicité ont été trouvés pour les QD AIZS plafonnés par GSH @ PEI-FA.

Des QD AIZS plafonnés par GSH-PEI-FA ont été utilisés pour des tests de bioimagerie in vitro. Les QD AIZS plafonnés au GSH ont été utilisés comme témoins. Des expériences de bioimagerie in vitro utilisant des cellules KB et des QD AIZS ont été réalisées comme suit: les cellules KB (les récepteurs du folate se sont révélés fortement surexprimés dans les lignées cellulaires KB) ont été colorées pendant 3 h avec une solution à 0,1 mg/ml de conjugué FA AIZS QD, puis les cellules ont été rincées pour éliminer les QD non intériorisés. Les cellules ont également été colorées avec du DAPI pour visualiser leurs noyaux. Le marquage efficace des cellules à l'aide de QD AIZS revêtus de GSH-PEI-FA indique que la conjugaison de FA a réussi et facilite l'absorption intracellulaire spécifique, qui se produit principalement par endocytose médiée par le récepteur¹. Les QD dopés présentent des propriétés paramagnétiques et superparamagnétiques en raison de leurs petites tailles. Leurs propriétés physico-chimiques appropriées et leurs propriétés de fluorescence et magnétiques font de ces sondes un potentiel élevé en tant que marqueurs fluorescents ou / et fluorescents et magnétiques.

En outre, de nouveaux QD quaternaires Ag-In-Ga-Zn-S (AIGZS) ont été préparés en utilisant la synthèse de décomposition thermique de précurseurs uniques en faisant varier le rapport molaire Ag / In / Ga / Zn. Les précurseurs AIGZS QDs ont été préparés en mélangeant AgNO_3 , $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ et $\text{In}(\text{NO}_3)_3$ avec $\text{Zn}(\text{DDTC})_2$ ($n\text{Ag}^+ + n\text{In}^{3+} + n\text{Ga}^{3+} / n\text{Zn}^{2+} = 1$ ou 0,5) dans un mélange eau/méthanol. Les poudres obtenues après centrifugation et séchage ont été stockées à 4 °C avant utilisation. Les QD AIGZS ont été préparés en utilisant différents rapports Ag / In / Ga / Zn: 0,25 / 0,875 / 0,875 / 2; 0,5 / 1 / 0,5 / 2; 0,5 / 0,5 / 1/2; 0,66 / 0,66 / 0,66 / 2; 1 / 0,5 / 0,5 / 2; 1 / 0,5 / 0,5 / 1; 1 / 0,5 / 0,5 / 1 + 1 mmol de NaDDTC, tandis que la quantité de précurseurs de soufre a été maintenue constante.

Dans des expériences préliminaires menées avec le précurseur préparé avec un rapport Ag / In / Ga / Zn de 0,5 / 1 / 0,5 / 2, la température a été variée pendant la préparation des AIGZS QD (190, 220 ou 250 °C). Un décalage progressif vers le rouge de la longueur d'onde d'émission PL a été

observé avec l'augmentation de la température (560, 583 et 601 nm pour les réactions conduites à 190, 220 et 250 °C, respectivement), probablement en raison d'une augmentation de la taille du nanocristaux. Le PL QY le plus élevé (11 %) a été mesuré pour les nanocristaux préparés à 220 °C et cette température a été maintenue dans d'autres expériences. Après chauffage à 220 °C pendant 10 min (étape 1), des agrégats se sont formés dans le ballon de réaction. Ces particules de grande taille ont été éliminées par centrifugation et les AIGZS QD contenus dans le surnageant ont été réchauffés à 220 °C en présence d'OAm (étape 2). Une augmentation marquée du PL QY de 11 à 20,2 % a également été observée après le deuxième chauffage à 220 °C, suggérant une amélioration de la passivation de surface des nanocristaux par OAm et l'élimination des défauts de surface pouvant servir de canaux non radiatifs.

Le rapport Ag / In / Ga a d'abord été varié sans modifier la quantité de Zn (DDTC)₂ ($n_{\text{Ag}} + n_{\text{In}} + n_{\text{Ga}} / n_{\text{Zn}} = 1$). Seuls les nanocristaux préparés à faible teneur en Ag (rapport 0,25 / 0,875 / 0,75 / 2) présentent une forte émission située à 515 nm associée à une émission liée à un défaut à une énergie plus faible. Pour tous les autres points, une seule émission de composant a été observée.

Deux canaux radiatifs ont été observés. La composante de désintégration rapide τ_1 est attribuée à la recombinaison de l'état de piège de surface et la composante de désintégration lente τ_2 à la recombinaison d'électrons via des états de défaut situés dans la bande interdite (recombinaison D-A)²⁻⁶. AIGZS QD préparés avec Ag / In / Ga / Zn rapport de 0,25 / 0,875 / 0,875 / 2 présentent la durée de vie PL la plus courte (99,9 ns) en raison de la contribution élevée des défauts de surface. Pour les QD préparés avec un rapport stoechiométrique de (Ag + In + Ga) / Zn de 1, τ_{av} est le plus élevé (278,8 ns) lorsque des quantités équimolaires d'Ag, In et Ga sont utilisées pour leur synthèse (Ag / In / Ga / Zn rapport est de 0,66 / 0,66 / 0,66 / 2). Cette longue désintégration PL est caractéristique des recombinaisons radiatives impliquées dans l'état intragap de QD présentant des défauts de réseau inhérents. Les contributions A2 les plus élevées ont été déterminées pour les QD AIGZS préparés avec des rapports Ag / In / Ga / Zn de 0,66 / 0,66 / 0,66 / 2 et 1 / 0,5 / 0,5 / 2, qui est en bon accord avec les PL QY de ces points (A₂ de 0,40992 et 0,37127, PL QY de 48,3 et 47,8, respectivement). Pour les QD préparés avec un rapport molaire (Ag + In + Ga) / Zn de 0,5, on observe une augmentation marquée de τ_1 et τ_2 et τ_{av} pourrait atteindre 915 ns (rapport Ag / In / Ga / Zn de 1 / 0,5 / 0,5 / 1 + 1 NaDDTC), suggérant que les nouveaux défauts de surface et de réseau générés par défaut dans les ions Zn²⁺ soient impliqués dans les transitions.

Après les traitements de post-préparation et l'élimination des précurseurs n'ayant pas réagi, les QD AIGZS ont été transférés avec succès dans la phase aqueuse via l'échange du ligand OAm hydrophobe avec du glutathion tétraméthylammonium (GTMA) ou du dithiocarbamate de glycine (Gly-DTC)^{7,8}. La fonction thiol du GTMA et la fonction dithiocarbamate du Gly-DTC permettent

l'élimination du ligand OAm et convertissent les nanocristaux natifs solubles dans l'huile en hydrophiles. Les QD sont bien dispersés dans une solution aqueuse comme démontré par DLS, qui montre des diamètres hydrodynamiques de $14,6 \pm 1,3$ et $9,4 \pm 1,8$ nm pour AIGZS @ GTMA et AIGZS @ Gly-DTC QD, respectivement, ce qui indique que le redshift provient du changement de l'environnement autour des points et non de leur agrégation.

Enfin, le dopage des QD AIGZS avec des ions Mn^{2+} a été réalisé en utilisant la même approche de décomposition thermique à précurseur unique. Deux approches pour introduire le dopant $MnSt_2$ ont été testées. La première approche, qui a été nommée «précurseur + $MnSt_2$ », est basée sur l'ajout de $MnSt_2$ au précurseur dans la première étape de décomposition thermique de la synthèse. Dans la seconde approche, un précurseur contenant des ions Mn^{2+} a été préparé. Les propriétés optiques des non dopés, 5% et 10% Mn QD dopés utilisant ces deux approches synthétiques ont montré des résultats presque similaires. Par conséquent, pour des études ultérieures, la première approche a été choisie en raison de sa simplicité.

Le redshift de 515 nm pour les QD AIGZS non dopés à env. 630 nm pour les QD AIGZS dopés au Mn ont été observés, ce qui indique que les ions Mn^{2+} contribuent au mécanisme d'émission PL. Il est probable que la transition ${}^4T_1 \rightarrow {}^6A_1$ des ions Mn^{2+} inhibe⁹, au moins en partie, l'émission du couple D-A. Cependant, les durées de vie PL mesurées pour ces QD montrent que la contribution dominante à l'émission PL des QD AIGZS provient de défauts, ce qui indique que la transition ${}^4T_1 \rightarrow {}^6A_1$ liée au Mn^{2+} n'est pas significativement impliquée dans le mécanisme d'émission PL des AIGZS dopés au Mn QD.

Des mesures magnétiques à l'aide de la magnétométrie à échantillon vibrant (VSM) ont été effectuées pour des QD AIGZS non dopés et dopés au Mn avec un rapport Ag / In / Ga / Zn de 0,25 / 0,875 / 0,875 / 2 dans une large plage de températures. Pour les QD dopés au Mn, les courbes de magnétisation montrent que les échantillons ont à la fois des comportements paramagnétiques et superparamagnétiques. Aussi, cette figure démontre une augmentation de l'aimantation avec le chargement Mn, qui est le résultat d'un dopage paramagnétique des ions Mn^{2+} combiné avec les petites tailles de nanoparticules. Des mesures magnétiques ont montré que ces nanoparticules présentent un comportement superparamagnétique à 10 K et un comportement paramagnétique à 310 K.

Ces QD AIGZS dopés au Mn ont été transférés avec succès en phase aqueuse à l'aide de GTMA. Ensuite, des QD AIGZS dopés au Mn à 1% et 2,5% ont été étudiés *in vitro* comme agents de contraste (AC) pour l'IRM. Avec l'augmentation de la charge de Mn, une augmentation du signal dans les images pondérées en T1 et en T2 a été observée. Cela montre que ces QD AIGZS dopés au Mn peuvent être potentiellement utilisés comme agents de contraste IRM bimodaux.

En résumé, les perspectives de ce travail sont considérées comme suit:

- les expériences sur l'amélioration de certaines propriétés (rendements quantiques, signal magnétique, colloïdal et photostabilités) des QD étudiés à la fois non dopés et dopés à l'aide de méthodes faciles d'injection à chaud en un seul récipient;
- dopage des QD quaternaires préparés dans le cadre de cette thèse avec d'autres éléments (tels que Ni, Co, Cr) afin d'obtenir un signal magnétique efficace;
- la synthèse et la caractérisation des QD quaternaires à base d'AIZ avec substitution de l'un des éléments de la structure, par exemple des QD Ag-Cu-In-Zn-S et leur dopage avec des ions paramagnétiques tels que Mn^{2+} , Gd^{3+} , Fe^{3+} suivi de tests en tant que sondes bimodales potentielles à des fins de bioimagerie;
- des expériences de bioimagerie in vivo visant à une meilleure compréhension de l'application réelle des QD préparés en tant que sondes fluorescentes et magnétiques bimodales;
- mener des recherches et des expériences afin de mettre à l'échelle la synthèse des QD.

Références

- (1) Chang, J.-Y.; Wang, G.-Q.; Cheng, C.-Y.; Lin, W.-X.; Hsu, J.-C. Strategies for Photoluminescence Enhancement of AgInS₂ Quantum Dots and Their Application as Bioimaging Probes. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22* (21), 10609. <https://doi.org/10.1039/c2jm30679d>.
- (2) Galiyeva, P.; Alem, H.; Rinnert, H.; Balan, L.; Blanchard, S.; Medjahdi, G.; Uralbekov, B.; Schneider, R. Highly Fluorescent, Color Tunable and Magnetic Quaternary Ag-In-Mn-Zn-S Quantum Dots. *Inorg. Chem. Front.* **2019**, *6* (6), 1422–1431. <https://doi.org/10.1039/C9QI00131J>.
- (3) Mrad, M.; Ben Chaabane, T.; Rinnert, H.; Lavinia, B.; Jasniewski, J.; Medjahdi, G.; Schneider, R. Aqueous Synthesis for Highly Emissive 3-Mercaptopropionic Acid-Capped AIZS Quantum Dots. *Inorg. Chem.* **2020**, *59* (9), 6220–6231. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00347>.
- (4) Mao, B.; Chuang, C.-H.; McCleese, C.; Zhu, J.; Burda, C. Near-Infrared Emitting AgInS₂/ZnS Nanocrystals. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118* (25), 13883–13889. <https://doi.org/10.1021/jp500872w>.

- (5) Jeong, S.; Yoon, H. C.; Han, N. S.; Oh, J. H.; Park, S. M.; Min, B. K.; Do, Y. R.; Song, J. K. Band-Gap States of AgIn₅S₈ and ZnS–AgIn₅S₈ Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121* (5), 3149–3155. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00043>.
- (6) Stroyuk, O.; Raevskaya, A.; Spranger, F.; Selyshchev, O.; Dzhagan, V.; Schulze, S.; Zahn, D. R. T.; Eychmüller, A. Origin and Dynamics of Highly Efficient Broadband Photoluminescence of Aqueous Glutathione-Capped Size-Selected Ag–In–S Quantum Dots. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122* (25), 13648–13658. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b00106>.
- (7) Wei, Y.; Yang, J.; Ying, J. Y. Reversible Phase Transfer of Quantum Dots and Metal Nanoparticles. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (18), 3179. <https://doi.org/10.1039/b926194j>.
- (8) Dubois, F.; Mahler, B.; Dubertret, B.; Doris, E.; Mioskowski, C. A Versatile Strategy for Quantum Dot Ligand Exchange. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (3), 482–483. <https://doi.org/10.1021/ja067742y>.
- (9) Manna, G.; Jana, S.; Bose, R.; Pradhan, N. Mn-Doped Multinary CIZS and AIZS Nanocrystals. *J. Phys. Chem. Lett.* **2012**, *3* (18), 2528–2534. <https://doi.org/10.1021/jz300978r>.