

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) Nº de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

2 987 831

(21) Nº d'enregistrement national :

12 52167

(51) Int Cl<sup>8</sup> : C 01 F 17/00 (2013.01), A 61 K 49/06, 49/22

(12)

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 09.03.12.

(30) Priorité :

(43) Date de mise à la disposition du public de la demande : 13.09.13 Bulletin 13/37.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : Se reporter à la fin du présent fascicule

(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés :

(71) Demandeur(s) : ECOLE POLYTECHNIQUE Etablissement public — FR.

(72) Inventeur(s) : SCHOEFFEL MARKUS, ALEXANDROU ANTIGONI, BOUZIGUES CEDRIC, GACOIN THIERRY et BOILOT JEAN-PIERRE.

(73) Titulaire(s) : ECOLE POLYTECHNIQUE Etablissement public.

(74) Mandataire(s) : ERNEST GUTMANN YVES PLASSE-RAUD SAS Société par actions simplifiée.

(54) PARTICULES D'OXYDE A BASE DE TERRES RARES ET UTILISATION NOTAMMENT EN IMAGERIE.

(57) La présente demande concerne des produits composites multimodaux pour l'imagerie, en particulier pour l'imagerie diagnostique, et optionnellement pour thérapie, en particulier des produits composites capables d'être utilisés comme agents de contraste en particulier en imagerie par résonance magnétique (IRM), et/ou dans des techniques d'imagerie, comme par exemple en imagerie optique, en détection optique d'oxydants, en tomographie par émission de positrons (TEP), en tomodensitométrie (TDM) et/ou en imagerie par ultrasons et optionnellement simultanément utilisables en thérapie. Ces produits sont basés sur une particule comprenant ou consistant en une partie pourvue d'une activité d'agent de contraste et/ou d'une activité paramagnétique, et une partie pourvue d'une activité luminescente et optionnellement d'une activité de détection d'oxydant.

FR 2 987 831 - A1



**PARTICULES D'OXYDE A BASE DE TERRES RARES  
ET UTILISATION NOTAMMENT EN IMAGERIE**

**DOMAINE TECHNIQUE**

5 La présente demande concerne des produits composites multimodaux pour l'imagerie, en particulier pour l'imagerie diagnostique, et optionnellement pour la thérapie, en particulier des produits composites capables d'être utilisés comme agents de contraste en particulier en imagerie par résonance magnétique (IRM), et/ou dans des techniques d'imagerie, comme par exemple en imagerie optique, en détection optique d'oxydants, en tomographie par émission de positrons (TEP), en tomodensitométrie (TDM) et/ou en imagerie par ultrasons et optionnellement simultanément utilisables en thérapie. Ces produits sont basés sur une particule comprenant ou consistant en une partie pourvue d'une activité d'agent de contraste et/ou d'une activité paramagnétique, et une partie pourvue d'une activité luminescente et optionnellement d'une activité de détection d'oxydant.

15

**ART ANTERIEUR**

Les examens IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) sont essentiellement utilisés pour imager différents types de tissus mous. Le contraste est déterminé par les temps de relaxation des protons  $T_1$  (relaxation longitudinale) et  $T_2$  (relaxation transversale) (Abragam, 20 1983 et Levitt, 2008).

L'administration d'un agent de contraste (AC) est préconisé lorsqu'il y a trop peu de contraste intrinsèque entre les régions d'intérêt, en matière de diagnostic clinique généralement entre des tissus sains et pathologiques. Les AC sont des composés qui sont aptes à modifier les temps de relaxation des protons de l'eau dans le tissu où ils sont présents et peuvent ainsi améliorer un diagnostic médical en termes de spécificité supérieure, de meilleure caractérisation des tissus, de réduction des artéfacts dans l'image et d'information fonctionnelle (Aime *et al.*, 2005). En fonction de l'effet principal, les AC peuvent être divisés en deux classes : les AC  $T_1$  ou AC positifs qui agissent essentiellement sur le temps de relaxation longitudinal, et les AC  $T_2$  ou AC négatifs qui raccourcissent le temps de relaxation transversale (Bottrill *et al.*, 30 2006).

Les performances d'un agent de contraste sont caractérisées par la relaxivité à concentration normalisée ( $r_i$ ) (Lauffer, 1987) :

$$r_i = \frac{\left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} - \left(\frac{1}{T_i}\right)_{solv}}{[AC]}$$

35 où le premier terme correspond au temps de relaxation inverse des protons dans une solution de l'AC paramagnétique, selon la définition du paramagnétisme de Langevin, à la concentration [AC] et le deuxième à celui dans le solvant diamagnétique pur, et  $i$  peut être 1 ou 2.

$$\text{Le taux de relaxation observé est défini par : } \left(\frac{1}{T_i}\right)_{obs} = \left(\frac{1}{T_i}\right)_p + \left(\frac{1}{T_i}\right)_{solv}$$

où l'indice  $p$  dénote la contribution paramagnétique pure du CA.

5 Les valeurs sont exprimées en unités de  $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (Aime *et al.*, 1999). Le signal d'IRM observé pour les séquences types d'impulsions de champ magnétique d'IRM augmente par augmentation de  $1/T_1$  et diminue par augmentation de  $1/T_2$ , mais comme un AC affecte communément les deux temps de relaxation (Caravan *et al.*, 1999), l'effet prédominant décide finalement si le AC agit comme un AC positif ou un AC négatif.

10 La valeur du rapport de relaxivité ( $\kappa$ ) :

$$\kappa = \frac{r_2}{r_1}$$

permet de déterminer lequel de l'effet  $T_1$  ou  $T_2$  est dominant. Un rapport  $\kappa$  faible, d'environ 1, indique un AC positif, tandis qu'un rapport  $\kappa$  nettement supérieur à 1 signifie que le composé agit comme un AC négatif.

15 L'amélioration de la relaxation paramagnétique des protons de l'eau est le résultat de fluctuations temporelles du couplage entre le moment magnétique des électrons de l'ion métal et le moment magnétique nucléaire du proton (Kowalewski *et al.*, 1985 ; Banci *et al.*, 1991 ; Bertini et Luchinat, 1996). Au moins deux contributions peuvent être différencierées : un mécanisme de sphère intérieure et un mécanisme de sphère extérieure. La relaxation de 20 sphère intérieure concerne les molécules de solvant directement coordonnées au centre métallique, tandis que la relaxation de sphère extérieure fait référence à des molécules d'eau dans une deuxième sphère de coordination ou une encore plus distante autour du complexe.

En fonction de la structure réelle de l'AC, une contribution additionnelle peut être présente si des interactions de liaison hydrogène sont possibles avec les molécules d'eau.

25 Comme cette contribution est difficile à quantifier, elle est souvent traitée avec les mécanismes de sphère intérieure ou de sphère extérieure en fonction de la force de la liaison hydrogène (Caravan *et al.*, 1999 ; Aime *et al.*, 2005).

Le temps de relaxation inverse observé est une fonction des temps de relaxation inverse pour les deux processus (Caravan *et al.*, 1999) :

$$\left(\frac{1}{T_i}\right)_p = \frac{1}{T_i^{IS}} + \frac{1}{T_i^{OS}}$$

où les exposants  $/S$  et  $/OS$  représentent respectivement la sphère intérieure et la sphère extérieure.

35 Aujourd'hui, tous les agents de contraste  $T_1$  cliniquement approuvés sont basés sur le  $\text{Gd}^{3+}$ , ion possédant 7 électrons non appariés, chélaté par des ligands polydentés organiques, par exemple connus sous les dénominations le « Magnevist », « Prohance », « Omniscan »,

« OptiMark », « Multihance », « Eovist », « Ablavar » et « Gadavist », approuvés par la FDA (US Food and Drug Administration), et « Multihance », « Omniscan », « Gadovist », « Gadograf », « Dotarem », « Artarem », « Primovist », « Gadopentetat », « Magnevista », « Handvist », et « Magnetolux » approuvés dans au moins un pays de l'Union Européenne.

5 Les constantes physiques de certains de ces AC sont reprises dans le tableau 1 ci-dessous (les données, à l'exception de celles pour l'EOB-DTPA, proviennent de Caravan *et al.*, 1999 et font référence ici à une fréquence de résonance des protons de 20 MHz et à la température disponible la plus proche de 37°C. Les données pour l'EOB-DTPA pour 20 MHz et 10 37°C proviennent de Vander Elst *et al.* (1997). Les valeurs  $r_2$  ne sont dans la plupart des cas pas reportées ;  $pK_{GdL}$  : constante de dissociation logarithmique des complexes Gd-ligand (GdL)).

Nom	Ligand	$pK_{GdL}$	$r_1$ ( $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	$r_2$ ( $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$ )
Dotarem	DOTA	25,3	3,56	4,75
Prohance	HP-DO3A	23,8	3,7	-
Gadovist	DO3A-butrol	21,1	4,8	-
Magnevist	DTPA	22,5	3,8	-
Omniscan	DTPA-BMA	16,9	3,96	-
MultiHance	BOPTA	22,6	4,39	5,56
OptiMark	DTPA-BMEA	16,8	4,7	-
Ablavar	MS-325	6,6	-	-
Eovist	EOB-DTPA	-	5,4	-

**Tableau 1**

Par ailleurs, des nanoparticules à base d'oxyde de fer sont utilisées comme AC  $T_2$ . Ils 15 présentent l'inconvénient de montrer un effet d'extinction du signal qui rend difficile l'interprétation des images, puisque les régions sombres résultantes ne peuvent pas toujours être attribuées sans ambiguïté à la présence de l'AC. De plus, la susceptibilité élevée du matériau à base d'oxyde de fer introduit des distorsions de champ magnétique dans les tissus voisins, connues sous le nom d'artefact de susceptibilité ou « artefact d'éblouissement », qui 20 génèrent des images obscurcies et affectent le fond autour de l'emplacement réel de l'agent (Bulte et Kraitchman, 2004).

De récentes avancées en matière de nanotechnologie ont eu pour résultat le développement de nanoparticules à base de  $\text{Gd}^{3+}$  ayant des propriétés d'amélioration du contraste  $T_1$  en IRM. Les nanoparticules sont des candidates intéressantes pour les AC du fait 25 de l'accroissement de surface disponible d'interaction entre les ions  $\text{Gd}^{3+}$  et les protons de l'eau (Na *et al.*, 2009). Les AC nanoparticulaires peuvent être réalisés à partir d'une structure de noyau inorganique portant des structures de liaison pour ions paramagnétiques (Na *et al.*, 2009). L'application de ces particules résulte en une concentration locale élevée d'ions paramagnétiques et donc en un contraste fort. Cependant, le nombre maximal d'ions  $\text{Gd}^{3+}$  est 30 limité par les sites de liaison sur la surface. Un autre inconvénient réside dans leur synthèse

complexe impliquant plusieurs étapes, au moins la production de la structure de noyau, l'ajout des sites de liaison à la surface et la chélation des ions Gd<sup>3+</sup> dans ces sites de liaison.

Ces inconvénients peuvent être surmontés en utilisant des nanoparticules inorganiques paramagnétiques où les ions paramagnétiques font partie intégrante de la structure du noyau.

5 Dans ce cadre, la synthèse est limitée à l'étape de formation de noyau. De nombreux composés contenant des métaux de transition ou des lanthanides semblent être de bons candidats, mais la plus grande partie de la recherche s'est consacrée sur les nanoparticules à base de Gd<sup>3+</sup>, du fait du nombre élevé d'électrons non-appariés de Gd<sup>3+</sup> et des données extensives sur les propriétés des complexes de Gd.

10 Ainsi, Hifumi *et al.* (2006) ont synthétisé des nanoparticules de GdPO<sub>4</sub> paramagnétiques enrobées de dextrane (GdPO<sub>4</sub>/dextrane) présentant un diamètre hydrodynamique de 23 nm pour la totalité de la construction. De plus, Park *et al.* (2009) ont synthétisé des nanoparticules de Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> encore plus petites avec un enrobage d'acide D-glucuronique (GOGA). Des valeurs de relaxivité élevées compatibles avec un agent de contraste positif ont été observées.

15 Par ailleurs, il est important de pouvoir combiner l'utilisation d'une particule comme agent de contraste avec son utilisation pour d'autres modalités d'imagerie aux caractéristiques complémentaires. A terme, cela devrait considérablement accroître la richesse d'informations obtenue tout en limitant le nombre d'injections nécessaire pour obtenir ces informations. Par ailleurs, des équipes de recherche développent des instruments capables d'acquérir 20 simultanément des images correspondant à deux modes d'imagerie différents, en particulier, une détection optique incorporée soit dans une sonde de détection IRM (Mastanduno *et al.* ; 2011) soit dans un tomographe à RX (Alé *et al.* ; 2010). Ces sondes permettent donc par la même occasion une détection d'oxydant si celle-ci est basée sur une détection optique.

Ainsi, Bridot *et al.* (2007) ont conçu la préparation de nanoparticules de Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> de 25 différents diamètres de noyau intégrées dans une enveloppe de polysiloxane (GadoSiPEG) qui peut également porter des fluorophores organiques pour une imagerie bimodale par résonance magnétique et fluorescence.

Des particules de Gd<sub>0.6</sub>Eu<sub>0.4</sub>VO<sub>4</sub> ont été proposées, combinant l'utilisation comme agents de contraste IRM, comme marqueurs fluorescents et comme capteurs d'oxydant 30 (Schoeffel *et al.* ; 2011). Cependant, ces particules ont un rendement quantique de luminescence (Q) faible, de l'ordre de 4%.

Il existe donc un besoin dans l'art pour des produits composites multimodaux pour imagerie et optionnellement pour thérapie, en particulier des produits composites pouvant être utilisés comme agents de contraste, en particulier en IRM, et/ou dans d'autres techniques 35 d'imagerie, comme par exemple en imagerie optique, en détection optique d'oxydants, en tomographie par émission de positrons (TEP), en tomodensitométrie (TDM) et/ou en imagerie par ultrasons, et optionnellement simultanément utilisables en thérapie.

## DESCRIPTION DES FIGURES

**Figure 1 : Temps de relaxation des protons en présence de particules  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4/GdVO_4$  en fonction de la concentration en  $Gd^{3+}$ .** (A) :  $T_1$  ; (B) :  $T_2$ .

- 5 **Figure 2 : Spectre d'émission de luminescence des particules  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4/GdVO_4$ .** La luminescence a été excitée à 280 nm. Les positions des pics ainsi que les transitions correspondantes sont indiquées. Dans le cas de doubles pics, la position est donnée pour chaque composant.

**Figure 3 : Détection de peroxyde d'hydrogène avec les particules  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4/GdVO_4$ .**

- 10 L'excitation a été effectuée à 466 nm (A) photoréduction ; Intensité laser au niveau de l'échantillon : 1,6 kW/cm<sup>2</sup>. Temps d'exposition 100 ms, 1 image par s. Les données ont été ajustées avec une fonction d'extinction biexponentielle :  $I = I_\infty + a_1 \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) + a_2 \exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right)$ . (B) récupération de luminescence après ajout de 100 µM de peroxyde d'hydrogène. Intensité laser au niveau de l'échantillon : 0,3 kW/cm<sup>2</sup>. Temps d'exposition 400 ms, 1 image toutes les 15 3 s. Les données ont été ajustées avec une fonction de croissance monoexponentielle :
- $$I = 1 + \Delta I \cdot [1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau^*}\right)]$$

**Figure 4 : Représentation schématique d'une particule selon l'invention, en coupe.** (A) particule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  ; (B) particule  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4/GdVO_4$ .

**Figure 5 : Représentation schématique (en coupe) d'une particule enrobée selon**

- 20 **l'invention.** (A) particule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  recouverte d'une troisième partie ; (B) particule  $Y_{0.6}Eu_{0.4}VO_4/GdVO_4$  recouverte d'une couche de silice ( $SiO_2$ ), d'une couche d'APTES et d'une couche constituée de molécules de ciblage (« *ciblage* »), de molécules thérapeutiques et de PEG (——).

25 **DESCRIPTION DE L'INVENTION**

La demande vise une particule utilisable au moins à la fois comme agent de contraste, en particulier en IRM, et comme agent luminescent (agent au moins bimodal). Cette particule comprend ou consiste en une partie pourvue de l'activité luminescente et en une partie pourvue de l'activité d'agent de contraste (particule au moins bipartite).

- 30 Dans un mode de réalisation particulier développé ci-dessous, la particule de l'invention est utilisable comme agent de contraste, en particulier en IRM, comme agent luminescent et comme capteur de substances oxydantes (agent au moins trimodal).

Dans un mode de réalisation particulier développé ci-dessous, la particule de l'invention est en outre pourvue d'un enrobage.

La particule de l'invention comprend ou consiste en au moins deux parties, une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , dans laquelle :

- M est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion;

5 - L correspond à un ou plusieurs ion(s) lanthanide(s) luminescent(s);

- X correspond à un ou plusieurs ion(s) neutre(s) en termes de luminescence ; et

- les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aL_b(M_pO_q)$  est respectée, la fraction d'élément luminescent, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75%; et

une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$ , dans laquelle :

10 - M' est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion ;

- A correspond à un ou plusieurs ions lanthanide(s) paramagnétique(s);

- X' correspond, lorsqu'il est présent, à un ou plusieurs ion(s) neutre(s) en termes de propriétés paramagnétique ; et

15 - les valeurs de p', q', e et le cas échéant f sont telles que l'électroneutralité de  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  est respectée, la fraction d'élément paramagnétique, définie par le rapport  $e/(e+f)$ , étant de 80 à 100%.

Dans un mode de réalisation particulier, la particule de l'invention comprend ou consiste  
20 en au moins deux parties, une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , dans laquelle :

- M est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion;

- L correspond à un ou plusieurs ion(s) lanthanide(s) luminescent(s);

- X correspond à un ou plusieurs ion(s) neutre(s) en termes de luminescence ; et

25 - les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aL_b(M_pO_q)$  est respectée, la fraction d'élément luminescent, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75%; et

une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$ , dans laquelle :

- M' est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion ;

30 - A correspond à un ou plusieurs ions lanthanide(s) paramagnétique(s);

- X' correspond à un ou plusieurs ion(s) neutre(s) en termes de propriétés paramagnétiques ; et

- les valeurs de p', q', e et f sont telles que l'électroneutralité de  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  est respectée, la fraction d'élément paramagnétique, définie par le rapport  $e/(e+f)$ , étant de 80 à 100%.

Dans un mode de réalisation particulier, la particule de l'invention comprend ou consiste en au moins deux parties, une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , dans laquelle :

- M est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion;

- 5      - L correspond à un ou plusieurs ion(s) lanthanide(s) luminescent(s);  
 - X correspond à un ou plusieurs ion(s) neutre(s) en termes de luminescence ; et  
 - les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aL_b(M_pO_q)$  est respectée, la fraction d'élément luminescent, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75%; et

une partie de formule  $A_e(M'_pO_{q'})$  dans laquelle :

- 10     - M' est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion ;  
 - A correspond à un ou plusieurs ions lanthanide(s) paramagnétique(s); et  
 - les valeurs de p', q' et e sont telles que l'électroneutralité de  $A_e(M'_pO_{q'})$  est respectée.

- 15     M, M', L, X, p, q, a, b, A, X' p', q', e et f sont plus particulièrement définis comme suit :

M et M' sont, indépendamment l'un de l'autre, au moins un (de préférence 1 ou 2) élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion. Par « *indépendamment l'un de l'autre* », on entend, que le choix de M ne conditionne pas le choix 20 de M', et vice-versa. Dans un mode de réalisation particulier, M et M' sont, indépendamment l'un de l'autre, de valence +V ou +VI. Dans un mode de réalisation particulier, M et M' sont chacun un ion choisi, indépendamment l'un de l'autre, dans le groupe constitué de V, P, W, Mo et As. Préférentiellement, M et M' sont, indépendamment l'un de l'autre, P ou V, de préférence M et M' sont V. Dans un mode de réalisation, M et/ou M' représente, l'un et/ou l'autre, deux ions 25 choisis, indépendamment l'un de l'autre, dans le groupe constitué de V, P, W, Mo et As. En particulier, M peut représenter  $V_vP_{1-v}$  (v allant de 0 à 1). En particulier, M' peut représenter  $V_{v'}P_{1-v'}$  (v' allant de 0 à 1).

L est un ou plusieurs (de préférence 1 ou 2) ion(s) lanthanide(s) luminescent(s). Le 30 terme « *lanthanide* » (ou Ln) définit les éléments dont le numéro atomique est de 57 à 71 dans le tableau périodique des éléments. Dans un mode de réalisation, L a une valence comprise entre +II et +IV, et de préférence +III. Dans un mode de réalisation, L est un ion choisi dans le groupe constitué de Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm et Yb. Dans un mode de réalisation, L est Eu, en particulier  $Eu^{3+}$ . Dans un autre mode de réalisation, L est Ce, en 35 particulier  $Ce^{3+}$ . Dans un autre mode de réalisation, L est Tb, en particulier  $Tb^{3+}$ . Dans un autre mode de réalisation, L représente plusieurs ions (de préférence 2) choisis dans le groupe

constitué de Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm et Yb. Dans un mode de réalisation particulier, L représente les ions Ce et Tb, ou les ions Er et Yb.

X correspond à un ou plusieurs (de préférence 1 ou 2) ion(s) neutre(s) en termes de luminescence. Par l'expression « *neutre en termes de luminescence*», on entend que le ou les ion(s) X ne sont pas capables d'émettre de la lumière suite à une excitation. Dans un mode de réalisation, X est de valence +III. Dans un mode de réalisation, X est choisi dans le groupe constitué des lanthanides et de Bi. Dans un mode de réalisation, X est choisi dans le groupe constitué de La, Y, Gd et Bi. Dans un mode de réalisation, X est choisi dans le groupe constitué de La, Y, et Bi. Dans un mode de réalisation particulier, X est l'élément Yttrium (Y). Dans un mode de réalisation particulier, X est La. Dans un mode de réalisation particulier, X est tel que défini ci-dessus et en outre n'est pas Gd.

Dans un mode de réalisation, L est Eu et X est Y, de sorte que  $X_aL_b$  est  $Y_aEu_b$ . Dans un mode de réalisation, L est Ce et X est La, de sorte que  $X_aL_b$  est  $La_aCe_b$ . Dans un mode de réalisation, L est Tb et X est La, de sorte que  $X_aL_b$  est  $La_aTb_b$ . Dans un mode de réalisation, L représente Ce et Tb, et X est La, de sorte que  $X_aL_b$  est  $La_a(Ce,Tb)_b$ .

Les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aL_b(M_pO_q)$  est respectée.

p est égal à 0 ou 1, et de préférence égal à 1. Dans un mode de réalisation, q est compris entre 2 et 5, et est de préférence 4. A titre d'exemple, M est P ou V, p est égal à 1, et q est égal à 4, de sorte que  $(M_pO_q)$  est  $PO_4^{3-}$  ou  $VO_4^{3-}$ . Dans un autre exemple, p est égal à 0, et X est Y, de sorte que  $X_a(M_pO_q)$  est  $Y_2O_3$ . Dans un autre mode de réalisation, M représente les ions V et P, p est égal à 1, et q est égal à 4, de sorte que  $(M_pO_q)$  est  $(V_vP_{1-v})O_4$ .

La fraction d'éléments luminescents, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , est de 1 à 75%, en particulier de 10 à 60% ou 20 à 50%, en particulier de l'ordre de 30% ou de l'ordre de 40% ( $\pm$  5%). Dans un mode de réalisation, le rapport  $b/(b+a)$  est inférieur ou égal à 75%, inférieur ou égal à 60%, inférieur ou égal à 50%, inférieur ou égal à 40%, inférieur ou égal à 30% ou inférieur ou égal à 20%. Dans un mode de réalisation, L est Eu et le rapport  $b/(b+a)$  est 40%, de sorte que  $X_aL_b$  est  $X_{0.6}Eu_{0.4}$ . Dans un mode de réalisation, L est Eu, X est Y et le rapport  $b/(b+a)$  est 40%, de sorte que  $X_aL_b$  est  $Y_{0.6}Eu_{0.4}$ . a et b sont tels que  $a+b=1$ .

Dans un mode de réalisation, X est Y, L est Eu, M est V ou P, et le rapport  $b/(b+a)$  est de 1 à 75%. Dans un mode de réalisation, X est Y, L est Eu, M est V et le rapport  $b/(b+a)$  est de 1 à 75%. Dans un mode de réalisation, X est Y, L est Eu, M est V et le rapport  $b/(b+a)$  est de 40%, de sorte que  $X_aL_b(M_pO_q)$  est  $Y_{0.6}Eu_{0.4}(VO_4)$ .

Dans un mode de réalisation, L est Eu et X est Y, M est V et/ou P, et le rapport  $b/(b+a)$  est de 1 à 75%. Dans un mode de réalisation, L est Ce et X est La, M est V et/ou P, et le rapport  $b/(b+a)$  est de 1 à 75%. Dans un mode de réalisation, L représente Ce et Tb, et X est La, M est V et/ou P, et le rapport  $b/(b+a)$  est de 1 à 75%.

A représente un ou plusieurs (de préférence 1 ou 2) ions paramagnétique(s) de la famille des lanthanides. Le terme « *paramagnétique* » est entendu ici selon la signification habituelle, plus particulièrement selon la définition du paramagnétisme de Langevin. Dans un mode de réalisation, A est un ion paramagnétique choisi dans le groupe constitué de Ce, Pr, 5 Nd, Eu, Gd, Tb, Ho, Er, Tm et Yb. Dans un mode de réalisation particulier, A est Gd. Dans un mode de réalisation, L et A sont différents. Dans un autre mode de réalisation, A représente plusieurs ions paramagnétique (de préférence 2) choisis dans le groupe constitué de Ce, Pr, Nd, Eu, Gd, Tb, Ho, Er, Tm et Yb. Dans un mode de réalisation, A représente les ions Gd et Eu. Dans un mode de réalisation, A est différent de L, par le nombre et/ou la nature des ions.

10 X', lorsqu'il est présent, correspond à un ou plusieurs ion(s) (de préférence 1 ou 2) neutre(s) en termes de propriétés paramagnétiques. Par l'expression « *neutre en termes de propriétés paramagnétiques* », on entend que le ou les ion(s) X' n'a (n'ont) pas de spin électronique non apparié dans l'état fondamental. La « *neutralité en termes de propriétés paramagnétiques* » du ou des ion(s) X' est entendue ici selon la signification habituelle, plus 15 particulièrement selon la définition du paramagnétisme de Langevin. Dans un mode de réalisation, X' est de valence +III. Dans un mode de réalisation, X' est choisi dans le groupe constitué des lanthanides et de Bi. Dans un mode de réalisation, X' est choisi dans le groupe constitué de La, Y et Bi. Dans un mode de réalisation particulier, X' est l'élément Yttrium (Y).

Les valeurs de p', q', e et, le cas échéant, f sont telles que l'électroneutralité de 20  $A_e X'_f (M'_{p'} O_{q'})$  est respectée.

p' est égal à 0 ou 1, et de préférence égal à 1. Dans un mode de réalisation, q' est compris entre 2 et 5, et est de préférence 4. A titre d'exemple, M' est P ou V, p' est égal à 1 et q' est égal à 4, de sorte que  $(M'_{p'} O_{q'})$  est  $PO_4^{3-}$  ou  $VO_4^{3-}$ . Dans un autre mode de réalisation, M' représente les ions V et P, p' est égal à 1, et q' est égal à 4, de sorte que  $(M'_{p'} O_{q'})$  est 25  $(V_v P_{1-v})O_4$ .

La fraction d'élément paramagnétique, définie par le rapport  $e/(e+f)$ , est de 80 à 100%, en particulier de 90 à 100% ou de 95 à 100%. Dans un mode de réalisation, le rapport  $e/(e+f)$  est supérieur ou égal à 80%, à 90% ou à 95%. Dans un mode de réalisation, le rapport  $e/(e+f)$  est supérieur ou égal à 80%, à 90% ou à 95%, et inférieur à 100%. Dans un mode de 30 réalisation, M est V ou P, A est Gd et le rapport  $e/(e+f)$  est de 80 à 100%. Dans un mode de réalisation, M est V, A est Gd et le rapport  $e/(e+f)$  est de 80 à 100%. e et f sont tels que  $e+f = 1$ .

Dans un mode de réalisation, le rapport  $e/(e+f)$  est de 100%, c'est-à-dire que f est égal à 0, de sorte que  $A_e X'_f (M'_{p'} O_{q'})$  est  $A_e (M'_{p'} O_{q'})$ , les valeurs de p', q' et e étant telles que l'électroneutralité de  $A_e (M'_{p'} O_{q'})$  est respectée. Dans un mode de réalisation, A est Gd et le 35 rapport  $e/(e+f)$  est de 100%, de sorte que  $A_e X'_f (M'_{p'} O_{q'})$  est  $Gd(M'_{p'} O_{q'})$ . Dans un mode de réalisation, M est V, A est Gd et le rapport  $e/(e+f)$  est de 100%, de sorte que  $A_e X'_f (M'_{p'} O_{q'})$  est  $Gd(VO_4)$ .

La particule de l'invention peut également être définie comme comprenant ou consistant en deux parties :

- une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , dans laquelle M, L, X, p, q, a et b sont tels que définis ci-dessus et choisis de manière à ce que la partie  $X_aL_b(M_pO_q)$  possède une activité

5 luminescente ; et

- une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  dans laquelle M', A, X' lorsqu'il est présent, p', q', e et le cas échéant f sont tels que définis ci-dessus, et choisis de manière à ce que la partie  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  possède une activité d'agent de contraste, en particulier en IRM et/ou une activité paramagnétique.

10 Par « *pourvu d'activité luminescente* » ou « *utilisable comme agent luminescent* », on entend une particule (ou composition comportant des particules) qui est capable d'émettre de la lumière, suite à une excitation. L'activité luminescente d'une particule peut être évaluée par le calcul du rendement quantique de luminescence (Q), qui correspond au rapport entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbés (plus Q est élevé, plus la particule est 15 luminescente). Une particule (dans sa forme non-recouverte) sera considérée comme un agent de luminescence efficace lorsque la valeur de Q sera supérieure ou égale à 10%, de préférence sera d'au moins 20% (voir l'exemple 1.7).

Par « *pourvu d'activité d'agent de contraste* » ou « *utilisable comme agent de contraste* », on entend une particule (ou composition comportant des particules) qui diminue les 20 temps de relaxation  $T_1$  et/ou  $T_2$  lors de l'utilisation en IRM. L'activité d'agent de contraste d'une particule peut être évaluée par la détermination, d'une part, des relaxivités  $r_1$  et  $r_2$ , et d'autre part, par la détermination du rapport de relaxivité  $r_2/r_1 = \kappa$ . Les valeurs  $r_1$  et  $r_2$  sont définies par les pentes des droites des vitesses de relaxation  $1/T_1$ , et  $1/T_2$ , respectivement, en fonction de la concentration des particules (voir les exemples 1.5 et 1.6).

25 De façon préférée, les particules de l'invention sont utilisables comme agent de contraste  $T_1$ , c'est-à-dire ont un effet  $T_1$  prépondérant. Dans ce mode de réalisation, une particule sera considérée comme un agent de contraste  $T_1$  efficace, lorsque les valeurs de  $r_1$  et  $r_2$  seront d'au moins environ  $4 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ , et le rapport  $r_2/r_1 (\kappa)$  sera de l'ordre de 1, de préférence dans un intervalle de 1 à 2, en particulier de 1 à 1,5.

30

La demande vise également une particule de l'invention utilisable comme agent de contraste, en particulier en IRM, comme agent luminescent et comme capteur de substances oxydantes (agent au moins trimodal). Ainsi, la particule de l'invention comprend ou consiste en deux parties, une partie pourvue de l'activité luminescente et de l'activité de détection de 35 substances oxydantes, et une autre partie pourvue de l'activité comme agent de contraste.

Dans ce mode de réalisation, la particule est définie comme comprenant ou consistant en deux parties :

- une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  dans laquelle M est V, L est Eu, et X, a, b et p sont tels que définis ci-dessus et choisis de manière à ce que la partie  $X_aEu_b(V_pO_q)$  possède une activité luminescente et de détection de substances oxydantes ; et
- une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$ , dans laquelle M', A, X' lorsqu'il est présent, p', q', e et, le cas échéant, f sont tels que définis ci-dessus et choisis de manière à ce que la partie  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  possède une activité d'agent de contraste, en particulier en IRM.

Ainsi, la particule de l'invention comprend ou consiste en au moins deux parties, une

partie étant de formule  $X_aEu_b(V_pO_q)$  et une partie étant de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$ , dans laquelle :

- X correspond à un ou plusieurs, de préférence un ou deux, ion(s) neutre(s) en termes de luminescence ;
- les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aEu_b(V_pO_q)$  est respectée, la fraction d'élément luminescent, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75% ; et
- M' est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion ;
- A correspond à un ou plusieurs, de préférence un ou deux, ion(s) lanthanide(s) paramagnétique(s) ;
- X', lorsqu'il est présent, correspond à un ou plusieurs ions neutres en termes de propriétés paramagnétiques ; et
- les valeurs de p', q', e et, le cas échéant, f sont telles que l'électroneutralité de  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  est respectée, la fraction d'élément paramagnétique, définie par le rapport  $e/(e+f)$ , étant de 80 à 100%.

Par pourvu d'activité « *comme agent capteur de substances oxydantes* » ou « *d'activité*

*de détection de substances oxydantes* », on entend une particule (ou composition comportant des particules) qui est capable de détecter, quantitativement, la concentration de substances oxydantes (telles que le peroxyde d'hydrogène,  $H_2O_2$ , l'anion hypochlorite), intracellulairement ou *in vivo*. Dans un mode de réalisation particulier, la détection de la concentration de substances oxydantes est dynamique, c'est-à-dire qu'il est possible de détecter la concentration en fonction du temps. Dans un autre mode de réalisation, les particules de l'invention sont utilisées comme agent capteur du peroxyde d'hydrogène.

Une particule sera considérée comme un capteur efficace de substances oxydantes, en particulier du peroxyde d'hydrogène, lorsque les ions luminescents pourront être oxydés de façon réversible par les substances oxydantes produisant une modulation de leur intensité de luminescence à une bande de longueur d'onde donnée. Dans un mode de réalisation, les ions luminescents sont photoréduits par irradiation avant leur utilisation pour la détection de substances oxydantes (Casanova *et al.* ; 2009). Dans ce cas, la photoréduction induit une

diminution de la luminescence de l'ion luminescent qui est d'au moins 10%, de préférence supérieure ou égale à 20%, supérieure ou égale à 30%, supérieure ou égale à 40% ou supérieure ou égale à 50%. Dans un autre mode de réalisation, les ions luminescents sont déjà dans un état de valence tel, qu'ils sont susceptibles de subir une oxydation. La modulation de 5 l'intensité de luminescence produite par des concentrations d'oxydants à des concentrations physiologiques et pathophysiologiques doit être suffisamment importante, supérieure au bruit, pour pouvoir être détectée (voir exemple 1.8). Dans ce cas, le rapport entre le signal de récupération de luminescence et le bruit est supérieur à 1, de préférence supérieur à 2 ou de préférence supérieur à 5. Dans un mode de réalisation particulier, en combinaison ou 10 indépendamment du précédent, le temps caractéristique nécessaire pour obtenir cette récupération est de l'ordre de la minute, de préférence inférieur à 5 min, de préférence inférieur à 1 min ou de préférence inférieur à 30 s.

La particule de l'invention répond à une formule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou une formule 15  $X_aL_b(M_pO_q)/A_e(M'_pO_q)$ , en particulier une formule  $X_aEu_b(V_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou une formule  $X_aEu_b(V_pO_q)/A_e(M'_pO_q)$ . En particulier, la particule de l'invention répond à une formule  $X_aEu_b(VO_4)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou une formule  $X_aEu_b(VO_4)/A_e(M'_pO_q)$ .

Dans un mode de réalisation particulier, la particule de l'invention répond à une formule choisie dans le groupe constitué de  $Y_aEu_b(VO_4)/Gd(VO_4)$ ,  $Y_aEu_b(PO_4)/Gd(VO_4)$ , 20  $Y_aEu_b(VO_4)/Gd(PO_4)$  et  $Y_aEu_b(PO_4)/Gd(PO_4)$ , le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75%, en particulier de 10 à 60% ou 20 à 50%, en particulier de l'ordre de 30% ou de l'ordre de 40% ( $\pm 5\%$ ). Dans un mode de réalisation, la particule de l'invention est de formule  $Y_{0.6}Eu_{0.4}(VO_4)/Gd(VO_4)$ .

Dans un mode de réalisation, au moins un (de préférence 1 seul) de M, M', L, X, A et, le cas échéant, X' est sous la forme d'un radio-isotope. Dans un mode de réalisation particulier, L est sous la forme d'un radio-isotope, par exemple  $^{86}Y$ . Dans un mode de réalisation, la surface 25 des nanoparticules est fonctionnalisée avec des chélateurs organiques, par exemple avec le ligand DOTA, afin de permettre la liaison d'un radio-isotope approprié à une émission de positrons, tel que  $^{64}Cu$  ou  $^{86}Y$ . Dans un autre mode de réalisation, la fonctionnalisation de la surface est effectuée avec des molécules organiques contenant par exemple les ions  $^{11}C$ ,  $^{13}N$ , 30  $^{18}F$ , également appropriés à une émission de positrons.

Dans le cadre de la présente demande, par le terme « partie », on entend une structure de formule telle qu'indiquée précédemment, quel que soit son arrangement spatial avec l'autre partie, exclu le mélange homogène des deux parties. C'est en ceci que les particules sont 35 définies comme composites.

Ainsi, dans un mode de réalisation, les au moins deux parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_e(M'_pO_q)$ , constituant respectivement la partie

luminescente et la partie paramagnétique de la particule de l'invention, sont juxtaposées, c'est-à-dire qu'elles sont au contact l'une de l'autre, sans que les deux parties ne se mélangent ou de manière à ce que seule une infime proportion de l'ensemble se présente en mélange (inférieure à 10% pour chacune des parties). Ainsi, l'une des phases peut être au moins partiellement dispersée dans l'autre.

Dans un autre mode de réalisation, les au moins deux parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_e(M'_pO_{q'})$  constituant au moins une zone de la particule de l'invention sont arrangées selon une structure en gradient, de sorte qu'au moins une zone de la particule est constituée de 100% d'une partie, qu'une autre zone est constituée de 100% de l'autre partie, et que l'on retrouve entre ces deux zones un mélange des deux parties dans lequel la proportion d'une des parties décroît lorsque la proportion de l'autre partie croît, selon un gradient.

Dans un autre mode de réalisation, les au moins deux parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_e(M'_pO_{q'})$  constituant la particule de l'invention sont arrangées selon une structure dite cœur/coquille (core/shell), généralement sphérique ou sphéroïdale, dans laquelle une des parties se retrouve au centre de la particule et en forme le cœur, complètement entouré par l'autre partie appelée coquille (Figure 4A).

Dans un mode de réalisation de cette structure cœur/coquille, la partie formant le cœur est sans mélange avec la coquille. Dans un autre mode de réalisation de cette structure cœur/coquille, à la limite du cœur et de la coquille se trouve une zone intermédiaire où est mélangée à l'autre une infime proportion de chacune des deux parties (inférieure à 10% pour chacune des parties).

Dans un mode de réalisation particulier, que les deux parties soient mélangées ou non, la partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  [en particulier la partie de formule  $X_aEu_b(V_pO_q)$ ] constitue le cœur de la particule, et la partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou de formule  $A_e(M'_pO_{q'})$  constitue la coquille de la particule. Ainsi, pour une particule de formule  $Y_{0.6}Eu_{0.4}(VO_4)/Gd(VO_4)$ , la partie  $Y_{0.6}Eu_{0.4}(VO_4)$  constitue le cœur luminescent de la particule, et la partie  $Gd(VO_4)$  constitue la coquille de la particule (Figure 4B).

Dans un mode de réalisation particulier des particules de l'invention, la fraction volumétrique de la coquille (%vol), c'est-à-dire le volume de la coquille par rapport au volume total de la nanoparticule, est comprise entre 5% et 95%, de préférence entre 25% et 75%, de préférence entre 50% et 60 %. Dans un mode de réalisation particulier, la fraction volumétrique de la coquille ne dépasse pas 60%. Dans un mode de réalisation particulier, la fraction volumétrique de la coquille est de l'ordre de  $58 \pm 5\%$  du volume total de la nanoparticule.

Dans un mode de réalisation particulier, la fraction volumétrique du cœur [par rapport à l'ensemble de la particule] peut varier de 5% à 95%, de préférence de 25% à 75%, de

préférence de 40% à 50 %. Dans un mode de réalisation particulier, la fraction volumique du cœur ne dépasse pas 50%.

La demande vise aussi une composition comprenant des particules de formule  
 5  $X_aL_b(M_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_e(M'_pO_q)$ . Dans un mode de réalisation particulier, les particules ont la même composition, c'est-à-dire que la nature de X, L, M, X'  
 lorsqu'il est présent, A et M' et la valeur de p, q, p', q', e et f sont identiques pour toutes les particules de la composition, la valeur de a et b pouvant varier. Dans un autre mode de  
 10 réalisation, les particules ont la même composition et la même nature, c'est-à-dire que la nature de X, L, M, X' lorsqu'il est présent, A et M' et la valeur de p, q, p', q', a, b, e et f sont identiques pour toutes les particules de la composition.

Dans un autre mode de réalisation, la composition comprend des particules de l'invention différentes, pouvant varier dans la nature de X, L, M, X' lorsqu'il est présent, A et/ou  
 15 M', et/ou dans la valeur de a, b, p, q, p', q', e et/ou f. Dans un mode de réalisation, les particules de l'invention diffèrent par la seule nature de X et X' lorsqu'il est présent, et éventuellement les valeurs de a et b. Dans un autre mode de réalisation particulier, les particules de l'invention contenes dans la composition diffèrent par la seule nature de L, et éventuellement les valeurs de a et b. Dans un autre mode de réalisation, les particules de l'invention diffèrent par la seule nature de X, et éventuellement les valeurs de a et b.

20 Les parties de la particule de l'invention peuvent contenir une ou plusieurs zones(s) cristalline(s) du ou des oxyde(s) métallique(s). Dans un mode de réalisation particulier, la structure de l'une et/ou de l'autre des parties de la particule n'est pas monocristalline. Si plusieurs domaines cristallins sont présents au sein de la particule, ces domaines sont de  
 25 préférence des cristaux de même direction. Toutefois, au sein d'une composition de particules selon l'invention, il n'est pas exclu que certaines particules présentent des domaines de structure amorphe. Ainsi, dans une composition de particules selon l'invention, plus de 50%, plus de 70%, plus de 80% ou plus de 90%, plus de 95%, plus de 98%, plus de 99% ou 100% des particules ont une structure cristalline. De plus, il n'est pas exclu qu'il existe des domaines  
 30 de structure amorphe au sein des particules selon l'invention. Dans un mode de réalisation particulier, plus de 50%, plus de 70%, plus de 80%, plus de 90%, plus de 95%, plus de 98%, plus de 99% ou 100% du volume de la particule a une structure cristalline.

Les particules de l'invention peuvent être poreuses ou non-poreuses, c'est-à-dire que  
 35 les particules ont la capacité ou non, respectivement, de laisser pénétrer notamment de l'eau dans la particule. Dans un mode de réalisation particulier, les particules selon l'invention sont poreuses. Par ailleurs, dans le cadre d'une composition de particules selon l'invention, plus de

50%, plus de 70%, plus de 80%, plus de 90%, plus de 95%, plus de 98%, plus de 99% ou 100% des particules sont poreuses. De plus, au sein des particules de l'invention, une fraction du volume de chaque particule peut être poreuse. Ainsi, dans les particules selon l'invention, plus de 20%, plus de 50%, plus de 70%, plus de 80%, plus de 90%, plus de 95%, plus de 98%, 5 plus de 99% ou 100% du volume de la particule est poreux.

Dans un mode de réalisation particulier, l'invention vise également une particule de l'invention constituée des deux parties  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_eX'_f(M'_pO_q')$  ou constituée des deux parties  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_e(M'_pO_q')$  telles que définies ici (constituant la particule dans sa forme 10 non-recouverte), pourvue en outre d'une troisième partie, pour donner une particule enrobée. La troisième partie entoure la particule non-recouverte. Dans un mode de réalisation particulier, la particule enrobée consiste en un cœur entouré par une coquille, elle-même entourée par cette troisième partie (Figure 5A).

Cette troisième partie comprend au moins une, de préférence une, deux ou trois, 15 couche(s) choisie(s) parmi une couche de préparation, une couche portant des groupements fonctionnels et une couche constituée de molécules biologiquement actives, couches telles que définies ci-après.

Ainsi, dans un mode de réalisation particulier, cette troisième partie consiste en une couche de préparation, de sorte que la particule non-recouverte de l'invention est revêtue 20 uniquement d'une couche de préparation.

Dans un autre mode de réalisation, cette troisième partie consiste en une couche de préparation et une couche portant des groupements fonctionnels, de sorte que la particule non-recouverte de l'invention est revêtue d'une couche de préparation et d'une couche portant des groupements fonctionnels (particules fonctionnalisées). Dans un mode particulier, la couche de 25 préparation est intérieure par rapport à la couche portant des groupements fonctionnels, c'est-à-dire que la couche de préparation est appliquée sur la particule non-recouverte, et que la couche portant des groupements fonctionnels est appliquée sur la couche de préparation.

Dans un autre mode de réalisation, cette troisième partie consiste en une couche de préparation et une couche constituée de molécules biologiquement actives, de sorte que la 30 particule non-recouverte de l'invention est uniquement revêtue d'une couche de préparation et d'une couche constituée de molécules biologiquement actives. Dans un mode particulier, la couche de préparation est intérieure par rapport à la couche constituée de molécules biologiquement actives, c'est-à-dire que la couche de préparation est appliquée sur la particule non-recouverte, et que la couche constituée de molécules biologiquement actives est appliquée 35 sur la couche de préparation.

Dans un autre mode de réalisation, cette troisième partie consiste en une couche de préparation, une couche portant des groupements fonctionnels et une couche constituée de

molécules biologiquement actives, de sorte que la particule non-recouverte de l'invention est revêtue d'une couche de préparation, d'une couche portant des groupements fonctionnels et d'une couche constituée de molécules biologiquement actives. Dans un mode particulier, la couche de préparation est intérieure par rapport à la couche portant des groupements fonctionnels, et la couche portant des groupements fonctionnels est elle-même intérieure par rapport à la couche constituée de molécules biologiquement actives, c'est-à-dire que la couche de préparation est appliquée sur la particule non-recouverte, que la couche portant des groupements fonctionnels est appliquée sur la couche de préparation, et que la couche constituée de molécules biologiquement actives est appliquée sur la couche portant des groupements fonctionnels.

Dans un mode de réalisation particulier, cette troisième partie n'a ni activité d'agent de contraste, ni activité luminescente, et le cas échéant, ni activité de détection de substances oxydantes qui lui sont propres. Dans un mode de réalisation particulier, cette troisième partie n'a ni activité d'agent de contraste, et le cas échéant, ni activité de détection de substances oxydantes, mais possède une activité luminescente qui est distincte de celles des ions luminescents (L) contenus dans la particule de l'invention. Dans un mode de réalisation particulier, cette activité de luminescence distincte est exercée par des molécules (en particulier des fluorophores) contenus dans l'une des trois couches de l'enrobage, de préférence dans la couche de préparation ou dans la couche portant des groupements fonctionnels. Cette activité de luminescence distincte se différencie de l'activité de luminescence des ions luminescents (L) contenus dans les particules, par sa couleur, ses propriétés photophysiques et/ou sa sensibilité aux facteurs environnementaux, tels que le pH ou la concentration des ions comme le Ca<sup>2+</sup>.

Par « *molécule biologiquement active* », on entend toute molécule d'origine naturelle ou synthétique, tels que des composés chimiques, des protéines, des polypeptides ou des polynucléotides, qui est ou sont choisie(s) en fonction de l'activité désirée.

Dans un mode de réalisation particulier, la ou aux les molécule(s) biologiquement active(s) sont des molécules de ciblage, c'est-à-dire des molécules qui vont permettre le ciblage spécifique de la particule selon l'invention vers un organe, un fluide corporel (par exemple le sang), un type cellulaire (par exemple, plaquettes, lymphocytes, monocytes, cellules tumorales, ...) ou un compartiment cellulaire. Ainsi, ce ciblage spécifique peut être accompli à l'aide d'anticorps, monoclonal ou polyclonal, ou de ligands protéiques ou polypeptidiques de récepteurs cellulaires. A titre d'exemples, non limitatifs, on peut citer les couples récepteurs/ligands suivants : TGF/TGFR, EGF/EGFR, TNFα/TNFR, interféron/récepteur à l'interféron, interleukine/récepteur à l'interleukine, GMCSF/récepteur au GMCSF, MSCF/récepteur au MSCF, et GCSF/récepteur au GCSF. On peut également citer, comme ligands, des fragments de toxine ou des toxines détoxifiées et leurs récepteurs cellulaires.

Concernant les anticorps, ceux-ci seront choisis en fonction de l'antigène ou des antigènes contre lequel/lesquels l'anticorps est dirigé. Dans un mode de réalisation particulier, on peut utiliser des anticorps reconnaissant des antigènes localisés sur les monocytes, les lymphocytes, les plaquettes, par exemple des anticorps commercialisés par Santa Cruz

5 Biotechnology (<http://www.scbt.com/>)

Dans un autre mode de réalisation, la ou les molécule(s) biologiquement active(s) sont des molécules fluorescentes, et par exemple se présentent sous forme de protéines de fusion avec des protéines fluorescentes.

Dans un autre mode de réalisation, la ou les molécule(s) biologiquement active(s) sont 10 des agents de furtivité, tels que le polyéthylèneglycol (PEG) ou le dextran, afin de rendre les particules furtives dans l'organisme et ainsi augmenter leur temps de circulation dans le sang.

Dans un autre mode de réalisation, la ou aux les molécule(s) biologiquement active(s) sont des molécules à activité thérapeutique, en particulier des molécules anticancéreuses (chimio-thérapeutiques). Des exemples de molécules chimio-thérapeutiques sont : Cisplatin, 15 Methotrexat, Bleomycin, Cyclophosphamid, Mitomycin, 5-Fluoruracil, Doxorubicin/Adriamycin, Docetaxel. L'utilisation de la particule de l'invention comme véhicule de transport de molécules thérapeutiques (médicament) présente plusieurs avantages : les particules encapsulant des médicaments ont généralement un temps de circulation dans le corps plus long que les médicaments moléculaires, et les particules peuvent éliminer l'effet de résistance multiple aux 20 médicaments de cellules tumorales là où les médicaments moléculaires sont facilement éliminés de la cellule par pompage par les pompes membranaires (Kim *et al.*, 2009).

Dans un autre mode de réalisation, la particule selon l'invention porte à sa surface au moins deux, de préférence deux ou trois types de molécules biologiquement actives choisies parmi celles décrites précédemment. Dans un mode de réalisation particulier, la particule porte 25 des molécules de ciblage et des molécules de furtivité telles que définies ci-dessus. Dans un autre mode de réalisation, la particule porte des molécules de ciblage et des molécules thérapeutiques telles que définies ci-dessus, et optionnellement des molécules de furtivité telles que définies ci-dessus. Ainsi, les particules de l'invention selon ce dernier mode de réalisation permettent d'éviter les effets secondaires indésirables liés au transport des molécules 30 thérapeutiques dans un tissu non pathogène.

Quel que soit le mode de réalisation, les molécules biologiquement actives peuvent être attachées, à la surface de la particule ou le cas échéant à la couche de préparation, directement ou par l'intermédiaire d'une couche portant des groupements fonctionnels, par liaison covalente ou non-covalente. L'attachement de ces molécules biologiquement actives est 35 réalisé par les techniques conventionnelles d'oxydation, halogénéation, alkylation, acylation, addition, substitution ou amidation de la surface de la particule, de la couche de préparation

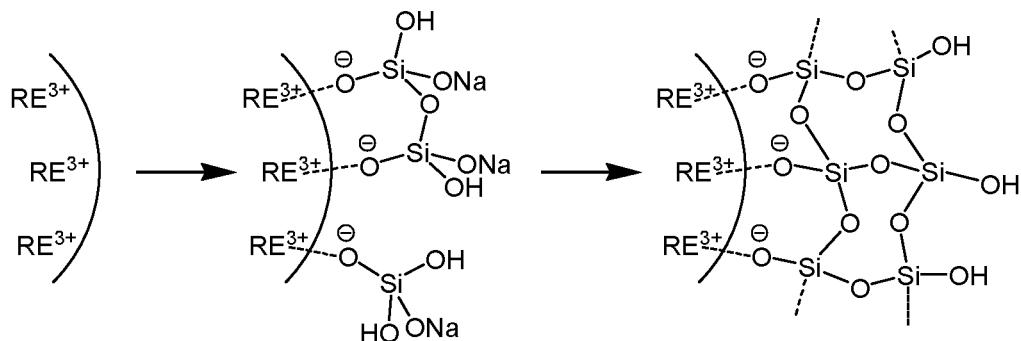
et/ou de la couche portant des groupements fonctionnels, avec les molécules biologiquement actives.

La couche de préparation est appliquée directement sur la particule, soit par liaison

5 covalente ou par adsorption. Cette couche de préparation peut être hydrophile ou hydrophobe. Dans un mode de réalisation particulier, cette couche de préparation est amorphe.

Dans un mode de réalisation, la couche de préparation est constituée de molécules, liées de façon non-covalente à la particule, dont la charge est opposée à celle de la particule non-recouverte selon l'invention. Des exemples de telles molécules de liaison sont les 10 détergents anioniques, cationiques, ou zwitterioniques, des peptides, des protéines acides ou basiques, des polyamines, des polyamides ainsi que des acides polysulfoniques ou polycarboxiliques. Ces molécules de liaison peuvent être adsorbées à la surface de la particule par coincubation.

Dans un mode de réalisation particulier, la couche de préparation est constituée de silice 15 ( $\text{SiO}_2$ ) (particules silicatées). A titre d'exemple, la couche de silice peut être formée par la condensation d'un précurseur approprié contenant l'atome de silicium autour de la particule selon l'invention. Dans ce cas, la couche de silice est liée à la particule selon l'invention par des forces électrostatiques. Dans un mode de réalisation particulier, la couche de silice est formée à partir de sodium metasilicate ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) selon la réaction suivante (où « RE » représente A et/ou 20 X' dans le cadre d'une particule selon l'invention) :

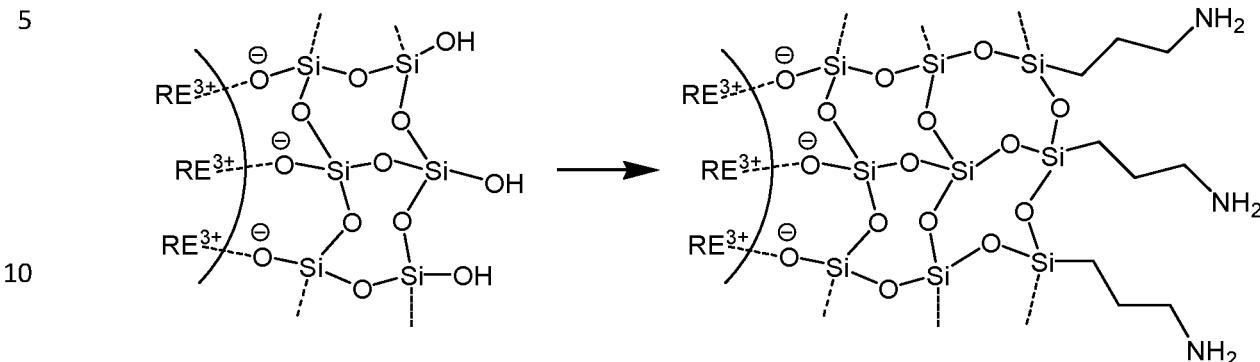


25

La couche portant les groupements fonctionnels, lorsqu'elle est présente, assure le lien

30 entre la couche de préparation, d'une part, et la couche portant les molécules biologiquement actives, d'autre part. Elle est constituée de groupements organiques, par exemple d'organosilanes portant des fonctions amines, thiols, ou carboxyliques. Une particule portant une couche de préparation et une couche avec des groupements fonctionnels, telles que décrites ici, est dite une particule fonctionnalisée. Dans un mode de réalisation, la couche 35 portant les groupements fonctionnels est formée à partir de (3-Aminopropyl) triethoxysilane (APTES) qui est porteur de groupements amines. Par exemple, les groupements amines sont ajoutés à la particule selon l'invention, en première étape, par l'hydrolyse des groupements

ethoxy de l'APTES pour générer des groupements hydroxyl qui peuvent, en deuxième étape, condenser avec les groupements hydroxyl de la couche de préparation afin de former une liaison covalente, selon le schéma de réaction ci-dessous (où « RE » représente A et/ou X' dans le cadre d'une particule selon l'invention) :



La particule ainsi fonctionnalisée peut être liée à des molécules biologiquement actives (pour former la couche constituée de molécules biologiquement actives), par tout moyen connu de l'homme du métier, par exemple par une liaison chimique faible, comme par exemple par force électrostatique, force de Van der Waals, liaison hydrogène, liaisons hydrophobes, ou encore par une liaison chimique forte, comme par exemple par liaison ionique, covalente ou métallique, ou encore au moyen d'un agent de couplage, comme par exemple des agents de couplage portant des fonctions doubles permettant de se fixer d'une part sur des fonctions (par exemple fonctions amines ou fonctions acides carboxyliques) présentes à la surface de la particule et, d'autre part, sur des fonctions de la molécule de ciblage (par exemple fonctions amines ou fonctions sulfhydryles). La particule fonctionnalisée et la ou les molécule(s) biologiquement active(s) peuvent également être liées en utilisant par exemple des interactions biologiques à forte affinité, comme l'interaction biotine-streptavidine (ou l'interaction ligand-récepteur ou l'interaction anticorps-antigène), et un couplage à plusieurs étapes, c'est-à-dire d'abord couplage de la streptavidine (ou de la biotine) à la particule fonctionnalisée et couplage de la biotine (ou de la streptavidine) à la ou aux les molécule(s) biologiquement active(s) et ensuite mise en interaction des deux produits de couplage. On peut également citer les techniques de couplage entre par exemple un groupement carboxy et un carbodiimide, entre une amine et un N-hydroxysuccinimide ou un imidoester et entre un thiol et un maléimide.

Lorsque la particule fonctionnalisée porte des groupements amines (comme par exemple après traitement au (3-Aminopropyl) triethoxsilane), on pourra utiliser pour coupler la ou les molécule(s) biologiquement active(s), des agents de liaison, tels que (1) le Bis(sulfosuccinimidyl)suberate (BS<sub>3</sub>), agent de liaison homobifonctionnel, qui par ses groupements N-ester hydroxysulfosuccinimide (NHS), effectue des liaisons avec des groupements amines portés par des molécules différentes, (2) le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC), agent de liaison carbodiimide, qui active les

groupements carboxyl pour une réaction spontanée avec les amines primaires, et (3) le Sulfosuccinimidyl-4-(*N*-maléimidométhyl)cyclohexane-1-carboxylate (Sulfo-SMCC), qui par son groupement ester Sulfo-NHS lie les molécules contenant une amine primaire, et par son groupement maléimide réagit avec des résidus cystéines.

5 A titre d'exemple, la particule fonctionnalisée de l'invention peut être couplée à une protéine ou un polypeptide présentant des fonctions amines à sa surface par le Bis(sulfosuccinimidyl)suberate (BS<sub>3</sub>). La méthode de couplage, décrite en détail par Casanova et al. (2007), comprend :

- i) Optionnellement, la sélection des particules de l'invention, en taille par centrifugation ;
- 10 ii) Le transfert des particules du solvant aqueux au solvant diméthylsulfoxyde (DMSO) ;
- iii) Une première réaction d'acylation entre les particules et le cross-linker BS<sub>3</sub> ;
- iv) Le transfert des particules du DMSO au solvant aqueux et une seconde réaction entre le complexe particules/BS<sub>3</sub> et la protéine ou le polypeptide à coupler ; et
- v) La séparation par centrifugation entre les protéines ou polypeptides libres et les particules couplées aux protéines ou polypeptides.

15 Le rapport des concentrations des particules de l'invention et des protéines ou polypeptides est choisi en fonction du nombre de protéines ou polypeptides que l'on souhaite coupler par particule. Lorsque l'on souhaite fixer une seule molécule sur la particule et lorsque la réaction de l'étape iv) a une efficacité proche de 100%, un rapport des concentrations des particules et des protéines d'intérêt, proche de 1:1 est retenu, pour la réalisation de l'étape iv). La concentration des particules couplées au BS<sub>3</sub> et des protéines ou polypeptides avant la mise en œuvre de l'étape iv) peut être déterminée par leur absorption. Après la réalisation de cette étape iv), comme l'absorption des protéines ou polypeptides et des particules se superpose, la concentration des protéines ou polypeptides peut être déterminée par des tests standards tel que le test de Bradford.

20 Dans un second exemple, la particule fonctionnalisée de l'invention peut être couplée à du PEG aminé, en particulier pour rendre les particules furtives. Les étapes i) à v) décrites ci-dessus sont reprises à l'identique, le PEG remplaçant la protéine ou le polypeptide à coupler à partir de l'étape iv). A l'étape iv), on considérera un rapport concentrations PEG/particules de 10:1, 20:1 ou 40:1, afin d'assurer un recouvrement complet de la surface de la particule par du PEG. Il est également possible de coupler aux particules à la fois du PEG et une protéine ou un polypeptide, en choisissant un rapport de concentrations particules/protéines/PEG adapté. Ainsi, dans l'étape iv) décrite ci-dessus, la seconde réaction aura lieu, par exemple, entre une concentration C de particules, une concentration 2C de protéines et 10C de PEG.

Quel que soit le mode de réalisation de l'invention, la particule, dans sa forme non-recouverte, enrobée ou fonctionnalisée, peut avoir une forme de sphéroïde (incluant une particule sphérique), ou toute autre forme irrégulière.

La taille des particules de l'invention (définie comme le diamètre pour des particules sphériques et comme la plus grande dimension quand la particule a une forme de sphéroïde), se situe entre 1 et 500 nm. En particulier, dans sa forme non-recouverte, la taille de la particule est inférieure à 200nm, en particulier inférieure à 100, inférieure à 50, inférieure à 25 ou inférieure à 10 nm. Dans un mode de réalisation où la particule est enrobée ou fonctionnalisée, la taille sera supérieure à celle d'une particule non-recouverte, et inférieure à 200 nm, en particulier inférieure à 100 nm, inférieure à 50 nm ou inférieure à 25 nm. Les particules peuvent être définies comme des nanoparticules (NP).

Dans le cadre d'une composition selon l'invention, la taille des particules peut être uniforme (ou monodispersée), c'est-à-dire que plus de 75%, en particulier plus de 80% ou plus de 90% des particules ont une taille qui diffère de la taille moyenne de l'ensemble des particules de ladite composition d'au plus 50 nm, d'au plus 40 nm, d'au plus 30 nm, d'au plus 20 nm ou d'au plus 10 nm. Dans un autre mode de réalisation de composition uniforme en taille, la distribution de taille de plus de 75%, en particulier plus de 80% ou plus de 90% des particules se situe dans un intervalle de taille qui est de  $\pm 40\%$ ,  $\pm 30\%$ ,  $\pm 20\%$  ou  $\pm 10\%$  de la taille moyenne des particules. Des particules en composition, dont la taille ne remplit pas une des deux définitions ci-dessous, sont dites polydispersées.

La présente demande vise également un procédé de préparation des particules selon l'invention, qui comprend ou consiste :

- (1) synthétiser des parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , par réaction de coprécipitation entre une solution aqueuse contenant les éléments X et L avec une solution aqueuse contenant un sel oxo-hydroxo de l'élément M ;
- (2) enrober les parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  synthétisées en (1) par une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou par une partie de formule  $A_e(M'_pO_{q'})$ , par réaction de coprécipitation, en présence des parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  synthétisées en (1), entre une solution aqueuse contenant les éléments X' et A ou contenant l'élément A (lorsque X' est absent) avec une solution aqueuse contenant un sel oxo-hydroxo de l'élément M' ; et
- (3) récupérer les particules de formule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_e(M'_pO_{q'})$ .

Dans un mode de réalisation particulier, la solution aqueuse contenant les éléments X et L, est sous forme de chlorures, de nitrates ou d'acétates. Dans un mode de réalisation particulier, la solution aqueuse contenant les éléments X et L peut également contenir des complexants de ces éléments tel que le citrate afin de limiter la taille des particules. Dans un

mode de réalisation particulier, en combinaison ou indépendamment des précédents, la solution aqueuse contenant un sel oxo-hydroxo de l'élément M est sous forme d'un sel de sodium, de potassium ou d'ammonium. Le pH de la solution aqueuse contenant un sel oxo-hydroxo de l'élément M est ajusté de sorte que la réaction de précipitation conduise à la synthèse de la partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  [ou aux particules de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ ]. Les états d'oxydation des éléments X, L et M sont ceux de ces éléments dans la particule finale.

Dans un mode de réalisation particulier, la solution aqueuse contenant les éléments X' et A (ou contenant l'élément A), est sous forme de chlorures, de nitrates ou d'acétates. Dans un mode de réalisation particulier, la solution aqueuse contenant les éléments A et X' (ou contenant l'élément A) peut également contenir des complexants de ces éléments tel que le citrate afin de limiter la taille des particules. Dans un mode de réalisation particulier, en combinaison ou indépendamment des précédents, la solution aqueuse contenant un sel oxo-hydroxo de l'élément M' est sous forme d'un sel de sodium, de potassium ou d'ammonium. Le pH de la solution aqueuse contenant un sel oxo-hydroxo de l'élément M' est ajusté de sorte que la réaction de précipitation conduise à l'enrobage de la partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  par une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou par une partie de formule  $A_e(M'_pO_q)$ . Les états d'oxydation des éléments A, X' et M' seront ceux de ces éléments dans la particule finale.

L'étape (2) est réalisée en présence des parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  synthétisées en (1), c'est-à-dire que l'étape (2) est mise en œuvre en particulier dans la dispersion de parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  telle qu'obtenue à l'issue de l'étape (1), ou après que la dispersion de parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  telle qu'obtenue à l'issue de l'étape (1) a été purifiée pour éliminer les sels de contre-ions.

Dans un mode de réalisation, la solution aqueuse contenant les éléments X' et A (ou contenant l'élément A) et la solution aqueuse contenant l'élément M' sont ajoutées successivement dans la dispersion de parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  telle qu'obtenue à l'issue de l'étape (1), la deuxième solution étant ajoutée au moyen d'un goutte à goutte lent. Dans un autre mode de réalisation, la solution aqueuse contenant les éléments X' et A (ou contenant l'élément A) et la solution aqueuse contenant l'élément M' sont ajoutées simultanément dans la dispersion de parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  telle qu'obtenue à l'issue de l'étape (1), chacune des deux solutions étant ajoutées lentement en goutte à goutte. Le mode d'ajout des deux solutions dans la dispersion de parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  telle qu'obtenue à l'issue de l'étape (1) et leur concentration sont contrôlées de manière à ce que l'enrobage des parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  se fasse préférentiellement à la précipitation séparée de parties de formule  $A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou de parties de formule  $A_e(M'_pO_q)$ . L'homme du métier pourra modifier les modes d'ajout décrits ci-dessus ou faire varier la dilution des solutions ajoutées.

Dans un mode de réalisation particulier, la réaction de coprécipitation pour la synthèse des parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et la réaction de coprécipitation pour l'enrobage des parties

de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  par la partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou de formule  $A_e(M'_pO_q)$  se succèdent directement et sans interruption.

Dans un mode de réalisation particulier, lorsque M et M' sont identiques, la dispersion de parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  obtenue directement à l'issue de leur synthèse peut contenir une 5 quantité d'ions M (ou M') suffisante pour l'enrobage des parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  par la partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou la partie de formule  $A_e(M'_pO_q)$ , de sorte que seule une solution aqueuse contenant les éléments X' et A (ou contenant l'élément A) est ajoutée dans l'étape (2).

Dans un mode de réalisation particulier, l'étape (3) comprend ou consiste en une 10 purification des particules, afin d'éliminer les sels de contre-ions.

Dans un mode de réalisation particulier, le procédé comprend une ultime étape consistant à trier les particules selon leur taille, par centrifugation.

La demande vise également des particules ayant la définition ci-dessus, en particulier 15 des particules de formule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_q)$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)/A_e(M'_pO_q)$ , obtenues par le procédé décrit ci-dessus.

La demande concerne aussi une composition pharmaceutique comprenant des particules telles que définies dans la présente demande ou une composition telle que définie 20 dans la présente demande, et un véhicule pharmaceutiquement et/ou physiologiquement acceptable. Par « *composition pharmaceutique* », on entend une composition destinée à un usage diagnostique et/ou à un usage thérapeutique, non seulement chez l'homme mais également chez l'animal, en particulier chez les mammifères et/ou animaux de compagnie (usage vétérinaire). Par « *véhicule pharmaceutiquement et/ou physiologiquement acceptable* », 25 on entend, un agent approprié pour l'utilisation de la composition pharmaceutique en contact avec un être vivant (par exemple un mammifère non-humain, et préférentiellement un être humain), et est donc préférentiellement non toxique, comme les excipients. De tels véhicules physiologiquement et/ou pharmaceutiquement acceptables sont par exemple de l'eau, une solution saline notamment une solution physiologique, des solvants miscibles dans l'eau, des 30 sucres, des lieurs, des pigments, des huiles végétales ou minérales, des polymères solubles dans l'eau, des agents tensio-actifs, des agents épaississants ou gélifiants, des agents conservateurs, des agents alcalinisants ou acidifiants. Des excipients pouvant être contenus dans la composition pharmaceutique selon l'invention incluent les sucres, tels que lactose, sucre, mannitol, ou sorbitol, des préparations à base de cellulose, par exemple l'amidon de 35 maïs, de blé, de riz ou de pomme de terre, la gélatine, la gomme, la gomme adragante, le méthyl cellulose, l'hydroxypropylméthyl-cellulose, le sodium carbométhylcellulose et les polymères physiologiquement acceptables tels que le polyvinylpyrrolidone (PVP). Dans un

mode de réalisation particulier, les excipients ou véhicules sont destinés à la préparation d'une composition pharmaceutique de l'invention comme solution injectable, en particulier comme solution injectable par voie intraveineuse.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition pharmaceutique comprend, en

5 tant que produit actif, entre 0,1 et 1g/ml de particules selon l'invention, en particulier entre 0,1 et 0,6 g/ml ou entre 0,2 et 0,5 g/ml.

Dans un mode de réalisation particulier, de préférence en combinaison avec le mode de réalisation du paragraphe précédent, la composition pharmaceutique selon l'invention est formulée sous la forme d'une solution injectable, en particulier sous la forme d'une solution 10 injectable par voie intraveineuse (IV), et en particulier se présente sous la forme de flacons ou seringues pré-remplies.

La demande vise également l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention en imagerie, en particulier en imagerie médicale, en 15 particulier en imagerie diagnostique. Les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être utilisées *in vitro*, en particulier sur une culture cellulaire ou sur un organe préalablement prélevé *ex vivo*, ou préférentiellement *in vivo*. L'utilisation *in vivo* comprend l'utilisation chez l'animal, en particulier chez les mammifères, en particulier chez les animaux de compagnie (usage vétérinaire), ou chez l'homme (patient).

20 Ainsi, la demande vise l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention en imagerie, en particulier sur des animaux de laboratoire (souris, rat, primate, ...), en particulier à des fins de recherche ou d'investigation, ou à des fins de développement de molécules à visée diagnostique et/ou thérapeutique.

La demande vise également l'utilisation de particules, compositions ou compositions 25 pharmaceutiques selon l'invention comme agents de diagnostic, chez un patient ou un animal, de préférence un mammifère (usage diagnostique). Dans un mode de réalisation particulier, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées à des fins uniquement diagnostiques, excluant leur utilisation à des fins thérapeutiques.

Dans un mode de réalisation, la demande vise l'utilisation, en particulier *in vivo*, de 30 particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention dans la mise en œuvre d'au moins une technique d'imagerie (en particulier une, ou la combinaison de deux ou trois techniques) choisie dans le groupe consistant en l'IRM, l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons (TEP), la tomodensitométrie (TDM) et l'imagerie par ultrasons (par exemple l'échographie). L'expression « *combinaison* » ou 35 « *en combinaison* » signifie que les technique(s) d'imagerie sont mises en œuvre, chez le même sujet (patient ou animal), pendant la même séance d'investigation, en particulier d'investigation diagnostique, c'est-à-dire que l'acquisition des signaux (en particulier des

images) des technique(s) d'imagerie est réalisée suite à une seule injection des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention, ou au plus suite à deux injections des mêmes particules, mêmes compositions ou mêmes compositions pharmaceutiques selon l'invention [si l'acquisition des signaux doit être plus longue que le temps de résidence des particules dans le sujet (patient ou animal, de préférence mammifère, sujet de l'investigation]. Ainsi, l'acquisition des signaux par les différentes techniques d'imagerie respectivement mises en œuvre peut être légèrement décalée dans le temps, pour autant que les techniques d'imagerie sont mises en œuvre pendant la même séance d'investigation, en particulier d'investigation diagnostique. La combinaison de différentes techniques d'imagerie mettant en œuvre particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention permet la colocalisation des signaux ou images acquis respectivement par ces techniques multiples.

Dans un mode de réalisation, la demande vise l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention en IRM (ou pour le diagnostic par IRM, ou pour le diagnostic mettant en œuvre la technique IRM).

La demande vise également l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention comme agents multimodaux (en particulier bimodaux ou trimodaux) dans le diagnostic mettant en œuvre au moins deux techniques d'imagerie choisies dans le groupe consistant en l'IRM, l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons, la tomodensitométrie et l'imagerie par ultrasons. Dans un autre mode de réalisation, la demande vise l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention comme agents multimodaux (en particulier bimodaux ou trimodaux) en imagerie, en particulier en IRM en combinaison avec au moins une, en particulier une, technique d'imagerie choisie dans le groupe consistant en l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons, la tomodensitométrie et l'imagerie par ultrasons.

L'expression « *en IRM en combinaison avec au moins une, en particulier une, technique d'imagerie choisie dans le groupe consistant en l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons, la tomodensitométrie et l'imagerie par ultrasons*

 » englobe l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention, en IRM en combinaison avec l'imagerie optique, en IRM en combinaison avec la détection optique d'oxydant, en IRM en combinaison avec la tomographie par émission de positrons, en IRM en combinaison avec la tomodensitométrie ou en IRM en combinaison avec l'imagerie par ultrasons (imagerie bimodale).

Dans un mode de réalisation, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées en IRM en combinaison avec l'imagerie optique. Avantageusement, l'utilisation d'une particule selon l'invention (possédant des

propriétés d'agents de contraste en IRM et des propriétés luminescentes) peut réduire les temps de balayage par amélioration du contraste et permettre simultanément une imagerie optique rapide, en combinant les avantages complémentaires des techniques optiques en termes de vitesse d'acquisition et de sensibilité à basses concentrations avec la pénétration 5 profonde des tissus de l'IRM.

Dans un mode de réalisation, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées en IRM en combinaison avec la détection optique d'oxydants. Avantageusement, l'utilisation d'une particule selon l'invention (possédant des propriétés d'agents de contraste en IRM et des propriétés de détection d'oxydant) peut permettre d'imager les tissus par IRM et détecter la production d'oxydants liés, par exemple, à 10 un site d'inflammation en injectant un seul produit. Dans ce mode de réalisation, les ions luminescents de la particule doivent être déjà dans un état de valence tel, qu'ils soient susceptibles de subir une oxydation.

Dans un mode de réalisation, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées en IRM en combinaison avec la tomographie 15 par émission de positrons. L'émission de positrons par des radio-isotopes appropriés à une émission de positrons tels que le  $^{11}\text{C}$ , le  $^{13}\text{N}$ , le  $^{15}\text{O}$ , le  $^{18}\text{F}$ , le  $^{64}\text{Cu}$ , le  $^{86}\text{Y}$  ou le  $^{124}\text{I}$  est suivie d'une réaction avec des électrons et d'une émission de photons  $\gamma$  dont la profondeur de 20 pénétration est illimitée à l'échelle d'échantillons biologiques, ce qui fait de la TEP la technique d'imagerie avec la sensibilité la plus élevée, permettant la détermination de la concentration locale du radio-isotope, et la détection d'une cellule anormale unique (Hahn *et al.*, 2011). La TEP est donc appropriée pour détecter l'apparition d'un cancer avant que de quelconques 25 changements macroscopiques puissent être visualisés. Avantageusement, l'utilisation d'une particule selon l'invention (possédant des propriétés d'agents de contraste en IRM et portant un radio-isotope) permet de combiner la haute sensibilité de la TEP avec une localisation du signal TEP dans le corps de l'animal ou du patient examiné par IRM.

Dans un mode de réalisation, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées en IRM en combinaison avec la 30 tomodensitométrie. Le contraste généré par la TDM se fait essentiellement entre les os et autres parties du corps. La TDM peut donc fournir des informations complémentaires à l'IRM où le contraste est généré entre régions contenant de l'eau, à savoir entre différents types de tissus. De plus, la TDM peut donner des images tridimensionnelles avec une résolution comparable à celle de l'IRM (Frullano et Meade, 2007). Dans le cas particulier où A, l'ion lanthanide paramagnétique, est Gd, la forte densité électronique de l'atome de gadolinium fait 35 des particules selon l'invention un agent de contraste approprié pour la TDM en combinaison avec la mise en œuvre de l'IRM.

Dans un mode de réalisation, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées en IRM en combinaison avec l'imagerie par ultrasons. Dans un mode de réalisation particulier et dans le cas particulier de cette utilisation combinée, les particules de l'invention sont contenues, en grand nombre, dans des 5 microsphères ou des microbulles polymériques préparées préalablement à leur administration au sujet de l'investigation (Hahn et al. 2011).

L'expression « *en IRM en combinaison avec au moins une, en particulier une, technique d'imagerie choisie dans le groupe consistant en l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons, la tomodensitométrie et l'imagerie par ultrasons* » englobe l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention, en IRM en combinaison avec deux techniques d'imagerie choisies parmi l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons, la tomodensitométrie et l'imagerie par ultrasons (imagerie trimodale). Dans un mode de réalisation particulier, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont 10 utilisées, en IRM en combinaison avec la détection optique d'oxydant et l'imagerie optique, en IRM en combinaison avec la détection optique d'oxydant et la tomographie par émission de positrons, en IRM en combinaison avec la détection optique d'oxydant et la tomodensitométrie 15 ou en IRM en combinaison avec la détection optique d'oxydant et l'imagerie par ultrasons.

20 L'invention couvre également :

- l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques pour la préparation ou la fabrication d'une composition diagnostique, c'est-à-dire destinée à la mise en œuvre d'une ou de la combinaison de plusieurs, en particulier 2 ou 3, technique(s) d'imagerie selon les définitions données ci-dessus ; et

25 - des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques pour leur utilisation en imagerie, en particulier comme agents de diagnostic, comme agents multimodaux (en particulier bimodaux ou trimodaux) diagnostiques ou dans le diagnostic mettant en œuvre une ou la combinaison de plusieurs, en particulier 2 ou 3, technique(s) d'imagerie selon les définitions données ci-dessus.

30 L'invention vise également une méthode pour l'acquisition d'un signal, en particulier d'image(s), par IRM, imagerie optique, détection optique d'oxydant, TEP, TDM ou imagerie par ultrasons, ou par une combinaison d'au moins deux (en particulier deux ou trois) de ces techniques telles que définies ci-dessus, chez un animal, en particulier un mammifère, ou chez un patient, mettant en œuvre des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques 35 selon l'invention comprenant :

a) l'excitation des particules ou du milieu contenant les particules ; et

b) l'acquisition d'au moins un signal (en particulier une image) associée avec lesdites particules après l'excitation.

L'invention vise également une méthode pour l'acquisition d'un signal, en particulier d'image(s), par IRM, imagerie optique, détection optique d'oxydant, TEP, TDM ou imagerie par ultrasons, ou par une combinaison d'au moins deux (en particulier deux ou trois) de ces techniques telle que définie ci-dessus, chez un animal, en particulier un mammifère, ou chez un patient, mettant en œuvre des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention comprenant :

- a) l'administration, en particulier par voie intraveineuse, des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention, à l'animal ou au patient ;
- b) l'excitation des particules ou du milieu contenant les particules ; et
- c) l'acquisition d'au moins un signal (en particulier une image) associée avec lesdites particules après l'excitation.

Par « *excitation* », on entend l'application d'un champ magnétique (IRM), d'un balayage d'un faisceau de rayons X (TDM), de lumière à une longueur d'onde particulière (imagerie optique) et/ou d'ultrason (imagerie par ultrason) sur le sujet (animal ou patient), en fonction de la ou des techniques d'imagerie mises en œuvre dans le diagnostic.

Par « *milieu contenant les particules* », on entend le liquide biologique ou le tissu dans lequel les particules de l'invention ont été administrées, ou le liquide biologique ou le tissu dans lequel les particules de l'invention sont localisées ou se concentrent (en particulier du fait du ciblage) après leur administration.

Les applications diagnostiques des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont nombreuses et correspondent aux applications conventionnelles des techniques IRM, imagerie optique, détection optique d'oxydant, TDM, TEP ou imagerie par ultrasons. A titre d'exemple, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques sont utilisées dans la mise en œuvre des techniques d'imagerie définies ci-dessus, pour le diagnostic de nombreux désordres, en particulier, sans être limitatif, les désordres liés au cerveau, la moelle épinière, les gros vaisseaux, l'artère, les organes intra-thoraciques (par exemple le cœur), le rachis, les viscères digestifs et pelviens, les muscles articulations et les structures adjacentes, les tendons, ligaments et nerfs périphériques et les cellules tumorales. En particulier, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques sont utilisées, sans être limitatif, et en fonction de la technique d'imagerie ou de la combinaison de techniques d'imagerie mise en œuvre, pour le diagnostic des maladies coronariennes, des maladies valvulaires, des cardiomyopathies, des cardiopathies congénitales, des maladies du péricarde, les malformations cardiaques congénitales, des tumeurs (osseuses, cardiaques, lymphomes, nodules pulmonaires, voies aérodigestives supérieures, localisation hépatique des cancers digestifs, mélanomes, cancers du sein, cancers

gynécologiques), les maladies neurologiques inflammatoires, les hernies discales, les pathologies disco-somatiques, les lésions traumatiques du rachis et de la moelle, la spondylodiscite infectieuse, les malformations artério-veineuses et les maladies cérébrales dégénératives comme Alzheimer et Parkinson.

5

La demande vise également l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention, en imagerie, en particulier en imagerie médicale, en particulier en diagnostic ou en imagerie diagnostique, telle que définie ci-dessus, et simultanément comme médicament ou en thérapie. Par « *simultanée* » ou « *simultanément* », 10 on entend que l'acquisition des signaux (en particulier des images) de la ou des technique(s) d'imagerie et l'étape thérapeutique du traitement du sujet (animal ou patient) sont effectués, chez le même sujet, pendant la même séance d'investigation, c'est-à-dire suite à une seule injection des particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention.

En plus de l'application en imagerie ou de l'application diagnostique décrite en détails ci-dessus, les particules de l'invention peuvent également être utilisées comme médicament ou en thérapie, le principe actif pouvant être la particule elle-même ou une molécule thérapeutique liée à la particule.

Dans un mode de réalisation, la particule de l'invention dans sa forme non recouverte constitue elle-même, au moins en partie, le principe actif du médicament. Lorsque selon la 20 définition de la particule, A est Gd, la thérapie par capture de neutrons (TCN) peut être mise en œuvre, reposant sur la gigantesque section d'absorption de neutrons par le Gd, notamment son isotope  $^{157}\text{Gd}$ . Ainsi, à la capture de neutrons ( $n$ ), le noyau de  $^{157}\text{Gd}$  effectue une réaction nucléaire  $^{157}\text{Gd} + n \rightarrow ^{158}\text{Gd}^* \rightarrow ^{158}\text{Gd} + \gamma + ze^-$  qui provoque la prompte émission d'un rayonnement  $\gamma$  de haute énergie ayant une énergie pouvant atteindre 7,8 MeV et plusieurs 25 électrons, notamment  $z$  électrons, essentiellement du type Auger provenant de la conversion interne avec des énergies  $\leq 41$  keV (De Stasio *et al.*, 2001). Les électrons Auger sont hautement ionisants sur de courtes portées de l'ordre de dixièmes de nanomètres. Ces électrons peuvent être cause de ruptures du double brin d'ADN dans les cellules tumorales et conduire à une nécrose. Il est donc avantageusement possible de coupler via une particule 30 selon l'invention dans laquelle A est Gd, l'imagerie par IRM et la TCN (voir Bridot *et al.* (2009) sur des particules avec un noyau de  $\text{Gd}_2\text{O}_3$ ). La TCN est appropriée pour le traitement des tumeurs cérébrales, en particulier le glioblastome multiforme. Dans un mode de réalisation particulier, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées comme agent de diagnostic ou comme agent de contraste en IRM, et simultanément 35 dans le traitement des tumeurs cérébrales.

Dans un autre mode de réalisation, la particule de l'invention dans sa forme enrobée constitue le principe actif du médicament, la particule étant utilisée notamment comme un

véhicule de transport de médicament. On se référera dans ce cas aux particules selon l'invention qui portent des molécules thérapeutiques (par exemples des molécules anticancéreuses) et optionnellement des molécules de ciblage et/ou des agents de furtivité. L'utilisation des particules selon l'invention simultanément comme agent diagnostique, en particulier comme agent de contraste en IRM, et comme véhicule de transport de molécules thérapeutiques présente l'avantage de permettre le suivi de la progression et/ou de l'accumulation du médicament au niveau du site cible par IRM et ainsi l'ajustement des doses et des intervalles d'administration pour un effet maximal. Cette utilisation est particulièrement appropriée aux traitements des désordres qui peuvent être diagnostiqués par les techniques d'imagerie mentionnées ci-dessus, en particulier par IRM.

Dans un mode de réalisation particulier, les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention sont utilisées comme agent de diagnostic ou comme agent de contraste en IRM et dans le traitement des tumeurs.

L'invention couvre également :

- les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention pour leur utilisation simultanée en imagerie, en particulier comme agent diagnostique ou comme agent de contraste IRM, et comme médicament ;

- les particules, compositions ou compositions pharmaceutiques selon l'invention pour leur utilisation simultanée en imagerie, en particulier comme agent diagnostique ou comme agent de contraste IRM, et comme médicament dans le traitement de tumeurs ; et

- l'utilisation de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques pour la préparation ou la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée simultanément à la mise en œuvre de technique(s) d'imagerie, en particulier de l'IRM, et au traitement de tumeurs.

L'invention vise également une méthode pour le traitement d'un sujet, en particulier le traitement d'un sujet atteint de tumeur(s), comprenant :

- l'administration de particules, compositions ou compositions pharmaceutiques, au sujet ;

- l'excitation des particules ; et

- le suivi de la progression et/ou de l'accumulation des particules, en particulier au niveau de la tumeur, après l'acquisition d'au moins un signal (en particulier une image) associé avec lesdites particules après l'excitation.

Que l'on soit dans le cadre d'application diagnostique seule, ou dans le cadre d'une application simultanément diagnostique et thérapeutique, les doses utilisées seront celles couramment conseillées pour les techniques par IRM. Dans un mode de réalisation, la dose administrée au sujet varie de 0,01 à 0,5 mmol/kg, en particulier de 0,05 à 0,3 ou 0,01 à 0,2 mmol/kg (en mmol de l'ion ou des ions paramagnétiques).

Le terme "comprenant", avec lequel "incluant" ou "contenant" est synonyme, est un terme ouvert, et n'exclut pas la présence d'un ou plusieurs élément(s) ou ingrédient(s) additionnel(s), ou étape(s) de méthode additionnelle(s), qui ne serait(seraient) pas explicitement indiqué(s), tandis que le terme "consistant" est un terme fermé, qui exclut la présence de tout autre élément ou ingrédient additionnel, ou étape additionnelle, qui ne serait pas explicitement exposé.

Dans le but de faciliter la lecture de la présente demande, la description a été séparée en divers paragraphes et sections. Il ne doit pas être considéré que ces séparations déconnectent la substance d'un paragraphe ou section de celle d'un autre paragraphe ou section. Au contraire, la présente description englobe toutes les combinaisons possibles des différents paragraphes, sections et phrases qu'elle contient.

15

Les exemples qui suivent sont donnés à titre purement illustratifs. Ils ne limitent en aucune façon l'invention.

20

## **EXEMPLES**

### **I. Matériel et Méthodes**

#### **25 1.1. Préparation des réactifs**

De l'orthovanadate de sodium Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> (pureté 99,9%, M = 183.91 g/mol, Alfa Aesar, Schiltigheim, France) a été dissous dans de l'eau ultrapure ayant une résistance spécifique d'au moins 18 M Ohm cm à une concentration finale de 0,1M. Le pH est ajusté à 12,5 – 13,0. Des nitrates de terres rares ont été dissous dans de l'eau ultrapure à une concentration finale de 0,1M. Les solutions ont été préparées à partir de Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O (pureté 99,8%, M = 383.01 g/mol, Sigma Aldrich, St. Quentin Fallavier, France) et Gd(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O (pureté 99,9%, M = 451.36 g/mol, Alfa Aesar) et ont été utilisées comme préparées. Pour la synthèse de particules dopées à Eu, des solutions de nitrates de terres rares ont été mélangées par volume jusqu'à la concentration de Eu souhaitée, donnant une solution avec une concentration en terres rares totale de 0,1M.

## 1.2. Synthèse des particules $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4 / \text{GdVO}_4$

Des particules de type cœur/coquille contenant un cœur de formule  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$  et une coquille de formule  $\text{GdVO}_4$  ont été synthétisées. Des particules ayant une taille d'environ 40 nm (soit un rayon de 20 nm) ont été obtenues. Le rapport volumétrique entre le volume du cœur 5 ( $V_c$ ) et le volume de la coquille ( $V_s$ ) a été calculé, en utilisant une valeur de 5 nm pour l'épaisseur de la coquille. Le volume de la coquille est donné par  $V_s = V_{NP} - V_c = 4/3\pi(r_{NP} - r_c)^3$  où  $V_{NP}$  est le volume de la particule. Le rapport volumétrique suivant est obtenu :

$$V_s/V_c = (r_{NP}^3 - r_c^3)/r_c^3 = (r_{NP}/r_c)^3 - 1 = (20/15)^3 - 1 = 1,37$$

Pour un volume total des solutions de lanthanides à 0,1 M de 75 ml, cela correspond à 10 une solution de lanthanides de 31,5 ml dans le cœur et 43,5 ml dans la coquille. Au vu de la stœchiométrie de la particule, la solution de lanthanides dans le cœur est elle-même un mélange de 60% (vol/vol) de solution  $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$  et de 40% (vol/vol) de solution  $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ . Pour la coquille, une solution pure de  $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$  a été utilisée.

Le procédé suivant a été réalisé pour synthétiser les particules :

15 75 ml d'une solution de vanadate de sodium à 0,1 M, pH 12,5-13,0 ont été placés dans un flacon d'Erlenmeyer de 250 ml et agités vigoureusement à température ambiante. Un mélange contenant du nitrate d'Europium et du nitrate d'Yttrium a été ajouté à un débit de 1 ml/min en utilisant une pompe péristaltique. À la fin de l'ajout de la solution formant le cœur, la solution de nitrate de Gadolinium formant la coquille a été ajoutée immédiatement au même 20 débit. À la fin de tous les ajouts, la dispersion a été laissée sous agitation pendant 30 min supplémentaires et ensuite soumise à la procédure de purification comme décrit à la section 1.3. ci-dessous.

## 1.3. Purification

25 La dispersion brute de particules obtenue a été purifiée par dialyse ou centrifugation afin d'éliminer les contre-ions en solution. Une dialyse a été effectuée dans des membranes de dialyse en cellulose régénérée Spectra/Por (MWCO 12-14 kDa, Spectrum Labs, Rancho Dominguez, CA, USA) contre de l'eau ultrapure jusqu'à ce que la conductivité de la dispersion de particules soit inférieure à  $100 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Pour des volumes importants, une purification par 30 centrifugation a été effectuée. La dispersion a été centrifugée à 26323 g pendant 20 min. Le surnageant a été éliminé et le précipité redispersé dans de l'eau ultrapure. Les étapes de centrifugation-remise en dispersion ont été répétées 3 à 5 fois en fonction du facteur de concentration et jusqu'à ce qu'une conductivité des particules remises en dispersion inférieure à 100  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  soit atteinte.

#### **1.4. Sélection en taille**

La sélection de taille a été effectuée par deux étapes de centrifugation. La dispersion a d'abord été centrifugée à 500 g pendant 2 min et le surnageant ainsi obtenu a été centrifugé une nouvelle fois à 1000 g pendant 2 min afin d'éliminer les agrégats et les très grosses particules. Le surnageant contenait une dispersion de particules présentant un bon compromis entre une petite distribution de tailles et un rendement élevé. La caractérisation par la technique de la diffusion dynamique de la lumière a donné (valeurs moyennes en nombre) un diamètre hydrodynamique de 55 nm avec une largeur de la distribution de 16 nm

10 **1.5. Mesure des temps de relaxation**

Les temps de relaxation relatifs aux particules obtenues ont été réalisés sur un relaxomètre minispec Bruker NMS 120 (Bruker, Rheinstetten, Allemagne) fonctionnant à une fréquence de résonance des protons de  $\omega/2\pi = 20$  MHz et une température de 37°C. Afin d'éviter toute confusion entre la fréquence angulaire  $\omega$  et la fréquence  $\nu$ , ici, toutes les 15 fréquences données en unités de Hz correspondent à  $\omega/2\pi = \nu$ . Le spectromètre a été étalonné en utilisant des mélanges standards eau/huile ayant un rapport de composants connu conformément aux instructions du fabricant. Les échantillons pré-dilués ont été encore dilués directement dans des tubes pour RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) de 10mm, à hauteur d'une série contenant 10 échantillons de 1 ml. Toutes les dilutions ont été effectuées en utilisant 20 de l'eau ultrapure. Les tubes ont été fermés de façon étanche et placés dans un bain d'eau à 37°C pendant au moins 10 min avant la mesure. Les temps de relaxation  $T_1$  ont été déterminés en utilisant la séquence d'impulsions d'inversion-récupération avec un temps de répétition  $TR = 5$ s. Le temps de séparation d'impulsions  $TI$  a été ajusté jusqu'à ce que la condition  $TI \approx 0,6 T_1$  soit 25 satisfaite. Pour la mesure du temps de relaxation  $T_2$ , la séquence d'impulsions CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) a été employée en utilisant un temps de répétition  $TR = 8$ s. De manière générale, 100 échos avec un temps d'écho  $TE$  entre 0,5 et 2 ms en fonction de la concentration de l'échantillon ont été enregistrés. Le  $TE$  a été ajusté manuellement afin 30 d'enregistrer l'extinction complète de magnétisation pendant les 100 échos. Dans les deux cas, le logiciel du dispositif a effectué l'ajustement de la récupération mesurée de magnétisation et affiché directement les temps de relaxation correspondants avec leurs barres d'erreur.

#### **1.6. Analyse des données de relaxivité**

Les relaxivités par particule ont été déterminées en calculant d'abord le volume d'une particule. À cette fin, les nanoparticules ont été considérées comme homogènes en taille et sphériques 35 avec un diamètre égal au diamètre moyen en nombre déterminé par DLS (diffusion dynamique de la lumière). Dans le cas de particules silicatées, le diamètre des particules non-recouvertes (c'est-à-dire non-modifiées) a été utilisé. Le nombre d'ions Gd par particule a été évalué en

utilisant les dimensions unitaires  $a = b = 7,204 \text{ \AA}$  et  $c = 6,338 \text{ \AA}$  obtenues pour le GdVO<sub>4</sub> pour tous les échantillons, un nombre de 4 unités de formule par cellule unitaire et le facteur stœchiométrique correspondant à la composition de la particule respective. La relaxivité par particule a ensuite été obtenue en multipliant la relaxivité par ion Gd par le nombre d'ions Gd par particule.

**1.7. Acquisition des spectres de luminescence** La dispersion de particules a été pré-diluée de façon à ce qu'elle apparaisse presque transparente et a été transférée dans une cuvette de quartz QS 100 (Hellma, Müllheim, Germany) de 2 mm. Les spectres d'émission ont été enregistrés en utilisant un spectrophotomètre à fluorescence Hitachi F-4500 (Hitachi, High-Tech, Tokyo, Japan). Des fentes d'une largeur spectrale de 2,5 nm ont été utilisées dans le chemin d'excitation et d'émission, et le balayage a été effectué à une vitesse de 240 nm/min. Pour l'acquisition du spectre d'émission, un filtre passe-haut GG-375 (Schott, Mainz, Allemagne) a été placé dans le chemin de détection. La luminescence a été excitée à 280 nm et l'émission a été enregistrée de 500 à 750 nm. Pour les mesures d'absorbance pour la détermination du rendement quantique à 280 nm, lorsque l'absorbance excédait 0,3, l'échantillon a été encore dilué.

### **1.8. Réponse au peroxyde d'hydrogène**

Pour la mesure de la réponse au peroxyde d'hydrogène, une couche dense de particules a été déposée à la tournette par ajout de 100 µl d'une suspension de 94 mM (concentration en ions VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) de particules Y<sub>0,6</sub>Eu<sub>0,4</sub>(VO<sub>4</sub>)/Gd(VO<sub>4</sub>) sur une lamelle de quartz. La luminescence a été enregistrée pour une intensité d'excitation de 1,6 kW/cm<sup>2</sup> à une vitesse d'acquisition de 1 image/s durant 10 min pendant l'étape de photoréduction, et pour une intensité d'excitation de 0,3 kW/cm<sup>2</sup> à une vitesse d'acquisition de 1 image/3 s durant 10 min pendant la récupération, respectivement. L'intensité de luminescence par image a été évaluée dans une région circulaire présentant une couverture homogène de particules. Les signaux de luminescence ont été normalisées à une valeur de 1 pour la première image analysée lors de chaque cycle d'acquisition. Les valeurs de photoréduction et de récupération sont données sous la forme d'un pourcentage par rapport à cette première image.

## **II. Résultats**

### **2.1. Temps de relaxation**

L'ajustement des temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$ , à 20 MHz, en fonction de la concentration en ions Gd<sup>3+</sup> pour les particules Y<sub>0,6</sub>Eu<sub>0,4</sub>VO<sub>4</sub> / GdVO<sub>4</sub> donne des relaxivités  $r_1 = 4,0 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  et  $r_2 = 4,7 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$  (Figure 1A et 1B).

La relaxivité des particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  a été comparée à celle d'autres particules (voir tableau 2 ci-dessous).

Particule	$d_{\langle n \rangle}$ (nm) <sup>a</sup>	$r_1^{\text{ion}}$	$r_2^{\text{ion}}$	$r_1^{\text{NP}}$	$r_1^{\text{NP}}$	$r_2/r_1$
		(mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )				
GdVO <sub>4</sub>	41	0,95	1,31	420000	570000	1,38
Gd <sub>0.6</sub> Eu <sub>0.4</sub> VO <sub>4</sub>	42	2,97	3,47	840000	980000	1,17
Gd <sub>0.6</sub> Eu <sub>0.4</sub> VO <sub>4</sub> /SiO <sub>2</sub>	57	2,52	3,03	710000	860000	1,21
DotaremTM	CC	3,59	4,44	-	-	1,24
GdCl <sub>3</sub>	Ion	10,4	12,1	-	-	1,16
$\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$	55	4,0	4,7	2.5.10 <sup>6</sup>	2.9.10 <sup>6</sup>	1,2

**Tableau 2 :** <sup>a</sup> Diamètre moyen en nombre obtenu par diffusion dynamique de la lumière (DDL). CC signifie complexe de coordination

5

Les particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  (dans une organisation cœur/coquille) sont plus efficaces pour induire la relaxation des protons ( $r_1^{\text{ion}}$  et  $r_2^{\text{ion}}$  supérieurs ou égaux à 4) que les particules homogènes GdVO<sub>4</sub> et les particules homogènes Gd<sub>0.6</sub>Eu<sub>0.4</sub>VO<sub>4</sub>. Ces résultats sont attribués au fait que plus d'ions Gd, magnétiquement actifs, se retrouvent proches de la surface dans les particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  et peuvent ainsi interagir plus efficacement avec les protons de l'eau, en comparaison avec les ions Gd dans les particules homogènes (GdVO<sub>4</sub> et Gd<sub>0.6</sub>Eu<sub>0.4</sub>VO<sub>4</sub>) où une partie des ions Gd sont localisés à l'intérieur de la particule. Ces derniers n'ont pas de contact direct avec l'eau.

Par ailleurs, le rapport de relaxivité  $r_2/r_1$  observé avec les particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  est du même ordre de grandeur que celui obtenu avec le Dotarem™ et les ions Gd<sup>3+</sup> libres (soit environ 1,2), seules les particules constituées de GdVO<sub>4</sub> pur et homogène possédant un rapport plus élevé.

## 2.2. Luminescence

Le spectre de luminescence d'une suspension de nanoparticules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  (dans une organisation cœur/coquille) est montré sur la Figure 2. Ce spectre fait apparaître un pic à 593 nm lié à la transition  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ , un pic principal double et fort à 616 nm ( ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ ), un pic très faible à 650 nm ( ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$ ), et un autre pic double à 699 nm ( ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ ). Ce spectre correspond aux spectres trouvés pour le YVO<sub>4</sub> dopé avec Eu dans la littérature (Huignard et al. ; 2000). La protection des électrons 4f de l'ion Eu<sup>3+</sup> par ses électrons extérieurs des couches 5s et 5p résulte en des pics d'émission étroits. Ces résultats confirment donc que la structure en deux parties des particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  (en particulier dans une organisation cœur/coquille) ne perturbe pas le spectre d'émission de luminescence de  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$ .

30

### 2.3. Rendement quantique de luminescence

Une courbe d'étalonnage pour la détermination du rendement quantique a été obtenue à partir du fluorophore organique rhodamine 6G. L'erreur relative de l'ajustement est de 2%. L'absorption de la dispersion de nanoparticules à 280 nm est obtenue comme un pic sur un fond résultant de la diffusion de la lumière incidente par les particules. La mesure de la valeur de l'absorbance à 280 nm,  $A_{280}$ , n'est pas très précise du fait de la contribution de la diffusion. Une erreur totale de la détermination du rendement quantique de l'ordre de 5% semble donc raisonnable.

Le rendement quantique de luminescence (Q) pour la synthèse de plusieurs particules contenant des ions europium a ainsi été déterminé. Les résultats sont repris dans le tableau 3.

Particule	Q (%)
$\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$	12,4
$\text{Gd}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$	3,8
$\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$	10,3

**Tableau 3 :** Comparaison des rendements quantiques des particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$ ,  $\text{Gd}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$  et  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$

La comparaison du rendement quantique de luminescence de ces différentes particules permet de tirer les conclusions suivantes :

(1) les particules possédant une matrice  $\text{GdVO}_4$  dopée par leuropium ( $\text{Gd}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$ ) ont une valeur de Q diminuée par rapport à des particules possédant une matrice  $\text{YVO}_4$  dopée par leuropium ( $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$ ). La matrice  $\text{GdVO}_4$  semble ainsi moins efficace que la matrice  $\text{YVO}_4$  pour l'émission des ions europium.

(2) les particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  présentant deux parties (une partie luminescente et une partie agent de contraste) présentent un rendement quantique (Q) comparable à celui des particules constituées purement d'une partie luminescente ( $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$ ). Cette dernière observation démontre que le rendement quantique est essentiellement déterminé par l'environnement direct des ions europium, et n'est que très peu influencé par la présence d'une autre partie, en particulier une partie possédant une activité d'agent de contraste. Ceci est vrai même dans le cadre des particules de l'invention organisées sous la forme cœur/coquille, dans lesquelles la partie luminescente se retrouve dans le cœur, entièrement recouverte par la partie possédant une activité d'agent de contraste. En effet, au vu des résultats repris dans le tableau 3, ni l'existence de cette coquille, ni sa composition, n'est de nature à altérer significativement (c'est-à-dire au delà de la plage d'erreur) le rendement quantique (donc l'activité luminescente) de la partie située dans le cœur.

## 2.4. Détection du peroxyde d'hydrogène

Des particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$  ont été déposées à la tournette sur une lamelle de quartz et excitées à une intensité de laser élevée. L'intensité de luminescence dépendant du temps correspondante est montrée dans la Figure 3A. L'intensité de luminescence décroissante observée confirme qu'une photoréduction des ions  $\text{Eu}^{3+}$  a lieu dans les particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$ .

Un ajustement de la décroissance de luminescence avec une fonction d'extinction biexponentielle a été utilisé. Des temps d'extinction  $\tau_1 = 17\text{s}$  et  $\tau_2 = 116\text{s}$  ainsi qu'une diminution d'intensité due à la photoréduction de 40% (intensité restante  $I_\infty = 60\%$ ), ont été obtenus. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues antérieurement pour des échantillons  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4$  (Casanova *et al.*, 2009).

La récupération de luminescence par rapport à l'intensité initiale après photoréduction suite à un ajout de 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  était de 15%. La récupération maximale a été atteinte au bout d'environ 2 min, avec une constante de récupération exponentielle de  $\tau^* = 119\text{ s}$  (Figure 3B). Ces résultats démontrent que ces particules sont capables de détecter une concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  aussi faible que 100  $\mu\text{M}$ .

Les particules  $\text{Y}_{0.6}\text{Eu}_{0.4}\text{VO}_4/\text{GdVO}_4$ , dans leur organisation cœur-coquille, sont un puissant agent notamment à des fins d'imagerie multimodale. Elles peuvent être utilisées à la fois comme marqueur luminescent, comme capteur d'oxydants et comme agent de contraste pour l'IRM. Elles combinent un rendement quantique de luminescence élevé, notamment nécessaire à la détection de peroxyde d'hydrogène à haute sensibilité, avec un contraste d'IRM meilleur que celui qui est obtenu avec des agents de contraste usuels.

## 25 BIBLIOGRAPHIE

- Abragam, A. (1983). *Principles of Nuclear Magnetism*. International Series of Monographs on Physics. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Aime, S., Botta, M., Fasano, M., and Terreno, E. (1999). *Acc. Chem. Res.*, 32(11):941–949.
- Aime, S., Botta, M., and Terreno, E. (2005). *Adv. Inorg. Chem.*, 57:173–237.
- Ale A.; Schulz R.; Sarantopoulos A.; Ntziachristos, V. (2010) *Med. Phys.* 37(5) :1976-1986 .
- Banci, L., Bertini, I., et Luchinat, C. (1991). *Nuclear and Electron Relaxation: The Magnetic Nucleus-Unpaired Electron Coupling in Solution*. Wiley VCH, Weinheim, Germany.
- Bertini, I. et Luchinat, C. (1996). Proceedings of the 30th Florence NMR school. *Coord. Chem. Rev.*, 150:1–292.
- Bottrill, M., Kwok, L., et Long, N. (2006). *Chem. Soc. Rev.*, 35(6):557–571.

- Bridot, J.-L.; Dayde, D.; Riviere, C.; Mandon, C.; Billotey, C.; Lerondel, S.; Sabattier, R.; Cartron, G.; Le Pape, A.; Blondiaux, G.; Janier, M.; Perriat, P.; Roux, S.; Tillement, O (2009) *J. Mater. Chem.*, 19(16):2328–2335.
- Bridot, J.-L.; Faure, A.-C.; Laurent, S.; Rivière, C.; Billotey, C.; Hiba, B.; Janier, M.; Josserand, V.; Coll, J.-L.; Vander Elst, L.; Muller, R.; Roux, S.; Perriat, P.; Tillement, O. (2007) *J. Am. Chem. Soc.*, 129(16):5076–5084.
- Bulte, J. et Kraitchman, D. (2004). *NMR Biomed.*, 17(7):484–499.
- Caravan, P., Ellison, J., McMurry, T., et Lauffer, R. (1999). *Chem. Rev.*, 99(9):2293–2352.
- Casanova, D.; Giaume, D.; Moreau, M.; Martin, J.-L.; Gacoin, T.; Boilot, J.-P.; Alexandrou, A. (2007) *J. Am. Chem. Soc.* 129(42) :12592-15593
- De Stasio, G.; Casalbore, P.; Pallini, R.; Gilbert, B.; Sanità, F.; Ciotti, M.; Rosi, G.; Festinesi, A.; Larocca, L.; Rinelli, A.; Perret, D.; Mogk, D.; Perfetti, P.; Mehta, M.; Mercanti, D. (2001). *Cancer Res.*, 61(10):4272–4277.
- Frullano, L. et Meade, T. (2007). *J. Biol. Inorg. Chem.*, 12(7):939-949.
- Hahn, M., Singh, A., Sharma, P., Brown, S., et Moudgil, B. (2011). *Anal. Bioanal. Chem.*, 399(1):3–27
- Hifumi, H., Yamaoka, S., Tanimoto, A., Citterio, D., et Suzuki, K. (2006). *J. Am. Chem. Soc.*, 128(47):15090–15091.
- Huignard, A.; Gacoin, T.; Boilot, J.-P..(2000) *Chem. Mater.*, 12(4):1090-1094
- Huignard, A.; Buissette, V.; Laurent, G.; Gacoin, T.; Boilot, J.-P. (2002) *Chem. Mater.*, 14(5):, 2264-2269
- Kim, J., Piao, Y.,et Hyeon, T. (2009) *Chem. Soc. Rev.*, 38 (2):372-390.
- Kowalewski, J., Nordenskiöld, L., Benetis, N., et Westlund, P.-O. (1985). *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 17:141–185.
- Lauffer, R. (1987). *Chem. Rev.*, 87(5):901–927.
- Levitt, M. (2008). *Spin dynamics: Basics of nuclear magnetic resonance*. John Wiley, Chichester, UK, 2nd edition.
- Mastanduno, M., Davis, S., Jiang, S., diFlorio-Alexander, R., Pogue, B. et Paulsen, K.(2011) SPIE Proceedings, Molecular Imaging III, 8089:80890A
- Na, H., Song, I., etHyeon, T. (2009). *Adv. Mater.*, 21(21):2133–2148.
- Park, J.; Baek, M.; Choi, E.; Woo, S.; Kim, J.; Kim, T.; Jung, J.; Chae, K.; Chang, Y.; Lee, G. (2009). *ACS Nano*, 3(11):3663–3669.
- Schoeffel et al. SPIE/OSA European Conferences on Biomedical Optics, Munich, Allemagne 22-26 mai 2011
- Vander Elst, L., Maton, F., Laurent, S., Seghi, F., Chapelle, F., et Muller, R. (1997). *Magn. Reson. Med.*, 38(4):604–614.

## REVENDICATIONS

1. Particule comprenant ou consistant en au moins deux parties, une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , dans laquelle :

- M est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion;
  - L correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) lanthanide(s) luminescent(s);
  - X correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) neutre(s) en termes de luminescence ; et
  - les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aL_b(M_pO_q)$  est respectée, la fraction d'élément luminescent, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75%; et
- une partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$ , dans laquelle :
- M' est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion ;
  - A correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) lanthanide(s) paramagnétique(s);
  - X' correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) neutre(s) en termes de propriétés paramagnétique(s) ; et
  - les valeurs de p', q', e et f sont telles que l'électroneutralité de  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  est respectée, la fraction d'élément paramagnétique, définie par le rapport  $e/(e+f)$ , étant de 80 à 100%.

2. Particule selon la revendication 1, comprenant ou consistant en au moins deux parties, une partie de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$ , dans laquelle :

- M est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion;
  - L correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) lanthanide(s) luminescent(s);
  - X correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) neutre(s) en termes de luminescence ; et
  - les valeurs de p, q, a et b sont telles que l'électroneutralité de  $X_aL_b(M_pO_q)$  est respectée, la fraction d'élément luminescent, définie par le rapport  $b/(b+a)$ , étant de 1 à 75%; et
- une partie de formule  $A_e(M'_pO_{q'})$ , dans laquelle :
- M' est au moins un élément susceptible de s'associer avec l'oxygène (O) pour former un anion ;
  - A correspond à un ou plusieurs, de préférence un, ion(s) lanthanide(s) paramagnétique(s); et
  - les valeurs de p', q', et e sont telles que l'électroneutralité de  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  est respectée.

3. Particule selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle M et M' sont, indépendamment l'un de l'autre, choisis dans le groupe constitué de V, P, W, Mo et As, sont de préférence P et/ou V, et plus préférentiellement sont V.
4. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans laquelle L est choisi dans le groupe constitué de Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm et Yb, et est de préférence Eu.
5. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle X est choisi dans le groupe constitué des lanthanides et de Bi, est de préférence choisi dans le groupe constitué de La, Y, Gd et Bi, et est plus préférentiellement Y.
6. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle le rapport  $b/(b+a)$ , est de 10 à 60% ou 20 à 50%, en particulier de l'ordre de  $30\% \pm 5\%$  ou de l'ordre de  $40\% \pm 5\%$ .
7. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle A est choisi dans le groupe constitué de Ce, Pr, Nd, Eu, Gd, Tb, Ho, Er, Tm et Yb, et est de préférence Gd.
8. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans laquelle X', lorsqu'il est présent, est choisi dans le groupe constitué des lanthanides et de Bi, est de préférence choisi dans le groupe constitué de La, Y, Gd et Bi, et est plus préférentiellement Y.
9. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans laquelle le rapport  $e/(e+f)$  est de 90 à 100% ou de 95 à 100%, et est de préférence de 100%.
10. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans laquelle p et p' sont indépendamment l'un de l'autre égaux à 0 ou 1, de préférence égaux à 1, et/ou q et q' sont indépendamment l'un de l'autre compris entre 2 et 5, de préférence égaux à 4.
11. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans laquelle M est V et L est Eu, de sorte que la particule a la formule  $X_aEu_b(V_pO_q)/A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou la formule  $X_aEu_b(V_pO_q)/A_e(M'_pO_{q'})$ , en particulier la formule  $X_aEu_b(VO_4)/A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou la formule  $X_aEu_b(VO_4)/A_e(M'_pO_{q'})$ .
12. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle les parties de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou de formule  $X_aL_b(M_pO_q)$  et  $A_e(M'_pO_{q'})$  sont arrangées selon une structure dite cœur/coquille, en particulier dans laquelle la partie de formule

$X_aL_b(M_pO_q)$  constitue le cœur de la particule, et la partie de formule  $A_eX'_f(M'_pO_{q'})$  ou de formule  $A_e(M'_pO_{q'})$  constitue la coquille de la particule.

**13.** Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 de formule  $Y_{0.6}Eu_{0.4}(VO_4)/Gd(VO_4)$  dans laquelle la partie de formule  $Y_{0.6}Eu_{0.4}(VO_4)$  constitue le cœur de la particule, et la partie de formule  $Gd(VO_4)$  constitue la coquille de la particule.

**14.** Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, recouverte d'une troisième partie, cette troisième partie comprenant au moins une couche choisie parmi une couche de préparation, une couche portant des groupements fonctionnels et une couche constituée de molécules biologiquement actives, en particulier cette troisième partie consistant en une couche de préparation, consistant en une couche de préparation et une couche constituée de molécules biologiquement actives ou consistant en une couche de préparation, une couche portant des groupements fonctionnels et une couche constituée de molécules biologiquement actives.

**15.** Particule selon la revendication 14, dans laquelle les molécules biologiquement actives sont choisies parmi des molécules à activité thérapeutique, en particulier des molécules anticancéreuses, et/ou des molécules de ciblage et/ou des agents de furtivité et/ou des molécules fluorescentes.

**16.** Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, dont la taille est comprise entre 1 et 500 nm, de préférence inférieure à 200 nm ou inférieure à 100 nm.

**17.** Composition pharmaceutique comprenant une composition de particules telles que définies dans l'une quelconque des revendications 1 à 16, et un véhicule pharmaceutiquement et/ou physiologiquement acceptable.

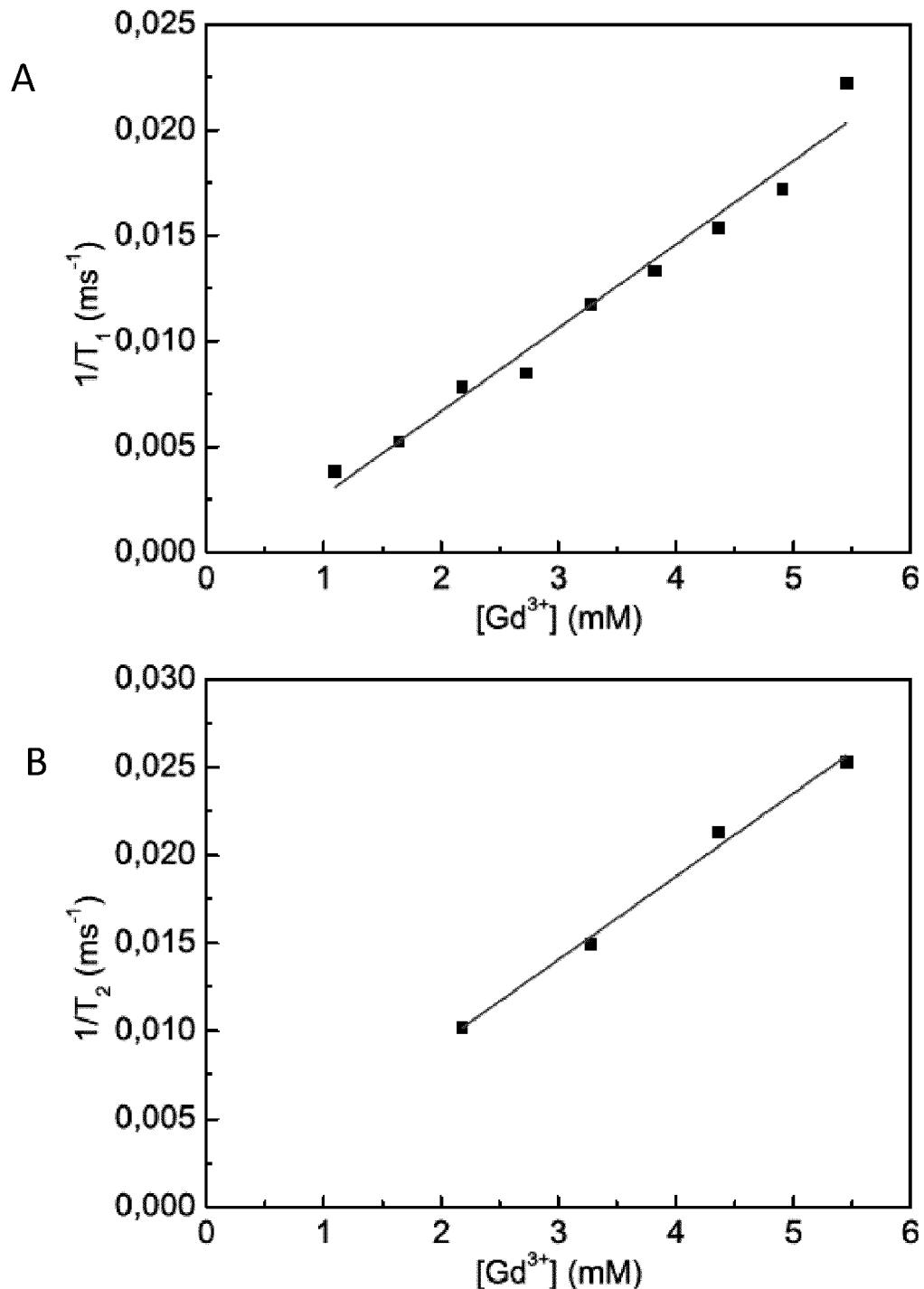
**18.** Utilisation de particules selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, d'une composition comprenant lesdites particules ou d'une composition pharmaceutique selon la revendication 17, en imagerie, en particulier comme agent de diagnostic ou comment agent mettant en œuvre au moins une technique d'imagerie, de préférence deux ou trois, choisie(s) dans le groupe consistant en l'imagerie par résonance magnétique (IRM), l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la tomographie par émission de positrons (TEP), la tomodensitométrie (TDM) et l'imagerie par ultrasons (par exemple l'échographie).

**19.** Méthode pour l'acquisition d'un signal, en particulier d'image(s), par IRM, imagerie optique, détection optique d'oxydant, TEP, TDM ou imagerie par ultrasons, ou par une combinaison d'au moins deux, en particulier deux ou trois, de ces techniques, chez un patient ou un animal, mettant en œuvre des particules selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, une composition comprenant lesdites particules ou une composition pharmaceutique selon la revendication 17, comprenant

- a) l'excitation des particules ou du milieu contenant les particules; et
- b) l'acquisition d'au moins un signal associé avec lesdites particules après l'excitation.

**20.** Particules selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, pour utilisation en imagerie, en particulier en imagerie diagnostique, dans au moins une technique d'imagerie, de préférence deux ou trois, choisie(s) dans le groupe consistant en l'IRM, l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la TEP, la TDM ou l'imagerie par ultrasons, et pour utilisation simultanée comme médicament.

**21.** Composition pharmaceutique selon la revendication 17, pour utilisation en imagerie, en particulier en imagerie diagnostique, dans au moins une technique d'imagerie, de préférence deux ou trois, choisie(s) dans le groupe consistant en l'IRM, l'imagerie optique, la détection optique d'oxydant, la TEP, la TDM ou l'imagerie par ultrasons, et pour utilisation simultanée comme médicament.

**1/5****FIG. 1**

2/5

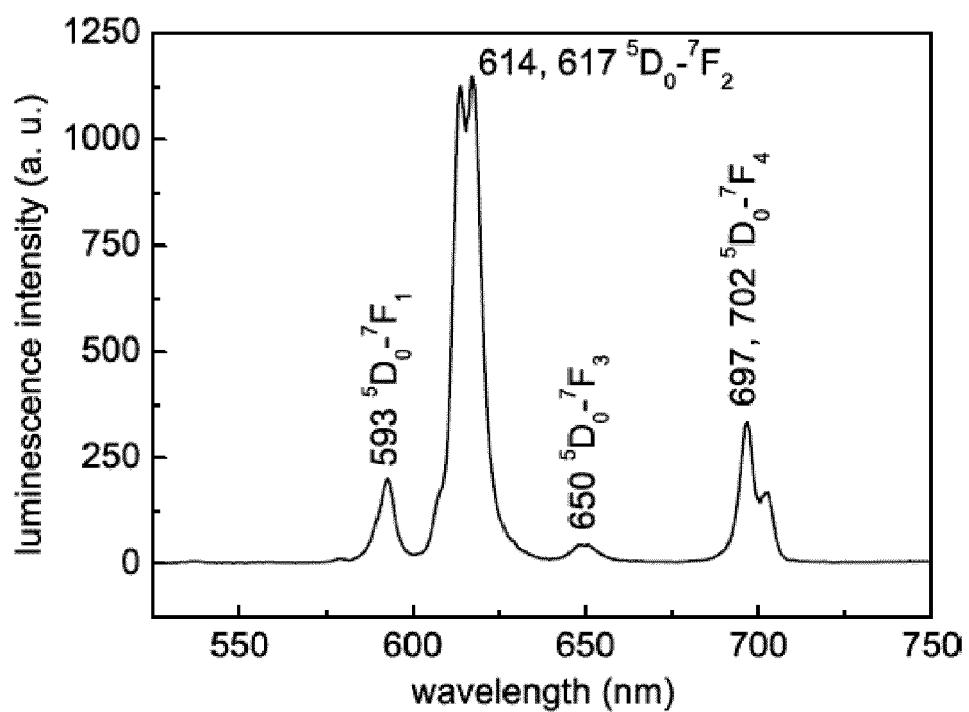
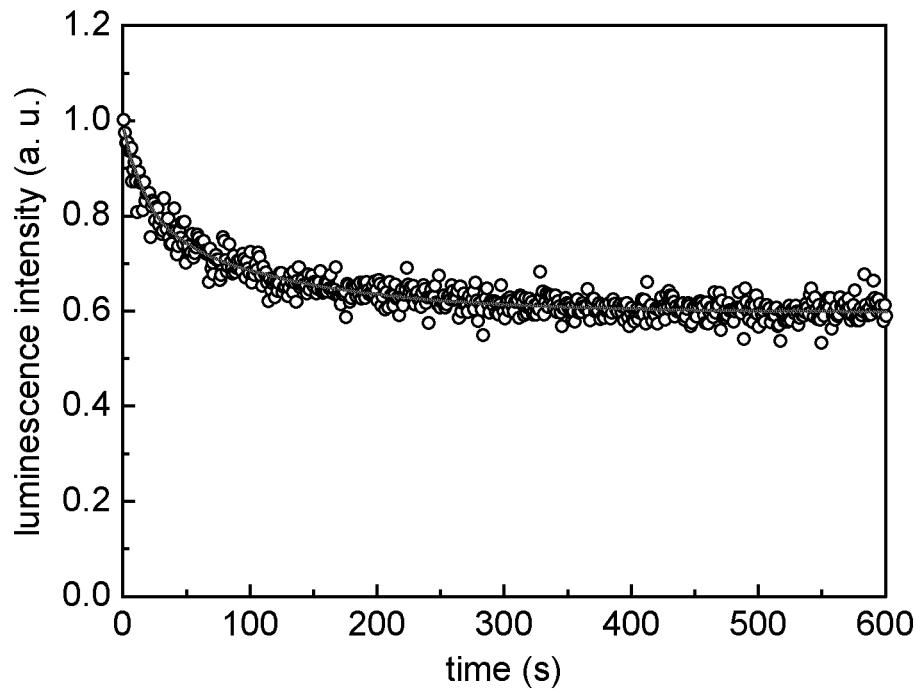
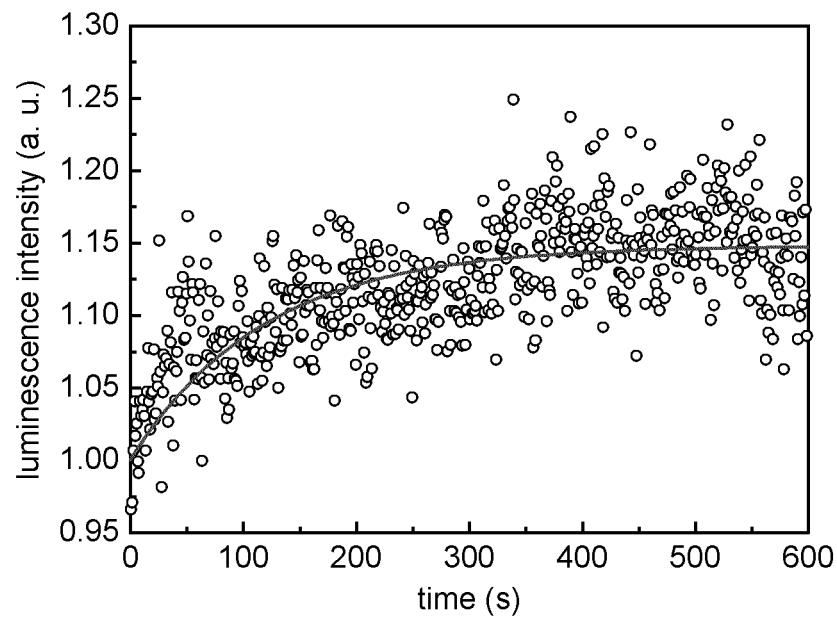
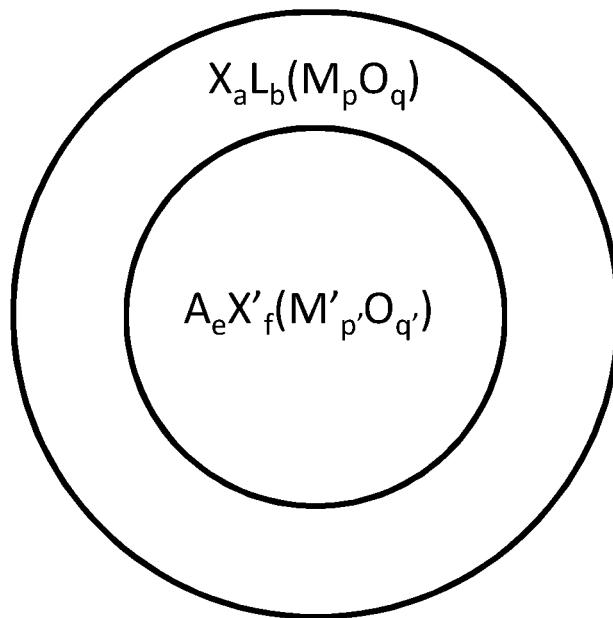


FIG. 2

**3/5****A****B****FIG. 3**

4/5

A



B

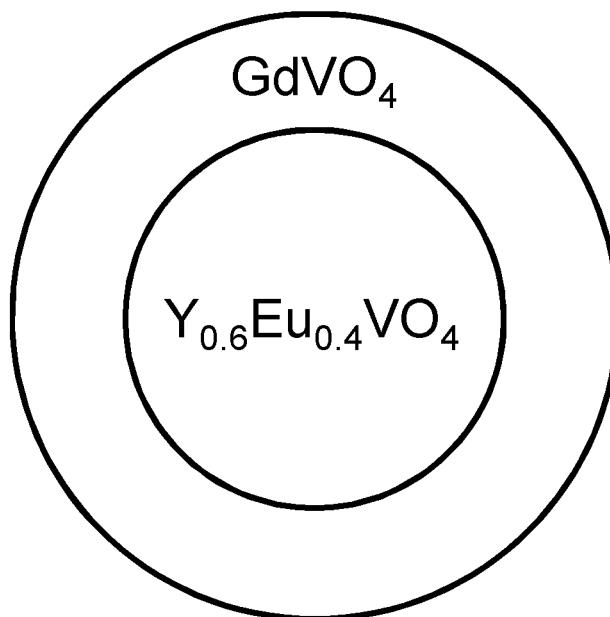
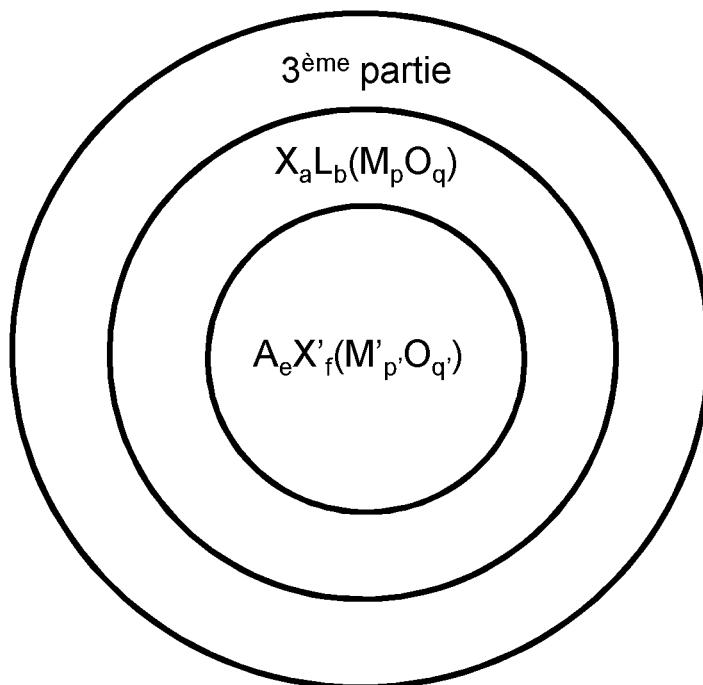


FIG. 4

5/5

A



B

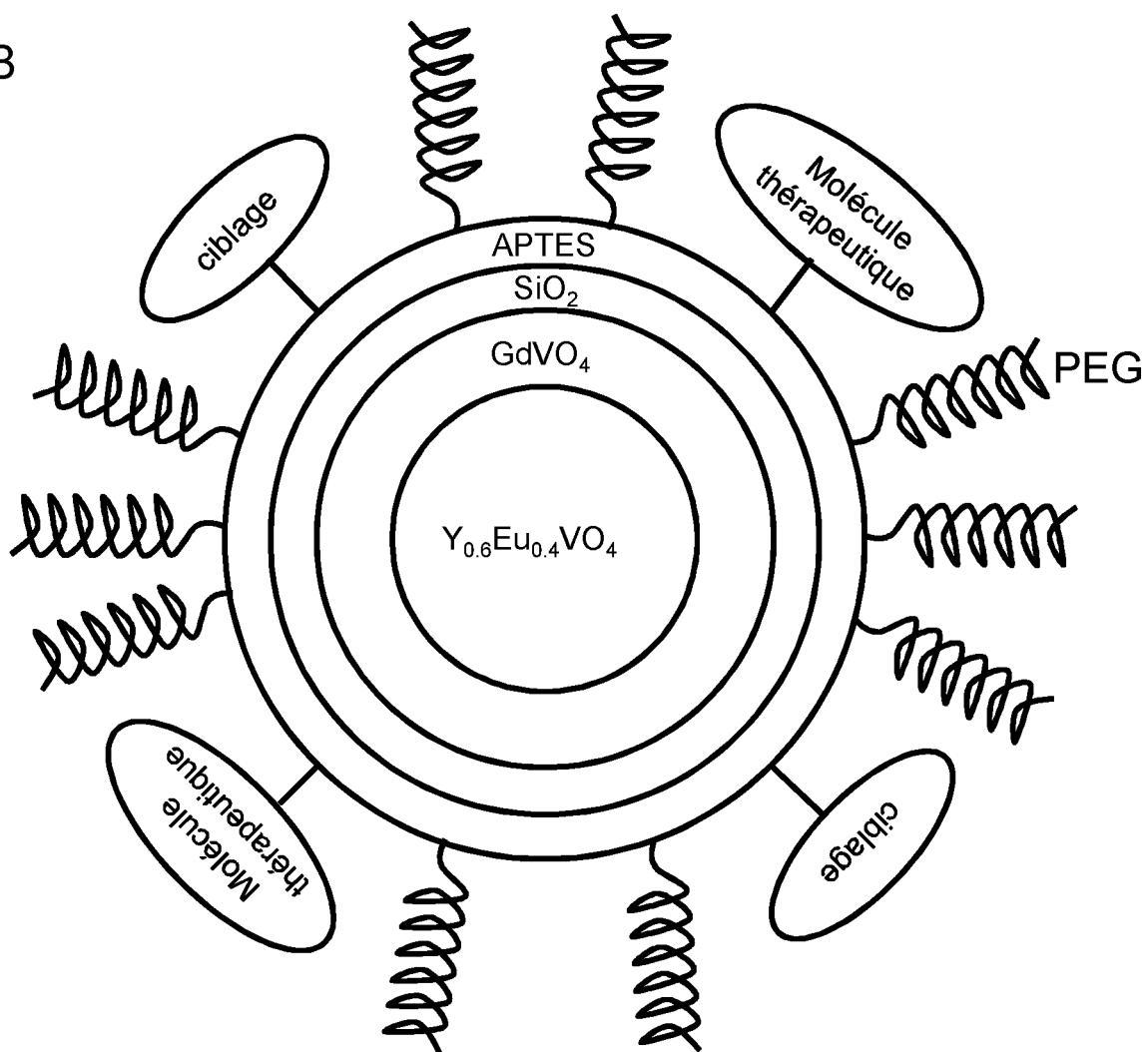


FIG. 5

**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement  
nationalFA 766226  
FR 1252167

<b>DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS</b>		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	JIA-CAI ZHOU ET AL: "Fluorescent-magnetic nanocrystals: synthesis and property of YPxV1-xO4:Eu@GdPO4 core/shell structure", NANOSCALE, vol. 3, no. 5, 1 janvier 2011 (2011-01-01), page 1977, XP55041305, ISSN: 2040-3364, DOI: 10.1039/c0nr01006e * Introduction * * Experimental Section * * Core/shell structure identification * * SiO <sub>2</sub> coating * -----	1-12, 14-21	C01F17/00 A61K49/06 A61K49/22
X	EP 1 473 347 A1 (NANOSOLUTIONS GMBH [DE]; BAYER TECHNOLOGY SERVICES GMBH [DE]) 3 novembre 2004 (2004-11-03) * revendications 1-9 * * exemples 1-4 * * alinéas [0044], [0058] * * alinéa [0009] * -----	1-12, 15-21	
X	SINGH L ET AL: "Critical view on energy transfer, site symmetry, improvement in luminescence of Eu <sup>3+</sup> , Dy <sup>3+</sup> doped YVO <sub>4</sub> by core-shell formation", JOURNAL OF APPLIED PHYSICS, AMERICAN INSTITUTE OF PHYSICS. NEW YORK, US, vol. 107, no. 10, 20 mai 2010 (2010-05-20), pages 104304-104304, XP012132730, ISSN: 0021-8979, DOI: 10.1063/1.3373409 * II A. Preparation * * I. Introduction * -----	1-12,16	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
		-/-	C09K B82Y
1	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur	
EPO FORM 1503 12.99 (F04C14)	18 octobre 2012	Saldamli, Saltuk	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul			
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie			
A : arrière-plan technologique			
O : divulgation non-écrite			
P : document intercalaire			

**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement  
nationalFA 766226  
FR 1252167

<b>DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS</b>		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	HONGLIANG ZHU ET AL: "Synthesis of YVO4:Eu3+/YB03 Heteronanostructures with Enhanced Photoluminescence Properties", NANOSCALE RESEARCH LETTERS, vol. 4, no. 9, 1 septembre 2009 (2009-09-01), pages 1009-1014, XP55041327, ISSN: 1931-7573, DOI: 10.1007/s11671-009-9349-z * Introduction * * Results and Discussion * -----	1-12,14, 16-21	
X	NINGTHOUJAM R S ET AL: "Energy transfer process and optimum emission studies in luminescence of core-shell nanoparticles: YVO4:Eu-YVO4 and surface state analysis", JOURNAL OF ALLOYS AND COMPOUNDS, ELSEVIER SEQUOIA, LAUSANNE, CH, vol. 484, no. 1-2, 18 septembre 2009 (2009-09-18), pages 782-789, XP026586532, ISSN: 0925-8388, DOI: 10.1016/J.JALCOM.2009.05.044 [extrait le 2009-05-18] * 2. Experimental * -----	1-12,16	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	HONGLIANG ZHU ET AL: "Highly Enhanced Photoluminescence from YVO4 :Eu 3+ @ YPO4 Core/Shell Heteronanostructures", JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY C, vol. 113, no. 24, 18 juin 2009 (2009-06-18), pages 10402-10406, XP55041342, ISSN: 1932-7447, DOI: 10.1021/jp900242j * 1. Introduction * * 3. Results and Discussion * ----- -/-	1-12,16	
1	Date d'achèvement de la recherche  18 octobre 2012	Examinateur  Saldamli, Saltuk	
EPO FORM 1503 12.99 (F04C14)	CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS  X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire	T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... & : membre de la même famille, document correspondant	

**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

 établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche
N° d'enregistrement  
nationalFA 766226  
FR 1252167

<b>DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS</b>		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	SINGH N ET AL: "Luminescence study of Eu <sup>3+</sup> doped GdVO <sub>4</sub> nanoparticles: Concentration, particle size, and core/shell effects", JOURNAL OF APPLIED PHYSICS, AMERICAN INSTITUTE OF PHYSICS. NEW YORK, US, vol. 104, no. 10, 19 novembre 2008 (2008-11-19), pages 104307-104307, XP012116544, ISSN: 0021-8979, DOI: 10.1063/1.3026612 * I. Introduction * -----	1-12,16	
X	CN 101 368 098 B (UNIV ZHEJIANG SCIENCE & TECH [CN] UNIV ZHEJIANG SCIENCE & TECH) 13 juillet 2011 (2011-07-13) * revendication 1 * -----	1-12,16	
X	MINGLEI CHANG ET AL: "Fabrication of novel luminor Y2O <sub>3</sub> :Eu <sup>3+</sup> +SIGMAiO <sub>2</sub> @YVO <sub>4</sub> :Eu <sup>3+</sup> with core/shell heteronanostructure", NANOTECHNOLOGY, IOP, BRISTOL, GB, vol. 19, no. 7, 20 février 2008 (2008-02-20), page 75711, XP020129839, ISSN: 0957-4484 * 1. Introduction * * Scheme 1 * * 2. Experimental Details * -----	1-12, 14-21	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
		-/-	
1	Date d'achèvement de la recherche <b>18 octobre 2012</b>	Examinateur <b>Saldamli, Saltuk</b>	
EPO FORM 1503 12.99 (F04C14)	CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire	T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... & : membre de la même famille, document correspondant	

**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRÉLIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
nationalFA 766226  
FR 1252167

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	<p>BUISSETTE V ET AL: "LUMINESCENT CORE/SHELL NANOPARTICLES WITH A RHABDOPHANE LNP04-XH2O STRUCTURE: STABILIZATION OF CE3+-DOPED COMPOSITIONS", ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS, WILEY - V C H VERLAG GMBH &amp; CO. KGAA, DE, vol. 16, no. 3, 3 février 2006 (2006-02-03), pages 351-355, XP001238611, ISSN: 1616-301X, DOI: 10.1002/ADFM.200500285 * 2. Results and Discussion * -----</p>	1-12, 14, 16	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
1	Date d'achèvement de la recherche  18 octobre 2012	Examinateur  Saldamli, Saltuk	
<p align="center">CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul      Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie      A : arrière-plan technologique      O : divulgation non-écrite      P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention      E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.      D : cité dans la demande      L : cité pour d'autres raisons      &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1252167 FA 766226**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **18-10-2012**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1473347	A1 03-11-2004	AT 346898 T AU 2004234535 A1 CA 2523027 A1 CN 1780895 A DE 60310032 T2 EP 1473347 A1 HK 1091857 A1 JP 4516564 B2 JP 2007523754 A US 2007087195 A1 WO 2004096944 A1	15-12-2006 11-11-2004 11-11-2004 31-05-2006 05-07-2007 03-11-2004 06-03-2009 04-08-2010 23-08-2007 19-04-2007 11-11-2004
CN 101368098	B 13-07-2011	AUCUN	