



HAL
open science

Nanoparticules dopées terres rares pour l'imagerie médicale et la thérapie

Maroua Dhaouadi

► **To cite this version:**

Maroua Dhaouadi. Nanoparticules dopées terres rares pour l'imagerie médicale et la thérapie. Autre [cond-mat.other]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014. Français. NNT : 2014PA066064 . tel-01037907

HAL Id: tel-01037907

<https://theses.hal.science/tel-01037907>

Submitted on 23 Jul 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité
Physique des Matériaux
(Ecole doctorale 397, Physique et Chimie des Matériaux)

Présentée par
Maroua Dhaouadi
Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

**Nanoparticules dopées terres rares pour l'imagerie
médicale et la thérapie**

Soutenue le 25 Avril 2014 devant le jury composé de :

Mme Fabienne Pellé	Directeur de thèse (Directeur de Recherche)
Mme Chantal Andraud	Rapporteur (Directeur de Recherche)
Mr Jean-Olivier Durand	Rapporteur (Directeur de Recherche)
Mr Patrice Baldeck	Examineur (Directeur de Recherche)
Mr Christian Bonhomme	Examineur (Professeur)
Mme Domitille Giaume	Invitée (Maître de conférences)
Mr Vasylyshynkar	Invité (Docteur)

Remerciements

Ce travail a été effectué dans le Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris (LCMCP) UMR7574. Je tenais dans un premier temps à remercier Messieurs Didier Gourier, Gérard Aka et Michel Mortier les directeurs successifs de ce laboratoire durant mes années de thèse, de m'avoir permis d'intégrer le laboratoire pour y effectuer ma thèse.

Je tiens à remercier vivement Madame Fabienne Pellé a dirigé entièrement ce travail avec une grande rigueur scientifique et un formidable dynamisme grâce auxquels j'ai pu découvrir le côté passionnant de la recherche. Je tiens également à lui exprimer ma gratitude pour le temps qu'elle a consacré à lire et à relire et à corriger ce manuscrit.

Je remercie aussi les membres du jury d'avoir accepté de juger mon travail. Je remercie Madame Chantal Andraud et Mr Jean-Olivier Durand pour avoir accepté le rôle de rapporteurs et Monsieur Patrice Baldeck et Monsieur Christian Bonhomme d'avoir accepté le rôle d'examineur.

J'aimerais également remercier Domitille Giaume pour toute son aide précieuse, du suivi de mes travaux et de la rédaction de mon manuscrit mais surtout pour ses encouragements et son soutien. Je remercie également Bruno Viana qui m'a soutenu dans toutes les démarches

Cette thèse m'a également permis de rencontrer de nombreuses personnes extérieures à travers des collaborations, des rencontres aussi riches scientifiquement qu'humainement Je tenais à remercier dans un premier temps Patrick Le-Griel, pour l'ensemble des clichés de microscopie électronique à transmission, qui ont pu être réalisés durant cette thèse. Puis, Vasyl Skynkar, qui m'a aidé durant les manips de microscopie optique. Qui ont été parfois très longues.

J'ai eu la chance de rencontrer des étudiants stagiaires et doctorants et des post-doctorants avec qui j'ai aimé partager ma vision optimiste de la recherche et des conseils que nous avons pu nous échanger. Un grand Merci à Mariem, Ikram, Catherine, Akiko, Ludovic, Carmel, Andrea, Laurent, Jean-François et Patrick avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.

Je n'aurais sans doute pas pu accomplir cette tâche sans le soutien permanent de toute ma famille, en particulier mon papa, ma maman et mes grand-mères. Merci à Jihène, Ahlem, Safa, Ghalia, Safa, Noura et Mariem.

Un grand merci à mes amis de m'avoir apporté du courage lors des moments difficiles de cette thèse (Rihab, Faten, Assoum, Mehdi, Hamou, Abdou, Gaston, Slouma, Dali, Jamel)

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	2
CHAPITRE I : GENERALITES & OBJECTIFS	5
A. La photothérapie dynamique	6
I. Rappel historique	7
II. Définition et principe	8
II.1. Définition	8
II.2. Principe et réactions photochimiques	9
III. Les photosensibilisateurs	14
III.1. Les PS de 1 ^{ère} génération	15
III.2. Les PS de 2 ^{ème} génération	16
III.3. Les PS de 3 ^{ème} génération	19
IV. Les nanoparticules comme transporteurs de PS	23
IV.1. Choix des nanoparticules	24
IV.2. La sélection des PS	27
V. Les mécanismes d'éradication tumorale après la photothérapie dynamique	29
V.1. Effets directs : la mort cellulaire	30
V.2. Effets indirects : réactions immunitaires et inflammatoires et effets anti-vasculaires	33
V.3. Effet de la dose lumineuse : interaction tissu-lumière	34
VI. Conclusion	36
B. Objectifs de la thèse et stratégie	37
I. Choix des dopants	38
II. Choix de la matrice	40
Références bibliographiques	43
CHAPITRE II : SYNTHESSES & FONCTIONNALISATION	48
A. Les Oxydes	49
I. Synthèse de l'oxyde d'yttrium par précipitation homogène	49
I.1. Principe de la méthode de synthèse par précipitation homogène	50
I.2. Paramètres influents sur la synthèse par précipitation homogène	50
I.3. Mode opératoire	52

II.	Caractérisation des particules	53
II.1.	Structure des objets	53
II.2.	Nature du composé avant recuit : YOC	54
II.3.	Taille et cristallinité des particules	55
III.	Passivation de la surface des nanoparticules	60
III.1.	Mode opératoire	60
III.2.	Taille et morphologie des particules	61
B.	Les fluorures	65
I.	KY_3F_{10}	66
I.1.	Paramètres influant sur la synthèse de KY_3F_{10}	66
I.2.	Caractérisations physico-chimiques	68
I.3.	Enrobage par une coquille cristalline de KY_3F_{10}	73
II.	$NaYF_4$	75
II.1.	Mode opératoire	75
II.2.	Caractérisations physico-chimiques	76
II.3.	Enrobage cœur coquille	77
III.	Conclusion	79
C.	Les stratégies d'incorporation du PS	79
I.	Modification par chimisorption	80
I.2.	Greffage post-synthèse	80
I.3.	Fonctionnalisation in situ par condensation	80
II.	Modification par physisorption	81
III.	Synthèses et caractérisations	81
III.1.	Enrobage par la silice mésoporeuse	82
III.2.	Imprégnation des nanoparticules par ZnPc	88
D.	Conclusion	92
	Références bibliographiques	94
	CHAPITRE 3 : SPECTROSCOPIE	98
A.	Luminescence	100
I.	Etude sur poudres	100
I.1.	Luminescence Stokes : Spectres de luminescence	100
I.2.	Luminescence anti-Stokes : Optimisation de la concentration en ions Er^{3+} et Yb^{3+}	103
II.	Etude sur les particules en solution	105
II.1.	Luminescence anti-Stokes : Spectres de luminescence	105

II.2.	Effet de la structure cœur-coquille cristalline	106
II.3.	Effet de la puissance infrarouge	108
B.	Dynamique de luminescence	115
I.	KY ₃ F ₁₀ : Résultats expérimentaux	118
	Excitation Stokes dans le niveau ⁴ F _{7/2} (Er ³⁺)	118
I.1.	Excitation par up conversion	124
I.2.	Attribution des mécanismes 1 et 2 aux différents centres	131
II.	Autres systèmes (NaYF ₄ et Y ₂ O ₃) : Résultats expérimentaux	133
C.	Conclusion	135
	Références bibliographiques	136
 CHAPITRE IV : DETECTION DE L'OXYGENE SINGULET		141
A.	Généralités	142
I.	Structure électronique de l'oxygène singulet	142
I.	Rappel historique	143
II.	Modes de formations de l'oxygène singulet <i>in vitro</i>	144
II.1.	Par réactions photosensibilisées	144
II.2.	Par conversion thermique	144
II.3.	Par réactions chimiques	145
III.	Détection de l'oxygène singulet	146
III.1.	1 ^{ère} approche : Détection de l'oxygène singulet	147
III.2.	2 ^{ème} approche : détection des espèces radicalaires formées	150
IV.	Stabilité et durée de vie de l'oxygène singulet	151
V.	Applications de l'oxygène singulet	152
V.1.	Les synthèses de chimie fine et le traitement des eaux usées	152
V.2.	Les processus photodynamiques	152
B.	Détection de l'oxygène singulet : résultats expérimentaux (Bleaching)	153
I.	Effet du ZnPc sur les spectres de up conversion	153
II.	Détection des radicaux ¹ O ₂ : Bleaching	159
II.1.	Protocole expérimental	159
II.2.	Résultats expérimentaux	160
C.	Conclusion	165
	Références bibliographiques	167

CONCLUSION GENERALE

169

ANNEXES

174

Liste d'abréviations

PDT : Photothérapie dynamique

PS : Photosensibilisateur

PS* : Photosensibilisateur à l'état excité

$^1\text{O}_2$: Oxygène singulet

$^3\text{O}_2$: Oxygène moléculaire

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

O_2^- : Anion radical superoxyde

OH^- : Anion hydroxyle

CI : Conversion interne

CIS : Conversion inter-système

IDL : Intervalle-Drogue-Lumière

Hp : Hématoporphyrine

HpD : Dérivé de l'Hématoporphyrine

5-ALA : Acide 5-aminolévulinique

PpIX : Protoporphyrine IX

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

FDA : Administration américaine Food and Drug

Pc : Phtalocyanine

ZnPc : Phtalocyanine de Zinc

Φ_T : rendement quantique de formation de l'état triplet

ADN : acide désoxyribonucléique

NP : Nanoparticule

MNP : Nanoparticule métallique

PGA : Polyglycolide

PLA : Polylactide

PLGA : Poly (D, L-lactide-co-glycolide)

PAA : Polyacrilamide

HPPH : 2-devinyl-2-(1-hexyloethyl)pyropheophorbide

YOC : Carbonates d'yttrium

YO : Oxyde d'yttrium

KYF : Fluorure d'yttrium et de potassium

NYF : Fluorure d'yttrium et de sodium

Yb : Ytterbium

Er : Erbium

Tm : Thulium

PEG : Poly éthylène glycol

DRX : Diffraction des Rayons X

MET : Microscopie Electronique en Transmission

DPBF : 1,3-diphenylisobenzofurane

ABDA : 9,10-Anthracène diyl-Bis(méthylène)Dimalonic acide

ADPA : 9,10-anthracenedipropionic acide

SOD : Enzyme oxydoréductase

Cat : Enzyme catalase superoxydase

GSH : Glutathion sous forme réduite

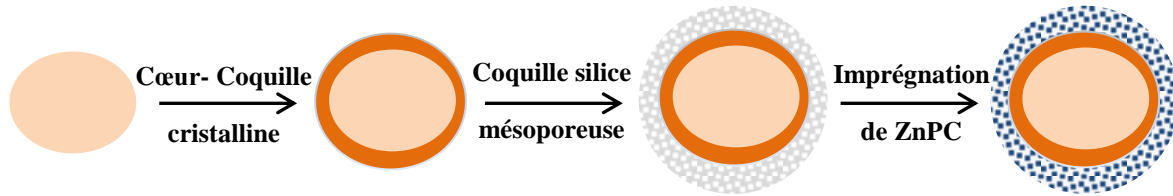
GSSG : Glutathion sous forme oxydée

TEMP : 2, 2, 6, 6-tétra-méthylpiperidine

TEMPO : chélate du TEMP

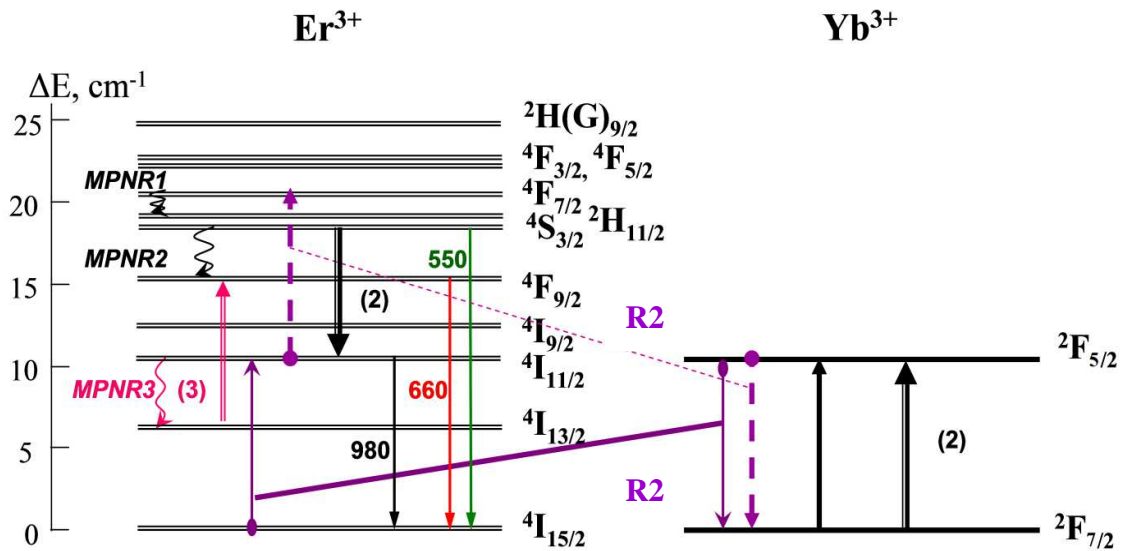
RPE : Résonance Paramagnétique Electronique

Configuration des particules et Nomenclature utilisée

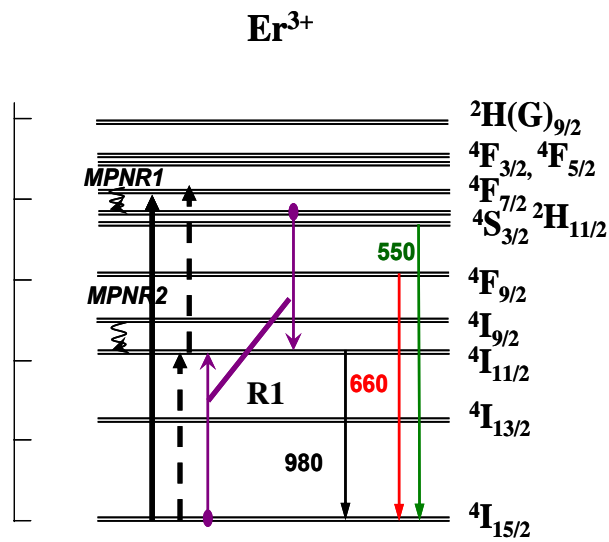


Matériau	Structure	Nomenclature
KY_3F_{10} (20% Yb, 2%Er) $\text{KY}_{2,34}\text{Yb}_{0,6}\text{Er}_{0,06}\text{F}_{10}$	Cœur	KYF2
	Cœur-coquille cristalline	KYF4
	Cœur-coquille@MS	KYF6
	Cœur-coquille@MS-ZnPc	KYF8
NaYF_4 (20% Yb, 2%Er) $\text{NaY}_{0,78}\text{Yb}_{0,2}\text{Er}_{0,02}\text{F}_4$	Cœur	NYF1
	Cœur-coquille cristalline	NYF3
	Cœur-coquille@MS	NYF5
	Cœur-coquille@MS-ZnPc	NYF7
Y_2O_3 (4% Yb, 2%Er) $\text{Y}_{1,88}\text{Yb}_{0,08}\text{Er}_{0,04}\text{O}_3$	Cœur	YO2
	Cœur-coquille cristalline	YO4
	Cœur-coquille@MS	YO6
	Cœur-coquille@MS-ZnPc	YO8

Mécanismes d'émission par up conversion pour le système (a) Yb^{3+} - Er^{3+} , (b) Er^{3+} - Er^{3+}



(a)



(b)

Introduction

Générale

Aujourd'hui estimé à 10 millions de nouveaux cas par an, le fardeau mondial du cancer risque d'atteindre 15 millions en 2020. Cette maladie se caractérise par une prolifération cellulaire anarchique au sein d'un tissu normal de l'organisme. La lutte contre le cancer a pour but de réduire la mortalité liée à cette pathologie et améliorer la qualité de vie des patients.

Il est clair que même si nous ne pouvons pas ignorer l'application de traitements anticancéreux classiques efficaces mais souvent agressifs, nous devons exploiter des thérapies alternatives pour augmenter le taux de guérison.

Les traitements les plus couramment utilisés (chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie) ont fait leurs preuves dans la lutte contre cette maladie, cependant ces techniques sont pourvoyeuses d'effets secondaires importants. La chirurgie est, en général, très invalidante pour le malade, tandis que la radiothérapie et la chimiothérapie manquent encore de sélectivité et les radiations ionisantes, dans le cas de la radiothérapie, et/ou de substances chimiques, dans le cas de la chimiothérapie, affectent également les tissus sains. L'obstacle majeur pour l'éradication des cellules tumorales provient de la difficulté à discerner les cellules malignes des cellules saines. L'enjeu est donc de développer des thérapies alternatives permettant un meilleur ciblage des cellules malignes tout en minimisant les effets secondaires. Parmi ces thérapies, la photothérapie dynamique (PDT) est l'une des techniques innovantes qui permet de s'affranchir des inconvénients des autres types de traitements, technique récemment acceptée sur le plan clinique pour traiter un certain nombre de cancers.

La PDT repose sur l'effet de la lumière sur des molécules photo-activables (photosensibilisateurs) pour la génération de radicaux libres, espèces très réactives et toxiques pour les cellules conduisant à la mort cellulaire. Le plus simple de ces radicaux est l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) formé par l'action conjuguée de la lumière, du photosensibilisateur sur l'oxygène environnant dans le milieu cellulaire. Dans le cas où les photosensibilisateurs sont fonctionnalisés de façon à cibler les cellules malignes, l'avantage principal de la PDT est une grande sélectivité du traitement. Plusieurs photosensibilisateurs ont obtenus une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché), cependant plusieurs difficultés sont à surmonter pour une efficacité maximale de ce type de traitement.

La première difficulté est liée au caractère fortement hydrophobe de ces molécules qui est un obstacle pour leur dispersion en milieu aqueux nécessaire à la réalisation d'une suspension injectable. Par ailleurs, la plupart des photosensibilisateurs doivent être excités optiquement dans le rouge, à des longueurs d'ondes en dehors de la fenêtre thérapeutique, pour produire l'effet recherché. Dans ces conditions, il se produit une accumulation de chaleur sur les tissus cutanés. Enfin, les molécules photo-activables sont difficilement éliminées par l'organisme, ce qui rend les patients sensibles à la lumière pendant plusieurs semaines. La levée de ces verrous suscite de nombreuses recherches actuellement, d'une part sur la fonctionnalisation et vectorisation des PS, d'autre part sur la synthèse de molécules photo-activables excitables par des longueurs d'onde en adéquation avec la fenêtre de transparence des tissus, c'est-à-dire dans le proche infrarouge.

L'objet de cette thèse est de proposer une solution alternative pour surmonter les difficultés précitées. La génération de radicaux libres cytotoxiques par les moyens proposés et la démonstration de la destruction de cellules cancéreuses devraient ouvrir la voie à des progrès technologiques considérables dans le domaine de la photothérapie dynamique. Le système proposé est composé de nanoparticules dopées par des ions terres rares, associé à des agents de ciblage pour des cellules cancéreuses. Ces particules ont deux fonctions distinctes.

Tout d'abord, elles permettent la vectorisation ciblée des photosensibilisateurs couplés sur leur surface, ensuite elles permettent l'excitation *in situ* des photosensibilisateurs par up conversion. En effet, les matériaux codopés par des ions terres rares, en particulier par des systèmes Er/Yb et Tm/Yb, présentent la propriété exceptionnelle de transformer une excitation infrarouge (cohérente ou non), à environ 980 nm, en une émission située dans la partie visible du spectre. Le système étudié dans ce travail présente plusieurs avantages par rapport à la PDT classique en permettant l'excitation *in situ* des molécules photo-activables par l'émission visible obtenue par up conversion d'une excitation infrarouge (dans la fenêtre thérapeutique) qui assure une pénétration dans les tissus profonds; l'excitation n'étant pas (ou peu) absorbée par la matrice constituant les particules.

Les effets thermiques sont donc minimisés et le temps d'exposition peut être considérablement allongé ; le couplage des nanoparticules avec un agent ciblant doit assurer une sélectivité maximale des cellules malignes, les dégâts collatéraux peuvent donc être réduits au maximum ; enfin, les particules pouvant être facilement éliminées par l'organisme entraînant l'élimination des photosensibilisateurs fait disparaître les effets secondaires comme, par exemple, la sensibilité à long terme des patients à la lumière.

Les principes généraux de la PDT, les principaux photosensibilisateurs et les différentes voies de génération des radicaux toxiques sont décrits dans le premier chapitre de ce manuscrit ainsi que les objectifs de ce travail.

Les critères de sélection des matériaux supports de cette étude et des dopants, la synthèse et la fonctionnalisation des différentes structures étudiées sont exposés dans le second chapitre.

Le troisième chapitre est consacré à la caractérisation spectroscopique des systèmes étudiés. Enfin, Les différentes méthodes mises en œuvre pour détecter les radicaux libres, la mise en évidence *in vitro* de la génération des radicaux libres par nos matériaux sont exposées dans la dernière partie du manuscrit.

Chapitre I :
Généralités &
Objectifs

Après avoir exposé les principes généraux de la photothérapie dynamique, les différents photosensibilisateurs, les objectifs de ce travail ainsi que la stratégie adoptée seront exposés.

A. La photothérapie dynamique

La lutte contre le cancer est devenue l'un des enjeux majeurs de santé publique. En effet, la nature même de cette maladie, est caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme, de telle manière que la survie de ce dernier est menacée.

Diverses thérapies ont été développées et ont fait leurs preuves dans la lutte contre cette maladie parmi lesquelles on peut citer les traitements classiques : la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. La chirurgie consiste à retirer les parties du corps envahies par les tumeurs, la radiothérapie utilise les rayonnements ionisants émis par certains éléments radioactifs pour détruire les cellules anormales ou du moins ralentir leur progression et la chimiothérapie implique l'utilisation de produits chimiques ayant un effet direct sur les cellules cancéreuses, soit en les détruisant, soit en empêchant leur prolifération. L'obstacle majeur pour l'éradication des cellules tumorales provient de la difficulté à discerner les cellules malignes des cellules saines.

Malgré leur efficacité constatée par une régression tumorale, toutes ces techniques sont très agressives et présentent de nombreux inconvénients ou d'effets secondaires invalidants. La chirurgie est, en général, très invalidante pour le malade, tandis que la radiothérapie et la chimiothérapie manquent de sélectivité et touchent également les tissus sains provoquant ainsi un affaiblissement général de l'organisme. Dans le but de cibler spécifiquement les tumeurs et d'épargner au maximum les tissus sains, un certain nombre de thérapies alternatives a été développées. Parmi ces thérapies, la photothérapie dynamique (PDT) se révèle prometteuse et permet de s'affranchir des inconvénients des autres traitements. Cependant, la PDT s'accompagne d'effets secondaires principalement des réactions cutanées et une sensibilité à la lumière des patients pendant plusieurs jours voire plusieurs semaines.

La PDT implique la combinaison de trois éléments qui sont la lumière, l'oxygène et une molécule photoactivable, le photosensibilisateur (PS). Ces trois éléments associés entraînent la formation d'espèces très réactives au niveau tumoral aboutissant à la mort cellulaire.

I. Rappel historique

Les vertus thérapeutiques de la lumière sont connues depuis l'antiquité. En effet, les égyptiens utilisaient déjà à l'époque la lumière combinée à des substances naturelles pour traiter des maladies de peau. La pratique des bains de soleil s'est perpétuée à travers l'histoire de la Grèce antique jusqu'au 19^{ème} siècle, aussi bien pour traiter des affections cutanées que le scorbut, le rachitisme ou la psychose. C'est à la fin du 19^{ème} siècle que le médecin Niels Finsen découvrit un traitement utilisant la lumière de couleur rouge ayant avoir des effets bénéfiques sur la variole [1].

Les applications cliniques de molécules sous l'effet de la lumière ont été découvertes de façon fortuite, en 1898, par Oscar Raab, étudiant en thèse sous la direction de Von Tappeiner, lorsqu'il étudiait la toxicité de l'acridine considérée comme un anti-malarique potentiel [2]. La particularité de cette approche est qu'elle reposait sur la transformation de l'énergie lumineuse en « énergie chimique » par l'intermédiaire d'une molécule photosensibilisatrice.

En 1903, Tappeiner, en collaboration avec Jesionek, traita avec succès un cancer cutané par utilisation conjointe d'une application topique d'éosine Y et d'une exposition à la lumière blanche [3]. Par la suite, avec Jodlbauer, il démontra l'importance de l'oxygène dans ce nouveau traitement [4] et introduisit alors pour la première fois le terme d'action photodynamique.

En 1913, Meyer-Betz s'injecta 200 mg d'hématoporphyrine (Hp), un constituant du sang, afin de prouver les résultats des découvertes de Hausmann observés chez la souris [5,6]. En s'exposant à la lumière du soleil, une réaction spectaculaire eut lieu, entraînant une hyperpigmentation de la peau et un œdème généralisé, symptômes qui persistèrent plusieurs semaines et qui témoignèrent d'une hypersensibilisation à la lumière [7].

En 1924, Policard fit la description scientifique de la fluorescence spontanée de tumeurs exposées à une lumière ultraviolette sur un rat. Il attribua ce phénomène à l'accumulation de Hp biosynthétisée par l'organisme dans les cellules tumorales [8].

En 1942, Auler et Banzer furent les premiers à étudier l'accumulation et l'action sensibilisatrice de Hp injectée au sein de tumeurs [9]. Figge confirma l'affinité de cette molécule pour les tissus tumoraux et suggéra la possibilité d'utiliser l'hématoporphyrine pour localiser les zones tumorales chez l'homme [10].

En 1955, Schwartz constata que le Hp, photosensibilisateur utilisé dans les expériences de Meyer-Betz, n'était pas pur [11]. La purification du Hp donna lieu à un dérivé de l'hématoporphyrine notée HpD qui s'accumule préférentiellement dans les tissus tumoraux [12-14].

Les travaux de Lipson permirent de traiter avec succès pour la première fois un cancer du sein ce qui marqua les débuts de la PDT en tant que thérapie du cancer [15].

En 1975, Dougherty utilisa avec succès la HpD couplée à une lampe à arc xénon dans le traitement des tumeurs mammaires chez les souris [16] puis réalisa les premiers essais chez l'homme et obtint des résultats encourageants [17]. Il remplaça, par la suite, la lampe par un laser, qui permet de focaliser sélectivement sur la zone à irradier.

En 1987, il proposa une nouvelle purification de l'hématoporphyrine [18,19] qui permit la production du Photofrin®, nom commercial sous lequel une fraction enrichie en produits photoactifs de HpD est commercialisée.

II. Définition et principe

II.1. Définition

La thérapie photodynamique est une technique de traitement basée sur l'action combinée au niveau tumoral de trois éléments : l'oxygène, la lumière et une molécule photoactivable non toxique dans l'obscurité, le photosensibilisateur (PS).

Les PS sont capables de se concentrer dans les cellules tumorales et sont activés par une lumière focalisée de longueur d'onde appropriée (dépendante du PS). L'activation du PS induit des réactions photochimiques qui aboutissent à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) hautement toxiques pour les cellules parmi lesquelles l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), radical hautement toxique.

Dans le cas d'un traitement anticancéreux, le PS est administré, dans un premier temps, à un patient, le plus souvent par voie intraveineuse. Une fois dans le sang, le PS, en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques, se lie à certaines protéines plasmatiques (lipoprotéine, albumine, globuline), qui l'acheminent vers les différents tissus.

Dans un second temps, la tumeur est illuminée localement par une lumière dont la longueur d'onde correspond au maximum d'absorption de la molécule photoactivable [20]. Cette étape s'effectue généralement par endoscopie lorsqu'il s'agit de traiter les tumeurs dans les organes creux. Un rayonnement laser est généralement utilisé, guidé jusqu'à la tumeur *via* une fibre optique et un diffuseur de lumière. L'irradiation du PS en présence d'oxygène induit des réactions de photo-oxydation qui aboutissent à la destruction des cellules tumorales ciblées. Le délai entre l'administration et l'irradiation, pouvant aller de quelques minutes à plusieurs jours, est appelé Intervalle-Drogue-Lumière (IDL). Ce délai est fonction de la pharmacocinétique du PS et de l'application clinique. Il correspond à la durée nécessaire pour une localisation du PS en faveur de la tumeur par comparaison aux tissus sains. Le principe de la PDT est illustré sur la Figure I.1.

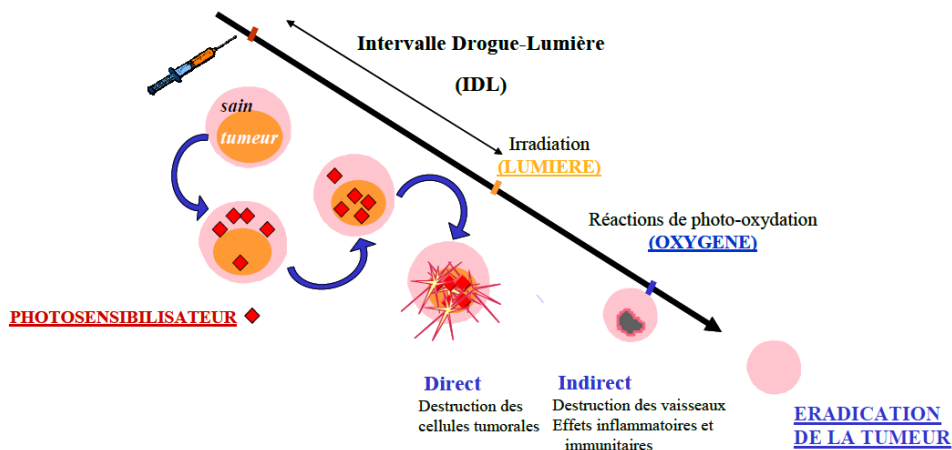


Figure I.1 : Principe de la PDT [21]

II.2. Principe et réactions photochimiques

L'activité photodynamique d'un PS est basée sur les principes photophysiques d'interaction onde/matière entre la lumière d'excitation et l'agent photosensibilisateur ainsi que de divers processus de transferts d'énergie ou d'électrons entre le PS excité (noté PS^*) et son environnement. Il est donc primordial pour une action efficace en PDT d'appliquer un rayonnement adapté au PS utilisé. Le PS ainsi excité se désexcite ensuite vers l'état fondamental par divers processus classés en deux catégories : soit par désexcitations non radiatives, soit par désexcitations radiatives.

II.2.1. Principe photo physique

Dans l'obscurité et à température constante, une molécule organique est caractérisée par un état énergétique d'équilibre stable, appelé aussi état fondamental, et généralement de multiplicité de spin unitaire ($2S+1 = 1$, état électronique singulet). Cet état électronique fondamental est noté S_0 et il est décrit par différentes orbitales moléculaires dont l'occupation par des électrons est régie par plusieurs règles issues de la mécanique quantique [22, 23].

L'apport d'énergie par absorption moléculaire d'un photon de fréquence ν conduit à une nouvelle répartition énergétique des électrons. La molécule est alors dans un nouvel état électronique plus énergétique, et donc instable, noté S_1 ou $S_2 \dots$

Le diagramme de Perrin-Jablonski simplifié, représenté sur la Figure I.2, décrit les divers processus (radiatifs et non radiatifs) mis en jeu pour la transition $PS^* \rightarrow PS$.

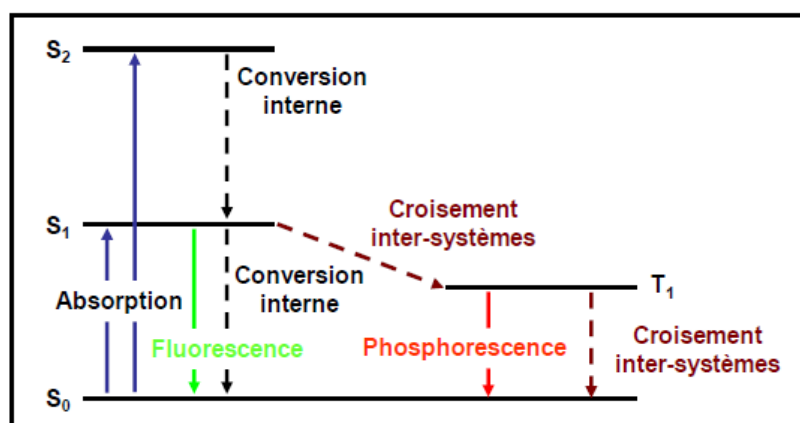


Figure I.2 : Diagramme simplifié de Perrin-Jablonski [24]

L'absorption est un phénomène photophysique de très courte durée et elle a lieu dans un domaine de longueur d'onde lié à la présence de certains motifs moléculaires absorbants, appelés chromophores.

La relaxation vibrationnelle et la conversion inter-systèmes (CIS): après une excitation lumineuse, l'état électronique excité singulet produit, peut donner lieu à une transformation chimique, se relaxer vibrationnellement par transition non radiative (conversion interne et/ou relaxation vibrationnelle) et produire l'état singulet S_1 ou se transformer par conversion intersystèmes et relaxation vibrationnelle dans un état excité triplet T_1 (multiplicité de spin $2S+1 = 3$).

La conversion interne (CI) est une transition non radiative entre deux états électroniques de même multiplicité de spin (transition $S_2 \rightarrow S_1$ ou $S_1 \rightarrow S_0$, par exemple) qui s'effectue en solution par une relaxation vibrationnelle qui permet à la molécule d'atteindre le plus bas niveau vibrationnel de l'état électronique final en cédant de l'énergie aux molécules de solvant.

La fluorescence ($S_1 \rightarrow S_0$) et **la phosphorescence** ($T_1 \rightarrow S_0$) sont des processus radiatifs issus respectivement des états S_1 et T_1 qui permettent le retour à l'état électronique fondamental S_0 , la molécule cédant son énergie sous forme d'un photon émis.

Expérimentalement, ces deux types d'émission se différencient par :

- Des longueurs d'onde d'émission plus courtes pour la fluorescence par rapport à celles observées pour la phosphorescence de la même molécule.
- Des durées de vie différentes des deux phénomènes, les états singulet (S_1) et triplet (T_1) de plus basse énergie.

Le Tableau I.1 résume les valeurs des durées de vie des divers processus décrits dans le diagramme de Perrin-Jablonski.

Tableau I.1 : Temps caractéristiques des différentes transitions moléculaires

Transition	Temps caractéristique (s)
Absorption	10^{-15}
Relaxation vibrationnelle	10^{-13} - 10^{-12}
Conversion interne	10^{-12} - 10^{-6}
Fluorescence	10^{-9} - 10^{-7}
Conversion inter-système $S \rightarrow T$	10^{-12} - 10^{-6}
Conversion inter-système $T \rightarrow S$	10^{-9} -1
Phosphorescence	10^{-6} - 10^{-3}

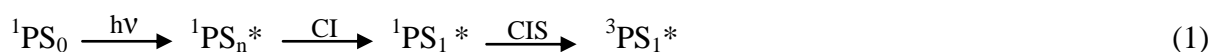
Le PS excité (PS^*), dans son état triplet (3T_1), et en présence d'oxygène moléculaire (3O_2), transfère son énergie conduisant ainsi à la formation d'une espèce appelée exciplexe. La desexcitation de cette espèce est relativement rapide en comparaison aux autres modes de relaxation depuis 3T_1 , induisant la production d'oxygène singulet et la régénération de PS.

L'oxygène singulet est considéré comme prépondérant dans les mécanismes impliqués dans la PDT. La production d'oxygène singulet par une molécule est donc devenu un des critères principaux de l'efficacité d'un PS, parfois au détriment d'autres propriétés favorisant la formation directe d'espèces actives par transfert électronique.

Un PS potentiel sera donc une molécule favorisant chacune des étapes conduisant au transfert d'énergie vers l'oxygène. Les premières règles moléculaires de conception des PS sont donc une forte absorption, une conversion inter-système efficace et une interaction forte avec les molécules voisines autres que le solvant.

II.2.2. Réactions photochimiques

Le PS, initialement à l'état fondamental singulet (1PS_0), après l'absorption d'un photon d'énergie $h\nu$ appropriée, est excité dans un des états singulets excités ($^1PS_1^*$, $^1PS_2^*$, ..., $^1PS_n^*$), états d'énergie supérieure. Par une succession de relaxations vibrationnelles (CI, CIS), le PS revient à son état excité de plus basse énergie $^1PS_1^*$. Par CIS, le PS peut également passer à un état triplet excité ($^3PS_1^*$, Equation 1)

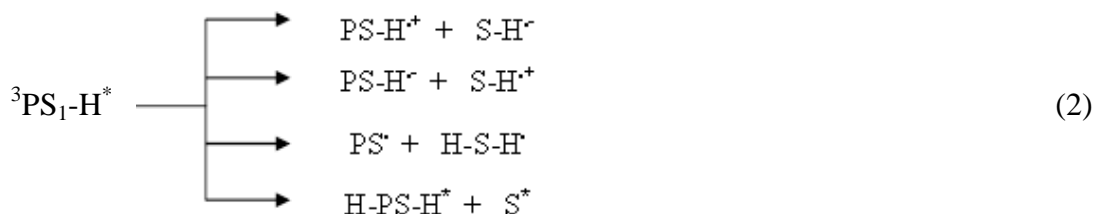


La durée de vie de l'état triplet 3T_1 est longue (de quelques μs à 1s, en fonction de l'environnement du PS) ce qui permettra au PS de générer des espèces photo-actives à partir des deux voies principales de photo-oxydation usuellement notées type I et II [25].

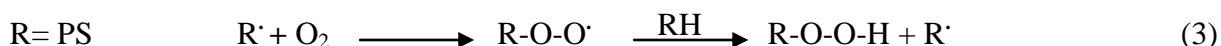
Ces deux types de photosensibilisation peuvent avoir lieu conjointement, et leur importance relative dépend des substrats et de la concentration en oxygène. Dans les deux types de photosensibilisation, la durée de vie des espèces réactives créées est courte, ce qui ne leur permet pas de diffuser loin de leur zone de formation. L'activité cytotoxique est donc localisée.

II.2.2.1. Type I

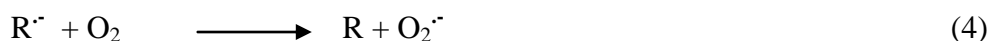
Dans les réactions photochimiques de type I, des radicaux libres ou des ions radicaux sont générés, suite au transfert d'un électron ou d'un atome d'hydrogène entre le PS et le substrat noté (S-H) (Equation 2).



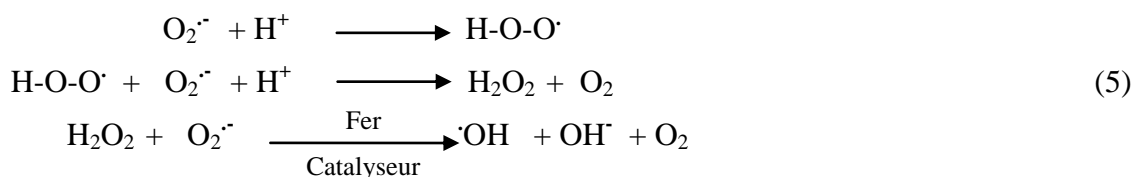
Les espèces radicalaires ainsi générées sont susceptibles de réagir rapidement avec l'oxygène moléculaire présent dans le milieu pour former des radicaux peroxydes, initiant ainsi une chaîne d'auto-oxydation (Equation 3).



Les anions radicaux du PS peuvent également réagir avec l'oxygène. Dans ce cas, le transfert d'électron, qui se produit entre les deux réactifs, aboutit à la formation de l'anion radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Equation 4).



L'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ peut ensuite réagir directement avec différents substrats ou agir comme précurseur d'autres ROS (Equation 5). Il intervient notamment dans la formation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et du radical hydroxyl ($\cdot\text{OH}$).



II.2.2.2. Type II

Les réactions photochimiques de type II reposent sur un transfert d'énergie. Ces réactions nécessitent la présence d'oxygène dès les premières étapes du processus. Il faut également que la différence d'énergie entre $^3\text{PS}_1^*$ et $^1\text{PS}_0$ soit supérieure à la différence d'énergie entre $^1\text{O}_2^*$ et $^3\text{O}_2$, soit 94 k J.mol^{-1} [26]. Suite aux mêmes étapes initiatrices que pour les réactions de type I, soient IC et ISC, le PS est dans l'état triplet excité $^3\text{PS}_1^*$.

Du fait de la présence de deux électrons célibataires dans sa couche externe, l'oxygène moléculaire à l'état fondamental, se trouve à l'état triplet ($^3\text{O}_2$). Un transfert d'énergie est alors possible entre $^3\text{PS}_1^*$ et $^3\text{O}_2$ (transition permise car ce sont des états de même multiplicité), il y a alors formation d'oxygène singulet et retour du PS à son état énergétique fondamental ($^1\text{PS}_0$, Equation 6).



L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ est une espèce très réactive qui est susceptible de réagir avec des substrats cellulaires situés dans son proche environnement. Sa durée de vie est de $3\mu\text{s}$ en milieu aqueux et de $25\text{-}100\mu\text{s}$ dans les milieux organiques non polaires, que constituent des modèles de régions lipidiques de cellules, par exemple [27].

L'oxygène singulet peut également réagir avec le PS à l'état fondamental pour former des produits d'oxydation dits « photoproduits », lors d'un processus de photoblanchiment ou de photomodification ce qui provoque une extinction plus ou moins rapide de la fluorescence du PS. Certains de ces produits peuvent être, eux-mêmes, phototoxiques.

La compétition entre ces deux mécanismes (types I et II) est principalement contrôlée par deux paramètres : la nature du photosensibilisateur et la concentration en oxygène. Dans les deux types de photosensibilisation, la durée de vie des espèces réactives est courte, ce qui limite leur diffusion loin de leur zone de formation.

III. Les photosensibilisateurs

La PDT se base sur la triple combinaison de la lumière, de l'oxygène et d'un PS. Ce dernier, au même titre que l'oxygénation des tissus et les caractéristiques de la source de lumière, joue un rôle déterminant dans le succès du traitement. Bien que l'effet photodynamique ait été observé pour de très nombreuses molécules aux profils très variés, l'histoire de la PDT reste étroitement liée aux porphyrines et plus généralement aux macrocycles tétrapyrroliques. Les PS tétrapyrroliques développés sont usuellement classifiés par ordre de leur découverte ou invention. On définit trois générations de PS :

- Les PS de 1^{ère} génération: Il s'agit de l'ensemble des premiers PS historiquement utilisés, composés de l'HpD et du produit commercial dérivé Photofrin®.

- Les PS de 2^{ème} génération: cette catégorie regroupe les porphyrines, les chlorines et les phtalocyanines sous forme substituée ou non par des groupements ou fonctions chimiques afin de modifier leurs propriétés chimiques et/ou photophysiques.
- Les PS de 3^{ème} génération sont tous les PS conjugués à un vecteur permettant ainsi un ciblage actif des cellules tumorales.

III.1. Les PS de 1^{ère} génération

Les PS de 1^{ère} génération sont issus de l'hématoporphyrine (Hp) et de l'hématoporphyrine dérivée (HpD). L'HpD et sa version commerciale Photofrin®, représentés sur la Figure I.3, fut le 1^{er} PS à obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM) et est, à ce jour, le PS le plus utilisé en clinique. Il est habituellement injecté par voie intraveineuse, injection suivie d'une irradiation à 630 nm deux à trois jours plus tard.

Cependant, il s'accumule dans la peau, entraînant des complications en cas d'exposition à la lumière du jour qui se traduisent par de sévères réactions cutanées, voire des brûlures.

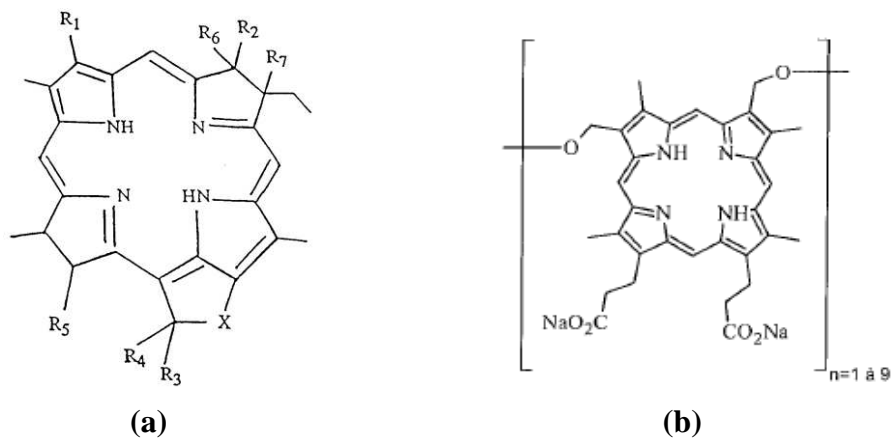


Figure I.3 : Structure chimique de (a) la HpD et (b) sa version commerciale Photofrin®

Actuellement, le Photofrin® présente une bonne efficacité sur un large nombre de tumeurs, il est indiqué pour le traitement des récives des cancers bronchiques et des cancers de l'œsophage.

III.2. Les PS de 2^{ème} génération

Le développement de PS de 2^{ème} génération s'est focalisé sur la famille des porphyrines. En effet, ce type de composé reste depuis les années 70 le plus intéressant pour des applications *in vivo*.

Les PS 2^{ème} génération les plus utilisés sont les porphyrines, les chlorines et les bactériochlorines.

Tous ces composés sont caractérisés par une bande d'absorption située entre 600 et 800 nm (bande Q). Cette bande est située aux alentours de 630 nm pour les porphyrines, alors qu'elle se trouve à 650 nm pour les chlorines et vers 710 nm pour les bactériochlorines.

En plus de leurs propriétés de fluorescence, les dérivés de porphyrines montrent de bons rendements quantiques de production d'oxygène singulet. Citons par exemple le Foscan® et la Visudyne® représentés sur la Figure I.4.

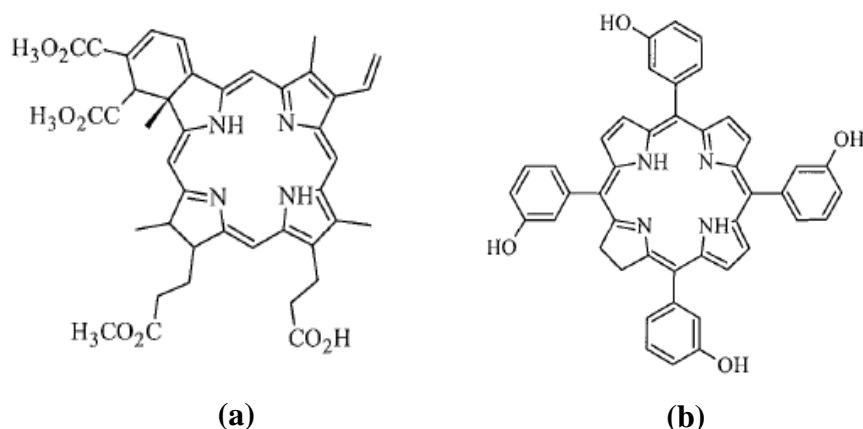


Figure I.4 : Structures chimiques du Visudyne® (a) et de la Foscan® (b)

Le **Foscan®** (mTHPC) est un dérivé de chlorine. Cette molécule est photoactivée à 652 nm, avec une densité d'excitation de 10 J/cm^2 , dose suffisante pour causer des dommages tissulaires. Par conséquent le temps d'irradiation est dix fois moindre par comparaison à d'autres PS. Cependant, le Foscan® présente une faible sélectivité pour les tissus tumoraux, l'irradiation des tissus malades doit donc être extrêmement précise et localisée afin de ne pas causer de dommages aux tissus sains avoisinants.

Il est couramment utilisé contre les cancers de l'oesophage, du poumon, du larynx ou de la peau [28].

Le **Visudyne®** est un dérivé de benzoporphyrine recommandé par l'administration américaine Food and Drug Administration (FDA), autorisé en Europe pour le traitement des néovascularisations de la rétine [28], et en essais cliniques de phase III en Amérique du Nord pour le traitement du cancer de la peau.

Il existe aujourd'hui d'autres classes de molécules présentant un réel intérêt en PDT, comme les phtalocyanines, les texaphyrines, l'acide aminolévulinique ou encore l'hypéricine.

Le **5-ALA**, acide 5-aminolévulinique, est l'un des photosensibilisateurs les plus largement étudiés pour la PDT au cours des dix dernières années. Il s'agit d'un précurseur d'un photosensibilisateur puissant, la protoporphyrine IX (PpIX). Par réaction intracellulaire, la présence du 5-ALA concentré favorise la formation de PpIX, PS endogène [29].

Le 5-ALA présente un certain nombre d'avantages importants par rapport à d'autres composés utilisés en PDT : il peut être utilisé en application locale sous forme de crème, de gel, ou en solution liquide pour instillation, et même en spray ou aérosol pour inhalation, mais aussi systématiquement sous forme de boisson en solution aqueuse (Figure I.5). Comme il s'agit d'une substance endogène, les effets secondaires sont minimes. La PpIX est produite au niveau des cellules cibles, ce qui minimise les effets collatéraux de l'irradiation.

Parmi les restrictions concernant l'utilisation de ce photosensibilisateur en PDT, figure la pénétration limitée du 5-ALA dans le tissu tumoral. L'estérification du 5-ALA avec des chaînes aliphatiques de différentes longueurs le rend plus lipophile et renforce sa captation au niveau des tissus superficiels et profonds.

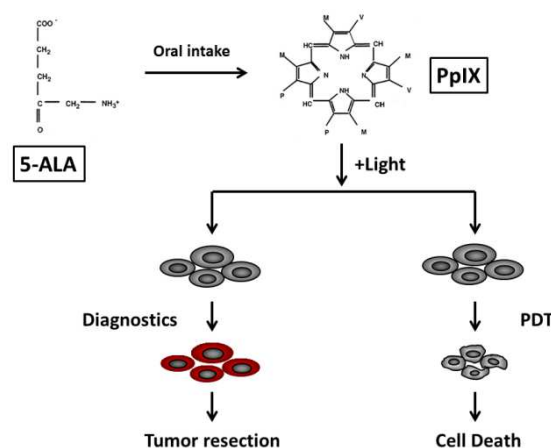


Figure I.5 : Structures chimiques du 5-ALA et de la protoporphyrine IX et leurs actions [30, 31]

Ces PS, bien que présentant des avancées considérables par rapport à la première génération, sont encore loin de constituer des PS idéaux. De nombreux paramètres peuvent et doivent encore être optimisés telles les propriétés d'absorption de la lumière, la production d'oxygène singulet, la biodistribution dans l'organisme, le ciblage de la tumeur ou encore les processus de métabolisme permettant son élimination.

Pour conclure, l'utilité clinique du photosensibilisateur doit répondre aux critères chimiques, photophysiques et biologiques suivants :

- Une toxicité en obscurité faible, voire nulle et une toxicité sous irradiation élevée.
- Un coefficient d'extinction molaire élevé, à des longueurs d'onde situées dans la région rouge/proche infrarouge (600-850 nm) du spectre de la lumière visible, afin de permettre une pénétration tissulaire et une absorption de lumière optimale par le PS.
- Un rendement quantique en production des radicaux oxygène singulet élevé. Pour ce faire, le rendement quantique ainsi que la durée de vie de l'état triplet $^3\text{PS}_1^*$ doivent être élevés. De plus, l'énergie de l'état triplet doit être telle que le transfert d'énergie à l'oxygène soit le plus efficace possible.
- Une solubilité dans l'eau élevée, afin de faciliter l'administration systémique et éviter l'agrégation qui ferait baisser le rendement quantique en oxygène singulet.
- Une forte sélectivité de localisation tumorale.
- Une élimination facile du corps.

Une sélection de quelques PS ayant obtenu une AMM est présentée dans le Tableau I.2.

Tableau I.2 : Exemples de PS utilisés cliniquement [32]

Nom commercial	Photosensibilisateur	$\lambda_{\text{max absorption}}$ (nm)	AMM
Photofrin®	HpD, Porfimère de Sodium	630	Oui ^a
Levulan®	Acide 5-aminolévulinique (5-ALA), précurseur de la Protoporphyrine IX	635 (PpIX)	Oui ^b
Metvix®	Ester d'ALA, précurseur de la Protoporphyrine IX	635	Oui ^c
Foscan®	Tempofrin, métatétrahydroxyphénylchlorine	652	Oui ^d

Hexvix®	Acide Hexyl δ -aminolevulinique	635 (PpIX)	Oui ^e
Visudyne®	Verteoporfin, Dérivé monoacide de la benzoporphyrine	690	Non
Photosense®	Phtalocyanine d'aluminium	670	Oui ^f
SnET2®	Etiopurpurine d'étain	660	Non
Xcytrin®	Texaphyrine	732	Oui ^g
Photoditazine®	Chlorine e6	662	Oui ^f
Benzvix	Acide benzyl δ - aminolevulinique	635	Non
BOPP	Protoporphyrine borée	630	Non
Lu-Tex	Texaphyrine de lutetium	720-760	Non
Pc-4	Phtalocyanine-4	670	Non
Photochlor	2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyropheo-phorbide-alpha	650	Non

a : Canada, Etats-Unis (USA), Royaume-Uni (RU) et union Européenne (UE) ; b : UE et USA ; c : UE et Australie ; d : UE, Islande et Norvège ; e : UE ; f : Russie et g : USA

III.3. Les PS de 3^{ème} génération

Bien que les PS de 2^{ème} génération présentent de meilleures propriétés chimiques et photophysiques par rapport aux PS de 1^{ère} génération, des progrès restent à faire pour améliorer leur sélectivité vis-à-vis des tissus cibles. Le développement de PS de 3^{ème} génération consiste à élaborer des composés qui vont créer des dommages sélectifs des cellules tumorales. Des études précliniques démontrent que les PS actuels sont présents dans les tissus tumoraux en quantité beaucoup plus importante que dans les muscles et la peau [33].

Cependant, même s'ils montrent une légère préférence pour les tissus tumoraux, les PS souffrent d'un manque de sélectivité qui nuit à leur utilisation. Afin de résoudre ce problème, diverses techniques de ciblage des PS ont été et sont encore beaucoup étudiées.

En effet, augmenter l'accumulation tumorale des molécules photosensibilisatrices tout en limitant leur incorporation dans les cellules saines permettrait de réduire les effets indésirables. Des recherches portent sur des photosensibilisateurs dits de 3^{ème} génération.

Le principe est de greffer sur des molécules de 2^{ème} génération des groupements chimiques visant à induire un ciblage actif (adressage) ou de transporter le PS dans une formulation qui induit un ciblage passif (vectorisation).

III.3.1. Ciblage actif

Le ciblage actif est une technique qui s'appuie sur les particularités phénotypiques et fonctionnelles des cellules cancéreuses. En effet, les tissus cancéreux sont caractérisés par une altération de l'expression des récepteurs, des protéines et des lipides de surface.

Le ciblage actif repose sur l'interaction spécifique entre le PS et les récepteurs des cellules tumorales. Le PS est couplé à une molécule d'adressage via un « espaceur » présentant une forte affinité avec les récepteurs spécifiques reconnaît les marqueurs surexprimés à la surface des cellules tumorales. Cette technique permet donc l'accumulation des PS dans les cellules cancéreuses au dépend des cellules saines, renforçant ainsi la sélectivité et l'efficacité de la PDT.

Le ciblage tumoral peut être réalisé par adressage par des sucres, des anticorps, des protéines ou peptides, des stéroïdes, des toxines ou encore des facteurs de croissance épidermiques. Les stratégies les plus développées sont présentées ci-dessous.

III.3.1.1. Adressage par des sucres

L'adjonction de sucres sur des PS de type cycles tétrapyrroliques permet de rendre le PS plus hydrophile [34]. De plus, l'activité de croissance accrue des cellules cancéreuses se traduit souvent par une glycolyse augmentée par rapport aux cellules saines [35]. Cette stratégie d'adressage permet alors d'assimiler activement les sucres greffés à la surface des PS par endocytose en milieu aqueux [36, 37].

III.3.1.2. Utilisation d'anticorps monoclonaux

Cette stratégie consiste à produire un anticorps spécifique d'un antigène tumoral et à l'utiliser afin de détruire les cellules tumorales [38] ou à le faire produire par l'organisme du patient [39].

III.3.1.3. Adressage par des peptides

Les peptides utilisés en tant que molécules de ciblage peuvent servir à internaliser un PS de manière spécifique, à modifier sa localisation intracellulaire, ou encore à s'assurer de son activation dans le stroma tumoral.

Les peptides sont des séquences de moins de cinquante acides aminés qui peuvent interagir de manière spécifique avec différentes protéines, notamment avec celles qui constituent les récepteurs. Leur petite taille offre l'avantage d'un contrôle plus facile du site de greffage d'une molécule thérapeutique, permettant ainsi d'éviter d'éventuels problèmes de dénaturation. Les peptides ainsi utilisés en tant que molécules de ciblage peuvent alors servir à internaliser un PS de manière spécifique mais aussi à modifier sa localisation intracellulaire, ou encore à s'assurer de son activation dans le stroma tumoral. Citons quelques exemples de séquences peptidiques : H-Arg- Gly-Asp-OH (RGD) et H-Ala-Thr-Leu-Trp-Pro-Pro-Arg-OH (ATWLPPR), qui permettent de cibler les néovaisseaux.

III.3.1.4. ciblage du récepteur à l'acide folique

L'acide folique, connu également sous le nom de vitamine B9, agit en tant que coenzyme dans le transfert de groupements méthyles et joue un rôle important dans la réplication de l'ADN. Son récepteur (RAF) est surexprimé dans de nombreux cancers humains, notamment les tumeurs cérébrales ou pulmonaires [40]. Dans les cancers ovariens, il constitue un marqueur de choix. De plus, l'expression du RAF est très limitée au niveau des tissus sains.

Le composé développé par Schneider et *al.* [41], constitué d'une porphyrine reliée à une molécule d'acide folique par un l'espaceur 1,6-hexyldiamino, a montré une phototoxicité augmentée comparé au PS seul.

III.3.2. Ciblage passif

Les PS présentent une sélectivité relative envers les cellules cancéreuses due à la nature même de la tumeur et du stroma environnant. La structure chimique des PS joue aussi un rôle important. Grâce à ses propriétés (charge, taille, balance hydrophile/hydrophobe), le PS peut générer des interactions préférentielles avec le milieu particulier que constitue le stroma tumoral. Cependant, il est possible d'améliorer la sélectivité du PS envers les tissus à traiter par un choix adéquat de vecteurs, appelés aussi transporteurs. Un bon transporteur ne doit

altérer ni l'efficacité, ni l'affinité du PS pour les cellules cancéreuses. Il doit être aussi biodégradable et sans immunogénicité.

Il existe deux types de transporteurs : les vecteurs incorporants qui englobent le PS au sein de leur structure (liposomes, micelles, nano-objets) et les vecteurs non-incorporants (lipoprotéines basse densité ou LDL, albumine) qui sont liés au PS de façon covalente.

III.3.2.1. Les vecteurs non-incorporants

Les lipoprotéines basse densité (ou LDL pour Low Density Lipoproteins) jouent un rôle important dans la sélectivité des PS hydrophobes. En effet, il a été démontré par Allémann et *al.* [42] qu'après administration, les PS sont véhiculés dans le flux sanguin au sein d'agrégats de LDL présentant des apoprotéines à leurs pôles qui sont reconnus par des récepteurs spécifiques.

L'albumine, protéine la plus abondante du sérum humain, a aussi été utilisée comme transporteur non-incorporant. En effet, un taux élevé d'albumine a été décelé dans les masses tumorales dû à l'augmentation du métabolisme et à la prolifération excessive des cellules cancéreuses. Ainsi, une association liant le PS à l'albumine pourrait être réalisée. Cependant, de telles molécules possèdent une très faible solubilité dans les milieux aqueux, ce qui pose un problème quant à leur mode d'administration.

III.3.2.2. Les vecteurs incorporants

Les liposomes sont des vésicules phospholipidiques pouvant incorporer différentes molécules lipophiles ou hydrophiles. Cette stratégie de vectorisation rencontre un certain intérêt en PDT. Lasalle et *al.* ont étudié les propriétés pharmacologiques du Foslip, une formulation de Foscan® incorporé dans des liposomes et ont constaté un gain d'activité d'un facteur 4 comparé à la formulation classique du PS [43]. Bien que l'accumulation du PS dans la tumeur soit plus lente lors de l'utilisation des liposomes (72 heures contre 24-48 heures pour le traitement classique) [44], l'efficacité maximale du traitement a été déterminée à 6 heures après injection, alors que le PS se situe dans les cellules tumorales et vasculaires.

Les micelles améliorent la solubilité du PS grâce à l'utilisation d'un agent émulsifiant qui favorise l'internalisation de ce dernier dans la cellule. Master et *al.* ont encapsulé la phtalocyanine Pc4 dans des micelles et constaté une phototoxicité significativement améliorée comparée à celle de la formulation standard du Pc4 en solution dans le DMF [45].

Les nanoparticules (NP) représentent une alternative aux liposomes et autres micelles. Plusieurs types de particules sont utilisés : les nanoparticules métalliques, les polymères, etc. Elles se distinguent par leur taille et par la localisation du PS au sein de leur structure.

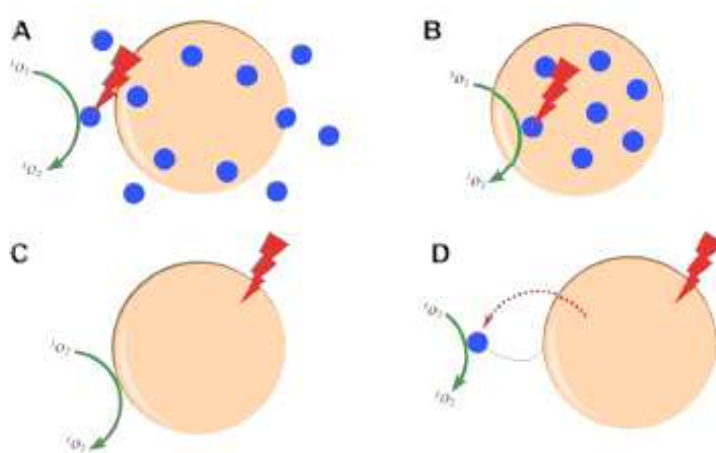


Figure I.6 : Différents modes de production d'oxygène singulet par les NP [46]

La NP peut agir comme un transporteur dont la pénétration dans la cellule entraîne la libération du PS augmentant son internalisation (Figure I.6.A), Le PS peut rester lié à la NP à partir de laquelle il génère l'oxygène singulet (Figure I.6.B). La NP peut aussi directement générer l'oxygène singulet à l'origine de l'effet photodynamique (Figure I.6.C). Enfin, la NP peut absorber l'énergie lumineuse et la transmettre au PS qui génère l'oxygène singulet (Figure I.6.D).

IV. Les nanoparticules comme transporteurs de PS

L'utilisation des NP comme transporteurs de PS est une approche prometteuse qui offre de nouvelles voies d'exploration en PDT. En effet, les nanomatériaux présentent plusieurs avantages qui leur permettent d'être considérés comme candidats potentiels d'un agent PDT idéal. Cependant, il faut prendre en considération les exigences suivantes [47]:

- Le choix des nanoparticules : une taille bien appropriée et une efficacité d'up conversion élevée, le cas échéant.
- La sélection des PS : un recouvrement entre les pics d'absorption du PS et d'émission des nanoparticules et tenir compte du caractère hydrophobe ou hydrophile du PS.

- La sélection de la matrice : la matrice doit être biocompatible, facile à fonctionnaliser et perméable aux molécules comme l'eau et l'oxygène et pouvoir laisser diffuser l'oxygène singulet généré.
- La stratégie d'incorporation : pour une PDT efficace, une capacité de chargement de PS incorporé élevée avec un pourcentage de migration de PS le plus bas possible et une synthèse simple et reproductible.

IV.1. Choix des nanoparticules

Dans le cadre d'une amélioration de la PDT, que ce soit une meilleure sélectivité, un adressage plus efficace, ou encore une action photodynamique accrue, l'utilisation des nano-objets émerge comme étant une approche prometteuse dans ce domaine thérapeutique, mais également dans le domaine de la détection tumorale.

Les NP présentent de nombreuses propriétés intéressantes qui peuvent être fonction de leur nature, de leur taille et de leur composition. En effet, sous l'appellation nanoparticule, on retrouve des composés de différente nature, et dont la taille peut varier de quelques nanomètres à quelques microns. Typiquement cela peut être des métaux, des lipides, des oxydes métalliques ou encore des polymères organiques. Le choix de composition et de dimension des nanoparticules va être directement lié à l'usage que l'on souhaite en faire.

i) **Les polymères biodégradables** représentent une alternative aux liposomes et autres micelles. Ils possèdent comme avantages un haut chargement en PS, un contrôle du relargage des PS, une grande variété de matériaux utilisables et des procédés de fabrication industriels. Citons comme exemple de polymères très utilisés : le polyglycolide (PGA), le polylactide (PLA) et leur co-polymère poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) [48-50].

Les gros polymères biodégradables sont plus utilisés comme transporteurs de PS que les nanoparticules de plus petite taille, et ceci est dû à la limitation des effets secondaires du traitement. La surface, la morphologie et la composition des matrices polymères peuvent être facilement optimisées pour la synthèse de nanoparticules biocompatibles avec une cinétique de relargage de PS contrôlée.

L'équipe d'Allémann a réalisé plusieurs formulations de PS encapsulés dans des polymères. ZnPcF₁₆, PS de 2^{ème} génération a été incorporé dans des nanoparticules de poly(éthylène glycol) enrobé par l'acide polylactide (PEG-coated PLA-NP) [51]. La taille moyenne des nanoparticules obtenues était de l'ordre de 1000 nm et le taux d'encapsulation du PS était seulement de 0,61%. Néanmoins, l'activité photodynamique de cette formulation, testée sur des souris portant les cellules cancéreuses EMT-6, est nettement améliorée par rapport à une émulsion du même PS libre. Comme autre exemple, Moreno *et al.* ont synthétisé des nanoparticules polymériques de polyacrylamide (PAA) encapsulant le [Ru(dpp(SO₃)₂)₃] [52]. Les nanoparticules obtenues sont uniformes et de diamètre moyen de l'ordre de 25 nm présentant un rendement quantique de production de ¹O₂ élevé. Cependant, la matrice PAA « quenche » l'émission du ¹O₂. Ils ont, par la suite, modifié la surface de ces NP par des fonctions amines (AFPAA) et ont constaté que les groupements amines introduits peuvent réagir avec les récepteurs spécifiques des cellules cancéreuses.

ii) Une alternative inorganique à ces polymères existe par le biais de billes de silice, **matière inorganique inerte**. Ces billes présentent l'avantage d'avoir une taille modulable, et d'être miscibles en milieu aqueux, extrêmement stables et biocompatibles. De plus, la chimie très riche du silicium permet d'envisager facilement des fonctionnalisations. Des molécules organiques telles que les PS peuvent ainsi être encapsulées au sein de ces particules par des traitements lors de la synthèse ou de surface appropriés.

Le groupe de Prasad *et al.* a notamment travaillé sur le HPPH encapsulé dans des nanoparticules de silice de 30 nm via l'hydrolyse du triéthoxyvinylsilane [53]. L'irradiation directe du PS à 650 nm a permis la génération de l'oxygène singulet causant la mort cellulaire et laissant moins de 10% de cellules HeLa vivantes.

Cependant, l'intérêt des particules inorganiques reste dans le cas de la silice relativement limité comparé aux polymères. En revanche, utiliser comme vecteurs de photosensibilisateur des particules présentant des propriétés optiques intéressantes, pouvant être couplées à celle du PS sera bien plus alléchant.

iii) C'est le cas des **nanoparticules aux propriétés optiques**. Ainsi, les nanoparticules métalliques (MNP) présentent un bon potentiel pour la PDT. Elles vont présenter des vibrations de phonons particulières dans le domaine visible, et elles peuvent être synthétisées avec de très faibles tailles allant de 1 à quelques nm. Les MNP possèdent une surface spécifique élevée et par conséquent peuvent véhiculer une large dose de PS.

De plus, le PS étant adsorbé à la surface des MNP, l'oxygène singulet produit diffuse plus facilement vers les cellules tumorales. Russel et ses collègues ont par exemple synthétisé des nanoparticules d'or de taille entre 2 et 4 nm avec des phtalocyanines (Pc), comme PS, adsorbées en surface [54]. Ces nanoparticules décorées ont généré 50% de $^1\text{O}_2$ en plus en comparaison à la phtalocyanine libre. Le rendement quantique de génération de $^1\text{O}_2$ du Pc libre dans le toluène et des nanoparticules Au-Pc est passé de 0,45 à 0,65.

Les nanoparticules semi-conductrices vont présenter des propriétés optiques particulières liées au confinement quantique, effet qui se traduit par une augmentation de l'écart entre le niveau de valence et le niveau de conduction [55, 56]. Il a été montré que les nanoparticules semi-conductrices émettent de l'ordre de 20 fois plus de photons que les molécules organiques [57]. De plus, grâce à leurs dimensions nanométriques, elles interagissent de manière unique avec les systèmes biologiques à l'échelle moléculaire. Elles sont largement utilisées comme sonde biologique, développées pour le ciblage biologique, mais pas encore pour la PDT.

D'autres particules, développées également comme sondes biologiques, sont envisagées. Ce sont des particules dopées par des ions terres rares. La grande variété de matrice hôte, de même que d'ions terres rares pouvant être introduits rendent ces particules particulièrement attrayantes. Par exemple, l'enrobage des nanoparticules de NaYF_4 codopé Yb, Er par du polyéthylèneimine (PEI) encapsulant du ZnPc, via des liaisons électrostatiques a été réalisée par Chatterjee et *al.* [58]. Pour augmenter la solubilité du PS et le transfert d'énergie entre les NP et le PS, la même équipe a procédé à la synthèse des nanoparticules de NaYF_4 enrobé par une fine couche de silice mésoporeuse imprégné par ZnPc. En présence des cellules tumorales MB49 caractéristiques du cancer de la vessie, une irradiation de 5 minutes au laser à 980 nm des nanoparticules a été suffisante pour activer le transfert d'énergie conduisant à la génération de l'oxygène singulet suivi par une cytotoxicité enlevée [59].

Ces nanoparticules présentent également un caractère non immunogénique, c'est à dire qu'elles n'engendrent pas de réponse immunitaire. De plus, elles peuvent être optiquement transparentes, ce qui permet l'activation du PS. Enfin, une des propriétés les plus intéressantes est que ces nanoparticules peuvent fonctionner comme des plateformes multifonctionnelles, et ainsi permettre avec un seul type d'objet, de combiner une stratégie d'adressage actif de l'imagerie et de la thérapie.

IV.2. La sélection des PS

Comme nous l'avons déjà dit dans le paragraphe A.III.3, un PS idéal doit répondre aux exigences suivantes :

- Une composition stable et facile à synthétiser ou une disponibilité aisée sur le marché.
- Une faible toxicité sous obscurité.
- Un fort coefficient d'extinction molaire dans la région rouge / proche infra-rouge et un rendement quantique de production de $^1\text{O}_2$ élevé sous irradiation.
- Une faible agrégation et une forte sélectivité et spécificité de détection tumorale.

Dans notre étude nous avons choisi la phtalocyanine de zinc (ZnPc), qui appartient à la catégorie des photosensibilisateurs de seconde génération, ayant des propriétés très intéressantes et une action accrue en PDT grâce à leur phototoxicité élevée. En effet, le recouvrement entre l'émission de l' Er^{3+} et l'absorption du ZnPc (Figure I.7) fait de lui un bon candidat. L'effet de l'interaction Er-ZnPc sera détaillé dans le chapitre IV.

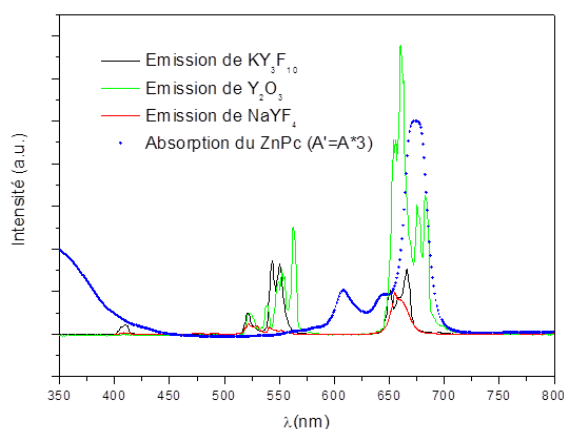


Figure II.8 : Spectres d'émission des solutions des différents matériaux synthétisés dans le PEG (excitation à 980nm) et spectre UV-Visible du ZnPc dans la pyridine

Les phtalocyanines (Pcs) sont des porphyrines de synthèse (tétra benzo [5,10,15,20] tétraazaporphyrines), qui n'existent que sous forme de traces à l'état naturel. Il s'agit de macrocycles aromatiques plans de 18 électrons π comprenant 4 groupements indoles liés en position 1-3 par des ponts azones : macrocycle tétraazaisoindole (Figure I.8).

La très forte délocalisation bidimensionnelle des électrons π sur ces macrocycles leur confère des propriétés physiques uniques. Par ailleurs, les phtalocyanines sont stables chimiquement et thermiquement. Elles ont la possibilité d'incorporer au sein de leur cavité 70 différents cations métalliques, et peuvent être greffées par différents substituants.

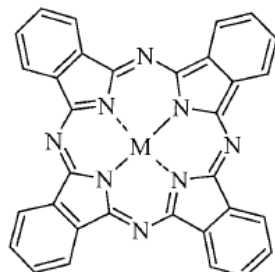


Figure I.8 : Formule chimique d'une métallophtalocyanine de métal M

La nature de l'ion métallique central influence les propriétés photophysiques des Pcs (rendement quantique de l'état triplet, durée de vie). La complexation avec des ions paramagnétiques comme Cu^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , VO^{2+} (complexe vanaly1), Cr^{3+} ou Pd^{2+} conduit à des Pcs dont la durée de vie de l'état triplet est courte, proche de la nanoseconde, rendant la Pc inactive. Cependant, la substitution périphérique de ces chromophores - aux durées d'état excité plutôt courtes - par des radicaux organiques paramagnétiques, du type radical nitroxyde, permet d'obtenir des molécules avec une activité phototoxique.

A l'inverse, des ions métalliques diamagnétiques comme Zn^{2+} , Al^{3+} ou Ga^{3+} produisent des Pcs à haut rendement triplet ($\Phi_T > 0,4$) et à longue durée de vie ($\tau > 200 \mu\text{s}$). Ces niveaux triplets ont une énergie de $110\text{-}126 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, ce qui est amplement suffisant pour générer de l'oxygène singulet ($94 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) avec des rendements quantiques élevés, allant de 0,3 à 0,5 [60].

Les phtalocyanines monomériques ont un spectre d'absorption caractéristique avec une forte bande d'absorption vers 350 nm (bande de Soret), une bande d'intensité plus faible vers 600 nm, et un maximum à proximité du rouge du spectre visible à environ 680 nm. Ces dernières bandes sont appelées bandes Q. La localisation de ces bandes Q dépend de la substitution de la Pc, et varie entre 600 et 800 nm. C'est dans cette région des bandes Q que la pénétration tissulaire du spectre visible est la meilleure. La pénétration tissulaire de la lumière est de 1mm à la longueur d'onde de 400 nm, alors qu'elle passe à 10 mm à 630 nm. La lumière bleue ne pénètre pas assez profondément les tissus, la bande d'absorption de Soret est donc inutilisable pour les applications recherchées [60].

La phtalocyanine de zinc (ZnPc) possède une bande d'absorption Q à une longueur d'onde autour de 670 nm, longueur d'onde correspondant à une moindre opacité des tissus en comparaison avec les PS de 1ère génération comme le Photofrin® qui absorbe à 630 nm. Cependant, comme la plupart des PS, ZnPc est lipophile et dans les conditions physiologiques est insoluble dans l'eau, ce qui limite ses applications. Afin d'obtenir des solutions injectables, il est donc nécessaire de le formuler correctement [61].

Les phtalocyanines (Pc) émettent de la fluorescence à des longueurs d'onde supérieures à 650 nm [62]. La fluorescence des Pcs en milieu aqueux est rarement observée du fait de fortes interactions hydrophobes qui conduisent à la formation de molécules agrégées non fluorescentes. Le rendement quantique de fluorescence est en général assez faible pour les Pcs (inférieur à 0,28 dans l'éthanol). La perte d'énergie par fluorescence est donc limitée, et le retour à l'état fondamental se fait préférentiellement par le passage via l'état triplet excité recherché [60].

V. Les mécanismes d'éradication tumorale après la photothérapie dynamique

Les nombreux paramètres sur lesquels repose la PDT (nature et dose du PS ainsi que le temps d'incubation, la localisation intra-cellulaire, la dose lumineuse reçue, ...) donnent lieu à de multiples réponses qui s'échelonnent du niveau moléculaire au niveau tissulaire en passant par l'échelle cellulaire.

Après administration (par voie topique ou systémique) d'un PS chez un patient, la partie à traiter est irradiée afin de déclencher localement la cascade de réactions photochimiques décrites au paragraphe I.1.2. Trois mécanismes ont été identifiés comme contribuant à la régression et/ou la destruction tumorale et sont représentés sur la Figure I.9.

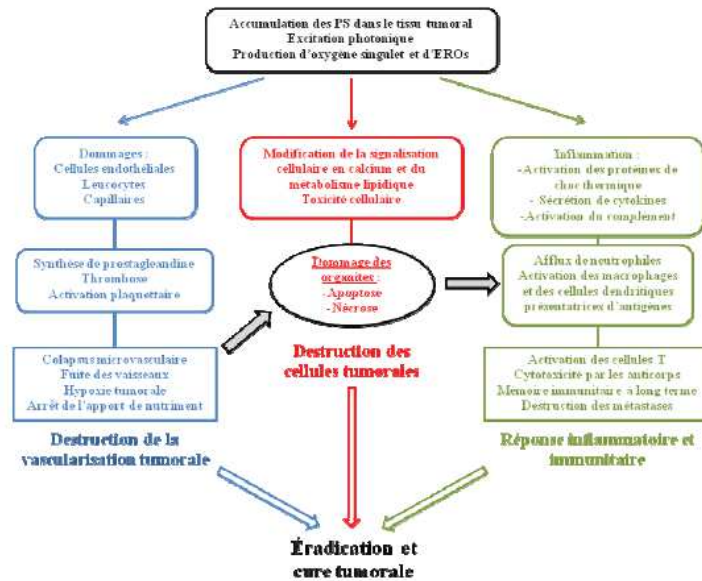


Figure I.9 : Mécanisme de destruction tumorale après PDT [63]

- Un effet direct de destruction des cellules tumorales par nécrose, apoptose ou autophagie [64].
- Un effet indirect par destruction de la vascularisation tumorale provoquant une privation de la tumeur en nutriments et oxygène et, par conséquent, la destruction tumorale.
- Un effet indirect dû à une réponse inflammatoire et immunitaire de l'hôte.

La dose lumineuse reçue par le PS est également un paramètre primordial à prendre en compte pour l'application de la PDT, elle dépend fortement du milieu traversé par le faisceau. En effet, l'excitation du PS par la lumière reste l'évènement déclencheur du processus. Sans excitation, il n'y a pas d'effet photodynamique entraînant la mort cellulaire. Or les tissus contiennent un certain nombre d'espèces absorbant ou diffusant la lumière contribuant à atténuer l'intensité du faisceau lumineux au fur et à mesure de sa pénétration dans les tissus.

V.1. Effets directs : la mort cellulaire

Les dommages issus de l'irradiation et des réactions d'oxydation qui en découlent, vont se traduire par deux effets principaux : l'apoptose ou la nécrose des cellules tumorales [64].

La **nécrose** est une forme rapide et violente de dégénération cellulaire, phénomène passif qui résulte le plus souvent d'une atteinte de la membrane cytoplasmique de la cellule. C'est une mort non programmée et accidentelle causée par des dommages physiques ou chimiques sévères. La cascade réactionnelle engendrée par un traitement PDT aboutit à une destruction des organites ainsi qu'une peroxydation des lipides membranaires, causant ainsi la perte de l'intégrité membranaire. La cellule gonfle alors par suite d'une entrée massive d'eau et d'électrolyte par pression osmotique, provoquant une rupture possible de la membrane cellulaire. Le cytoplasme se répand alors à l'extérieur, libérant ainsi les enzymes cytoplasmiques et lysosomales susceptibles de provoquer des réactions inflammatoires [65].

L'**apoptose** ou mort cellulaire programmée, est une dégénérescence physiologique et génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes pluricellulaires. Ce mécanisme permet d'assurer un équilibre constant limitant la prolifération cellulaire. Elle est régie à la fois par des signaux intra- et extra-cellulaires [66] (e.g. libération de cytochromes c et de TNF α , Tumor Necrosis Factor α) conduisant à des modifications biochimiques et morphologiques. Ce type de mort cellulaire n'engendre pas d'inflammation, contrairement à la nécrose car les membranes plasmiques ne sont pas détruites [67] au cours de ce processus, et la cellule va émettre des signaux qui vont permettre sa phagocytose par des globules blancs, notamment les macrophages.

Les mitochondries sont considérées comme les organites clés pour ce processus. Ces mitochondries subissent, au cours de ce mécanisme, diverses modifications morphologiques conduisant à libérer le cytochrome c dans le cytoplasme de la cellule [68]. Le cytochrome provoque, alors, une cascade de réactions d'activation d'enzymes appelées caspases effectrices [69]. Ces enzymes induisent la mort de la cellule par la destruction d'éléments nécessaires à sa survie.

Des études plus récentes suggèrent une troisième voie de destruction cellulaire qui pourrait être induite par la PDT : l'**autophagie** [70].

Le mécanisme d'autophagie est tout à fait particulier puisqu'il s'agit à la fois d'un processus de survie de la cellule et d'un mécanisme de mort programmée.

Ce processus permet le recyclage de composants cellulaires (mitochondries, appareil de Golgi, ...) en cas de manque de nutriments mais aussi celui des organelles endommagées (par exemple suite au traitement PDT). Les éléments endommagés sont enfermés dans des vacuoles, appelées autophagosomes, qui fusionnent ensuite avec les lysosomes pour former des autolysosomes, où les résidus sont dégradés.

La cellule trouve ainsi une source de nutriments ou répare elle-même les dégâts qu'elle a subi et continue à vivre. Il arrive néanmoins que les dégâts soient trop importants auquel cas le mécanisme décrit ici conduit à la mort cellulaire. Les cellules autophagiques sont morphologiquement différentes des cellules apoptotiques et les deux processus peuvent être différenciés aisément.

Les différents mécanismes de mort cellulaire, décrits précédemment, sont schématisés sur la Figure I.10.

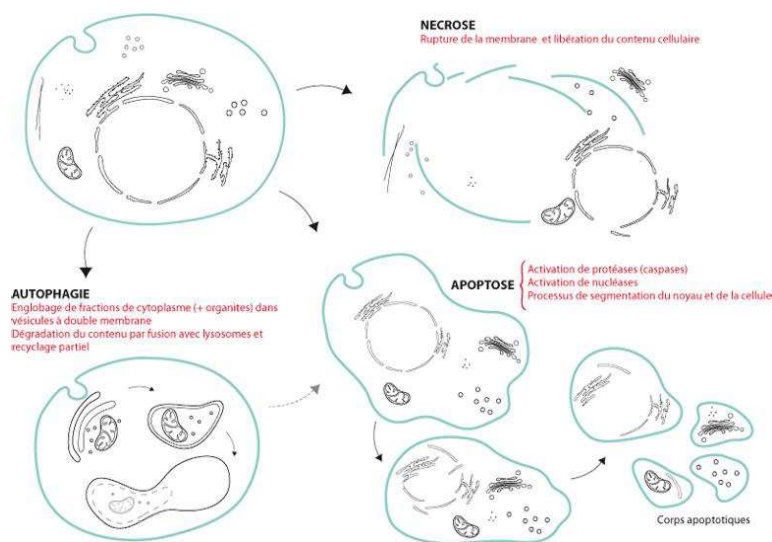


Figure I.10 : Caractéristiques physiques des phénomènes de nécrose, apoptose et d'autophagie

L'orientation vers l'un ou l'autre de ces trois processus de destruction cellulaire représentés sur la Figure I.10, dépend de la nature de la tumeur [71], de la dose de lumière (fluence, irradiance), mais aussi de la concentration, de la nature et surtout de la localisation intracellulaire du PS.

En revanche, il a été démontré que la combinaison de ces trois phénomènes est indispensable pour une éradication tumorale optimale à long terme [72]. Quelques tendances générales se dégagent de ces résultats bien qu'il soit difficile d'en tirer des règles précises.

V.2. Effets indirects : réactions immunitaires et inflammatoires et effets anti-vasculaires

Le développement du cancer se produit en plusieurs étapes au cours desquelles les cellules malades vont progressivement modifier les tissus environnants. Dans un premier temps, l'ADN d'une ou de plusieurs cellules subit une dégradation qui neutralise la réponse aux signaux régulant la prolifération ou la mort cellulaire. Cette (ou ces) cellule(s) se multiplie ensuite de manière anarchique, tout en perdant les caractéristiques structurales de la cellule d'origine. Par la sécrétion de diverses enzymes, les cellules cancéreuses modifient ensuite la matrice extracellulaire, favorisant l'invasion des tissus.

Si la tumeur est autonome dans son comportement répliatif, elle n'en demeure pas moins dépendante de son environnement direct. Le traitement photodynamique peut agir indirectement sur la tumeur en influant sur cet environnement.

IV.2.1. Effets anti-vasculaires

L'effet anti-vasculaire de la PDT consiste en des dommages vasculaires survenant après traitement et contribuant à long terme à l'éradication tumorale [73]. La PDT peut engendrer une destruction du réseau vasculaire de la tumeur, soit par action sur les cellules endothéliales, soit par rupture de l'équilibre des facteurs de coagulation, engendrant la formation de thrombi et la stase vasculaire. Au niveau des cellules endothéliales, l'effet photodynamique peut engendrer la nécrose, l'apoptose ou la déformation du cytosquelette [74]. Ces modifications entraînent des fuites sanguines hors des vaisseaux, et l'adhésion de plaquettes, de globules rouges et de neutrophiles sur les parois.

Ces adhésions contribuent à une réduction du diamètre interne des vaisseaux concernés, conduisant à des phénomènes de thromboses et de stases vasculaires.

Lorsque le PS est circulant, les espèces oxydantes générées peuvent rompre l'équilibre des facteurs régulant la coagulation. Les espèces réactives interagiraient notamment avec le monoxyde d'azote (NO), une molécule vasodilatatrice et anticoagulante [75].

La PDT engendre donc des fuites vasculaires, des thromboses et des vasoconstrictions au niveau des tissus irradiés. Ces phénomènes provoquent « l'asphyxie » de la tumeur : n'étant plus suffisamment vascularisée, les déchets métaboliques s'accumulent dans les cellules et

celles-ci deviennent hypoxiques. Les cellules tumorales sont éradiquées, conduisant à une réduction du volume tumoral [76].

IV.2.2. Effets immunitaires et inflammatoires

Les effets de la PDT anticancéreuse sur la réponse immunitaire se présentent sous deux aspects : un traitement PDT peut, en effet, induire soit une inflammation des cellules, soit une réponse antitumorale à long terme. Les modifications de la membrane plasmique ainsi que des membranes des organites cellulaires induites par la PDT sont issues d'une activation des phospholipases membranaires [77], qui dégradent rapidement les phospholipides environnants, et des médiateurs de l'inflammation sont déversés massivement dans le milieu extracellulaire [78].

Les signaux inflammatoires post-PDT initient une invasion massive de neutrophiles, suivis par les mastocytes qui faciliteront à leur tour l'arrivée des monocytes et des macrophages [79]. Des études ont démontré une diminution de 70% de l'efficacité de la PDT par le Photofrin® chez des animaux déficients en neutrophiles [63], ou encore l'impossibilité d'induire une seconde fois la même tumeur chez des rats traités avec succès par cette méthode. Ces résultats mettent en exergue l'importance de la réponse immunitaire dans le succès d'un traitement photodynamique et surtout le rôle qu'elle peut jouer dans la prévention d'apparition des métastases.

V.3. Effet de la dose lumineuse : interaction tissu-lumière

L'irradiation d'un tissu biologique par un laser génère une grande variété de mécanismes d'interaction. Les interactions d'origine thermique peuvent être représentées par un modèle de connaissance à 3 étapes successives:

- La première est de nature optique et permet la transformation de l'énergie lumineuse en source de chaleur.
- La seconde, thermique où l'énergie est transportée dans le tissu par transfert de chaleur entraînant une élévation de la température tissulaire.
- La dernière étape est biologique. Elle induit la dénaturation des constituants tissulaires et la création du dommage thermique.

Nous nous intéressons, ici, principalement aux effets photochimiques de l'interaction tissu-lumière.

IV.3.1. Réflexion et réfraction

La réflexion et la réfraction sont régies par les lois de Fresnel [80]. Lorsqu'un faisceau de lumière passe d'un milieu à un autre, d'indice différent (comme l'air et la peau), une partie de ce faisceau est réfléchi au niveau de la frontière entre les deux milieux (phénomène de réflexion) alors qu'une seconde partie traverse cette frontière et pénètre l'autre milieu (phénomène de réfraction). Dans les milieux opaques, comme la peau, la réfraction est négligée face aux phénomènes d'absorption et de diffusion. La connaissance précise de la réflexion de la lumière par les tissus est une nécessité afin d'évaluer la quantité exacte d'énergie qui sera soit absorbée, soit diffusée dans le tissu.

IV.3.2. Absorbance et diffusion

Lorsqu'une onde électromagnétique incidente traverse un matériau non diffusif, son atténuation est seulement due au phénomène d'absorption. Lors de ce processus, l'énergie lumineuse peut être convertie en chaleur ou entraîner la photodisruption des molécules.

La plupart des molécules organiques présente une forte absorption dans l'ultraviolet. Les protéines, qui constituent 15 à 20% des cellules, absorbent aussi dans cette région avec un pic à environ 280 nm. L'hémoglobine prédominante dans les tissus vascularisés présente plusieurs pics d'absorption à 280 nm, 420 nm, 540 nm et 580 nm. Le spectre d'absorption de la mélanine, le plus important des chromophores de l'épiderme, décroît de façon quasi exponentielle en fonction de la longueur d'onde. L'absorption de l'eau est dominante dans la région infrarouge. Enfin, une fenêtre spectrale particulière apparaît entre 0.6 et 1.2 μm où la radiation pénètre profondément le tissu ce qui offre la possibilité d'atteindre des profondeurs importantes, typiquement de plusieurs millimètres. Il s'agit de la fenêtre thérapeutique.

La Figure I.11 représente les spectres d'absorption de molécules biologiques élémentaires : la mélanine, l'hémoglobine et l'eau.

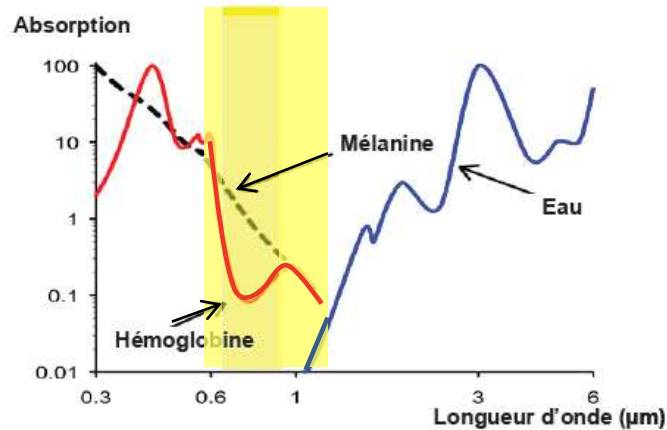


Figure I.11 : Spectres d'absorption des principales espèces biologiques des tissus

Cependant, la peau n'étant pas un milieu optique idéal, la lumière est soumise fortement à un phénomène de diffusion optique qui conduit à de multiples modifications de trajectoires liées aux réflexions, réfractions et diffractions présentes dans tout milieu hétérogène comme les tissus vivants. Dans le rouge et proche infrarouge, où l'absorption de la peau est relativement faible, la diffusion est le mécanisme optique dominant. Ce phénomène conduit à une plus forte pénétration de la lumière en profondeur et par conséquent à des volumes illuminés plus importants.

VI. Conclusion

Les photosensibilisateurs se sont avérés être d'un grand intérêt dans l'éradication des tissus pathologiques. Cependant, la PDT n'est pas encore devenue un traitement standard. Ses faiblesses résident dans son manque de sélectivité tissulaire, dans la difficulté d'administration du PS et de la lumière et enfin d'une insuffisance de pénétration en profondeur des effets de la PDT.

La localisation des PS et leur action sur les cibles cellulaires sont influencées par la structure physicochimique de la molécule, et en particulier par son degré d'hydrophobie. Néanmoins, si l'hydrophobie est un caractère qui conditionne l'efficacité des PS, les PS amphiphiles (à la fois hydrophiles et lipophiles) sont généralement plus actifs photodynamiquement que des molécules purement hydrophiles ou hydrophobes. Cette activité plus élevée est due aux interactions entre les groupes hydrophiles/hydrophobes avec les membranes cellulaires ou la surface des protéines [81].

La 3^{ème} génération des photosensibilisateurs actuellement en cours d'essais cliniques, offre des espoirs et devraient permettre de confirmer le rôle de la PDT comme traitement avec un minimum d'effets secondaires et une cicatrisation remarquable.

B. Objectifs de la thèse et stratégie

Les recherches se développent, comme nous venons de le décrire, sur les différents moyens d'améliorer l'efficacité d'excitation des photosensibilisateurs et leur solubilisation, par exemple par la recherche de laser à 1270 nm correspondant à l'excitation directe de l'oxygène nécessaire à sa transformation en $^1\text{O}_2$, par des méthodes d'encapsulation des photosensibilisateurs permettant les dispersions dans un liquide biologique, puisque les photosensibilisateurs sont très hydrophobes ce qui rend difficile la réalisation de suspensions injectables.

Un article paru très récemment évoque la possibilité d'utiliser des nanoparticules dopées TR excitables dans la zone de transparence des tissus pour améliorer l'efficacité de la PDT. Dans cette hypothèse, l'émission rouge obtenue par up conversion serait capable d'exciter *in situ* le photosensibilisateur [82]. C'est l'approche que nous avons suivie au cours de ce travail de thèse.

Le système proposé est un système multicouche de type cœur-coquille. Il est constitué de nanoparticules dopées par des ions terres rares (le cœur), entourées d'une première couche cristalline non dopée, ayant pour rôle essentiel de conserver les propriétés optiques du cœur en protégeant les centres optiquement actifs vis-à-vis des interactions avec des groupements de type OH⁻ ou autres groupements organiques adsorbés en surface et dégradant les rendement de luminescence. Puis une coquille externe de silice mésoporeuse, permettant l'incorporation d'un photosensibilisateur *via* les pores de la couche de silice.

Un tel système multicouche est réalisé en différentes étapes successives. Un schéma résumant les étapes de synthèse est présenté par la Figure I.12.

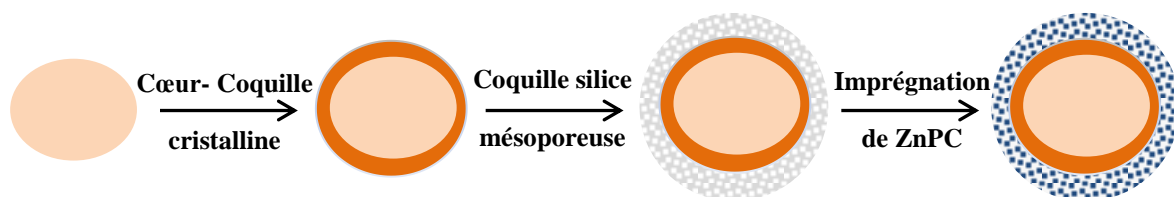


Figure I.12 : Schéma des différentes étapes de synthèse des systèmes étudiés

I. Choix des dopants

L'objectif étant de pouvoir exciter le PS *in situ*, les critères de sélection des dopants sont donc bien définis :

- Une conversion infrarouge → visible efficace, en particulier l'émission up convertie devra présenter une composante dans la partie rouge du spectre très intense, zone spectrale où l'excitation des PS est la plus efficace, en l'occurrence le ZnPc.
- Un recouvrement spectral important entre l'excitation du ZnPc et l'émission « rouge ».

En fonction de ces critères, les dopants répondant au mieux à ces exigences sont l'erbium et l'ytterbium reconnus pour donner lieu à des processus d'up conversion très efficaces, également le thulium couplé à l'ytterbium bien que dans ce cas les transferts d'énergie soient non résonants et s'accompagnent de transitions non radiatives pouvant échauffer localement le matériau. Les mécanismes d'émission par up conversion pour le système $\text{Yb}^{3+}\text{-Er}^{3+}$ sont résumés sur la Figure I.13.

L'ion ytterbium est généralement choisi comme codopant pour réaliser des matériaux très efficaces en up conversion car la force de transition d'absorption de l'état fondamental vers son unique état excité est un ordre de grandeur plus importante que celles des autres terres rares. De plus, cette transition, centrée vers 980 nm, présente deux intérêts majeurs : d'une part, elle est bien centrée sur la fenêtre thérapeutique, et d'autre part, elle peut être excitée par des diodes laser commerciales peu onéreuses. Une quasi parfaite résonance énergétique entre les niveaux ${}^2\text{F}_{7/2}\text{-}{}^2\text{F}_{5/2}$ (Yb^{3+}) et les différents niveaux électroniques de Er^{3+} est observée (Figure 1.13), par conséquent le codopage $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ constitue une combinaison de choix pour un système à up conversion optimisé.

L'excitation de l'ytterbium, vers 980 nm, conduit à des émissions visibles issues de l'erbium. Si plusieurs mécanismes permettent d'obtenir une émission anti-Stokes de l'erbium (up conversion), le processus majoritaire est l'Addition de Photons par Transfert d'Energie (APTE ou ETU pour les anglo-Saxons) [83].

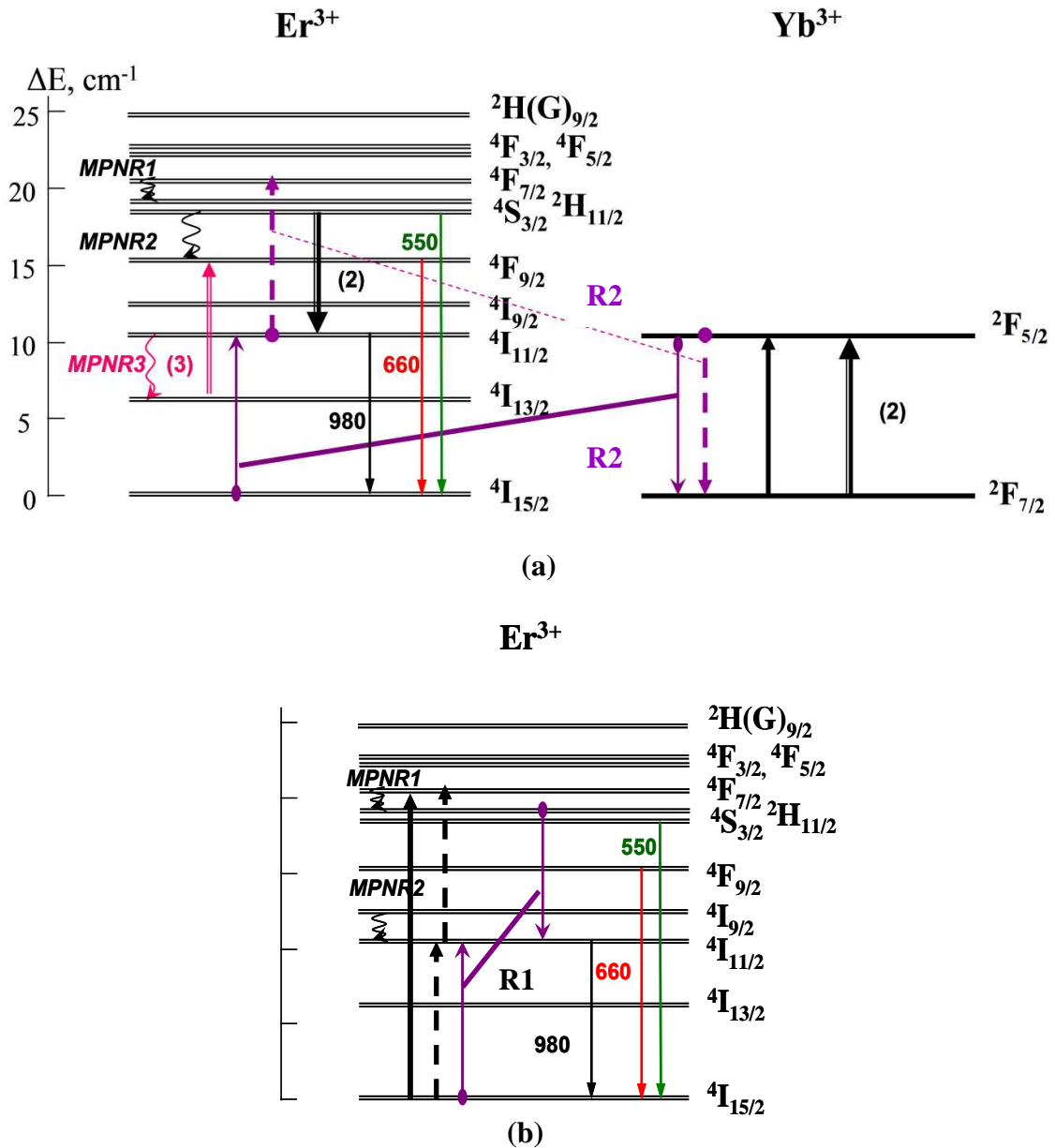


Figure I.13 : Mécanismes d'émission par up conversion pour le système (a) Yb³⁺-Er³⁺, (b) Er³⁺-Er³⁺

Comme il est possible de la remarquer sur la Figure 1.13a, des résonances énergétiques entre les différents niveaux de Er³⁺ coexistent, en particulier, entre les niveaux ⁴S_{3/2}-⁴I_{11/2} et ⁴I_{11/2}-⁴I_{13/2}, ce qui permet l'observation d'émissions up converties dans un système uniquement dopé Er³⁺ excité vers 980 nm (grâce à la relaxation croisée notée R1 sur la Figure I.13b), avec une intensité moindre que dans un système codopé Er³⁺/Yb³⁺ en raison d'une absorption plus faible.

Si la contribution de la relaxation R1 ($\text{Er}^{3+} - \text{Er}^{3+}$) est négligeable devant celle de R2 ($\text{Er}^{3+} - \text{Yb}^{3+}$) pour l'intensité des émissions obtenues par up conversion, elle joue un rôle fondamental pour l'optimisation de la concentration en ions Er^{3+} comme nous le verrons au chapitre III, puisque l'inverse de R1 soit $[^4\text{S}_{3/2}, ^4\text{I}_{15/2}] \rightarrow [^4\text{I}_{11/2}, ^4\text{I}_{11/2}]$ contribue à dépeupler le niveau émetteur $^4\text{S}_{3/2}$ (processus qualifié de « self-quenching »).

Les matériaux codopés Er/Yb et Tm/Yb ont été largement étudiés dans la littérature comme up converters pour des applications variées (affichage, photovoltaïque, marqueurs biologiques....

II. Choix de la matrice

Le choix de la matrice est un paramètre primordial [84]. En effet, différentes caractéristiques sont exigées. Notamment, une matrice transparente dans la gamme des fréquences utilisées, un matériau stable à l'air libre et une énergie de phonons faible.

De plus, le choix de la matrice a un impact, à la fois sur les transitions radiatives (qui sont fonction de l'indice du matériau) et sur les transitions non radiatives (par l'intermédiaire des énergies des phonons de la matrice). Le choix de la matrice intervient également sur les propriétés optiques au niveau de la largeur de la raie (effet du champ cristallin, distribution des sites).

Dans notre cas, les transitions impliquées étant principalement des transitions 4f-4f des ions terres rares, les effets du champ cristallin, ainsi que le couplage électron-phonon sont faibles, et les raies sont généralement fines. L'idéal serait donc de travailler avec une matrice ayant un indice de réfraction élevé (car cela permet de favoriser les transitions radiatives) et présentant la plus faible énergie de phonons possible (pour réduire les transitions non radiatives par relaxation multiphonon).

Des exemples de matériaux communément utilisés comme matrice pour des processus d'up conversion efficaces sont rassemblés dans le Tableau I.3.

Tableau I.3 : Exemples de matériaux utilisés comme matrices pour des processus d'up conversion

Matériaux	Energie de phonons (cm ⁻¹)	Avantages	Inconvénients
Y ₂ O ₃	600	Stabilité thermique, différentes morphologies possibles	Matériau réfractaire, légèrement hygroscopique
Y ₂ O ₂ S	520	différentes morphologies possibles	Etape de sulfuration, instabilité chimique
NaYF ₄	360	Faible énergie de phonons	Synthèse délicate (Utilisation de HF)
YF ₃	500	Faible énergie de phonons	Synthèse délicate (Utilisation de HF)
YBr ₃	175	Faible énergie de phonons	Synthèse délicate, instabilité chimique
KY ₃ F ₁₀	395	Faible énergie de phonons	Synthèse délicate (Utilisation de HF)
CaF ₂	496	Matériau massif, transparent, faible énergie de phonons	Elaboration à haute température et atmosphère contrôlée, coût élevé

Dans le cadre de cette thèse, plusieurs types de matériaux (oxydes et fluorures) ont été étudiés car très peu de travaux ont été dédiés jusqu'à présent à l'obtention d'une émission à 1270 nm.

- D'une part, les oxydes qui sont des composés versatiles et constituent l'élément clé de plusieurs applications : des catalyseurs, des lasers, des applications électroniques comme les puces à mémoire et les superconducteurs [85-93]. Les oxydes dopés par des ions de terres rares les plus utilisés sont les oxydes de zirconium, d'yttrium, de titane et de cérium.

ZrO₂ joue un rôle très important grâce à ses propriétés : une excellente résistance chimique, un caractère réfractaire, une conductivité ionique et une nature polymorphique [94- 96]. CeO₂ est très utilisé comme catalyseur et comme matériau pour les verres optiques [97, 98]. Y₂O₃ a un point de fusion très élevé et une excellente stabilité chimique. Grâce à ses propriétés, il est utilisé comme additifs pour la synthèse des céramiques telles que Si₃N₄ et AlN [89- 91].

L'oxyde d'yttrium présente une énergie de phonons qui reste la plus faible parmi les oxydes connus [99].

Ce matériau présente l'avantage de pouvoir être obtenu sous différentes formes (couches épaisses, films minces et particules [100-102] et différentes morphologies [103, 104]. En effet, il est important de noter que la morphologie a une influence sur les propriétés optiques des matériaux [105], en particulier lorsqu'ils sont sous forme divisée. Cette influence est généralement attribuée aux effets de surface car les atomes localisés près de la surface d'un matériau sont soumis à des phénomènes non radiatifs importants par suite de couplage avec les groupements de type OH^- présents dans l'environnement.

- D'autre part, les fluorures présentent généralement une faible énergie de phonons [106] et une grande stabilité chimique [107] et peuvent être utilisées comme sonde en biologie après fonctionnalisation de la surface avec une biomolécule.

Il est essentiel que l'énergie de phonons soit la plus basse possible, afin de minimiser les désexcitations non radiatives par relaxation multiphonon et avoir ainsi le plus de niveaux émetteurs possibles. La durée de vie des niveaux 4f dans les fluorures est longue, ce qui favorise l'absorption et les transferts d'énergie à partir des niveaux excités.

De plus, les fluorures sélectionnés possèdent un site trivalent pouvant être substitué par l'ion dopant Ln^{3+} . Le site trivalent dans les composés de fluorures a un rayon proche de celui des ions Ln^{3+} , ce qui peut permettre un taux de dopage élevé tout en conservant la qualité cristalline des nanocristaux.

Le choix des matériaux s'est donc porté sur KY_3F_{10} et NaYF_4 connus pour être d'excellentes matrices pour les ions terres rares sous forme de cristaux massifs.

Références bibliographiques

- [1] P. Fokam, D. C. Roy, *Annales de Biologie Cliniques du Québec* 43 (2006) 28-33.
- [2] O. Raab, *Biol.* 39 (1900) 524–526
- [3] A. C. Kübler, *Medical Laser Application* 20 (2005) 37-45
- [4] I. J. Mac Donald, T. J. Dougherty, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* 5 (2001) 105-129
- [5] W. H. Hausmann, *Wien Klinische Wochenschrift* (1908) 1527–1529
- [6] W. H. Hausmann, *Biochemische Zeitschrift* 20 (1910) 276–316
- [7] F. Meyer-Betz, *Deutsches Archiv Für Klinische Medizin* (1913) 475– 503
- [8] A. Policard, *Comptes Rendu de la Société de Biologie* 91 (1924) 1423–1424
- [9] N. Solban, I. Rizvi and T. Hasan, *Lasers in Surgery and Medicine* 38 (2006) 522-531
- [10] J. P. Taquet, C. Frochot, V. Manneville and M. Barberi-Heyob, *Current Medicinal Chemistry* 14 (2007) 1673-1687
- [11] S. K. Schwartz, K. Absolon, H. Vermund, *University of Minnesota Medical Bulletin* 27 (1955) 7–8
- [12] R. L. Lipson, E. J. Baldes, A. M. Olsen, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 42 (1961) 623–629
- [13] R. L. Lipson, E. J. Baldes, *Archives of Dermatology* 82 (1960) 508–516
- [14] R. L. Lipson, E. J. Baldes, A. M. Olsen, *Journal of the National Cancer Institute* 26 (1961) 1–11
- [15] R. L. Lipson, E. J. Baldes, M. J. Gray, *Cancer* 20 (1967) 2255–2257
- [16] W. M. Sharman, J. E. Van Lier, C. M. Allen, *Advanced Drug Delivery Reviews* 56 (2004) 53-76.
- [17] P. Garin-Chesa, I. Campbell, P. E. Saigo, J. L. Lewis Jr, L. J. Old, W. J. Rettig, *American Journal of Pathology* 142 (1993) 557-567.
- [18] T. J. Dougherty, W. R. Potter, W. R. Weishaupt, In: *Porphyrin Localization and Treatment of Tumors* (D. R. Doiron and C. J. Gomer, New York) (1984) 303-314
- [19] T. J. Dougherty, T. S. Mang, *Photochemistry and Photobiology* 46 (1987) 67–70
- [20] W. W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, *Chemistry of Materials* 15 (2003) 2854 2860
- [21] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *Journal of the National Cancer Institute* 90 (1998) 889-905
- [22] J. M. Hollas, *Spectroscopy* (Dunod, Paris) (1998)
- [23] D. A. Mc Quarrie, J. D. Simon, *Chimie physique - Approche moléculaire* (Dunod, Paris) (2000)
- [24] Thèse de Christian Coelho: *Fluorescence et propriétés photochimiques des matières organiques naturelles* (2009)

- [25] J. S. Steckel, S. C-Sullivan, V. Bulovic, M. G. Bawendi, *Advanced Materials* 15 (2003) 1862-1866
- [26] B. C. Wilson, J. E. Van Lier, *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 3 (1989) 459-463
- [27] C. S. Foote, F. C. Shook, R. B. Abakerli, *Methods in Enzymology* 105 (1984) 36-47
- [28] M. R. Detty, S. L. Gibson, S. J. Wagner, *Journal of Medicinal Chemistry* 47 (2004) 3897-3915.
- [29] Q. Peng, K. Berg, J. Moan, M. Kongshaug, M. N-Land, *Photochem. Photobiol.* 65 (1997) 235-251
- [30] A. Marti, N. Lange, H. Van den Bergh, D. Sedmera, P. Jichlinski, P. Kucera, *J. Urol.* 162 (1999) 546-552
- [31] H. Hirschberg, C. H. Sun, B.J. Tromberg, S. J. Madsen, *J. Neurooncol* 57 (2002) 1-7
- [32] C. P. Leamon, P. S. Low, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88 (1991) 5572-5576.
- [33] P. Juzenas, W. Chen, Y. P. Sun, M. A. N. Coelho, R. Generalov, N. Generalova, I. L. Christensen, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1600-1614.
- [34] B. Di Stasio, C. Frochot, D. Dumas, P. Even, J. Zwier, A. Müller, J. Didelon, F. Guillemin, M. L. Viriot, M. Barberi-Heyob, *The European Journal of Medicinal Chemistry* 40 (2005) 1111-1122
- [35] S. P. Mathupala, A. Rempel, P. L. Pedersen, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 29 (1997) 339-443
- [36] M. Zhang, Z. Zhang, D. Blessington, H. Li, T. M. Busch, V. Madrak, J. Miles, B. Chance, J. D. Glickson, G. Zheng, *Bioconjugate Chemistry* 14 (2003) 709-714
- [37] G. Csik, E. Balog, I. Voszka, F. Tölgyesi, D. Oulmi, P. Maillard, M. Momenteau, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 44 (1998) 216-224
- [38] P. Carter, L. Presta, C. M. Gorman, J. B. B. Ridgway, D. Henner, W. L. T. Wong, A. M. Rowland, C. Kotts, M. E. Carver, H. M. Shepard, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89 (1992) 4285-4289
- [39] L. Fong, Y. Hou, A. Rivas, C. Benike, A. Yuen, G. A. Fisher, M. M. Davis, E. G. Engleman, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (2001) 8809-8814
- [40] C. P. Leamon, J. A. Reddy, *Advanced Drug Delivery Reviews* 56 (2004) 1127-1141
- [41] R. Schneider, F. Schmitt, C. Frochot, Y. Fort, N. Lourette, F. Guillemin, J-F. Müller, M. B-Heyob, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13 (2005) 2799-2808.
- [42] Y. N. Konan, R. Gurny, E. Allémann, E., State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 66 (2002) 89-106
- [43] H-P. Lassalle, D. Dumas, S. Gräfe, M-A. D'Hallewin, F. Guillemin, L. Bezdetnaya, *Journal of Controlled Release* 134 (2009) 118-124
- [44] H. J. Jones, D. I. Vernon, S. B. Brown, *British Journal of Cancer* 89 (2003) 398-404

- [45] A. M. Master, M. E. Rodriguez, M. E. Kenney, N. L. Oleinick, A.S. Gupta, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99 (2010) 2386–2398.
- [46] Thèse de Fabien Hammerer: Synthèse et Caractérisation de Photosensibilisateurs Activables à Deux Photons pour Application à la Photothérapie Dynamique : Ciblage du Rétinoblastome (2012)
- [47] F. Chen, S. Zhang, W. Bu, Y. Chen, Q. Xiao, J. Liu, H. Xing, L. Zhou, W. Peng, J. Shi, *Chemistry - A European Journal* 18 (2012) 7082-7090
- [48] J. Panyam, W. Z. Zhou, S. Prabha, S. K. Sahoo, V. Labhasetwar, *The Faseb Journal* 16 (2002) 1217-1225
- [49] Y. N. Konan, R. Cerny, J. Favet, M. Berton, R. Gurny, E. Allémann, *European Journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics* 55 (2003) 155-124
- [50] Y. N. Konan, M. Berton, R. Gurny, E. Allémann, *European journal of pharmaceutical sciences* 18 (2003) 241-249
- [51] E. Allémann, J. Rousseau, N. Brasseur, V. S. Kudrevich, K. Lewis, J. E. van Lier, *International Journal of Cancer* 66 (1996) 821-824
- [52] M. J. Moreno, E. Monson, R. G. Reddy, A. Rehemtulla, B. D. Ross, M. Philbert, J. Schneider, R. Kopelman, *Sensors Actuators B* 90 (2003) 82-89
- [53] I. Roy, T.Y. Ohulchanskyy, H.E. Pudavar, E.J. Bergey, A.R. Oseroff, J. Morgan, T.J. Dougherty, P.N. Prasad, *J. Am. Chem. Soc* (2002) 7860-7865
- [54] D.C. Hone, P.I. Walker, R. Evans-growing, S. FitzGerals, A. Beeby, I. Chambrier, M. Cook, D.A. Russel, *Langmuir* (2002) 2985-2987
- [55] U. Woggon, *Optical Properties of Semiconductor Quantum Dots* Springer Verlag: Berlin, (1997)
- [56] S.V. Gaponenko, *Optical Properties of Semiconductor Nanocrystals*. Cambridge University Press Cambridg 23 (1998)
- [57] W. C. W. Chan, S. M. Nie, *Science* 281 (1998) 2013-2015
- [58] D. K. Chatterjee, Z. Yong, *Nanomedecine* 3 (2008) 73-82
- [59] H. S. Qian, H. C. Guo, P. C. L. Ho, R. Mahendran, Y. Zhang, *Small* 5 (2009) 2285-2290
- [60] Thèse de Vincent Manneville: Les phtalocyanines utilisées en cancérologie expérimentale et clinique : Synthèse d'une métallophthalocyanine de zinc vectorisable pour des applications en thérapie photodynamique (2006) 10-11
- [61] J. Tu, T. Wang, W. Shi, G. Wu, X. Tian, Y. Wang, D. Ge, *Biomaterials* 33 (2012) 7903-7914
- [62] D. Wrobel, A. Boguta, *Journal of Phtochemistry and Photobiology A : Chemistry* 150 (2002) 67-76
- [63] A. P. Castano, T. N. Demidova, M. R. Hamblin, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2 (2005) 91-106
- [64] L. Wyld, M. W. R. Reed, N. J. Brown, *British Journal of Cancer* 84 (2001) 1384-1386
- [65] A. P. Castano, T. N. Demidova, M. R. Hamblin, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2 (2005) 1-23
- [66] D. M. Parkin, *International Journal of Cancer* 118 (2006) 3030-3044

- [67] K. C. Zimmermann, C. Bonzon, D. R. Green, *Pharmacology and Therapeutics* 92 (2001) 57-70
- [68] J. C. Yang, G. A. Cortopassi, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 250 (1998) 454-457
- [69] S. B. Bratton, G. Walker, S. M. Srinivasula, X. M. Sun, M. Butterworth, E. S. Alnemri, G. M. Cohen, *EMBO Journal* 20 (2001) 998-1009
- [70] D. R. Green, *Cell* 121 (2005) 671-674
- [71] J. Piette, C. Volanti, A. Vantieghem, J. Y. Matroule, Y. Habraken, P. Agostinis, *Biochemical Pharmacology* 66 (2003) 1651-1659
- [72] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *Journal of the National Cancer Institute* 90 (1998) 889-905
- [73] C. Abels, *Photochemical and Photobiological Sciences* 3 (2004) 765-771
- [74] A. Casas, G. D. Venosa, S. Vanzulli, C. Perotti, L. Mamome, L. Rodriguez, M. Simian, A. Juarranz, O. Pontiggia, T. Hasan, A. Batlle, *Cancer Letters* 271 (2008) 342-351
- [75] M. Korbelik, C. S. Parkins, H. Shibuya, I. Cecic, M. R. L. Stratford, D. J. Chaplin, *British Journal of Cancer* 82 (2000) 1835-1843
- [76] B. W. Henderson, T. J. Dougherty, *Photochemistry and Photobiology* 55 (1992) 145-157
- [77] M. L. Agarwal, H. E. Larkin, S. I. A. Zaidi, H. Mukhtar, N. L. Oleinick, *Cancer Research* 53 (1993) 5897-5902
- [78] N. Yamamoto, S. Homma, T. W. Sery, L. A. Donoso, J. K. Hooper, *The European Journal of Cancer* 27 (1991) 467-471
- [79] G. Kros, M. Korbelik, G. J. Dougherty *British Journal of Cancer* 71 (1995) 549-555
- [80] E. HECHT, *The propagation of light, Optics*, (Addison-Wesley, San Francisco) CA. 13. (2002) 86-148
- [81] I. J. MacDonald, T. J. Dougherty, *Journal of Porphyrins Phtalocyanines* 5 (2009) 105-129
- [82] D.K. Chatterjee, L.S. Fong, Y. Zhang, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1627-1637
- [83] F. Auzel, *IEEE Proceeding* 61 (1973) 758-786
- [84] H.X. Mai, Y.W. Zhang, L.D. Sun, C.H. Yan, *Journal of Physical Chemistry C* 111 (2007) 13721-13729
- [85] J. H. Sharp, *Metals and Materials* 6 (1991) 349-362
- [86] W. E. Rhine, H.K. Bowen, *Ceramics International* 17 (1991) 143-152
- [87] W. F. Kladnig, *International Journal of Materials and Product Technology* 7 (1992) 257-272
- [88] W. H. Rhodes, S. Natansohn, *Ceramic Bulletin* 68 (1989) 367
- [89] B. T. Kilbourn, *Journal of the Less Common Metals* 111 (1985) 1-8
- [90] P. Falconnet, *Journal of the Less Common Metals* 111 (1985) 9-15
- [91] G. Yoldjian, *Journal of the Less Common Metals* 111 (1985) 17-22

- [92] M. H. O'Brien, M. Akinc, *Journal of American Ceramic Society* 73 (1990) 491-495
- [93] M.H. O'Brien, M. Akinc, *Journal of American Ceramic Society* 72 (1989) 896-904
- [94] W. E. Rhine, H. K. Bowen, *Ceramics International* 17 (1991) 143-152
- [95] W. F. Kladnig, *Inter Journal Mater Prod Technology* 7 (1992) 257-271
- [96] W. H. Rhodes, S. Natansohn, *Ceramic Bulletin* 68 (1989) 367
- [97] M. H. O'Brien, M. Akinc, *Journal of American Ceramic Society* 73 (1990) 491-495
- [98] M. H. O'Brien, M. Akinc, *Journal of American Ceramic Society* 72 (1989) 896-904
- [99] N. Yamada, S. Shionoya, T. Kushida, *Journal of the Physical Society of Japan* 32 (1972) 1577-1586
- [100] M. Yokota, O. Tanimoto, *Journal of the Physical Society of Japan* 22 (1965) 779-784
- [101] M. J. Weber, *Physical Review B* 4 (1971) 2932-2939
- [102] M. R. Brown, W. A. Shand, *Physical Letters* 18 (1965) 95696
- [103] J. P. Van Der Ziel, L. G. Van Uitert, W.H. Grodkiewicz, *Journal of Applied Physics* 10 (1970) 3308-3315
- [104] J. L. Sommerdijk, W. L. Wanmaker, J.G. Verriet, *Journal of Luminescence* 4 (1971) 404-416
- [105] L. J. Tian, Y.J. Sun, Y. Yu, X.G. Kong, H. Zhang, *Chemical Physics Letters* 452 (2008) 188-192
- [106] H.U. Gudel, M. Pollnau, *Journal of Alloys and Compounds* 303-304 (2000) 307-315
- [107] J. Shen, L. Zhao, G. Han, *Advanced Drug Delivery Reviews* (2012) 12302-12307

Chapitre II :
Synthèses &
Fonctionnalisation

Dans ce chapitre, nous allons décrire la synthèse du système des nanoparticules des trois matrices choisies à savoir, Y_2O_3 , KY_3F_{10} et $NaYF_4$.

A. Les Oxydes

Parmi les divers oxydes dopés par les ions lanthanides luminescents, nous nous sommes intéressés à un oxyde en particulier, l'oxyde d'yttrium. De par ses remarquables propriétés (gap élevé, faible énergie de phonons, synthèse de plusieurs morphologies possible, indice optique élevé...) il est largement utilisé dans plusieurs domaines d'application : couche diélectrique dans le domaine des lasers support en catalyse [1] ou luminophore de l'éclairage et de l'affichage [2]. Les spécificités requises pour chaque domaine d'application étant différentes, plusieurs méthodes de synthèse ont donc été développées afin de contrôler la taille et la morphologie des particules, telles que la voie sol-gel [3-5] la thermolyse [6], la combustion [7] et la précipitation homogène [8].

La taille des particules et les effets de surface sont les facteurs les plus importants dans la détermination des propriétés de luminescence [9-12]. Pour cette raison, la morphologie sphérique a été choisie car elle permet d'obtenir le rapport surface/volume le moins élevé. Une autre contrainte imposée a été l'obtention de particules dispersées pour des raisons de mise en œuvre. Notre choix s'est porté sur la synthèse par précipitation homogène pour la facilité de la mise en œuvre du procédé ainsi que pour la reproductibilité des résultats obtenus par cette méthode. En effet, cette technique permet le contrôle de la pureté de la phase, la distribution en taille et l'uniformité de la microstructure [13-15]. Des objets d'une taille de 100 nm sont attendus à la fin de la synthèse.

I. Synthèse de l'oxyde d'yttrium par précipitation homogène

La voie de synthèse que nous avons choisie est une méthode de précipitation à basse température, permettant l'obtention de solides fortement divisés. Le principe de la synthèse, la description du protocole expérimental et la caractérisation des objets obtenus sont détaillés dans ce chapitre.

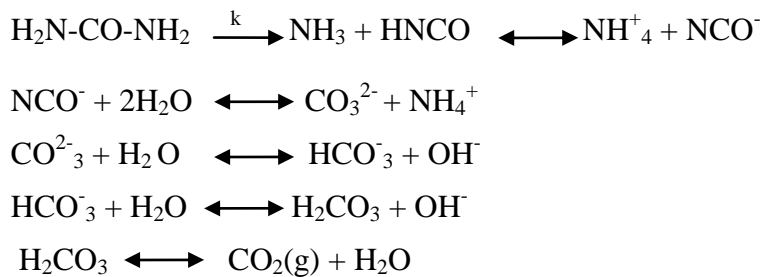
I.1. Principe de la méthode de synthèse par précipitation homogène

Les réactions de condensation inorganique font généralement intervenir des acides ou des bases comme catalyseurs. Or, selon le mode d'introduction de ces catalyseurs, des gradients de pH peuvent exister au sein de la solution, ce qui peut se traduire par des réactivités locales différentes notamment au voisinage immédiat de ces catalyseurs (par exemple au voisinage de la goutte dans le cas d'un titrage acido-basique).

Dans le cas de la précipitation homogène, les bases utilisées sont des bases retard, générées *in situ* au cours de la réaction, ce qui supprime tout gradient de pH au sein de la solution (homogène en pH). Dans notre cas, les catalyseurs sont les bases générées par décomposition thermique de l'urée.

Les mécanismes réactionnels conduisant à la formation des particules par précipitation homogène en présence d'urée sont décrits par la succession des étapes suivantes [16, 17] :

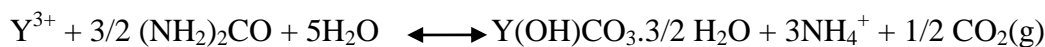
i) Décomposition de l'urée:



ii) Réaction de précipitation:



La réaction totale étant:



I.2. Paramètres influents sur la synthèse par précipitation homogène

Plusieurs études ont été rapportées dans la littérature montrant l'effet de certains paramètres de synthèse sur la morphologie des particules obtenues et la cinétique de la réaction par précipitation homogène.

I.2.1. Concentration des réactifs

La *concentration des réactifs* utilisés joue un rôle prépondérant sur la taille et la morphologie des objets obtenus. Dans notre cas, il s'agit de la concentration de sel d'yttrium et de l'urée. L'équipe de Sohn [16] a synthétisé des particules d'oxydes d'yttrium en étudiant la concentration des réactifs de départ dans le milieu réactionnel.

En variant la concentration d'yttrium de 0,005 à 0,04 M avec une concentration d'urée fixée à 1 M, la taille des particules obtenues a ainsi pu être augmentée de 65 à 220 nm. Cependant, au fur et à mesure où la concentration en yttrium augmente, la distribution en taille augmente également, et des agrégats apparaissent. Ceci peut être expliqué par la valeur du potentiel de surface des particules qui décroît rapidement en fonction de la concentration en nitrates d'yttrium, ce qui a pour conséquence l'agglomération des particules formées.

De même, lorsque la concentration d'urée varie de 0,04 à 7 M, Sohn *et al.* montrent que la taille des particules diminue linéairement de 220 à 100 nm pour des valeurs de concentration d'urée allant de 0,04 à 4 M, respectivement. Une illustration de ceci est montrée sur la Figure II. 1. Au-delà de 4 M en urée, les particules s'agrègent.

Nous désirons former des particules de petite taille, monodisperses, et avons donc choisi des paramètres adaptés à l'obtention de telles particules: $[Y]=7.10^{-3}$ M, et $[urée]=1,5$ M.

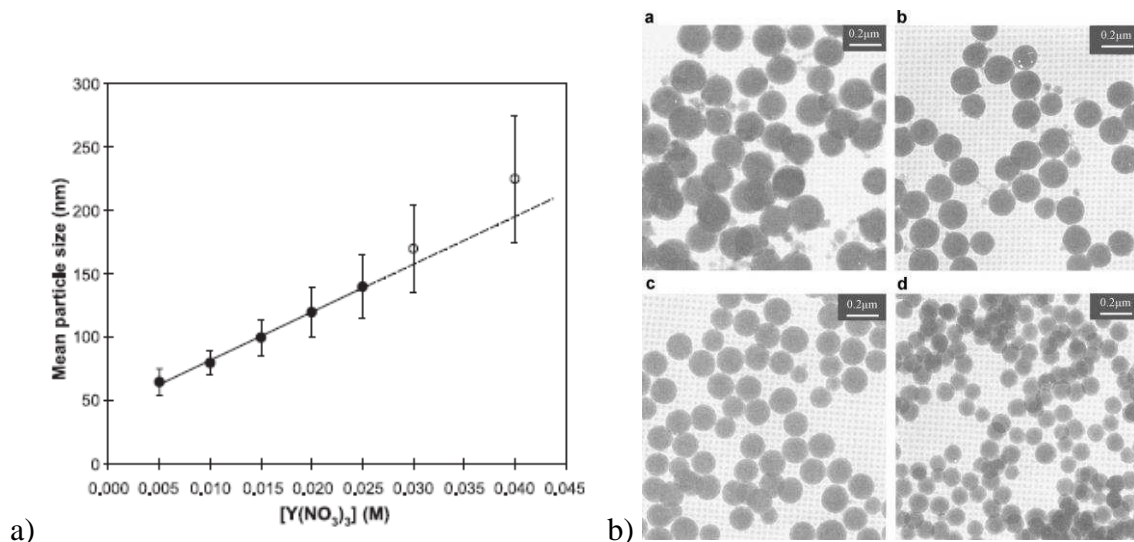


Figure II. 1 : a) Effet de la concentration en yttrium sur la taille des particules obtenues ; b) Clichés de MET de particules obtenues après précipitation homogène à $[Y]=0.02M$, et $[urée]$ variant de 0.04M (a) ; 0.1M (b) ; 0.5M (c) ; 1M (d). [16]

I.2.2. Température et temps de réaction lors de la synthèse

Parmi les paramètres de synthèse, la *durée et la température du bain réactionnel* sont primordiaux. Le chauffage a pour rôle principal d'activer le catalyseur, c'est-à-dire d'activer la décomposition de l'urée et ainsi d'initier la formation de particules isolées. En effet, sans chauffage aucun précipité ne se forme.

D'une manière générale, une augmentation de la température [18] accélère la vitesse de décomposition de l'urée, étape limitante dans cette méthode de synthèse. L'énergie d'activation de la réaction de précipitation est égale à 29 kcal/mol en se référant à la cinétique de réaction type Arrhenius. Cette valeur coïncide avec l'énergie d'activation de décomposition de l'urée (28-32 kcal/mol).

Des synthèses de particules d'oxyde d'yttrium par précipitation homogène réalisées par l'équipe de Sohn et *al.* [16] pour différentes températures de réaction allant de 70 à 95 °C ont été réalisées. Pour des concentrations de nitrates et d'urée fixées à 0,02 et 1 M, les particules obtenues voient leur taille varier de 135 à 126 nm, avec une dispersité identique. L'obtention d'une faible taille serait donc en faveur d'un bain réactionnel à température élevée. Cependant, la vitesse de formation des particules est nettement diminuée dans ce cas.

En nous appuyant sur ces travaux, nous avons donc décidé de travailler à 85°C pour obtenir des objets sphériques d'une taille relativement faible, tout en conservant une bonne cinétique de réaction. De plus, afin de précipiter au maximum les sels, nous avons laissé le système pendant 24 h sous chauffage.

En conclusion, pour la synthèse par précipitation homogène, plusieurs paramètres peuvent être ajustés afin de contrôler la taille et la morphologie des particules obtenues et par conséquent d'optimiser les propriétés optiques des matériaux.

I.3. Mode opératoire

Le protocole utilisé est ainsi similaire à celui décrit par Sohn et *al.*, basé sur la synthèse d'oxydes de lanthanides par précipitation homogène réalisée par l'équipe de Matijevic en 1987 [19].

Une solution aqueuse de nitrates de terre rares d'une concentration 10^{-2} M est obtenue en dissolvant les nitrates pentahydratés $Y(NO_3)_3$, $Yb(NO_3)_3$ et $Er(NO_3)_3$ dans 550 mL d'eau distillée dans les proportions adéquates pour obtenir la formule TR_2O_3 .

Un volume de 250 mL d'une solution d'urée à 5 M est ensuite ajouté. Le mélange est ensuite transféré dans un récipient en téflon fermé et mis à l'étuve à 85°C pendant 24 heures. Une suspension colloïdale est alors obtenue et le produit de réaction est récupéré après lavages par centrifugations/redispersions successives à une vitesse de 1200 tr/min pendant 20 min à l'eau (1 fois) et à l'éthanol (2 fois). Après séchage une nuit à l'étuve à 80°C, la poudre obtenue est essentiellement composée de carbonates d'yttrium notée YOC. Les carbonates sont ensuite calcinés à 900°C pendant 4 heures afin d'obtenir les oxydes d'yttrium Y_2O_3 dopés correspondants.

A l'issue de cette synthèse, 2 produits ont été synthétisés : YOC (4%Yb, 2%Er) ; Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er). Ces concentrations ont été auparavant optimisées comme il est décrit au Chapitre III.

II. Caractérisation des particules

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux propriétés structurales des particules obtenues, ainsi qu'à leur taille et à leur morphologie. L'effet des paramètres influant sur la synthèse ont ensuite été abordés.

II.1. Structure des objets

La structure des poudres obtenues a été étudiée par Diffraction des Rayons X (DRX). En effet, l'analyse fine de la position des pics du diffractogramme permet d'accéder à la structure du matériau (identification des systèmes cristallins, paramètres de maille). L'appareil utilisé pour réaliser cette analyse est un diffractomètre PANalytical Xpert Pro en géométrie Bragg-Brentano θ - 2θ , équipé d'une cathode en cuivre ($\lambda_{K\alpha 1} = 1,54 \text{ \AA}$) couplée à un détecteur PIXcel et piloté par le programme Xpert Data Collector.

Les diffractogrammes des composés de formules nominales YOC (4%Yb, 2%Er) et Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er) sont représentés sur la Figure II. 2. Tandis que le diffractogramme correspondant au YOC est typique d'une structure amorphe, sans pics de diffraction bien définis, les particules obtenues après recuit s'identifient à l'oxyde d'yttrium cristallisé dans le système cubique dans le groupe d'espace Ia $\bar{3}$. Les pics peuvent être indexés en accord avec la fiche JCPDS 04-002-7545, et les paramètres de maille affinés avec le logiciel U-Fit donnent des valeurs $a = b = c = 10,5906 \text{ \AA}$.

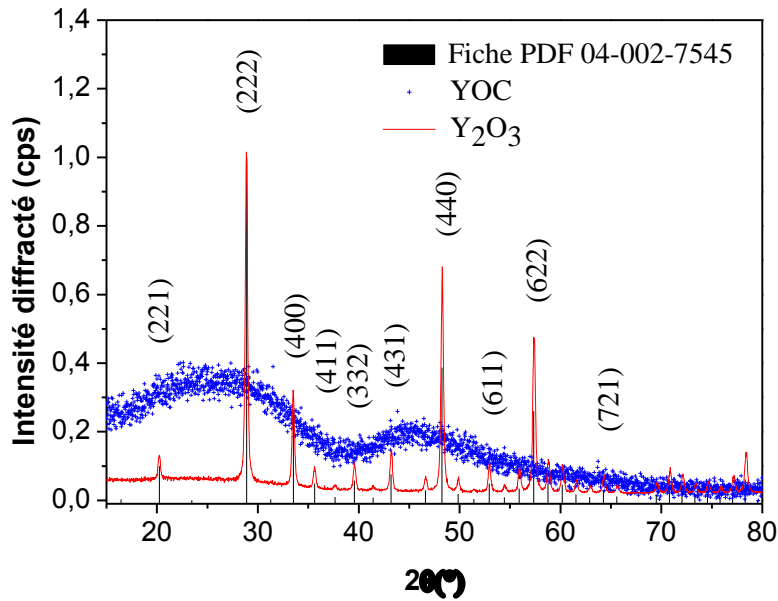


Figure II. 2 : Diffractogrammes des composés YOC et Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er)

II.2. Nature du composé avant recuit : YOC

Le composé avant recuit - YOC (4%Yb, 2%Er) - n'étant pas cristallin, nous essayons de déterminer sa nature par spectroscopie infra-rouge. La spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier permet d'observer la présence de liaisons typiques dans le composé ou caractéristiques d'impuretés adsorbées à la surface des particules synthétisées. En effet, cette technique est sensible aux vibrations des liaisons présentant un moment dipolaire. La position des bandes d'absorption est caractéristique des liaisons mises en jeu puisqu'elle dépend de la masse des atomes et de la force de la liaison, leur intensité est proportionnelle à la concentration et dépend également de la valeur du moment dipolaire de la liaison. Les spectres ont été enregistrés entre $600-4000\text{ cm}^{-1}$ et sont présentés sur la Figure II. 3 a).

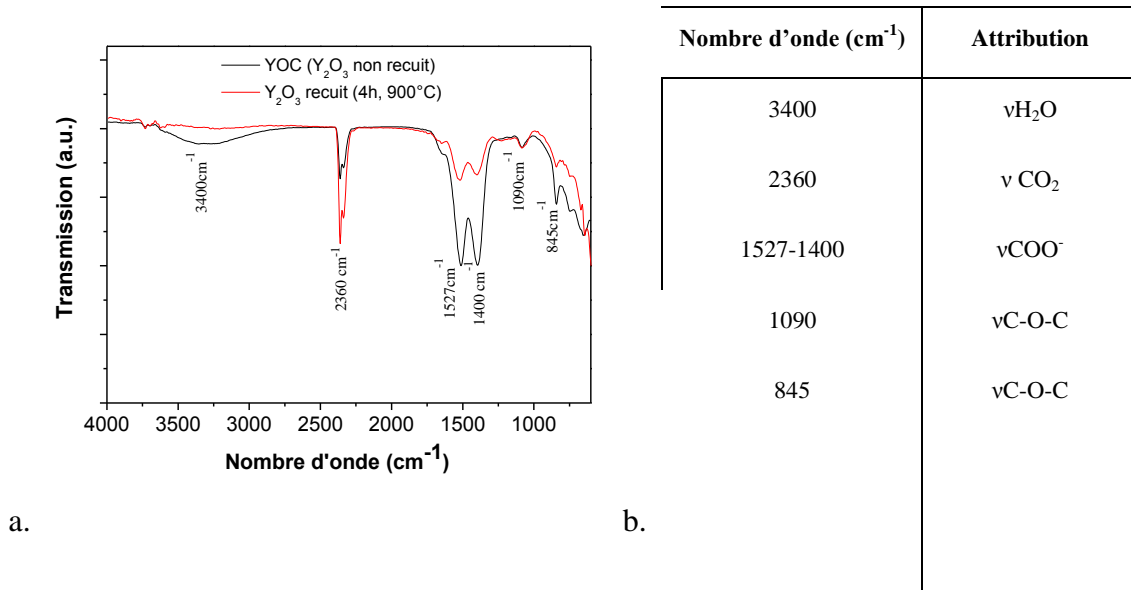


Figure II. 3 : a) Spectre infrarouge de particules synthétisées par précipitation homogène avant - YOC (4%Yb, 2%Er)- et après calcination à 900°C pendant 4 heures ; b) Attribution des bandes caractéristiques visibles sur les deux spectres infra-rouge

Sur le spectre de l'échantillon non recuit (YOC), la bande large centrée à 3400 cm⁻¹ correspond à la bande de vibration d'une liaison O-H (ν_{O-H}), le doublet observé à 1527 cm⁻¹ et 1400 cm⁻¹ peut être attribué à CO₃²⁻ (vibration d'élongation asymétrique), les autres pics enregistrés à 1090 et 845 cm⁻¹ étant également attribués à CO₃²⁻ (vibration d'élongation symétrique). La vibration typique de la liaison Y-O, généralement visible autour de 560 cm⁻¹ [20] se trouve en dehors de notre gamme de mesure et ne peut donc pas servir de référence pour évaluer l'évolution du matériau. Néanmoins, la présence des bandes caractéristiques liées aux carbonates et aux hydroxydes démontrent une nature hydroxy-carbonate des particules YOC (l'oxyde d'yttrium avant calcination), comme ceci a déjà été rapporté dans la littérature [21]. Ces bandes sont nettement plus faibles sur le spectre du Y₂O₃ (après recuit), semblant montrer que la haute température élimine effectivement les matières carbonées en favorisant la formation de l'oxyde.

II.3. Taille et cristallinité des particules

Deux tailles caractéristiques sont nécessaires à la caractérisation des particules :

- la longueur de cohérence monocristalline déterminée par application de la formule de Debye-Scherrer sur les pics de diffraction obtenus par DRX [22].

- *la taille des objets*, qui peut être déterminée par visualisation des clichés de microscopie électronique en transmission (MET), ainsi que la morphologie des particules.

II.3.1. Taille des domaines monocristallins : DRX

Le diffractogramme représenté sur la Figure II. 2 montre des pics élargis. Cet élargissement des pics de diffraction est dû principalement à la taille finie des domaines cristallins, mais aussi à des déformations de la maille et des défauts cristallins. En effet, les diffractogrammes de monocristaux idéaux présentent des raies caractérisées par des pics de Dirac. Une poudre présente des raies dont le profil et la largeur sont fonction des conditions instrumentales (monochromaticité du faisceau, fentes...) mais aussi de la taille et de la forme des particules, et enfin des imperfections du réseau (défauts, lacunes...).

En négligeant la contribution des défauts cristallins dans les particules, Debye et Scherrer ont estimé que l'élargissement des raies de diffraction dépendait seulement de la longueur de cohérence, qui au maximum est de l'ordre de la taille des particules, par la formule (1).

$$L = \frac{K * \lambda}{\Delta 2\theta * \cos \theta} \quad (1)$$

Avec :

L : la longueur de cohérence cristalline (en nm)

λ : la longueur d'onde de la raie $K_{\alpha 1}$ du cuivre ou du cobalt selon l'appareillage de diffraction des rayons X (en nm). Ici $\lambda_{\alpha 1 \text{ Cu}} = 0,15406 \text{ nm}$

K : la constante de Scherrer qui dépend de la morphologie des particules ($0,9 < K < 1$ pour des particules sphériques). Ici $K = 0,9$.

$\Delta 2\theta$: la largeur à mi-hauteur du pic considéré (en radians), égale à la largeur à mi-hauteur mesurée corrigée de la valeur limite de résolution instrumentale.

θ : la position centrale de ce même pic (rad)

Les valeurs de longueurs de cohérence des domaines monocristallins déduites par la formule de Debye-Scherrer sont résumées dans le Tableau II. 1.

Chapitre II : Synthèses & Fonctionnalisation

Tableau II. 1 : Longueurs de cohérence des domaines monocristallins des particules de Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er)

2θ (°)	$\Delta 2\theta$ (°)	L (nm)	Direction cristallographique
28,68	0,0054	26	(222)
33,33	0,0059	24	(400)
35,44	0,0043	34	(411)
48,12	0,0047	32	(440)
57,22	0,005	31	(622)

La longueur de cohérence varie en fonction des pics de diffraction considérés. Néanmoins, une longueur de cohérence moyenne mesurée est de 30 ± 4 nm.

Afin d'affiner cette mesure, nous avons décidé de tenir compte des défauts cristallins. La représentation de Williamson-Hall [23] permet de séparer l'élargissement des pics lié à la taille des cristallites de celui lié aux micro-contraintes au sein du matériau suivant la formule (2) :

$$\beta (\cos\theta)/\lambda = 1/D + \varepsilon (\sin\theta)/\lambda \quad (2)$$

Avec :

β : la largeur à mi-hauteur du pic considéré (en radians), égale à la largeur à mi-hauteur mesurée corrigée de la valeur limite de résolution instrumentale.

θ : la position centrale de ce même pic (rad)

λ : la longueur d'onde de la raie $K_{\alpha 1}$ du cuivre ou du cobalt selon l'appareillage de diffraction des rayons X (en nm). Ici $\lambda_{\alpha 1 \text{ Cu}} = 0,15406$ nm

D : la longueur de cohérence cristalline (en nm)

ε : facteur rendant compte des micro-contraintes au sein du matériau.

Ainsi le diagramme de Williamson-Hall permet de déterminer :

- La taille apparente des cristallites D à partir de la valeur de l'ordonnée à l'origine.
- L'importance de la déformation du réseau cristallin à partir de la pente ε de cette droite.

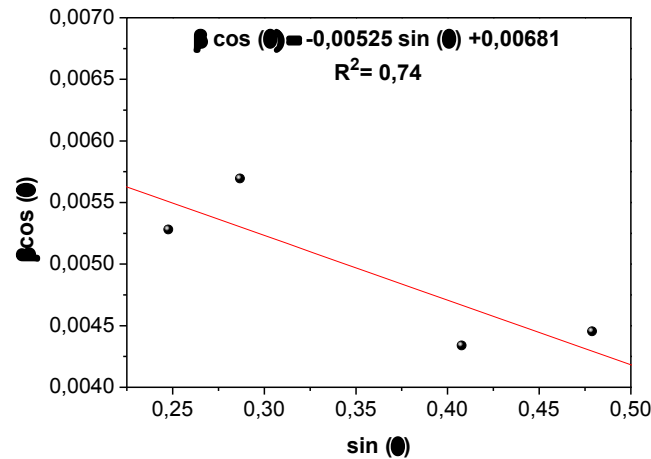


Figure II. 4 : Diagramme de Williamson-Hall des particules de Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er)

L'analyse du diagramme de Williamson-Hall (Figure II. 4) permet de déterminer une longueur de cohérence de 23 nm, légèrement plus faible que la valeur donnée par l'analyse de Debye-Scherrer, et montre également, par la faible pente de la droite d'affinage, que la matrice après recuit présente un haut degré de cristallinité.

II.3.2. Taille et morphologie des particules

Nous regardons dans un second temps la taille des objets synthétisés. Des clichés de microscopie électronique ont donc été réalisés au LCMCP- Collège de France, sur un microscope électronique FEI Tecnai 12 G² HT 120 KY couplé à une caméra CCD Gatan 4k x 4k. La préparation des échantillons est la suivante : les particules sont préalablement dispersées dans l'éthanol à l'aide d'ultrasons, puis une goutte est déposée sur une grille en cuivre recouverte d'une peau de carbone amorphe puis séchée à l'étuve à 100°C.

Les clichés de microscopie présentés sur la Figure II. 5 montrent une bonne dispersion des particules, ce qui permet de visualiser leur morphologie et de mesurer leur distribution en taille.

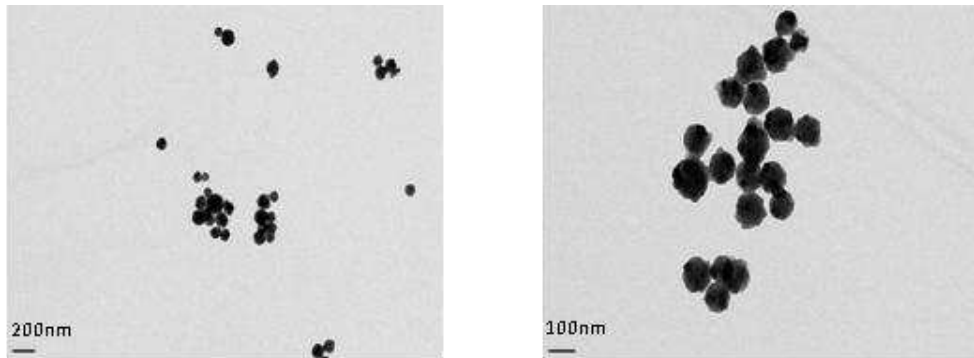


Figure II. 5 : Clichés MET de nanoparticules de Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er)

Les particules obtenues apparaissent relativement monodisperses. Elles sont constituées de plusieurs zones de densité électronique différente, ce qui indique leur caractère polycristallin. La distribution en taille de particules typiques obtenues après recuit est déterminée à partir des clichés de microscopie sur 350 particules isolées d'un même échantillon, comme montré sur la Figure II. 6.

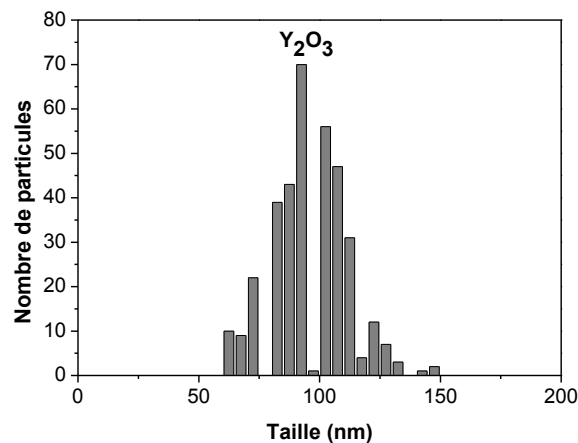


Figure II. 6 : Distribution en taille de particules de Y_2O_3 (4%Yb, 2%Er) synthétisées par précipitation homogène, déterminée par analyse des clichés de microscopie électronique en transmission

Le diamètre moyen de ces particules est ainsi de 96 ± 17 nm. On remarque une grande différence entre la taille des domaines monocristallins obtenue par la formule de Scherrer et la taille des objets mesurée à partir des clichés du MET. Alors que les objets ont une taille de l'ordre de 100 nm, les domaines monocristallins sont plus réduits, de l'ordre de 30 nm. On peut donc conclure que les nanoparticules d'oxyde d'yttrium sont polycristallines, ce qui justifie les variations de densité électronique observées sur les particules au MET. Ce résultat est tout à fait conforme à ce qui généralement observé avec Y_2O_3 .

III. Passivation de la surface des nanoparticules

Les effets de surface peuvent altérer les propriétés optiques des matériaux. Ces effets sont reliés à la présence en surface de centres optiquement actifs, plus ou moins couplés à des groupements OH⁻ de surface ou des groupements organiques résiduels. Un enrobage des particules par une coquille cristalline de même nature que le cœur a donc été réalisé afin de protéger les centres optiques situés en périphérie du cœur des effets externes. Nous pourrions ainsi déterminer l'influence de la surface sur les propriétés optiques des matériaux.

Deux types de coquilles ont été synthétisés : une coquille cristalline d'oxyde d'yttrium Y₂O₃, et une coquille amorphe d'oxyde de silicium (SiO₂). Le protocole de synthèse de la coquille amorphe de silice et la caractérisation de ce matériau seront présentés en Annexe I.

III.1. Mode opératoire

Afin de réaliser l'enrobage des nanoparticules de Y₂O₃ (x%Er, y%Yb) par une coquille cristalline d'oxyde d'yttrium, nous avons testé deux protocoles de synthèse en variant le milieu de synthèse (le solvant utilisé : Ethylène glycol ou H₂O) et la nature des germes : amorphes YOC : TR³⁺) ou cristallins (Y₂O₃ : TR³⁺). Le principe de la synthèse de la coquille cristalline de Y₂O₃ est résumé sur la Figure II. 7.

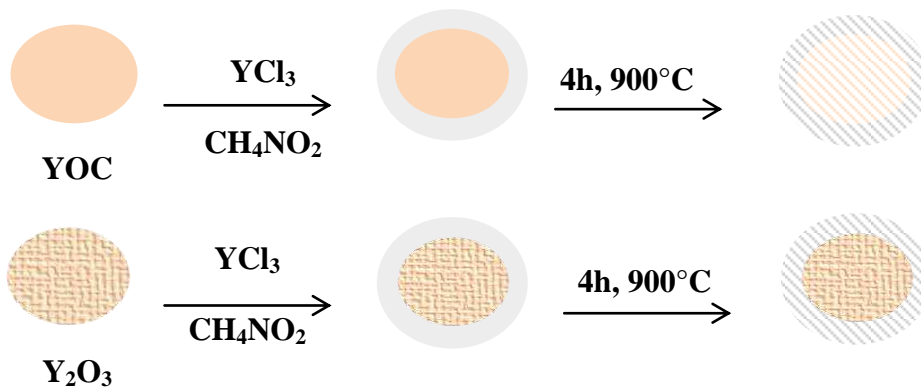


Figure II. 7 : Schéma du protocole de synthèse de la coquille cristalline d'oxyde d'yttrium

III.1.1. Dans l'éthylène glycol (EG)

100 mg de YOC ou Y_2O_3 sont dissous dans 20 mL d'éthylène glycol et mis à reflux à $100^\circ C$. 0,4 g d'urée sont ensuite ajoutés et la température portée à $140^\circ C$. Après 30 min d'agitation, 0,25 mL d'une solution de chlorure d'yttrium à 0,2 M sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 3 heures à $140^\circ C$, le produit de synthèse est récupéré par centrifugation, lavé plusieurs fois à l'eau et l'éthanol, séché à l'étuve à $80^\circ C$ pendant une nuit et recuit à $900^\circ C$ pendant 4 heures. Le produit final est récupéré sous forme d'une poudre fine [24].

III.1.2. Dans H_2O

Le protocole d'enrobage des particules dans H_2O est similaire à celui dans l'éthylène glycol. En effet, il s'agit d'une précipitation hétérogène. Après dissolution de chlorure d'yttrium et d'urée dans 50 mL d'eau distillée, les particules constituant le cœur (YOC : TR^{3+} ou Y_2O_3 : TR^{3+}) sont ajoutées au mélange et dispersées par ultrasonification. Les concentrations de chlorure d'yttrium, d'urée et du cœur sont fixées à 0,5 ; 0,033 et 0,002 M respectivement. La solution est ensuite agitée pendant 4 heures à $80^\circ C$ et le précipité est extrait par centrifugation puis lavé à l'eau et l'éthanol pour enlever toutes les impuretés, enfin séché à l'étuve 10 heures à $60^\circ C$. Le produit fini est obtenu après une calcination de 4 heures à $900^\circ C$ [25].

III.2. Taille et morphologie des particules

Les particules obtenues par les différents protocoles proposés ont été caractérisées d'un point de vue structural par diffraction des rayons X (DRX) et d'un point de vue morphologique par microscopie électronique en transmission (MET). L'analyse structurale n'est pas présentée ici, car aucun changement n'apparaît comparé aux diagrammes des nanoparticules de cœur.

En revanche, les images MET prises sur les différents produits de synthèses sont montrées sur la Figure II.8 Leur distribution en taille calculée à partir de ces clichés est représentée sur la Figure II. 9 Ces images permettent de constater que les particules obtenues sont de morphologie sphérique et de taille relativement homogène. Cependant, on observe la formation de quelques agrégats dans certaines synthèses, notamment les synthèses réalisées en partant d'un cœur déjà cristallisé Y_2O_3 ayant déjà subi une première calcination.

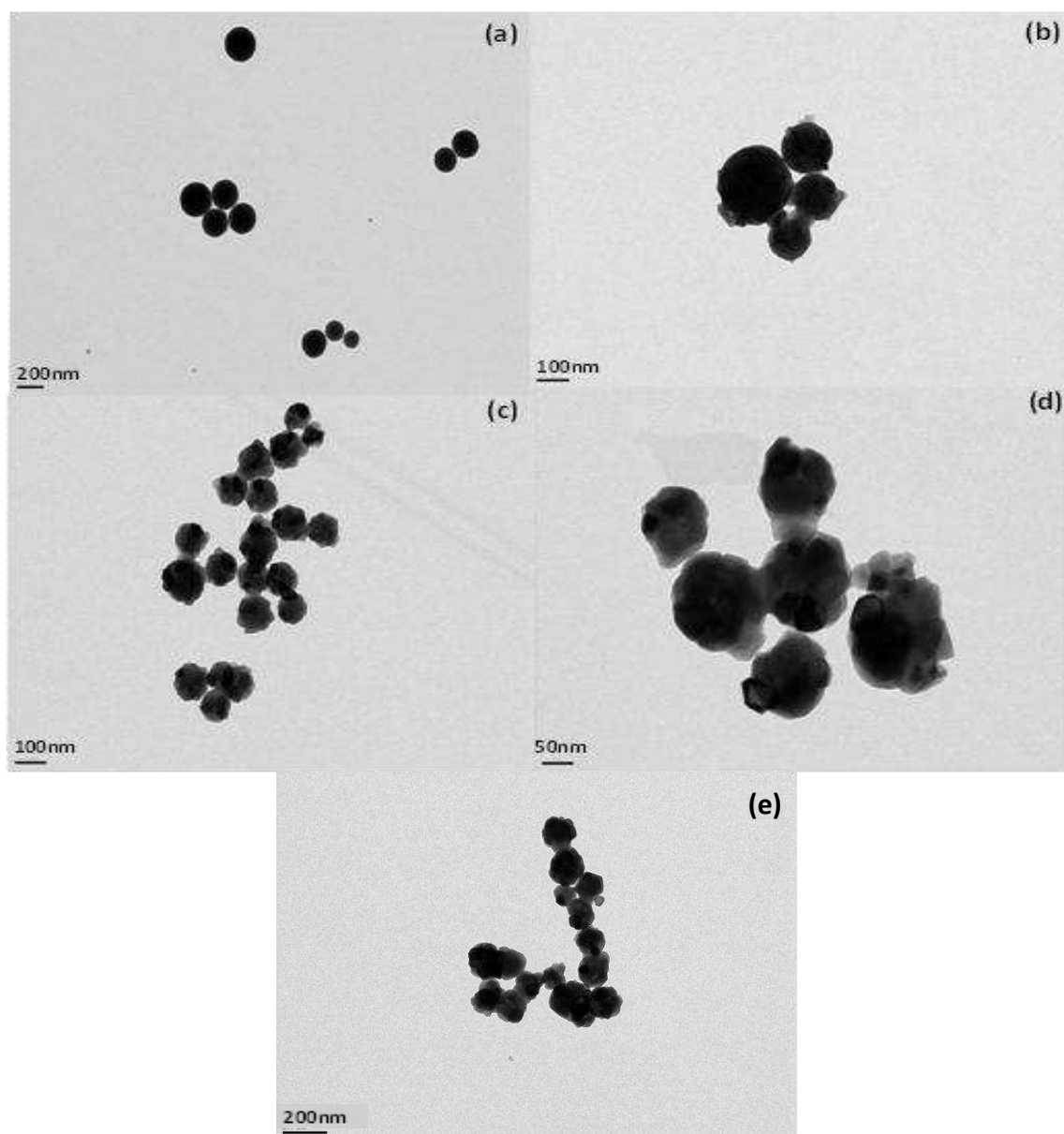


Figure II. 8 : Images MET des particules (a) YOC (b) Cœur coquille dans EG en partant de YOC (c) Y_2O_3 (2%Er, 4%Yb) (d) Cœur coquille Y_2O_3 dans EG en partant de Y_2O_3 (e) Cœur coquille Y_2O_3 dans H_2O en partant de Y_2O_3

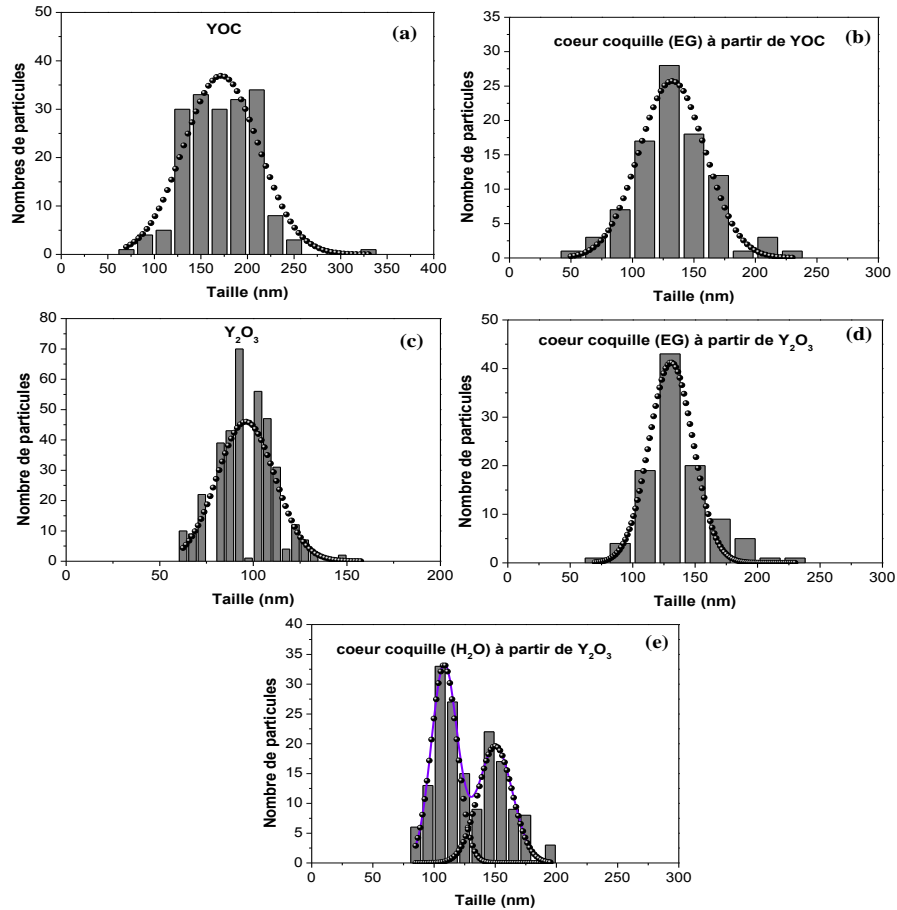


Figure II. 9 : Distribution en taille des particules (a) YOC (2%Er, 4%Yb) (b) Cœur coquille dans EG en partant de YOC (c) Y₂O₃ (2%Er, 4%Yb) (d) Cœur coquille Y₂O₃ dans EG en partant de Y₂O₃ (e) Cœur coquille Y₂O₃ dans H₂O en partant de Y₂O₃

Une statistique en taille a été réalisée sur les différentes particules synthétisées lors des différentes étapes, et les résultats sont rassemblés dans le Tableau II. 2.

Tableau II. 2 : Taille des particules issus des synthèses de l'oxyde d'yttrium sans et avec calcination) avant et après enrobage par une coquille cristalline de Y₂O₃

<i>Matrice</i>	<i>Taille Moyenne (nm)</i>
YOC	171 ± 45
Y ₂ O ₃	96 ± 17
Cœur coquille (EG) en partant de YOC	132 ± 30
Cœur coquille (EG) en partant de Y ₂ O ₃	128 ± 15
Cœur coquille (H ₂ O) en partant de Y ₂ O ₃	150 ± 16

Les groupements adsorbés qui peuvent être rencontrés après la réaction de précipitation sont les ions nitrates provenant du sel du précurseur utilisé, les carbonates, les groupements hydroxyles et l'eau. Les particules de Y_2O_3 sont obtenues après une calcination de 4 heures à $900^\circ C$ des particules YOC. Le rôle de la calcination est de transformer l'hydroxycarbonate d'yttrium en oxyde plus dense, ce qui justifie que la taille des particules Y_2O_3 (Figure II. 9 (c)) soit grandement inférieure à celle des particules de YOC (Figure II. 9 (a)).

L'effet de la formation d'une coquille peut être évalué en comparant les distributions en taille de Y_2O_3 (Figure II. 9 (c)), et celles obtenues par les différents protocoles cœur-coquille testés (Figure II. 9 (b), (d), (e)). Nous observons dans tous les cas une augmentation de la taille moyenne des objets, semblant traduire la croissance d'une coquille sur les particules (germes) présents en solution. Cependant, si les distributions en taille des particules de structure cœur coquille obtenues dans l'EG sont relativement monomodales (Figure II. 9 (b) et (d)), le protocole de synthèse cœur coquille dans H_2O (Figure II. 9 (e)) conduit à l'obtention de deux populations de particules de tailles autour de 100 et 150 nm. Ce résultat indique que la croissance de la coquille cristalline de Y_2O_3 est réalisée que sur quelques particules et est accompagné de la possibilité de la formation de nouvelles particules non dopées. La croissance de la coquille est donc plus favorable dans l'éthylène glycol. Dans un tel solvant visqueux, les particules de Y_2O_3 sont plus dispersées que dans l'eau, ce qui limite l'agrégation, et facilite la croissance de la coquille autour des particules.

La comparaison des distributions en taille des Figure II. 9 (b) et (d) montre que la nature du germe (amorphe ou cristallisé) ne semble pas particulièrement modifier la distribution en taille des structures cœur-coquille. Afin de minimiser les étapes de synthèse, nous avons donc décidé de travailler directement sur les particules de YOC.

Nous avons donc opté par la suite pour le protocole de synthèse dans l'EG en partant de YOC. En effet, en partant de Y_2O_3 , le produit fini subit deux calcinations et les particules obtenues sont plus rugueuses, facettées et agrégées alors qu'en utilisant le YOC, nous obtenons des particules plus dispersées, facilitant ainsi l'étape suivante de synthèse (enrobage par une coquille de silice mésoporeuse) et rendant leur application en biologie plus facile.

B. Les fluorures

Une matrice transparente dans la gamme de fréquences utilisées, une synthèse reproductible, un matériau stable à l'air libre et une énergie de phonons faible sont les caractéristiques exigées pour obtenir des rendements de luminescence conséquents et, lorsque les matériaux sont divisés conserver au mieux les propriétés optiques des dopants.

Les oxydes, hormis Y_2O_3 , présentent des phonons dont l'énergie est assez élevée. Les chlorures et les bromures sont hygroscopiques, ce qui les rend instables à l'air libre et leur synthèse nécessite de travailler en atmosphère contrôlée. Leur instabilité chimique limite fortement leur utilisation.

Malgré une synthèse délicate, les fluorures sont des matériaux très prometteurs particulièrement pour des applications optiques. En effet, ils présentent tous les critères requis pour une bonne matrice d'accueil, ce qui les rend bien adaptés à l'obtention de rendements de luminescence importants pour les ions terres rares. Comme il est décrit dans l'Annexe II, afin d'obtenir un rendement de luminescence important, plusieurs paramètres doivent être optimisés : absorption et transferts maximisés, et des relaxations non-radiatives limitées. La durée de vie des niveaux $4f$ des ions dopants dans les fluorures est longue ce qui favorise l'absorption et les transferts d'énergie à partir des niveaux excités. De plus, afin de réduire les transitions non radiatives par relaxation multiphonon et avoir ainsi le plus de niveaux émetteurs de photons, il faut que l'énergie de phonons soit la plus faible possible. Or les fluorures présentent généralement une énergie de phonons aux alentours de 400 cm^{-1} , valeur assez faible en comparaison à celle des oxydes (1000 cm^{-1}) ou des oxysulfures (520 cm^{-1}), ce qui engendre des rendements quantiques de fluorescence plus élevés [26].

Nous avons donc sélectionné deux matrices parmi les matrices fluorées : KY_3F_{10} et $NaYF_4$. KY_3F_{10} est un matériau qui a été très peu étudié à l'échelle nanométrique [27] mais qui devrait être particulièrement intéressant tandis que la matrice $NaYF_4$, réputée comme étant la matrice la plus performante en up conversion depuis le début des années 1970 [28], nous servira de référence.

I. KY_3F_{10}

Bien que la synthèse des fluorures soit délicate, nous avons pu mettre en place un protocole expérimental assez simple et reproductible. Plusieurs paramètres ont été pris en considération pour l'obtention de nanoobjets.

La synthèse de KYF_4 a été rapportée par l'équipe de Schäfer et *al.* [29]. Il s'agit d'une synthèse colloïdale qui permet l'obtention de particules de taille approximative de 13 nm et qui cristallisent dans le système cubique. Cependant, Vetrone et *al.* ont constaté que la substitution de l'ion Na^+ par son homologue K^+ donne lieu à une matrice thermodynamiquement plus stable et dont la synthèse est reproductible [27]. Les précurseurs utilisés lors de cette synthèse sont les trifluoroacétates de potassium et de terres rares solubilisés dans un mélange d'acide oléique et d'octadécène. Les particules de KY_3F_{10} obtenues sont plus ou moins sphériques, de taille moyenne de 15 nm et cristallisent dans le système cubique.

Une autre technique de synthèse a été exploitée par l'équipe de L. Zhu et *al.* pour l'obtention des nanosphères polycristallines de KY_3F_{10} avec une distribution de taille large (130- 450 nm). Il s'agit de la méthode « sonochimique » qui consiste à soumettre le mélange réactionnel, composé par des nitrates de terres rares et de fluoroborate de potassium (KBF_4), à une irradiation ultrasonique de haute intensité pendant 3 heures [30].

I.1. Paramètres influant sur la synthèse de KY_3F_{10}

I.1.1. Choix des précurseurs

Les sels métalliques les plus utilisés dans la littérature pour la synthèse de nanoparticules de KY_3F_{10} sont les nitrates et les acétates [32]. Les synthèses réalisées à partir de sels d'acétate présentent l'avantage d'obtenir des nanoparticules d'une taille inférieure à 100 nm. Comme cité dans le paragraphe au-dessus, en utilisant les trifluoroacétates de potassium et de terres rares, l'équipe de Vetrone et *al.* a synthétisé des nanoparticules de KY_3F_{10} pseudo-sphériques de diamètre moyen de 15 nm. Cependant, la libération d'acide acétique lors de la synthèse est susceptible de réduire la luminescence des terres rares, ce qui est relativement néfaste. Notre choix s'est donc porté sur les sels de nitrates. Les sels de nitrates, très solubles en milieu aqueux (3 Kg/L à température ambiante) donnent lieu à des nanoparticules de très faible taille.

I.1.2. Choix de la source de fluor

Le choix de la source de fluor a une conséquence directe sur la morphologie des particules obtenues [32], critère qui doit être maîtrisé car il a une grande influence sur les propriétés spectroscopiques du matériau.

Les sources de fluor principalement utilisées sont HF, NH_4F et NH_4HF_2 pour la synthèse des fluorures de structure LnF_3 , NaF ou KF et pour les fluorures de structure MLnF_4 . D'autres réactifs moins fréquemment utilisés incluent NaBF_4 et KBF_4 [33].

Cependant, afin d'éviter la présence de contre ions supplémentaires en utilisant par exemple du fluorure d'ammonium, il nous a semblé préférable d'utiliser l'acide fluorhydrique HF comme agent de fluoration, avec toutes les précautions nécessaires liées à la manipulation de ce réactif.

I.1.3. Effet de la température de recuit

D'une manière générale, un traitement thermique post-synthétique modifie la taille et/ou la morphologie des particules mais reste indispensable pour éliminer les contre ions et groupements organiques présents dans le milieu réactionnel en fin de synthèse et pour lesquels la séparation par centrifugation est inefficace. Il permet également de réduire les défauts de cristallisation et par conséquent d'améliorer le rendement de luminescence. Cependant, la température de calcination ne doit pas être trop élevée. En effet, si les recuits réalisés à haute température permettent d'éliminer les distorsions structurales, ils donnent lieu à des particules agrégées ou de taille élevée du fait du vieillissement d'Ostwald, limitant ainsi les applications en biologie.

I.2. Mode Opérateur

Tenant compte de tous ces paramètres, nous avons adopté le protocole de synthèse suivant pour la synthèse de KY_3F_{10} (20% Yb, 2%Er) :

Une solution de fluorures est préparée dans un bécher en téflon en dissolvant 0.58 g de KF dans 12 mL d'eau distillée et 590 μL de HF. Une solution de précurseurs de nitrates de terres rares est préparée en dissolvant 7.8 mmol de $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$, 2 mmol $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3$ et 0.2 mmol $\text{Er}(\text{NO}_3)_3$ dans 12 mL d'eau distillée. Cette solution est ensuite ajoutée goutte à goutte à la solution de fluorures à température ambiante sous agitation [34].

Un précipité laiteux est formé dès l'ajout des premières gouttes. Le mélange est ensuite transféré dans une bombe de minéralisation de 45 mL, montée à 180°C pendant une heure afin de croître et cristalliser les précipités (germes) formés.

Après refroidissement, le produit de réaction est séparé par centrifugation à 1200 tr/min pendant 20 min, puis lavé plusieurs fois à l'eau et à l'éthanol. La poudre obtenue est séchée à l'étuve à 80°C pendant une nuit puis subit un recuit pendant 4 heures à 400°C.

I.3. Caractérisations physico-chimiques

Les particules ainsi synthétisées sont caractérisées suivant plusieurs critères : leur cristallinité, la morphologie et la distribution en taille. En effet, ces critères ont une grande influence sur les propriétés optiques des matériaux.

I.3.1. Propriétés structurales

I.2.1.1. Structure cristallographique de KY_3F_{10}

KY_3F_{10} est un composé isotrope de symétrie cubique à faces centrées (O_h^6) avec une structure de type fluorine (MF_2). Il appartient au groupe d'espace ($\text{Fm}\bar{3}\text{m}$, $Z=8$) avec un paramètre de maille $a=11.54 \text{ \AA}$. Dans cette structure, représentée sur la Figure II. 10, les groupes ioniques $[\text{KY}_3\text{F}_8]^{2+}$ et $[\text{KY}_3\text{F}_{12}]^{2-}$ s'alternent le long des trois axes cristallographiques.

Dans le motif $[\text{KY}_3\text{F}_{12}]^{2-}$, les douze ions fluor notés F^1 , forment un cluster cubo-octaédrique alors que dans le motif $[\text{KY}_3\text{F}_8]^{2+}$, les ions fluor notés F^2 , forment un cube comme dans le cas de CaF_2 . Les ions Ln^{3+} substituent l'ion Y^{3+} entouré de huit atomes fluor ($4\text{F}^1+4\text{F}^2$) formant un site cubique anti-prismatique (YF_8)⁵⁻ de symétrie C_{4v} .

Certaines caractéristiques des distances interatomiques sont les suivantes $\text{F}^{(1)}-\text{F}^{(2)}=2.6879 \text{ \AA}$, $\text{F}^{(2)}-\text{F}^{(2)}=2.4949 \text{ \AA}$, $\text{K}-\text{F}^{(1)}=3.2033 \text{ \AA}$ et $\text{K}-\text{F}^{(2)}=2.8363 \text{ \AA}$.

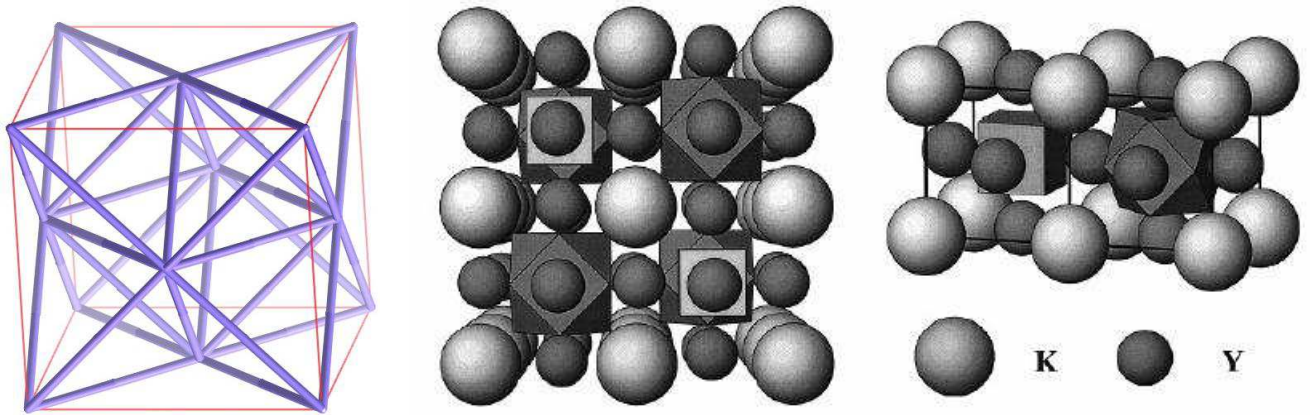


Figure II. 10 : structure cristalline de KY_3F_{10} (a) maille élémentaire et (b) structure des motifs $[KY_3F_8]^{2+}$ et $[KY_3F_{12}]^{2-}$ [36]

I.2.1.2. Détermination de la structure des objets

L'exploitation du diffractogramme de rayons X du composé KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) avant recuit (a) et après recuit (b) représenté sur la Figure II.11, permet de conclure que les particules de KY_3F_{10} cristallisent dans le système cubique avec le groupe d'espace Fm-3m. Å.

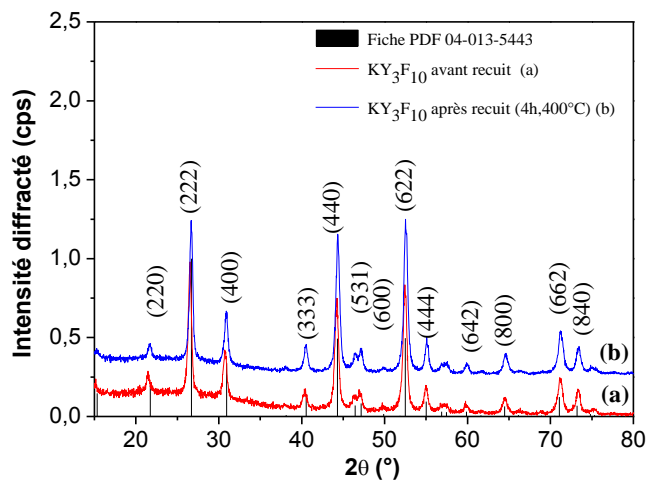


Figure II. 11 : Diffractogramme du composé KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) avant (courbe rouge) et après (courbe bleue) recuit (4h à 400°C)

Comme nous pouvons le constater, les pics de diffraction s'identifient tous à ceux de KY_3F_{10} (Fiche JCPDS N° 04-013-5443). Un affinement des paramètres de maille donne $a=b=c=11,4847$ Å. De plus, la phase est obtenue même sans recuit. Cependant, la calcination joue un rôle primordial sur l'état de cristallisation, qui est nettement visible par l'augmentation de l'intensité des pics de diffraction et la diminution de leur largeur.

I.2.2. Taille et cristallinité des particules

I.2.2.1. Taille des domaines monocristallins

La taille des domaines monocristallins est déterminée à partir de la longueur de cohérence monocristalline, déduite à partir de la formule de Debye-Scherrer (Tableau II.3).

Tableau II.3 : Longueurs de cohérence des domaines monocristallins des particules de KY₃F₁₀ (20%Yb, 2%Er)

2θ (°)	$\Delta 2\theta$ (°)	L (nm)	Direction cristallographique
26.36	0,007	20	(222)
30.60	0,008	18	(400)
44.09	0,008	18	(440)
52,32	0,008	18	(622)
54.88	0,011	14	(444)
64.41	0,010	16	(800)
71,15	0,009	17	(662)

La longueur de cohérence moyenne mesurée est de 17 ± 2 nm, et une certaine homogénéité des valeurs est observée. Ainsi, nous notons que la longueur de cohérence monocristalline varie peu selon la direction cristallographique.

Néanmoins, afin d'expliquer la dispersion des valeurs de longueur de cohérence obtenue, nous avons réalisé une analyse de Williamson-Hall pour déterminer l'existence ou non de défauts cristallins (Figure II. 12).

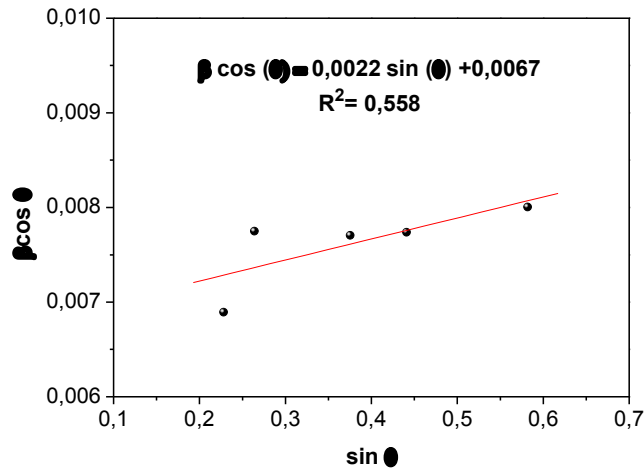


Figure II. 12 : Diagramme de Williamson-Hall du composé KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) après calcination

Cette analyse nous permet de constater effectivement un faible défaut de cristallinité des nanoparticules. En effet, les valeurs sont relativement proches, et ne semblent pas dépendre de l'angle de diffraction (pente de la droite d'allure très faible). La taille des domaines monocristallins calculée par l'analyse de Williamson-Hall est de 22 nm, ce qui est tout à fait cohérent avec les valeurs obtenues par l'analyse de Debye-Scherrer.

Nous avons ensuite observé les nanoparticules par microscopie électronique en transmission, afin de savoir si les objets synthétisés sont mono- ou polycristallins.

I.2.2.2. Taille et morphologie des particules : MET

Des clichés de microscopie électronique en transmission des particules de KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) synthétisées par co-précipitation puis vieillissement hydrothermal 1 h à 180°C en solution dans l'éthanol ont été réalisés. L'aspect général des objets est montré sur la Figure II.13.

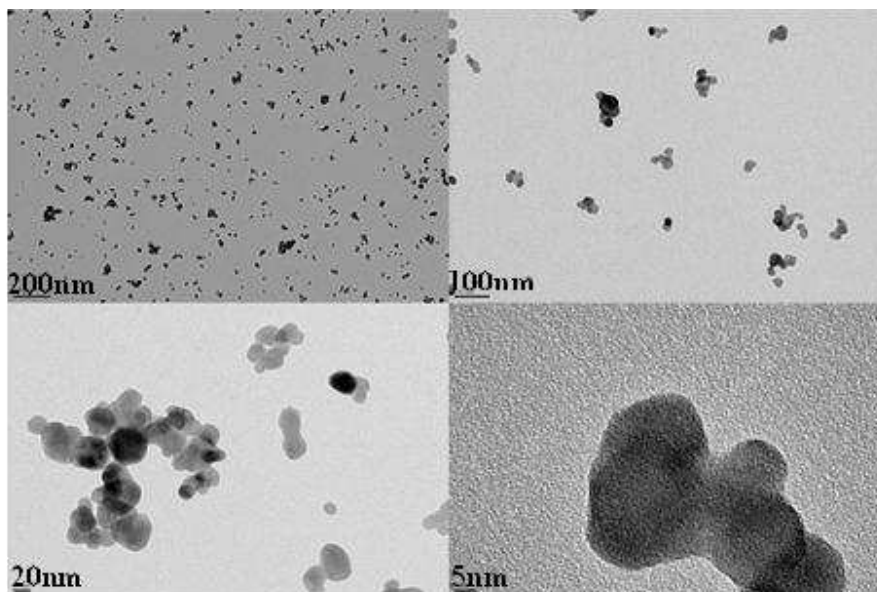


Figure II. 13 : Clichés MET de nanoparticules de KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) à plusieurs grossissements

Sur ces clichés, nous distinguons des nanoparticules individuelles et d'autres agrégées. Elles ont une morphologie pseudo-sphérique et une taille globalement homogène. Sur le cliché de microscopie de la Figure II.13. (d) apparaît clairement la structure cristalline des particules.

La distribution en taille des objets a été calculée par sélection sur les clichés de microscopie de 100 particules dispersées et mesure du diamètre de chacune de ces particules. Elle est représentée sur la Figure II.14.

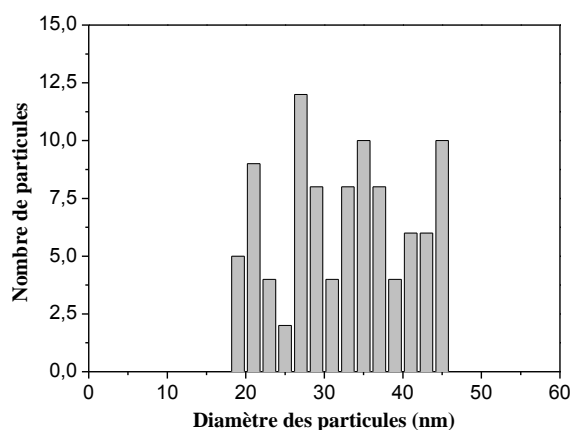


Figure II. 14 : Distribution en taille des particules de KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) synthétisées par précipitation puis vieillissement hydrothermal (1h à 180°C)

Il semble exister des agrégats en solution, car la distribution en taille est relativement large. Ceci est également visible sur la Figure II. 13. Le diamètre moyen des particules est de 33 ± 8 nm. La taille des domaines monocristallins obtenue par la formule de Scherrer est légèrement inférieure, de l'ordre de 22 nm. D'après l'allure de la distribution en taille, on peut donc conclure que certaines des nanoparticules de KY_3F_{10} sont monocristallines, et d'autres sont constituées de plusieurs coeurs. Toutes sont cependant suffisamment petites, et nous ne faisons pas de sélection en taille pour réaliser l'enrobage par une coquille cristalline.

I.3. Enrobage par une coquille cristalline de KY_3F_{10}

I.3.1. Mode Opérateur

Pour enrober les particules par une coquille de KY_3F_{10} non dopé, le protocole de synthèse de KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er), protocole décrit dans le paragraphe B.I.2, a été reproduit, en présence de germes de KY_3F_{10} (Yb, Er). Une solution de fluorures est préparée comme décrit précédemment et une solution de précurseurs de nitrates de terres rares est préparée en dissolvant 1 mmol de $Y(NO_3)_3$ et 100 mg de germes de KY_3F_{10} dans 12 mL d'eau distillée. Cette solution est ensuite ajoutée goutte à goutte à la solution de fluorures à température ambiante. Après 10 min d'agitation vigoureuse, le mélange est transféré dans la bombe de minéralisation et mis à l'étuve 1 heure à $180^\circ C$.

Après refroidissement, le produit de synthèse est récupéré par centrifugation, lavé plusieurs fois à l'eau et l'éthanol, séché à l'étuve à $80^\circ C$ pendant une nuit puis recuit 4 heures à $400^\circ C$.

I.3.2. Taille et morphologie des objets

Comme précédemment, nous avons caractérisé les objets obtenus par leur taille et leur morphologie.

Les clichés de microscopie électronique en transmission des nanoparticules cœur-coquille de KY_3F_{10} (20%Yb, 2%Er) enrobées par une coquille cristalline de KY_3F_{10} non dopée sont réalisés (Figure II. 15). La distribution en taille est calculée à partir des mesures sur 100 particules d'un même échantillon (Figure II. 16).

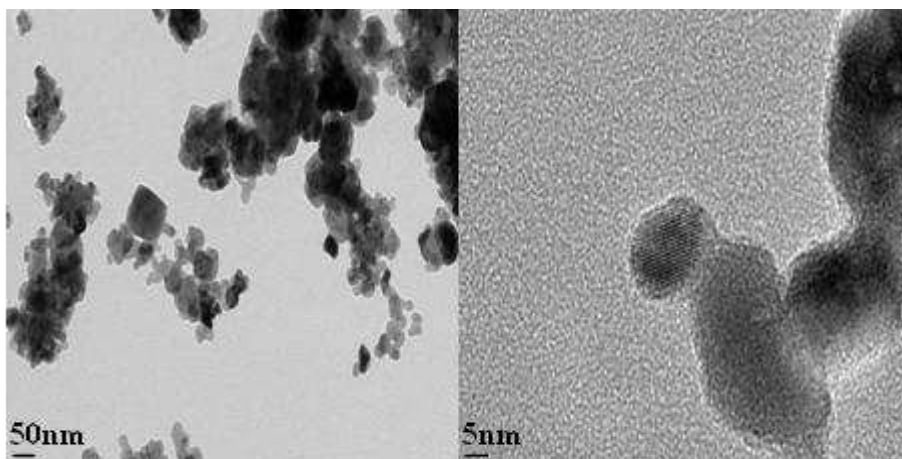


Figure II. 15 : Clichés MET de nanoparticules de KY_3F_{10} (20Yb, 2%Er) de structure cœur coquille

Nous observons sur ces clichés des nanoparticules qui semblent assez agrégées. On observe également deux types de populations, des particules de taille égale à 30 ± 8 nm (taille identique à celle des particules de structure cœur) et des particules de taille supérieure ($\sim 53 \pm 7$ nm). La distribution en taille de cet échantillon, donnée sur la Figure II. 16, montre effectivement la présence de plusieurs populations. Une nucléation homogène et hétérogène se passant simultanément dans le milieu de synthèse pourrait expliquer la présence de ces deux populations.

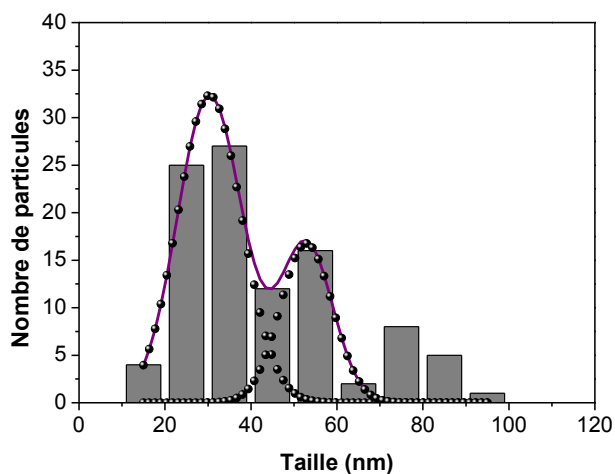


Figure II. 16 : Distribution en taille des nanoparticules de KY_3F_{10} (20Yb, 2%Er) de structure cœur coquille

II. NaYF₄

Parmi les fluorures dopés par les ions lanthanides, NaYF₄ est la matrice la plus étudiée dans la littérature pour diverses applications (pour les applications lasers [45], pour les écrans plats 3D [46], l'imagerie infrarouge à faible intensité [47], ou encore comme sonde biologique [48-50]). En ce qui concerne les applications biologiques et en particulier la PDT, seule cette matrice est considérée.

Plusieurs propriétés en font une matrice de choix : une stabilité chimique très élevée et une énergie de phonons faible ($<400\text{ cm}^{-1}$) [38]. Sous forme massive et dans la phase cristalline hexagonale, NaYF₄ codopé Ln³⁺ est réputé comme étant l'une des matrices les plus efficaces [37-39] pour des processus d'up conversion entre Er³⁺ ou Tm³⁺ et Yb³⁺. La matrice elle-même (NaYF₄) est optiquement inactive, elle n'absorbe et n'émet aucun photon, mais place les ions émetteurs dans un environnement favorable. Cependant les mécanismes expliquant l'amélioration des propriétés de luminescence restent encore à ce jour non démontrés [39].

Plusieurs voies de synthèse de nanoparticules de NaYF₄ ont été reportées, dont certaines [40, 41] donnent lieu à des particules qui cristallisent dans le système cubique, moins intéressant que la phase hexagonale. L'inconvénient majeur de l'obtention des nanoparticules de NaYF₄ en phase hexagonale sont les voies de synthèse [42-44] utilisant des ligands organiques et l'acide oléique, ce qui conduit à des particules miscibles dans les solvants organiques et non miscibles dans l'eau ce qui rend les applications biologiques plus difficile.

II.1. Mode opératoire

Le protocole suivi pour la synthèse du NaYF₄ est tiré des travaux de Chow et *al.* [51].

Des trifluoroacétates de terres rares (CF₃COO)₃TR sont préparés par dissolution des oxydes de terres rares correspondants dans l'acide trifluoroacétique, suivie d'un séchage à l'étuve à 80°C.

Pour la synthèse de particules de NaY_{0.78}Yb_{0.2}Er_{0.02}F₄ noté NaYF₄ (20%Yb, 2%Er), un mélange de 0.5 mmol de CF₃COONa, 0.195 mmol de (CF₃COO)₃Y, 0.05 mmol de (CF₃COO)₃Yb et 0.005 mmol de (CF₃COO)₃Er est dissout dans 5 mL d'oleylamine dans un ballon de 25 mL. La solution est agitée et chauffée à 340°C pendant 1h sous protection d'argon.

Après refroidissement, la solution est récupérée et le produit de réaction est séparé par centrifugation à une vitesse de 1200 tr/min pendant 20 min puis lavé plusieurs fois à l'eau et à l'éthanol puis séché à l'air libre et à température ambiante pour obtenir le produit final.

II.2. Caractérisations physico-chimiques

Les matériaux synthétisés ont été caractérisés comme précédemment.

II.2.1. Analyse structurale

Le produit final est cristallin, et sa structure est déterminée par diffraction des rayons X, dont le diagramme est montré sur la Figure II. 17. Les pics de diffraction détectés sont associés à une structure cubique, et les pics peuvent être indexés selon la fiche JCPDS n° 04-013-7404. Les paramètres de maille, affinés par U-Fit, sont les suivants $a = b = c = 5,471 \text{ \AA}$. De plus, une forte contribution amorphe est également présente sur le diagramme, sûrement due à la présence de particules non-cristallines de très petite taille.

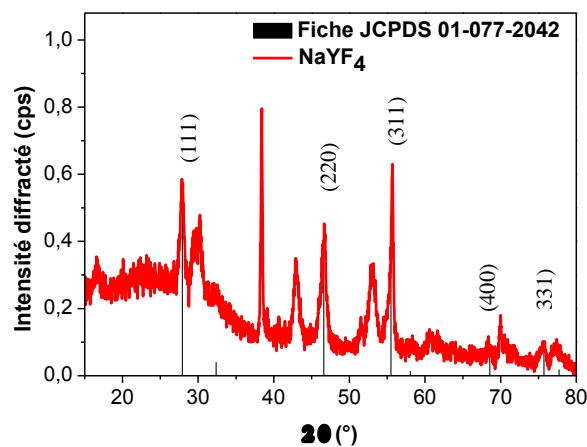


Figure II. 17 : Diffractogramme du composé NaYF_4 (20%Yb, 2%Er)

II.2.2. Taille des objets

Les particules obtenues sont très petites (de l'ordre de 10 nm), sphériques, et monodisperses comme nous pouvons le constater sur les clichés de microscopie en transmission (Figure II.a). Une statistique en taille a été réalisée sur 200 particules, qui donne une taille moyenne de $9 \pm 3 \text{ nm}$ (Figure II.18.b).

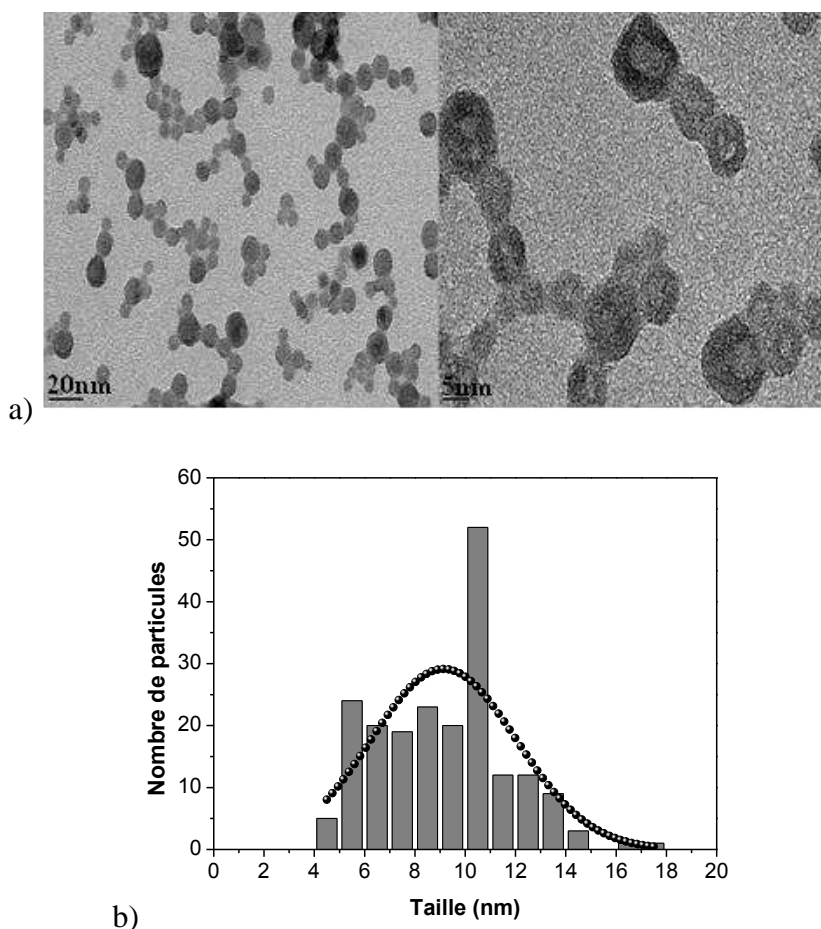


Figure II.18 : a) Clichés MET de nanoparticules de $\text{NaYF}_4(20\text{Yb}, 2\%\text{Er})$ et b) distribution en taille

II.3. Enrobage cœur coquille

L'enrobage cœur-coquille par du NaYF_4 non-dopé est déjà décrit dans la littérature, et consiste à réaliser une synthèse similaire à la synthèse de cœurs, mais en présence de germes cristallins.

II.3.1. Protocole expérimental

Cette synthèse est une continuité du mode opératoire de la synthèse des particules cœurs NaYF_4 . 1mL d'une solution de précurseurs contenant 0.5mmol CF_3COONa et 0.25mmol $(\text{CF}_3\text{COO})_3\text{Y}$ dans l'oleylamine est ajouté goutte à goutte au milieu réactionnel de synthèse de NaYF_4 (20%Yb, 2%Er) à 340°C. Le mélange est agité pendant une heure à la même température sous protection d'argon. Après refroidissement, les particules cœur-coquille sont extraites par centrifugation. Après trois lavages à l'eau et à l'éthanol et séchage à l'air libre et à la température ambiante, le produit final se présente sous forme de poudre blanche.

II.3.2. Taille et morphologie des objets

Les particules obtenues sont sphériques monodisperses et cristallisées comme cela peut être vu sur les clichés de microscopie de la Figure . Une statistique en taille a été réalisée sur 200 particules (Figure .b.), une taille moyenne de 7.5 ± 2 nm est ainsi évaluée. La taille obtenue est inférieure à la taille du cœur NaYF_4 (20%Yb, 2%Er), traduisant le fait que de nouvelles particules de NaYF_4 non dopées ont été synthétisées au cours de la synthèse sur germes. Cependant, nous ne voyons pas deux populations distinctes, comme dans le cas de la synthèse de la coquille cristalline de Y_2O_3 dans H_2O représenté sur la Figure II.9 (e).

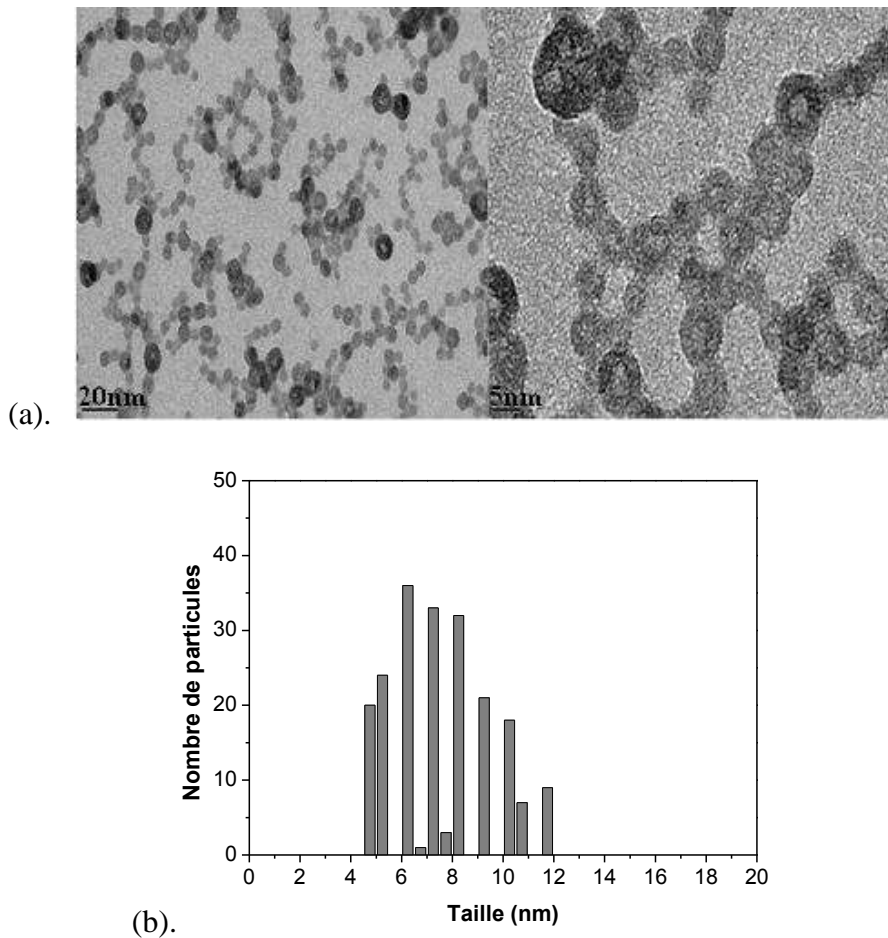


Figure 19 : a) Clichés MET de nanoparticules de NaYF_4 (20Yb, 2%Er) @ NaYF_4 (structure cœur coquille) et b) distribution en taille

NaYF_4 a été largement exploité dans la littérature pour différentes applications particulièrement pour la PDT. Dans le cadre de notre étude, cette matrice a été synthétisée et caractérisée afin de servir de point comparaison avec notre matrice fluorée principale, KY_3F_{10} .

III. Conclusion

Nous avons donc synthétisé 3 types de nanoparticules, constituant le cœur de l'objet, et à l'origine des propriétés optiques intéressantes pour la PDT. Afin d'obtenir une réponse biologique de ces nanoparticules, il est maintenant nécessaire de les coupler avec un photosensibilisateur, ce qui fait l'objet de la section suivante.

C. Les stratégies d'incorporation du PS

Plusieurs méthodes d'encapsulation ont été étudiées dans la littérature pour protéger le PS de l'environnement extérieur afin qu'il puisse agir d'une manière efficace.

Le PS peut être dissous dans la matrice, ou adsorbé à la surface soit d'une manière physique (liaisons hydrogène, liaisons Van Der Waals), soit d'une manière chimique (greffage par liaisons covalentes).

Dans notre cas, il s'agit de la modification de la surface de la silice mésoporeuse pour incorporer le PS. Il s'agit de modifier la surface en introduisant un groupement organique ce qui a pour conséquence la modification des propriétés chimiques et physiques de la silice mais d'une manière contrôlée.

Le procédé sol-gel, schématisé sur la Figure II.20, conduit à la formation du réseau silicaté. Il s'agit d'une succession de réactions d'hydrolyse et de condensation d'un précurseur alcoxy-silane qui s'effectue en milieu basique et en présence d'un tensioactif. L'élimination du tensioactif par extraction ou calcination conduit au matériau final.

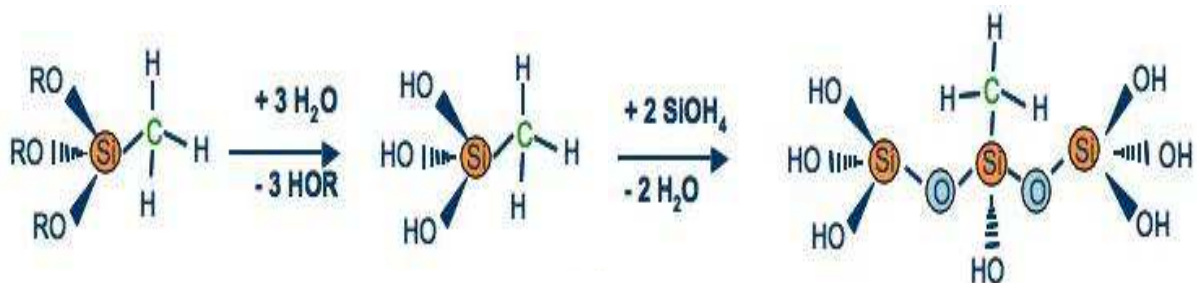


Figure II.20 : procédé sol-gel

La modification de la surface de la silice par l'introduction d'un groupement organique permet de modifier ses propriétés physiques et chimiques de manière contrôlée afin de générer de nouveaux matériaux. Cette modification est réalisée soit par physisorption par imprégnation, soit par chimisorption qui implique des liaisons covalentes.

I. Modification par chimisorption

La modification par chimisorption repose sur la réactivité des groupements silanols à la surface de la silice. Cette modification peut être réalisée post-synthèse ou *in situ* par condensation.

I.2. Greffage post-synthèse

Le greffage post-synthèse comme son nom l'indique, est effectué après la formation du réseau silicaté. Il s'agit de la création d'une liaison covalente entre le PS et la silice, ou plus précisément avec des groupements silanols de surface ou un groupement organosilane. L'efficacité de ce type de modification post-synthèse dépend du contrôle de la concentration des groupements organiques introduits et leur distribution. En effet, la concentration des groupements organiques introduits est directement liée aux nombre de groupements silanols à la surface de la silice et leur accessibilité.

I.3. Fonctionnalisation *in situ* par condensation

Cette fonctionnalisation consiste en la modification de la surface de la silice par l'introduction *in-situ* d'un organoalcoxysilane portant le groupement organique lors de l'étape de condensation en présence d'un alcoxysilane. En effet, les réactions impliquées en chimie organique sont favorisées par les conditions douces du procédé sol-gel.

La fonctionnalisation *in situ* par condensation est une voie de modification directe. En effet, l'incorporation du groupement organique s'effectue pendant la formation du réseau silicaté donnant lieu à des matériaux plus structurés avec une distribution uniforme des fonctions organiques sur l'ensemble de la surface de la silice. Elle permet également de contrôler la quantité de groupements introduits en modulant le rapport alcoxysilane/organoalcoxysilane employé [52].

Les premières synthèses de ce type ont été décrites par les groupes de Mann [53], Macquarrie [54] et Stein [55] et les silices modifiées synthétisées par cette voie sont alors appelées ORMOSILs (ORganically MODified SILicates).

II. Modification par physisorption

La modification par physisorption est régie par des interactions faibles de type liaisons électrostatiques et liaisons hydrogènes, entre la silice et le PS. Elle implique soit des procédés d'adhésion, soit l'inclusion du PS dans les pores.

Expérimentalement, une simple agitation de la solution contenant la matrice silicatée poreuse et le PS mène à la pénétration du PS dans les pores. Une autre façon de procéder est d'introduire le PS directement dans le milieu de synthèse, lors de la formation du réseau silicaté par le procédé sol-gel décrit précédemment.

Nous avons choisi de lier nanoparticules et PS par physisorption. Les NPs sont tout d'abord enrobées par de la silice mésoporeuse. En effet, la silice mésoporeuse est biocompatible et représente un transporteur prometteur pour la PDT, en raison de la taille et du volume des pores maîtrisables mais aussi permettant facilement la fonctionnalisation de leur surface. La silice mésoporeuse assure la perméabilité de l'oxygène et de l'oxygène singulet généré qui est essentielle pour la PDT [56].

Grâce à ses propriétés spécifiques (surface spécifique élevée, taille des pores contrôlable, possibilité de fonctionnalisation, ...), la silice mésoporeuse est un candidat potentiel pour des applications dans différents domaines par exemple, les applications biologiques telles que la PDT, l'imagerie *in vivo* [57-59] et le marquage cellulaire [60-62].

III. Synthèses et caractérisations

La formation du réseau silicaté se base sur la succession de réactions d'hydrolyse et de condensation. Le principal obstacle de cette méthode est de pouvoir transformer toute la quantité de précurseurs d'alcoxisilanes introduits dans le milieu réactionnel sous forme de dépôt de silice sur les nanoparticules sans former de nouveaux germes en solution. Pour cela, il faut prendre en considération plusieurs paramètres tels que le milieu réactionnel, l'affinité de la surface pour la silice et la concentration des réactifs introduits.

III.1. Enrobage par la silice mésoporeuse

III.1.1. Paramètres influents

III.1.1.1. Le milieu réactionnel

Les réactions d'hydrolyse et de condensation peuvent être réalisées en milieu alcoolique ou hydro-alcoolique car les alcoxysilanes sont solubles dans ces milieux. De plus, l'hydrolyse et la condensation des alcoxysilanes sont catalysées en milieu acide ou basique [63]. Cependant, en milieu acide le risque est de former une solution polymérique faiblement réticulée alors qu'en milieu basique, le rapport condensation sur hydrolyse augmente favorisant ainsi la consommation des silanols. Il semble donc adéquat de travailler en milieu hydro-alcoolique basique afin de favoriser l'enrobage des nanoparticules par la silice, comme l'a très bien décrit Stöber.

III.1.1.2. Affinité de la surface pour la silice

Afin d'enrober les nanoparticules, il faut s'assurer que la surface est apte à un futur dépôt de silice, sinon il est toujours possible de rendre la surface « vitréophile » [64, 65]. Pour rendre la surface des nanoparticules « vitréophile », il est possible de complexer la surface en utilisant des alcoxysilanes fonctionnalisés. Ceci a été réalisé sur des nanoparticules semi-conductrices (CdSe) dont la surface a été complexée par des alcoxysilanes thiolés, ou encore sur des nanoparticules d'or complexées par des alcoxysilanes aminés [66-68].

Rappelons que les nanoparticules qui doivent être enrobées de silice, dans le cadre de ce travail, sont des fluorures (NaYF_4 et KY_3F_{10}) et un oxyde (Y_2O_3) de structure cœur-coquille dopées par des ions terres rares. Grâce au caractère ionique des liaisons des nanoparticules, il est admis que la surface présente une affinité pour la silice.

III.1.1.3. Concentration des réactifs

III.1.1.3.1. Concentration en alcoxysilane

Dans le but de favoriser l'enrobage des nanoparticules vis-à-vis de la formation de nouveaux germes de silice en solution, autrement dit favoriser la catalyse hétérogène vis-à-vis de la catalyse homogène, nous devons limiter la concentration des fonctions silanols en contrôlant le rapport [alcoxysilane] / surface des germes.

En effet, il a été rapporté dans les travaux de Kobayachi [69] qu'au-delà d'une certaine valeur du rapport [alcoxysilane] / surface des germes, le dépôt d'une couche de silice de faible épaisseur sur la surface des particules conduit souvent à la formation de germes d'alcoxysilanes en solution ou encore l'enrobage de plusieurs nanoparticules agrégées par une même coquille de silice (Figure II.21).

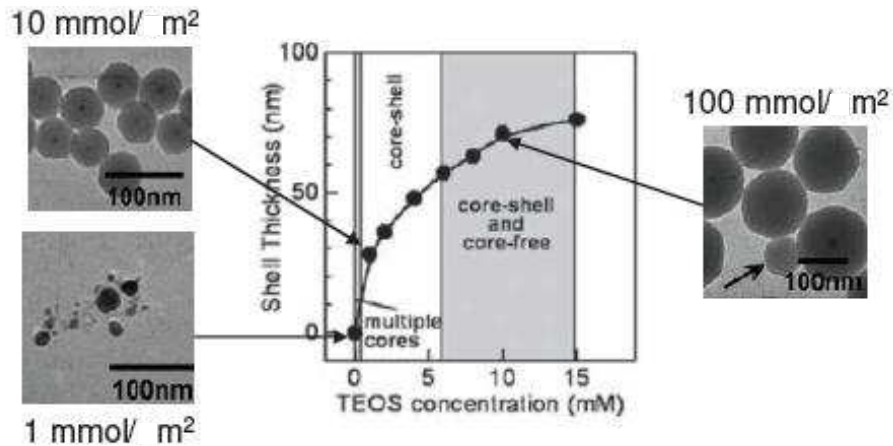


Figure II.21 : Effet de la concentration en tétraalcoxysilane sur la nature des objets obtenus en présence de nanoparticules d'argent à $0.1 \text{ m}^2/\text{L}$ [69, 70]

Le choix de l'alcoxysilane est aussi important. Il a été démontré que la nature du groupement alcoxy est directement liée à la taille des objets formés [63]. En effet plus la taille du groupement alcoxy est faible, plus la formation des particules est rapide et les tailles obtenues faibles

III.2.1.3.2 Concentration en nanoparticules

La surface totale initiale des particules est déterminée à partir de la concentration en nanoparticules introduites. L'étude de la croissance de nanoparticules enrobées de silice à partir de tétraalcoxysilanes réalisée par Chen et *al.* [71], a permis de conclure que plus la surface totale initiale est élevée, plus la formation de nouveaux germes en solution est limitée. L'enrobage de nanoparticules d'or par une coquille de silice a été réalisé en utilisant des concentrations en surface totale initiale de l'ordre de $0,5 \text{ m}^2/\text{L}$ [72]. D'autres enrobages ont été réalisés sur des nanoparticules de fer d'oxyde Fe_3O_4 en utilisant une concentration surfacique initiale de l'ordre de $50 \text{ m}^2/\text{L}$ [73].

Compte tenu de tous les paramètres influents qui ont été décrits ci-dessus, nous avons décidé de travailler dans les conditions suivantes :

- Un milieu hydro-alcoolique légèrement basique qui semble être le meilleur milieu réactionnel.
- La concentration initiale en nanoparticules est fonction de leurs tailles et sera calculée pour chaque matrice. La surface développée doit néanmoins être suffisante pour favoriser la formation d'une coquille au détriment de nouveaux germes. Par exemple pour Y_2O_3 , la concentration en nanoparticules est égale à 0,25 mol/L soit une concentration surfacique égale à 6,65 m²/L.
- Le tétraéthoxysilane (TEOS) est l'alcoxysilane utilisé avec une concentration de l'ordre de 2,5 mmol/m² de surface de nanoparticules.

III.1.2. Protocole expérimental

Il s'agit d'une hydrolyse-polycondensation du TEOS en présence du tensioactif C₁₆-TAB en milieu hydro-alcoolique légèrement basique.

Dans un premier temps, le protocole expérimental décrit dans la littérature [74] est adapté pour s'assurer de l'efficacité du procédé et optimiser les paramètres. Ce protocole consiste à enrober des particules de silice de taille de 300 nm par une couche de silice mésoporeuse dont l'épaisseur est fonction du tensioactif utilisé.

Nous avons choisi de travailler avec le bromure decetyltriméthyl ammonium (C₁₆-TAB). En utilisant le C₁₆-TAB comme tensioactif, et non du C_n-TMS [75], une silice très bien structurée est obtenue avec des pores ordonnés, présentant également une haute stabilité chimique et thermique. Les mésopores présentent un volume poreux important ce qui permet d'encapsuler une large dose de PS.

Une certaine masse de nanoparticules de structure cœur-coquille est dispersée dans un mélange éthanol, eau et ammoniacque (12,5 : 2 : 1) puis diluée dans 40 mL d'eau distillée. Nous ajoutons ensuite rapidement à cette suspension 6 mL d'une solution de C₁₆-TAB de concentration 110 mM sous agitation vigoureuse. Après 30 minutes, 430 µl de TEOS sont ajoutés au milieu réactionnel et la solution est laissée sous agitation une nuit à température ambiante.

Le tensioactif est éliminé par plusieurs lavages des nanoparticules à l'eau et à l'éthanol, révélant alors la mésoporosité de la structure qui peut servir d'hôte pour les PS.

Le produit final est obtenu après une nuit de séchage à l'étuve à 80°C. L'étape de calcination a été éliminée volontairement, car la silice se densifie.

III.1.3. Caractérisations physico-chimiques

L'enrobage des nanoparticules par de la silice mésoporeuse a été caractérisé par spectroscopie infra-rouge et par microscopie électronique en transmission.

III.1.3.1. Mise en évidence de l'enrobage par spectroscopie infra-rouge

L'enrobage des nanoparticules par une couche de silice mésoporeuse peut être caractérisé en infra-rouge par la présence des vibrations de la silice. Les spectres des nanoparticules d'oxyde d'yttrium, de structure cœur-coquille, avant et après enrobage ont été enregistrés entre 600-4000 cm^{-1} et sont représentés sur la Figure II.22a.

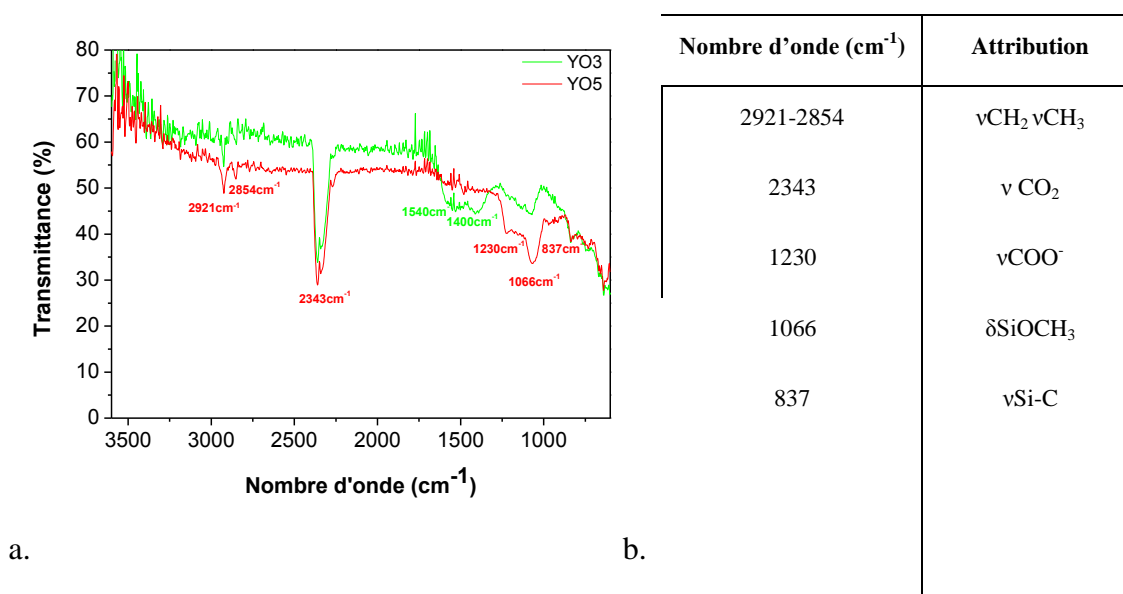


Figure II. 22 : a) Spectres infra-rouge en transmittance des nanoparticules de Y_2O_3 de structure cœur-coquille avant et après enrobage d'une couche de silice mésoporeuse ; b) Attribution des bandes caractéristiques visibles sur les deux spectres Infra-Rouge.

Sur les spectres de l'oxyde d'yttrium avant enrobage, nous observons un doublet à 1540 cm^{-1} et 1400 cm^{-1} qui peut être attribué à CO_3^{2-} (vibration d'élongation asymétrique), les autres pics enregistrés à 1230 et 845 cm^{-1} étant également attribués à CO_3^{2-} (vibration d'élongation symétrique). Cette observation est similaire à la Figure II.3a représentant le spectre infra-rouge en transmittance des nanoparticules Y_2O_3 de structure cœur.

Sur le spectre de l'oxyde d'yttrium après enrobage, nous observons des bandes supplémentaires, caractéristiques des vibrations Si-O-Si à 1066 cm^{-1} et des Si-OCH₃ à 1230 cm^{-1} . Les anneaux de silice vibrent également à 837 cm^{-1} .

La caractérisation par spectroscopie infra-rouge nous a permis de mettre en évidence un dépôt de silice à la surface des particules. Cependant, il faut vérifier le caractère mésoporeux de cette couche de silice afin de déterminer son aptitude à encapsuler le ZnPc.

III.1.3.2. Epaisseur et porosité de la couche de silice

L'enrobage des nanoparticules par la silice a été caractérisé par microscopie électronique en transmission et les clichés réalisés sont représentés sur la Figure II.23. Sur ces clichés, nous observons la formation d'une coquille mésoporeuse, de contraste faible, autour des nanoparticules.

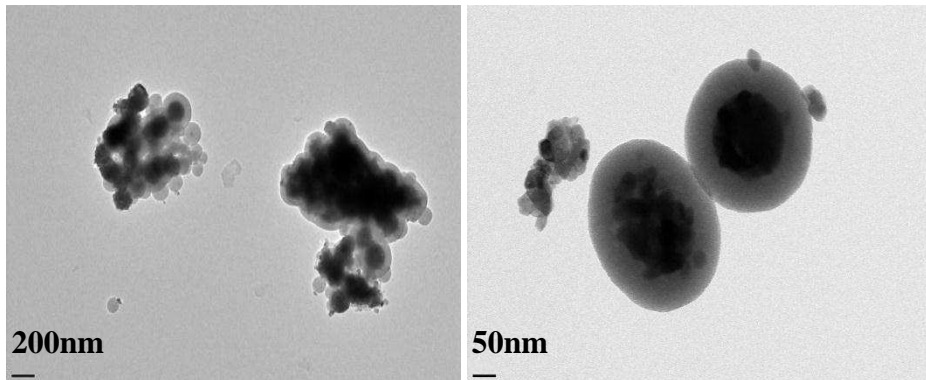


Figure II.23 : Clichés de MET réalisés sur une solution de nanoparticules de Y_2O_3 codopées (structure cœur-coquille, enrobée par une couche de silice mésoporeuse)

Les objets sont constitués essentiellement d'une nanoparticule (cœur noir) enrobée de silice (coquille grise). Quelques objets présentent néanmoins plusieurs nanoparticules dans une même coquille et sur quelques clichés, nous constatons la présence de quelques coquilles de silice vides.

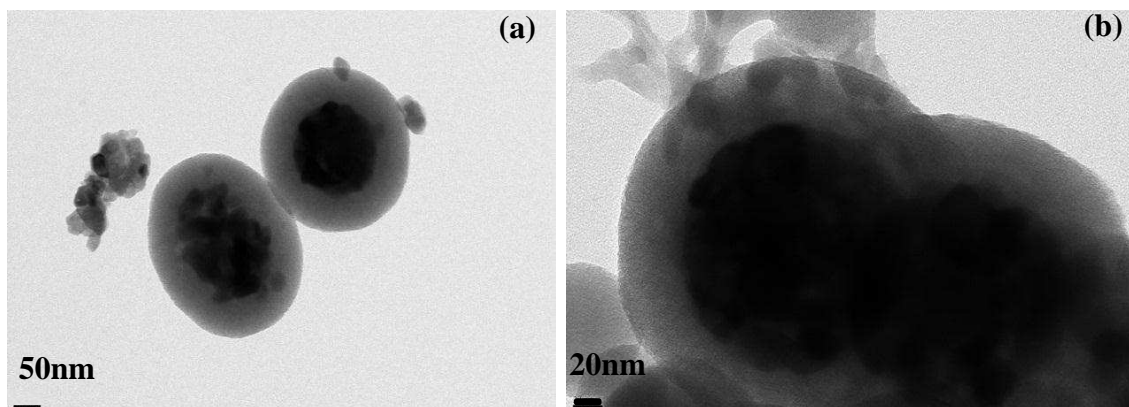


Figure II.24 : Clichés MET réalisés sur les nanoparticules (a) avant la calcination (b) après une calcination de 6 heures à 550°C

Grâce à ces clichés, nous avons mesuré l'épaisseur de la couche de silice enrobant les nanoparticules qui est, alors, de l'ordre de 50 nm avec des pores de 2 nm, taille convenable pour accueillir le ZnPc de taille 1,4 nm [52]. Comme déjà mentionné dans le protocole expérimental, l'étape de calcination a été éliminée pour éviter de densifier la silice (Figure II.24), le but étant d'enrober les nanoparticules par une couche de silice mésoporeuse dont les pores serviront d'hôtes pour les PS.

Nous avons, également, déterminé l'épaisseur théorique de la couche déposée en surface des nanoparticules. D'après les expériences de Van Blaaderen et al. [76] lors du dépôt de tétraalcoxysilanes sur des germes polydispersés dans des conditions de Stöber, l'épaisseur de la couche déposée est indépendante de la taille initiale du germe. Nous pouvons ainsi calculer l'épaisseur théorique obtenue si le TEOS se dépose exclusivement en surface des particules, et si la réaction de condensation est totale.

Pour les oxydes d'yttrium, le volume de silice pouvant être créé lors de l'enrobage est donc de $0,045 \text{ cm}^3$. La quantité de nanoparticules est de 0,45 nmol, soit $1,13 \cdot 10^{14}$ nanoparticules. Le volume moyen d'une nanoparticule étant de 1767146 nm^3 , l'épaisseur théorique de la couche déposée en surface des particules déduite ($e_{\text{théorique}}$) est égale à 46 nm. La valeur théorique (calculée) et la valeur expérimentale (mesurée) sont concordantes.

III.2. Imprégnation des nanoparticules par ZnPc

III.2.1. Protocole expérimental

Pour encapsuler le ZnPc dans les pores de silice, 100 mg de chaque matériau synthétisé de structure cœur-coquille cristalline enrobé par une couche de silice mésoporeuse ont été dispersés dans 1 mL d'une solution de ZnPc dans la pyridine de concentration 0,5 mg/mL puis laissé pendant 24 heures à température ambiante. La suspension est ensuite centrifugée et lavée par un tampon phosphate (PBS) à une vitesse de 13000 tr/min. Les surnagants sont récupérés pour vérifier par la suite l'efficacité et la robustesse de l'imprégnation.

III.2.2. Quantification du ZnPc par absorption UV-Visible

Une solution mère de ZnPc dans la pyridine de concentration 50 μM a été préparée. 2 mL de cette solution ont été prélevés et placés dans une cuve afin d'enregistrer le spectre d'absorption UV-Visible de 600 à 800 nm. La solution est ensuite diluée dans le but de tracer une courbe d'étalonnage qui traduit la corrélation entre l'aire du spectre d'absorption de 625 à 700 nm ou la valeur de l'absorption maximale et la concentration de la solution de ZnPc dans la pyridine (Figure II.25).

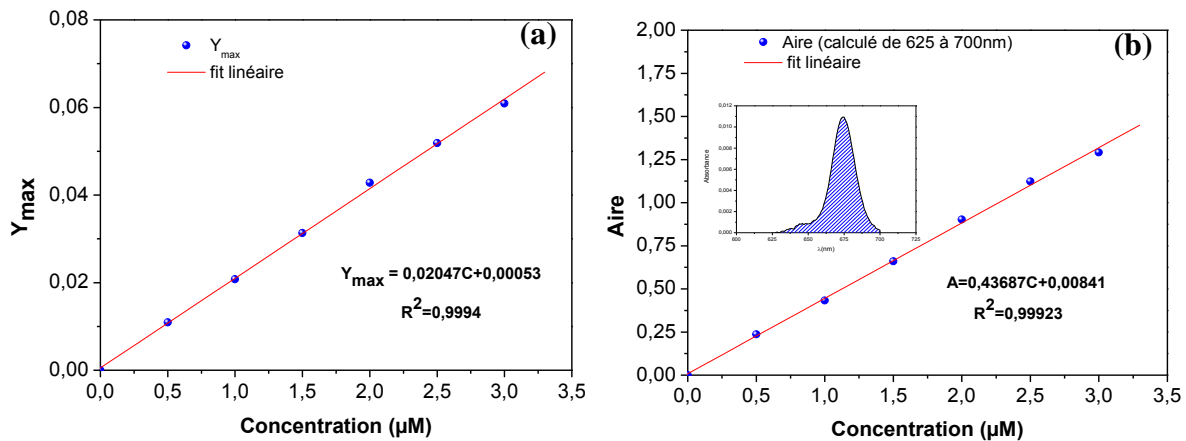


Figure II.25 : Courbes d'étalonnage du ZnPc dans la pyridine par absorption UV-Visible (a) $Y_{\max}=f(C)$ et (b) Aire= $f(C)$

Les courbes d'étalonnage obtenues sont des droites d'équation $y = 0,43687 x + 0,00841$ ($R^2 = 0,99923$) pour Aire = $f(C)$ et $y = 0,02047 x + 0,00053$ ($R^2 = 0,9994$) pour $Y_{\max}=f(C)$.

En utilisant la loi de Beer-Lambert (formule 3), nous avons déterminé une valeur moyenne du coefficient d'extinction molaire du ZnPc dans la pyridine, qui est égale à $\epsilon_\lambda = 4,46.10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

$$A = \epsilon_\lambda \cdot L \cdot C \quad (3)$$

Avec :

A : absorbance à une longueur d'onde λ (sans unité)

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

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

Nous pouvons alors estimer la concentration de ZnPc dans n'importe quelle solution en supposant que ϵ_λ reste constante.

III.2.3. Efficacité et robustesse de l'encapsulation du ZnPc

Afin de vérifier l'efficacité de la méthode d'incorporation du PS dans les pores de la silice, des mesures de spectroscopie UV-Visible ont été réalisées sur la solution initiale de ZnPc dans la pyridine (solution d'imprégnation des particules) et sur le surnageant récupéré comme représenté sur la Figure II.26. Le taux d'encapsulation calculé est égal à 95 %.

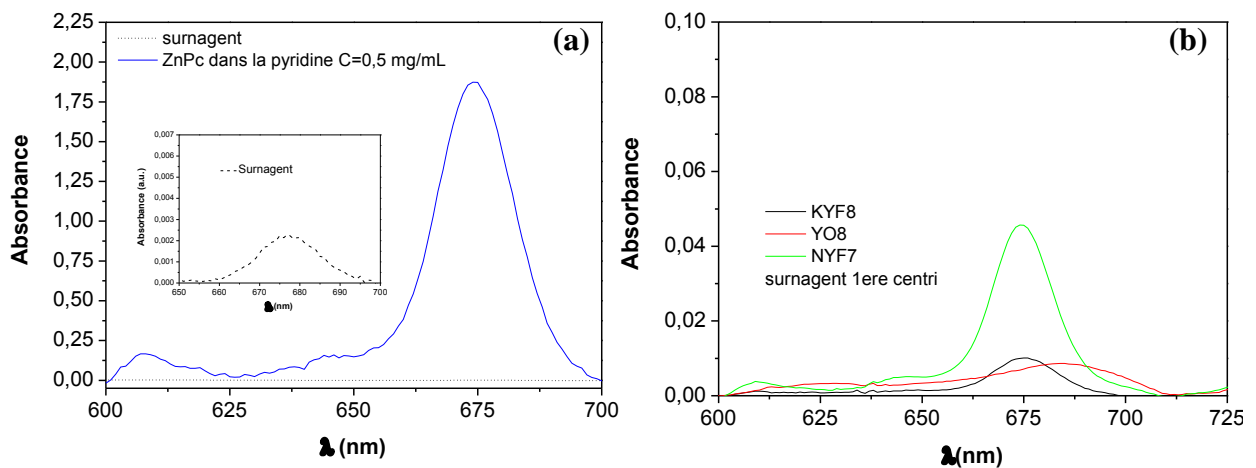


Figure II.26 : Spectres d'absorption UV-Visibles (a) de la solution initiale d'imprégnation (ZnPc dans la pyridine de concentration 0,5 mg/mL et du surnageant correspondant récupéré après centrifugation (b) des surnageants récupérés de chaque matrice après une centrifugation

Nous dispersons par la suite les nanoparticules récupérées après la 1^{ère} centrifugation dans un faible volume de la solution tampon phosphate PBS et nous procédons à une 2^{ème} centrifugation. Les spectres UV-Visible des surnageants de 1^{ère} et 2^{ème} centrifugation sont représentés sur la Figure II.27.

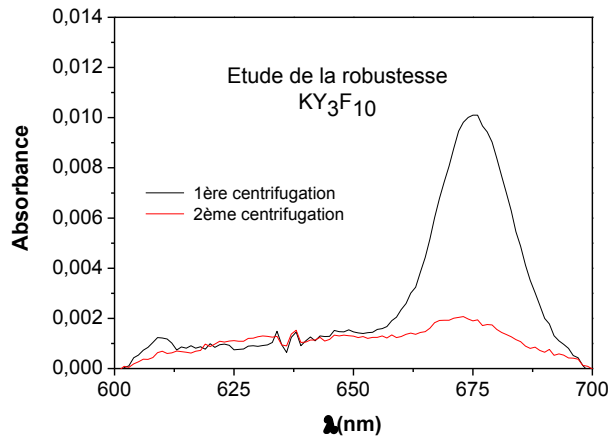


Figure II.27 : Spectres UV-Visible des surnageants récupérés après une 1^{ère} et une 2^{ème} centrifugation correspondants aux nanoparticules de KY₃F₁₀ (2%Er³⁺, 20%Yb³⁺)

Nous observons la présence d'une bande d'absorption centrée à 675 nm, typique du ZnPc.

Grâce à la courbe d'étalonnage nous calculons la concentration résiduelle du ZnPc dans le surnageant. Les valeurs trouvées pour la 1^{ère} et 2^{ème} centrifugation sont 2,3 μM et 0,46 μM respectivement. Ce résultat confirme que notre méthode d'encapsulation est robuste.

Pour valider notre choix de la méthode d'encapsulation par physisorption et afin d'optimiser les paramètres d'imprégnation, une étude par spectroscopie UV-Visible en fonction du temps et de la concentration de la solution initiale d'imprégnation a été effectuée (Figure II.28).

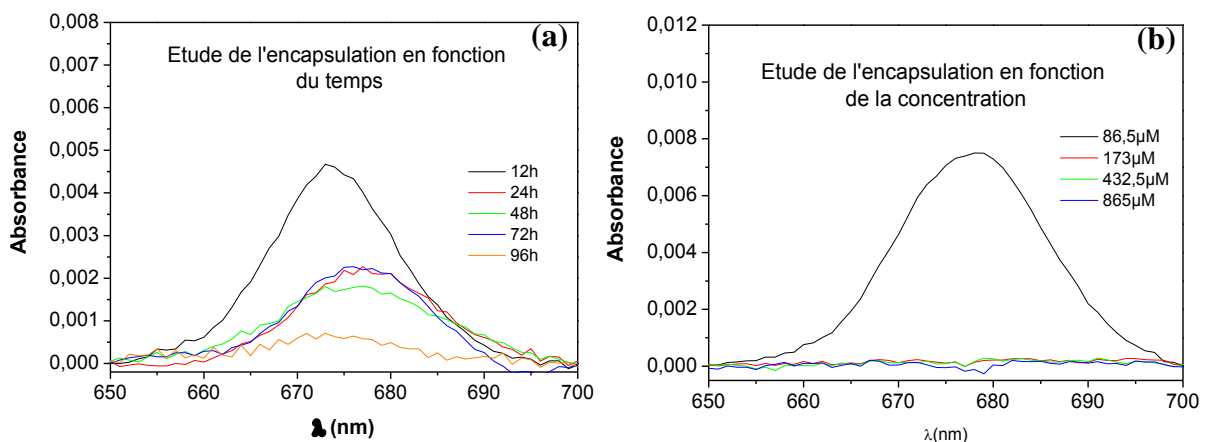


Figure II.28 : Spectres UV-Visible des surnageants récupérés des particules imprégnées (a) pour des durées de 12 à 96h (b) par des solutions de ZnPc dans la pyridine de concentration allant de 86,5 à 865 μM

III.2.4. Emission et absorption des particules imprégnées

La Figure II.29 représente les spectres de luminescence excités par up conversion des différents matériaux synthétisés codopés Yb, Er et le spectre d'absorption UV-Visible du ZnPc dans la pyridine (ces résultats sont détaillés dans le Chapitre III). Les différentes matrices synthétisées présentent deux émissions caractéristiques de l'Er, une émission verte vers 540 nm et une émission rouge vers 660 nm. Un parfait recouvrement entre l'absorption du ZnPc et l'émission rouge est observé pour les différents matériaux, ce qui appuie notre hypothèse d'activation du ZnPc par transfert d'énergie.

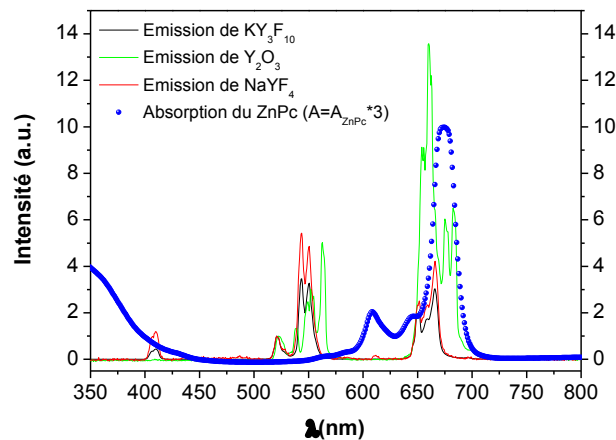


Figure II.29 : Spectres d'émission des solutions des différents matériaux synthétisés dans le PEG (excitation à 980nm) et spectre UV-Visible du ZnPc dans la pyridine

La spectroscopie UV-Visible permet aussi de suivre l'incorporation du ZnPc dans les pores de la silice. Les spectres correspondant aux nanoparticules avant et après imprégnation par une solution de ZnPc dans la pyridine sont représentés sur la Figure II.30 (a) pour KY₃F₁₀ ; (b) pour Y₂O₃ et (c) pour NaYF₄.

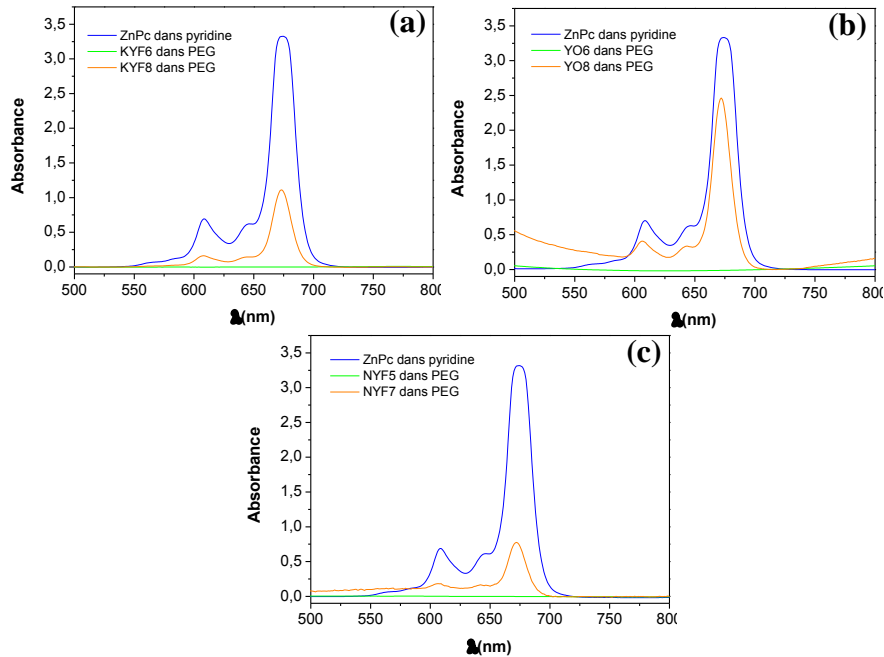


Figure II.30: Spectres d'absorption UV-Visible des solutions des nanoparticules des différentes matrices synthétisées (dispersées dans le PEG) avant et après imprégnation par une solution de ZnPc dans la pyridine de concentration 0,5 mg/mL (a) KY_3F_{10} (b) Y_2O_3 et (c) $NaYF_4$

Nous observons sur les spectres des nanoparticules imprégnées un pic d'absorption vers 670 nm, caractéristique de la présence du ZnPc qui se distingue des spectres des nanoparticules non imprégnées. La couleur bleue des nanoparticules imprégnées est caractéristique de la présence du ZnPc et confirme aussi l'encapsulation du PS dans les pores de la silice.

D. Conclusion

La synthèse des nanoparticules des matrices sélectionnées (Y_2O_3 , KY_3F_{10} et $NaYF_4$ codopées Yb, Er) a été décrite et amplement caractérisée d'un point de vue morphologique et structural.

Les poudres obtenues (de chaque matrice de chaque structure) ont été caractérisées à l'aide de plusieurs techniques : Diffraction des Rayons X, Microscopie électronique en Transmission, Microscopie Infrarouge, Spectroscopie UV-Visible afin de valider les protocoles de synthèses choisis.

Y_2O_3 est synthétisée par précipitation homogène des nitrates de terres rares et de l'urée. Elle donne naissance à des particules cristallisées, sphériques, monodisperses et de taille moyenne égale à 96 ± 17 nm.

Chapitre II : Synthèses & Fonctionnalisation

Les nanoparticules de KY_3F_{10} synthétisées par précipitation homogène des nitrates de terres rares et d'une source de fluor (HF+KF) sont très bien cristallisées mais assez polydisperses de taille moyenne égale à 33 ± 8 nm.

La synthèse de $NaYF_4$ (par précipitation homogène) est réalisée sous haute température et sous protection d'argon. Contrairement à Y_2O_3 et KY_3F_{10} , $NaYF_4$ ne nécessite pas d'étape de calcination. Les particules obtenues sont très bien cristallisées et de taille moyenne de l'ordre de 10 nm.

Plusieurs protocoles pour la synthèse de Y_2O_3 de structure cœur coquille cristalline ont été testés et la méthode de synthèse choisie est la précipitation homogène dans l'éthylène glycol en partant de germes de carbonates d'yttrium. La caractérisation des particules issues des synthèses de la structure cœur coquille cristalline pour KY_3F_{10} et $NaYF_4$ indique que la croissance de la coquille est accompagnée de la formation de nouvelles particules non dopées, ce qui pourrait être ennuyeux pour la suite. Nous avons néanmoins estimé que ce phénomène est suffisamment limité et avons pu poursuivre la synthèse.

Un Dépôt de couche de silice d'une épaisseur moyenne de 50 nm en surface des nanoparticules a été réalisé afin de rendre la surface des nanoparticules biocompatible et permettre l'incorporation du PS pour l'application PDT envisagée.

Le ZnPc a été incorporé aux particules de structure cœur coquille cristalline via les pores de la couche de silice mésoporeuse à la surface par simple imprégnation. Cette méthode d'incorporation physique a été caractérisée par spectroscopie UV-Visible et s'est avérée robuste. Les paramètres du protocole de l'imprégnation ont également été optimisés.

Il est maintenant nécessaire d'étudier les propriétés spectroscopiques des matériaux obtenus. Cette étude fera l'objet du chapitre suivant.

Références bibliographiques

- [1] K. Tanabe, M. Misono, Y. Ono, H. Hattori, In: *New Solid Acides and Bases*, Elsevier, NewYork (1989) 41
- [2] E.T. Goldburt, B. Kulkarni, R.N. Bhargava, J. Taylor, M. Libera, *Journal of Luminescence* 72 (1997) 190
- [3] Z. Yongqing, Y. Zihua, D. Shiwen, Q. Mande, Z. Jian, *Materials Letters* 57 (2003) 2901-2906
- [4] C. Lin, C. Zhang, Z. Tang, Y. Lin, *Journal of Luminescence* 129 (2009) 1469-1474
- [5] J. Zhang, Z. Zhang, Z. Tang, Y. Lin, Z. Zheng, *Journal of Materials Processing Technology* 121 (2002) 265-268
- [6] O. Ehlert, R. Thomann, M. Darbandi, T. Nann, *Nano Letters* 2 (2008) 120-124
- [7] N. Vu, T.K. Anh, G-C. Yi, W. Streck, *Journal of Luminescence* 122-123 (2007) 178-184
- [8] Y.H. Li, G.Y. Hong, Y.M. Zhang, Y.N. Yu, *Journal of Alloys and Compounds* 456 (2008) 247-250
- [9] G. Wakefield, E. Holland, P.J. Dobson, J.L. Hutchison, *Advanced Materials* 13 (2001) 1557
- [10] W. Wang, W. Widiyastuti, T. Ogi, I.W. Lengorro, K. Okuyama, *Chemical Materials* 19 (2007) 1723
- [11] A. Vecht, C. Gibbons, D. Davies, X. Jing, P. Marsh, T. Ireland, J. Silver, A. Newport, *Journal of Vacuum Science B* 17 (1999) 750
- [12] X. Jing, T. Ireland, C. Gibbons, D.J. Barber, J. Silver, A. Vecht, G. Fern, *Journal of the Electrochemical Society* 146 (1999) 4654
- [13] L. Wen, X.D. Sun, Z.M. Xiu, S.W. Chen, C.T. Tsai, *Journal of the European Ceramic Society* 24 (2004) 2681
- [14] X.D. Zhang, H. Liu, W. He, J.Y. Wang, X. Li, R.I. Boughton, *Journal of Alloys Compounds* 372 (2004) 2681
- [15] S.F. Shao, Q.L. Zhang, W.P. Liu, D.L. Sun, *Journal of Alloys Compounds* 471 (2009) 263
- [16] S. Sohn, Y. Kwon, Y. Kim, D. Kim, *Powder Technology* 142 (2004) 136-153
- [17] W.H.R. Shaw, J.J. Bordeaux, *Journal of the American Chemical Society* 77 (1955) 4729
- [18] I. Y. Park, D. Kim, J. Lee, S.H. Lee, K-J. Kim, *Materials Chemistry and Physics* 106 (2007) 149-157
- [19] E. Matijevic, W.P. Hsu, *J. Coll. Interface Sci.*, 118 (1987) 506-523
- [20] S. S. Musbah, V. J. Radojevic, N. V. Borna, D. B. Stojanovic, M. D. Dramicanin, A. D. Marinkovic, R. R. Aleksic, *Journal of Serbian Chemical Society* 76 (2011) 1153-1161
- [21] M. Xing, W. Cao, H. Zhong, Y. Zhang, X. Luo, Y. Fu, W. Feng, T. Pang, X. Yang, *Journal of Alloys and Compounds* (2011) 5725-5730
- [22] P. Scherrer, *Göttingen Nachr.* 2 (1918) 98

- [23] Williamson G. K., Hall W.H., *Acta Metallurgica*, 1 (1953) 22
- [24] Y.X. Fu, Y.H. Sun, *Journal of Alloys and Compounds* 471 (2009) 190-196
- [25] J. A. Lewis, *Journal of American Ceramic Society* 83 (2000) 2341-59
- [26] H.U. Gudel, M. Pollnau, *Journal of Alloys and Compounds* 303-304 (2000) 307-315
- [27] V. Mahalingam, F. Vetrone, R. Naccache, A. Speghini, John A Capobianco, *Journal of Materials* 19 (2009) 3149-3152
- [28] M. Wang, Q. L. Huang, J.M. Hong, X. T. Chen, Z. L. Xue, *Crystal Growth design* 6 (2006) 1972-1974
- [29] H. Schäfer, P. Ptacek, O. Zerzouf, M. Haase, *Advanced Functional Materials* 18 (2008) 2913-2918
- [30] L. Zhu, J. Meng, X. Cao, *Materials Letters* 62 (2008) 3007-3009
- [31] P. Rahman, M. Green, *Nanoscale*, 1 (2009) 214-224
- [32] M. Wang, Q. L. Huang, J.M. Hong, X. T. Chen, Z. L. Xue, *Crystal Growth Design* 6 (2006) 1972-1974
- [33] Thèse de Ludovic Caillat : Nano-sondes optiques à forte non-linéarité pour l'imagerie cellulaire à haute résolution (2013)
- [34] J-P. R. Wells, A. Sugiyama, T. P. J. Han, H. G. Gallagher, *Journal of Luminescence* 85 (1991) 91-102
- [35] F. Wang, X. Liu, *chemical Society Reviews* 38 (2009) 976-989
- [36] J.F. Suyver, J. Grimm, M.K. van Veen, D. Biner, K.W. Krämer, H.U. Güdel, *Journal of Luminescence* 117 (2006) 1-12
- [37] J. Shan, J. Chen, J. Meng, J. Collins, W. Soboyejo, S. Joseph, W. Friedberg, and Y. Ju, *Journal of Applied Physics*, 104 (2008) 094308
- [38] K. W. Krämer, D. Biner, G. Frei, H. U. Güdel, M. P. Hehlen, S. R. Lüthi, *Chemistry of Materials* 16 (2004) 1244-1251
- [39] Y. Wei, F. Lu, X. Zhang, D. Chen, *Journal of Alloys and Compounds* 427 (2007) 333-340
- [40] J-C. Boyer, F. Vetrone, L. A. Cuccia, J. A. Capobianco, *Journal of American Chemical Society* 128 (2006) 7444-7445
- [41] D. K. Chatterjee, A. J. Rufaihaha, Y. Zhanga, *Biomaterials* 29 (2008) 937-943
- [42] R. Kumar, M. Nyk, T. Y. Ohulchanskyy, C. A. Flask, P. N. Prasad, *Advanced Functional Materials* 19 (2009) 853-859
- [43] G-S. Yi, G-M. Chow, *Chemistry of Materials* 19 (2007) 341-343
- [44] T. Sandroek, H. Scheife, E. Heumann, G. Huber, *Optics Letters* 22 (1997) 808-810
- [45] E. Downing, L. Hesselink, J. Ralston, R. Macfarlane, *Science* 273 (1996) 1185
- [46] S. Shionoya, W.M. Yen, *Phosphor Handbook*, CRC Press, Boca Raton, FL 1999
- [47] F. van de Rijke, H. Zijlmans, S. Li, T. Vail, A.K. Raap, R. S. Niedbala, H.J. Tanke, *Nature Biotechnology* 19 (2001) 273

- [49] P.L.A.M. Corstjens, S. Li, M. Zuiderwijk, K. Kardos, W.R. Abrams, R.S. Niedbala, H. Tanke, *IEE Proceedings - Nanobiotechnology* 152 (2005) 64-72
- [50] G.S. Yi, H.C. Lu, S. Y. Zhao, G. Yue, W.J. Yang, D.P. Chen, L.H. Guo, *Nano Letters* 4 (2004) 2191
- [51] G-S. Yi, G-M. Chow, *Chem. Mater.* (2007) 341-343
- [52] L. Mercier, T.J. Pinnavaia, *Chem. Mat.* (2000) 188-196
- [53] S.L. Burkett, S.D. Sims, S. Mann, *Chem. Commun.* (1996) 1367-1368
- [54] D.J. Macquarrie, *Chem. Commun.* (1996) 1961-1962
- [55] M.H. Lim, C.F. Blanford, A. Stein, *J. Am. Chem. Soc.* (1997) 4090-4091
- [56] J. Tu, T. Wang, W. Shi, G. Wu, X. Tian, Y. Wang, D. Ge, *Biomaterials* (2012) 7903-7914
- [57] S. Kim, T.Y. Ohulchanskyy, H.E. Pudavar, R.K. Pandey, P.N. Prasad, *J. Am. Chem. Soc.* (2007) 2669-2675
- [58] S-H. Wu, Y-S. Lin, Y. Hung, Yi-H. Chou, Y-H. Hsu, C. Chang, C-Y. Mou, *ChemBioChem* (2008) 53 – 57
- [59] H-M. Liu, S-H. Wu, C-W. Lu, M. Yao, J-K. Hsiao, Y. Hung, Y-S. Lin, C-Y. Mou, C-S. Yang, D-M. Huang, Y-C. Chen, *Small* (2008) 619–626
- [60] E. Chelebaeva, L. Raehm, J-O. Durand, Y. Guari, J. Larionova, C. Guerin, A. Trifonov, M. Willinger, K. Thangavel, A. Lascialfari, O. Mongin, Y. Mirg, M. Blanchard-Desce, *J. Mater. Chem.* (2010) 1877–1884
- [61] Y-S. Lin, C-P. Tsai, H-Y. Huang, C-T. Kuo, Y. Hung, D-M. Huang, Y-C. Chen, C-Y. Mou, *Chem. Mater.* (2005) 4570-4573
- [62] D-M. Huang, Y. Hung, B-S. Ko, S-C. Hsu, W-H. Chen, C-L. Chien, C-P. Tsai, C-T. Kuo, J-C. Kang, C-S. Yang, C-Y. Mou, Y-C. Chen, *Faseb J.* (2005) 2014-2016
- [63] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, *J. Coll. Inter. Sci.* (1968) 62-69
- [64] M. Bruchez Jr., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A.P. Alivisatos, *Science* (1998) 2013-2015
- [65] D. Gerion, F. Pinaud, S.C. Williams, W.J. Parak, D. Zanchet, S. Weiss, A.P. Alivisatos, *J. Phys. Chem. B* (2001) 8861-8871
- [66] T. Ung, L.M. Liz-Marzán, P. Mulvaney, *Langmuir* (1998) 3740-3748
- [67] Y. Kobayashi, M.A. Correa-Duarte, L.M. Liz-Marzán, *Langmuir* (2001) 6375-6379
- [68] L.M. Liz-Marzán, M. Giersig, P. Mulvaney, *Langmuir* (1996) 4329-4335
- [69] Y. Kobayashi, H. Katakami, E. Mine, D. Nagao, M. Konno, L.M. Liz-Marzán, *J. Coll. Inter. Sci.* (2005) 392-396
- [70] Thèse de Domitille Giaume : Nanoparticules d'orthovanadates d'yttrium : Fonctionnalisation et application comme sondes luminescentes pour la biologie (2006) 71
- [71] S.L. Chen, P. Dong, G.H. Yang, J.J. Yang, *J. Coll. Inter. Sci.* (1996) 237-241
- [72] S.R. Hall, S.A. Davis, S. Mann, *Langmuir* (2000) 1454-1456
- [73] A.P. Philipse, M.P.B. van Bruggen, C. Pathmamanoharan, *Langmuir* (1994) 92-99

[74] S-B. Yoon, J-Y. Kim, J-H. Kim, Y-J. Park, K-R.Yoon, S-K Parkc, J-S. Yu, J. Mat. Chem. (2007) 1758–1761

[75] Y. Chen, H. Chen, M. Ma, F. Chen, L. Guo, L. Zhang, J. Shi, Journal of Materials Chemistry 21 (2011) 5290-5298

[76] A. Van Blaaderen, J. Van Geest, A. Vrij, J. Coll. Inter. Sci. (1992) 481-501

Chapitre III :
Spectroscopie

Dans ce chapitre, les propriétés spectroscopiques des particules de différentes structures sont présentées pour les trois matrices sélectionnées dans ce travail i.e. KY_3F_{10} , Y_2O_3 et $NaYF_4$. Contrairement aux nombreux travaux actuellement publiés sur l'utilisation de nanoparticules à up conversion pour les applications biologiques portant uniquement sur $NaYF_4$ [1-48] étant dédiées à la PDT [49-54, 10, 55, 20, 56, 57, 31, 58, 38, 39, 59-61] qui ne montrent des spectres de luminescence obtenus par up conversion, nous nous sommes attachés à étudier l'effet de la structure des particules sur les propriétés de luminescence et plus particulièrement sur la dynamique de luminescence. En effet, la luminescence des ions terres rares, issue des transitions 4f-4f, est relativement insensible aux effets externes, le champ cristallin ne représente qu'une perturbation vis-à-vis des interactions coulombiennes, spin-orbite etc... Pour des particules de diamètre supérieur à 10 nm, il n'y a aucun effet de confinement et les spectres de luminescence sont identiques à ceux que l'on peut obtenir avec le même matériau à l'état massif. Par contre, la dynamique de luminescence est extrêmement sensible à la distribution des ions dans la matrice [62-64] et peut permettre d'accéder à des informations permettant de mettre en évidence l'influence de la structure des particules sur les propriétés spectroscopiques. Le Tableau III.1 rassemble les différents matériaux étudiés (codopés Yb^{3+} , Er^{3+}) sous différentes configurations ainsi que la nomenclature utilisée dans les résultats présentés.

Tableau III. 1 : Correspondance entre la composition et configuration des particules et la nomenclature utilisée dans la suite du rapport

Matériau	Structure	Nomenclature
KY_3F_{10} (20% Yb, 2%Er) $KY_{2,34}Yb_{0,6}Er_{0,06}F_{10}$	Cœur	KYF2
	Cœur-coquille cristalline	KYF4
	Cœur-coquille@MS	KYF6
	Cœur-coquille@MS-ZnPc	KYF8
$NaYF_4$ (20% Yb, 2%Er) $NaY_{0,78}Yb_{0,2}Er_{0,02}F_4$	Cœur	NYF1
	Cœur-coquille cristalline	NYF3
	Cœur-coquille@MS	NYF5
	Cœur-coquille@MS-ZnPc	NYF7
Y_2O_3 (4% Yb, 2%Er) $Y_{1,88}Yb_{0,08}Er_{0,04}O_3$	Cœur	YO2
	Cœur-coquille cristalline	YO4
	Cœur-coquille@MS	YO6
	Cœur-coquille@MS-ZnPc	YO8

L'étude spectroscopique de Er^{3+} dans les différents matériaux est présentée dans ce chapitre. Les spectres d'émission et les déclin de luminescence sont étudiés pour un ensemble de particules déposées sur une lame de verre et pour les particules en solution dans du Poly-Ethylène-Glycol (PEG). L'influence de la structure des particules sur les propriétés optiques est discutée à partir de la comparaison des résultats obtenus pour les différentes configurations de particules dans les deux cas (poudres et solution).

A. Luminescence

I. Etude sur poudres

I.1. Luminescence Stokes : Spectres de luminescence

Dans un premier temps, les spectres de luminescence ont tout d'abord été enregistrés sur les poudres de nanoparticules ayant les différentes structures pour une excitation Stokes à 486 nm (dans le niveau $^4\text{F}_{7/2}$ de Er^{3+}) et anti-Stokes à 976 nm (dans les niveaux $^4\text{I}_{11/2}$ de Er^{3+} et $^2\text{F}_{5/2}$ de Yb^{3+} respectivement). Cette étude a été effectuée à la température ambiante puisque l'objet de ce travail n'est pas une étude fine de spectroscopie mais plutôt de contrôler l'influence de la structure des particules sur leurs propriétés optiques. Dans ce cas, il est possible de comparer les spectres puisque, pour chaque matrice, les particules de différentes configurations sont issues d'une même synthèse, une fraction des particules obtenues étant gardée à chaque étape.

Les résultats obtenus pour les deux schémas d'excitation et pour les particules nues « cœur », « cœur-coquille cristalline », « cœur-coquille cristalline-surcoquille de silice mésoporeuse », « cœur-coquille cristalline-surcoquille » de silice mésoporeuse imprégnée de ZnPc sont représentés sur la Figure III. 1.

Les spectres, représentés sur la Figure III.1. pour la zone spectrale limitée entre 500 et 700 nm, ont été excités en régime pulsé, les spectres expérimentaux ne sont pas corrigés de la réponse du système d'enregistrement néanmoins ils sont importants pour mettre en évidence les intensités relatives des différentes transitions excitées soit directement soit par up conversion. Sous l'effet de l'excitation dans le proche infrarouge, l'intensité de l'émission « rouge » issue du niveau $^4\text{F}_{9/2}$ est renforcée comme il est généralement observé.

Ce résultat s'explique par les processus de population des niveaux émetteurs pour les différents schémas d'excitation (Stokes et anti-Stokes), mécanismes développées dans le Chapitre I.

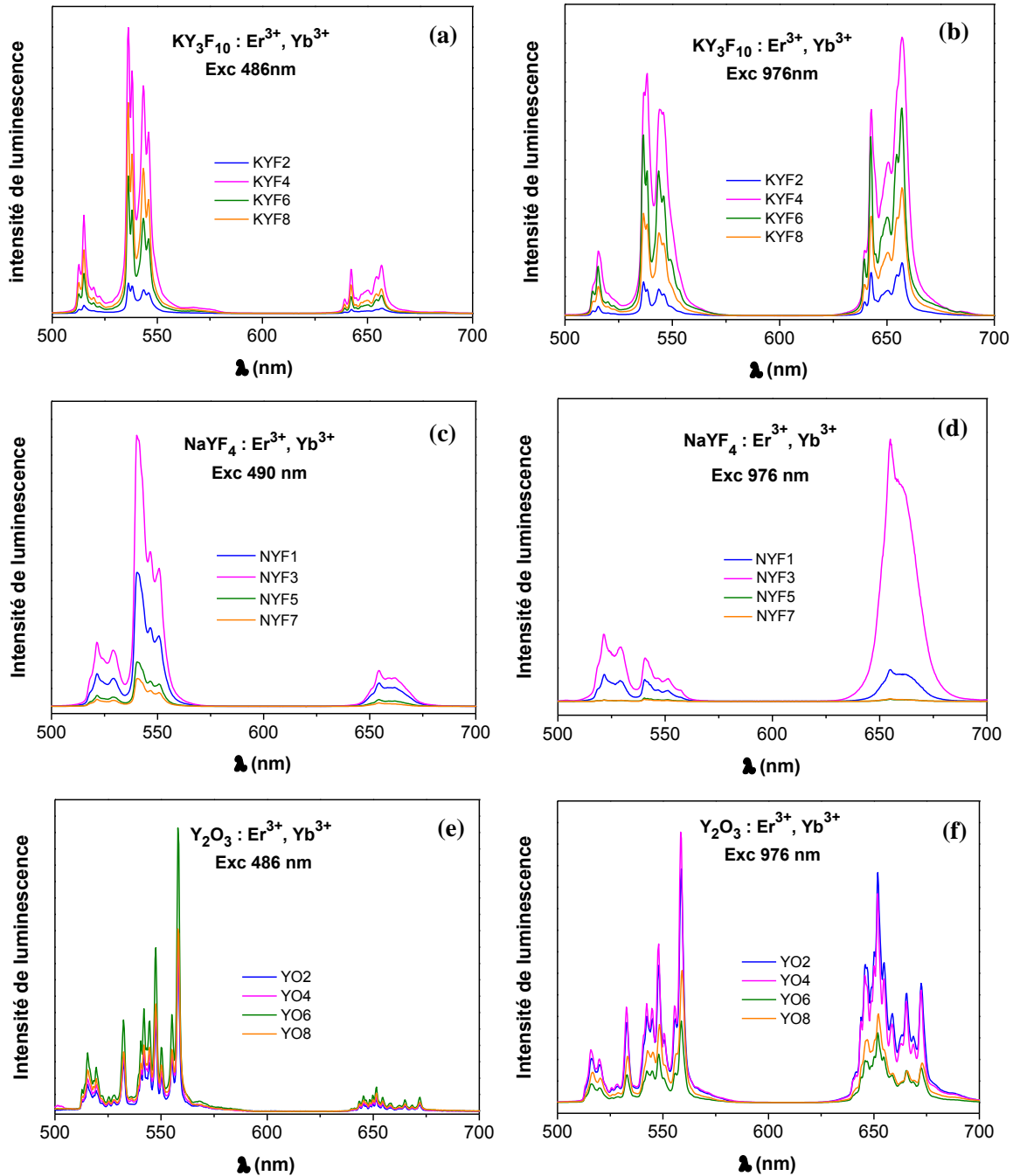


Figure III. 1 : spectres de fluorescence de Er^{3+} enregistrés pour les particules codopées Er/Yb, de différentes configurations pour une excitation Stokes (a) KY_3F_{10} (c) $NaYF_4$ (e) Y_2O_3 et anti-Stokes (b) KY_3F_{10} (d) $NaYF_4$ et (f) Y_2O_3

Ces spectres sont caractéristiques des transitions 4f-4f internes à la configuration $4f^{11}$ de Er^{3+} et sont identiques à ceux que l'on peut trouver dans la littérature [65-72]. Les transitions observées autour de 550 nm sont attribuées aux transitions à partir des niveaux $^2\text{H}_{11/2}$, $^4\text{S}_{3/2}$ vers le niveau fondamental $^4\text{I}_{15/2}$, l'émission observée vers 650 nm correspond à la transition de l'état $^4\text{F}_{9/2}$ vers le niveau fondamental. Les électrons 4f étant protégés par effet d'écran exercé par les électrons externes, les transitions sont observées dans le même domaine spectral, mais le nombre de raies et leur éclatement varient selon le matériau étudié puisque la levée de dégénérescence des multiplets et l'énergie des composantes Stark sont définies par le champ cristallin [73]. Les spectres obtenus pour les différents composés sont très semblables à ceux qui sont observés pour ces matériaux sous forme de monocristal. Les transitions observées pour Y_2O_3 présentent le plus grand nombre de raies en accord avec un site de basse symétrie pour la terre rare (C_{2v}) [74]. Dans tous les cas, les raies sont bien séparées spectralement ce qui démontre un bon état de cristallisation des particules.

L'ion Er^{3+} étant un ion de Kramers, la dégénérescence d'un état $^{2S+1}\text{L}_J$ est $J+1/2$, par conséquent, parmi les émissions observées entre 400 et 800 nm, le niveau $^4\text{S}_{3/2}$ présente la multiplicité la plus faible (égale à 2), seul l'examen approfondi de l'émission à partir de $^4\text{S}_{3/2}$ peut permettre de déceler une modification liée à la structure des nanoparticules comme par exemple l'apparition des émissions des centres de surface protégés des couplages avec des groupements organiques ou OH^- grâce à la présence de la coquille cristalline non dopée. Dans le cas le plus favorable, c'est-à-dire KY_3F_{10} de structure cubique et d'un site de symétrie C_{4v} pour la terre rare, il est difficile de conclure comme le représente la Figure III.2.

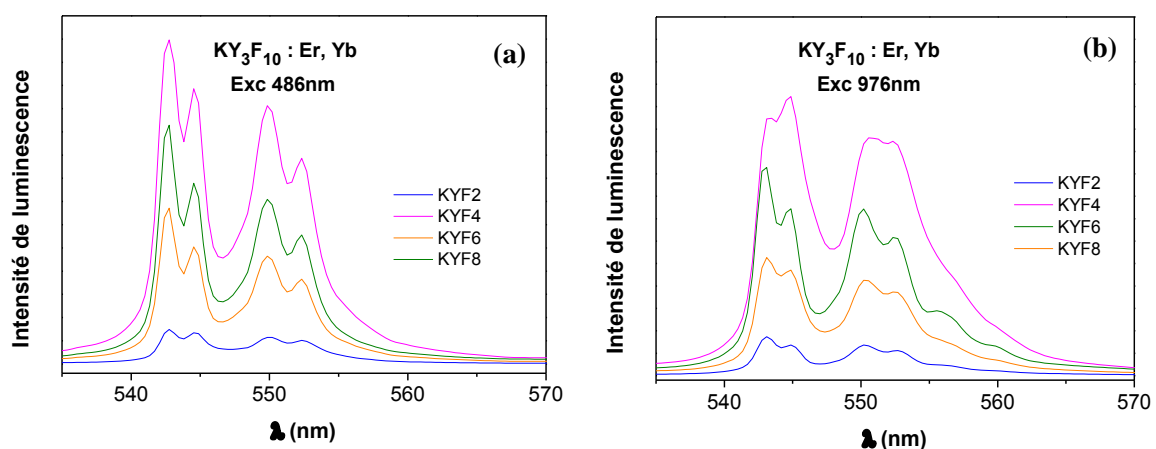


Figure III.2 : Spectres d'émission du niveau $^4\text{S}_{3/2}$ de l' Er^{3+} enregistrés pour les particules KY_3F_{10} dans les différentes configurations pour (a) une excitation Stokes (b) anti-Stokes excitation

I.2. Luminescence anti-Stokes : Optimisation de la concentration en ions Er^{3+} et Yb^{3+}

L'Absorption dans l'Etat Excité (AEE) et l'Addition de Photons par Transfert d'Energie (APTE) sont les deux processus largement dominants à l'origine de l'up conversion, la probabilité de l'APTE ($\approx 10^{-2}$ - 10^{-3}) [75-77] étant de plusieurs ordres de grandeurs plus grande que celle de l'AEE ($\approx 10^{-5}$) [76]. Si l'AEE, processus intra-ion, est indépendante de la concentration en ions Er^{3+} , l'efficacité de l'up conversion par APTE, processus mettant en jeu des interactions inter-ions, est largement dépendante des concentrations de Er^{3+} et de Yb^{3+} . La concentration optimale en ions Er^{3+} est tout d'abord déterminée afin de minimiser les interactions Er^{3+} - Er^{3+} qui conduisent à l'extinction de l'émission du niveau $^4\text{S}_{3/2}$ par «self-quenching» induit par relaxation croisée [$^4\text{S}_{3/2}, ^4\text{I}_{15/2}$] \rightarrow [$^4\text{I}_{11/2}, ^4\text{I}_{11/2}$] (R1) (Figure I.13b). La concentration optimale en ions Yb^{3+} est ensuite déterminée pour une conversion infrarouge-visible la plus efficace possible.

NaYF_4 codopé $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ est la matrice la plus étudiée dans la littérature pour la PDT basée sur des particules à up conversion (UC-NP), par exemple [49-54, 10, 55, 20, 56, 57, 31, 58, 38, 39, 59-61]. L'étude des propriétés spectroscopiques de cette matrice dopée $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ avec les mêmes concentrations, à savoir 20% Yb^{3+} et 2% Er^{3+} , que celles utilisées dans tous les travaux reportés dans la littérature a été menée dans les conditions expérimentales de ce travail comme référence par rapport aux résultats annoncés dans la littérature.

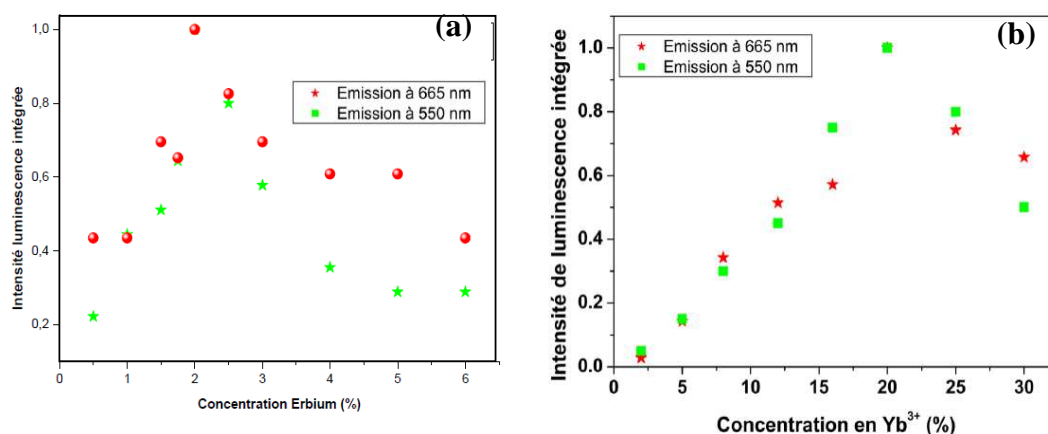


Figure III.3. : Evolution de l'intensité émise dans le vert (*) et dans le rouge (●) par KY_3F_{10} en fonction de la concentration en Er^{3+} , pour une concentration allant de 0.5% à 6%, sous excitation à 976 nm, avec une diode laser, pour une puissance d'excitation de 300 mW (a) Luminescence de KY_3F_{10} codopé 2% Er^{3+} , x% Yb^{3+} , synthétisé par voie hydrothermale, en fonction de la concentration en Yb^{3+} (Excitation à 976 nm) (b) [78]

Les concentrations en ions Yb^{3+} et Er^{3+} pour le dopage de KY_3F_{10} ont été celles déterminées dans les travaux de thèse de Ludovic Caillat, LCMCP Avril 2013 (Figure III.3.) [78], les particules ayant été synthétisées selon un protocole très voisin, les tailles des particules obtenues très similaires.

Les concentrations des dopants optimisées pour KY_3F_{10} [78] et NaYF_4 [1-48] sont finalement les mêmes, nous pourrons par la suite comparer les deux matrices fluorées étant donné que ces structures présentent d'autres paramètres importants assez similaires pour l'efficacité de la conversion de fréquence proche infrarouge \rightarrow visible (concentration en dopants, fréquence de coupure).

De même, en ce qui concerne Y_2O_3 , les concentrations en ions Yb^{3+} et Er^{3+} ont été sélectionnées en se référant aux travaux de thèse de Christian Andriamadamanana, LCMCP Février 2012 [79]. La Figure III.4 (a) représente l'évolution des différentes émissions de Er^{3+} obtenues par up conversion pour $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Er}^{3+}$, la concentration optimale de Er^{3+} est déterminée à 2%, valeur au-delà de laquelle les interactions $\text{Er}^{3+}-\text{Er}^{3+}$ deviennent prépondérantes et produisent l'extinction de la luminescence verte par la relaxation croisée (R1) (Figure I.13b). La concentration $[\text{Er}^{3+}]$ étant fixée, la Figure III.4 (b) représente l'évolution de l'intensité de luminescence « up convertie » en fonction de la concentration en ions Yb^{3+} , en fonction de ces résultats la concentration optimale de Yb^{3+} a été fixée à 4%.

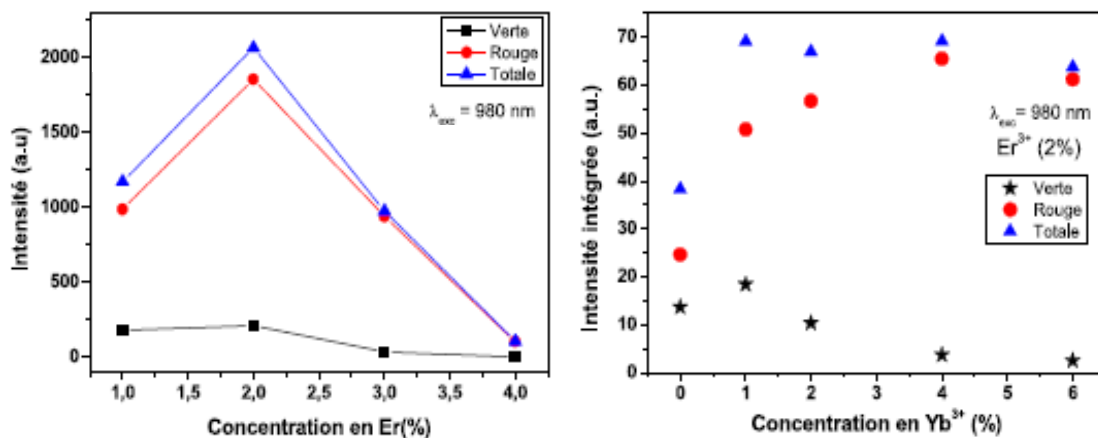


Figure III.4 : Y_2O_3 Variation de l'intensité de $(^2\text{H}_{11/2}, ^4\text{S}_{3/2}) \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ et $^4\text{F}_{9/2} \rightarrow ^4\text{I}_{15/2}$ en fonction de la concentration en Er^{3+} (a) Variation de l'intensité des émissions dans le visible de la Luminescence de $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Er}^{3+}$ (2%) excitée par up-conversion à 980 nm en fonction de la concentration en Yb^{3+} (b) [79]

II. Étude sur les particules en solution

II.1. Luminescence anti-Stokes : Spectres de luminescence

Si les résultats exposés précédemment ne nous apportent pas d'informations sur la relation entre la structure des particules et les propriétés spectroscopiques, puisque les propriétés de luminescence (nombre de composantes et leur longueur d'onde pour chaque transition) ne sont pas modifiées après les différents traitements chimiques conduisant à l'enrobage des particules, ils ne nous permettent pas d'obtenir des informations quantitatives quant à l'évolution du rendement de luminescence par des mesures effectuées sur poudres. C'est pourquoi, les spectres de luminescence ont été enregistrés pour les particules en solution, la détection étant assurée par une fibre optique reliée à un monochromateur, la géométrie de l'expérience étant fixe (position de la cuve en quartz par rapport à l'excitation, position de la fibre de détection). Le schéma du montage est représenté en Annexe III. Afin, d'une part de quantifier l'effet de la coquille cristalline non dopée sur le rendement de luminescence, de pouvoir comparer l'efficacité des matériaux entre eux d'autre part, cette étude a été effectuée sur des solutions de nanoparticules dans du poly-éthylène-Glycol (PEG) pour des concentrations de 4,4 mg/mL identiques à celle utilisée dans les travaux de Chatterjee et Zhang [80] faisant référence dans le domaine de l'utilisation des UC-NP pour la PDT (le matériau actif étant NaYF_4 codopé $\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$). Pour la mesure de l'intensité de l'up conversion en fonction de la puissance d'excitation, la concentration des particules de Y_2O_3 a été réduite à 2.2 mg/mL, le signal de luminescence des solutions concentrées à 4.4 mg/mL saturant le détecteur.

Dans ces conditions expérimentales, il nous a été permis tout d'abord d'évaluer l'influence de l'addition d'une coquille cristalline du matériau non dopé sur le rendement de luminescence puis l'effet de la présence du photosensibilisateur dans la couche de silice mésoporeuse. Au préalable, il a été vérifié que lors de l'introduction dans le PEG, les spectres de Er^{3+} ne sont pas modifiés par suite d'une dissolution partielle ou complexation des matériaux avec le composé organique. A titre d'exemple, la Figure III.5 illustre la comparaison entre les spectres de KYF6 enregistrés sur poudre et en solution dans le PEG pour une excitation continue issue de la diode laser à 976 nm.

Les enregistrements ont été effectués avec un spectromètre (HR460 Jobin-Yvon), le signal mesuré par un photomultiplicateur afin d'avoir une résolution correcte ce que ne permet pas le système utilisé par la suite pour les mesures qualitatives (système Avantes avec peu de résolution). Les spectres ont été normalisés au maximum d'intensité pour une meilleure comparaison. L'appareillage est détaillé dans l'Annexe II.

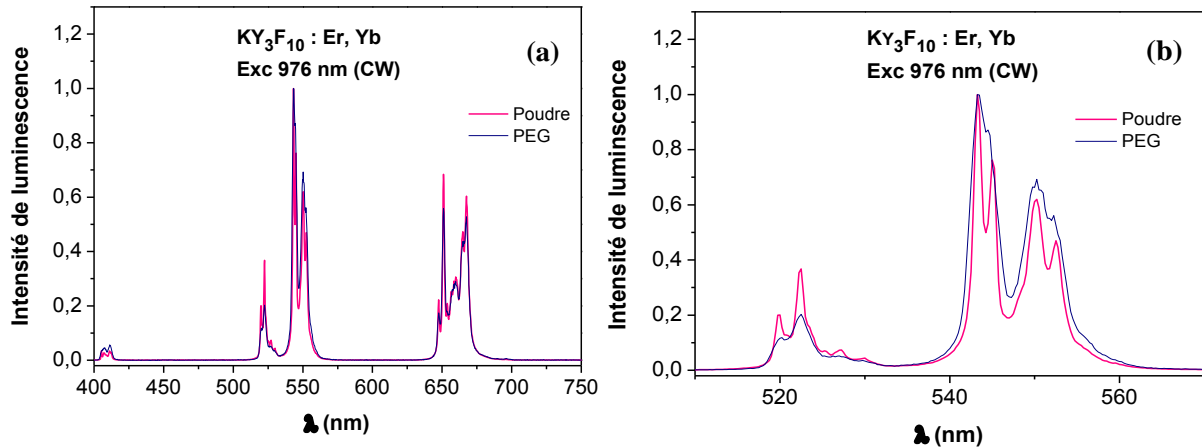


Figure III.5 : Spectres de luminescence des particules KY_3F_{10} codopé 20%Yb, 2%Er de structure cœur-coquille cristalline enrobé par une couche de silice mésoporeuse (KYF6) en poudre et en solution dans le PEG sous excitation continue à 976 nm (a) spectre global (b) Détails de l'émission du niveau $^4S_{3/2}$ (Er^{3+})

La structure et les intensités relatives des émissions sont globalement conservées, nous remarquons cependant un faible élargissement des raies pour les particules en solution. Les résultats analogues sont obtenus pour les autres matrices. Il apparaît donc que les particules conservent leur intégrité en solution ce qui autorise les mesures quantitatives nécessaires.

II.2. Effet de la structure cœur-coquille cristalline

Afin de mettre en valeur l'effet de la coquille cristalline, les spectres de luminescence anti-Stokes (excitation continue à 980 nm) des particules de chaque matériau de structure cœur et cœur-coquille cristalline ont été enregistrés, et sont représentés sur la Figure III.6 (toutes les mesures sont effectuées pour des solutions à 4.4 mg/mL).

Les spectres enregistrés pour une configuration de type cœur-coquille sont plus intenses que ceux obtenus avec les particules « nues », par exemple, dans le cas de KY₃F₁₀, le facteur d'amplification de l'intensité de luminescence observé en présence de la coquille cristalline, calculé en intégrant le signal entre 400 et 700 nm, est de 400%.

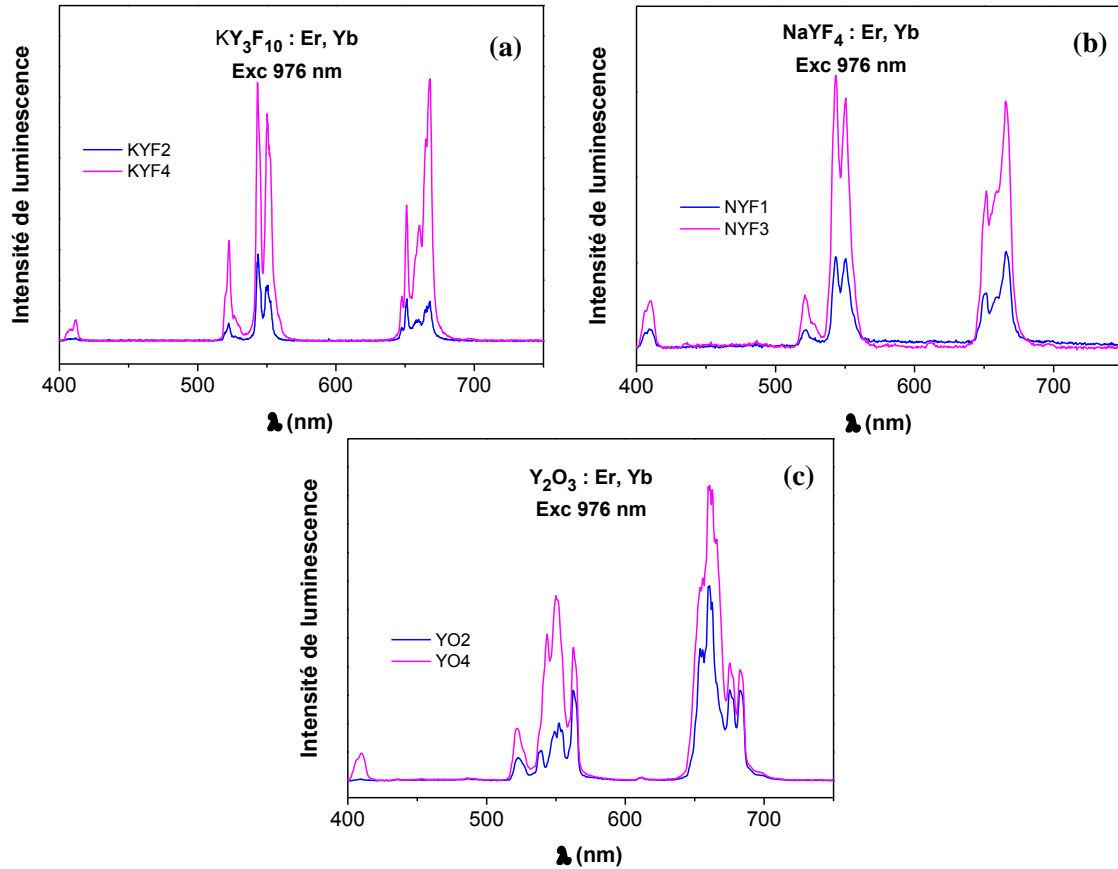


Figure III. 6 : Spectres de luminescence des particules (codopées Yb, Er) en solution dans le PEG ($C= 8,8 \text{ mg/mL}$) sous excitation continue à 976 nm pour (a) KY_3F_{10} (b) $NaYF_4$ et (c) Y_2O_3

Pour les autres matrices, les facteurs d'amplification, ainsi déterminés, sont de 210% et 197% pour $NaYF_4$ et Y_2O_3 respectivement. Ces résultats sont de l'ordre de grandeur de ceux obtenus par Boyer et al [80] qui mesurent un facteur égal à 300% pour des particules de $NaYF_4$ de diamètre moyen de 30 nm. La dispersion des résultats provient des diamètres différents pour les différentes matrices, rappelons que le diamètre moyen des particules KYF_4 , $NaYF_4$ et Y_2O_3 est de 50 nm, 10 nm et 150 nm, respectivement (Chapitre II).

II.3. Effet de la puissance infrarouge

II.3.1. Lois de puissance

Bien que les processus d'up conversion observés dans les systèmes codopés $\text{Er}^{3+}\text{-Yb}^{3+}$, étudiés dans ce travail, aient été largement décrits dans la littérature, de très nombreux articles y faisant référence, le comportement des émissions observées par up conversion avec les particules en fonction de la puissance d'excitation a été contrôlé (Figure III.7).

En outre, l'intérêt principal de ces mesures était de pouvoir comparer les matrices entre elles, en l'absence de mesures du rendement absolu de conversion infrarouge \rightarrow visible, puisque ces mesures ont été réalisées avec des solutions de même concentration en particules et une géométrie d'expérience fixe.

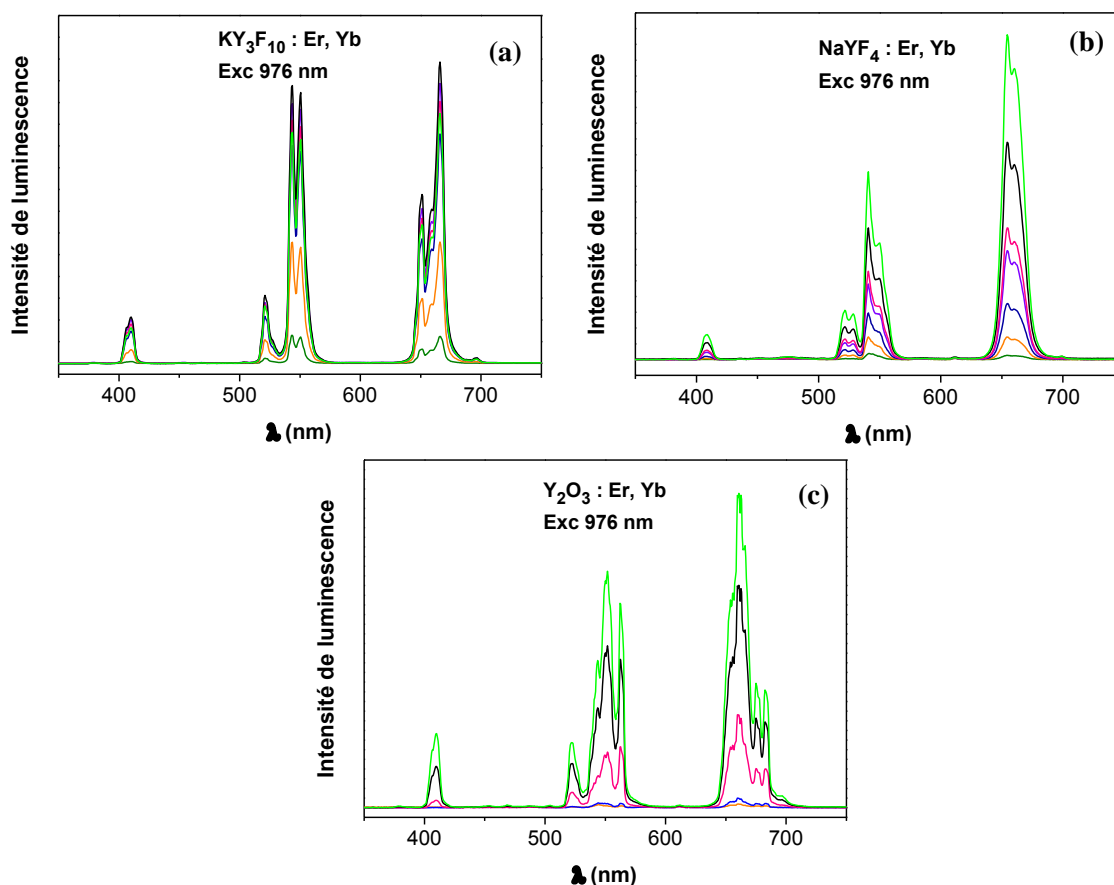


Figure III.7. : Spectres de Er^{3+} excités par up conversion en fonction de la puissance d'excitation infrarouge (KY_3F_{10} (a), NaYF_4 (b), Y_2O_3 (c)). Les spectres sont enregistrés pour les particules en solution dans le PEG (Concentration de 4.4mg/mL pour (a) et (b), 2.2 mg/mL pour (c))

L'intensité des émissions ${}^4S_{3/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ (émission « verte »), ${}^4F_{9/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ (émission « rouge ») et ${}^2G_{9/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ (émission « bleue ») ont été calculées en intégrant les spectres enregistrés avec les particules à structure cœur-cœur/coquille cristalline en fonction de la puissance d'excitation infrarouge, excitation délivrée par une diode laser fibrée (LIMO). L'étalonnage de la diode, effectué juste avant l'expérience, est reporté en Annexe II.

L'intensité d'une émission up convertie infrarouges varie avec la puissance d'excitation infrarouge selon la relation $I_{UC} \propto P_{exc}^N$, où N représente le nombre de photons infrarouge mis en jeu dans le processus (soit par absorption séquentielle de N photons pour l'APTE soit par absorption de $(N-1)$ états excités pour l'AEE). N est facilement déduit de la pente du tracé $I_{UC} = f(P_{exc})$ en échelle Log-Log (Figure III.8.).

Comme le montre la Figure III.8., les transitions présentent un comportement non linéaire ($\ln(I_{UC}) = N \ln(P_{exc})$ avec $N > 1$) jusqu'à une puissance seuil au-delà de laquelle $N \rightarrow 1$ ce qui signifie que le processus d'up conversion n'est plus efficace à très forte puissance d'excitation. Ainsi jusqu'à P_{exc} (saturation) dont la valeur dépend de la nature de la matrice, de la concentration en ions dopants déterminant le temps de vie des niveaux impliqués dans le processus et les constantes de transfert, les émissions ${}^4S_{3/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ et ${}^4F_{9/2} \rightarrow {}^4I_{15/2}$ correspondent à des processus d'ordre 2 pour les différents matériaux codopés Er^{3+} et Yb^{3+} tandis que l'émission « bleue » est due à un processus d'ordre 3. Contrairement aux absorptions à N -photons observées avec les molécules organiques, N est rarement un entier puisque des pertes se produisent à chaque étape des transferts soit par émission radiative des niveaux intermédiaires soit par émission non radiative par émission de phonons, il est d'usage de considérer l'entier immédiatement supérieur. La modélisation complète des processus et de leur saturation a été développée par Pollnau et al [81].

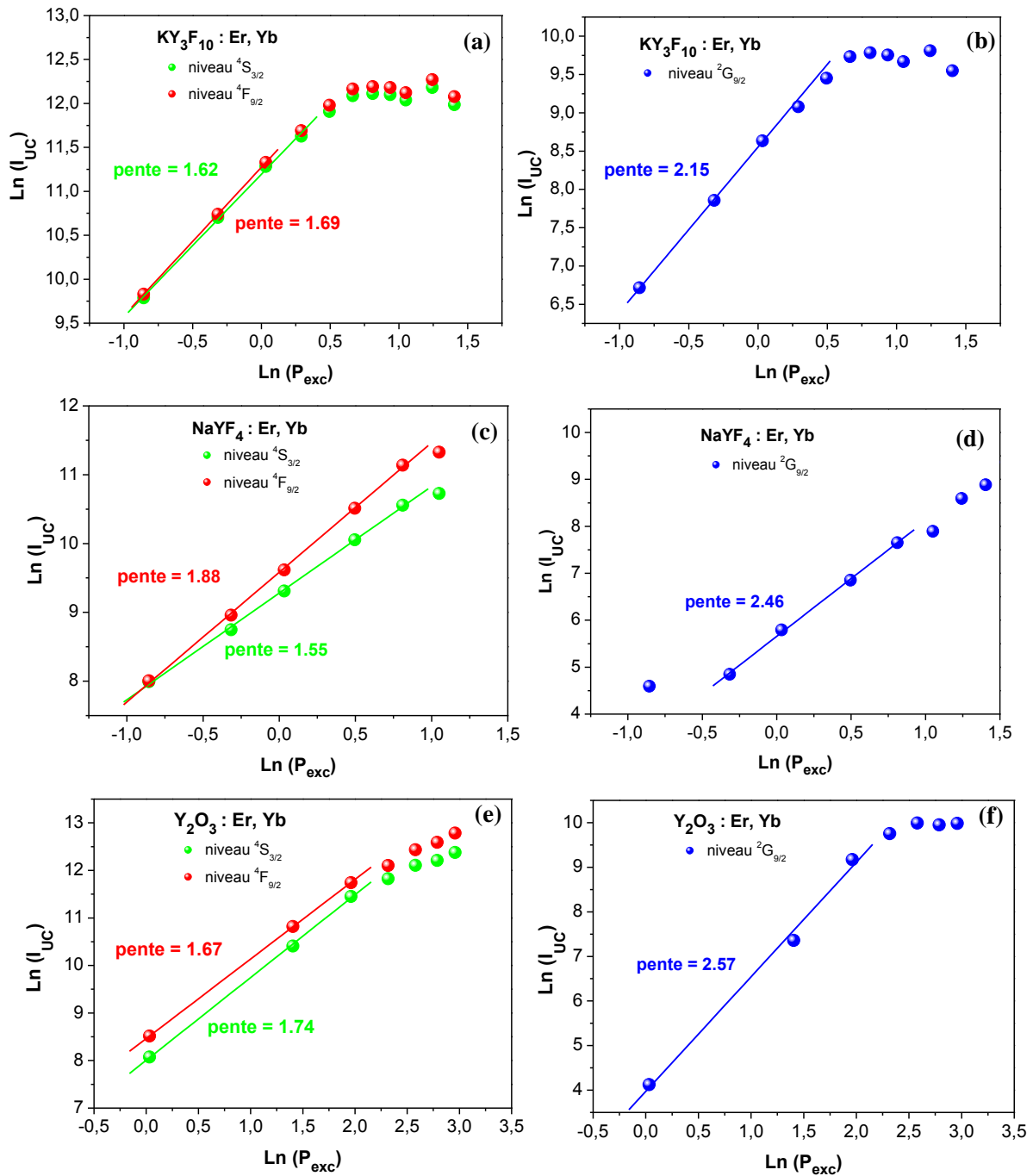


Figure III. 8. : Evolution des intensités de luminescence en fonction de la puissance d'excitation des transitions $^4F_{9/2}-^4I_{15/2}$ et $^4S_{3/2}-^4I_{15/2}$ pour (a) $KY_3F_{10} : Er^{3+}, Yb^{3+}$ (c) $NaYF_4 : Er^{3+}, Yb^{3+}$ et (e) $Y_2O_3 : Er^{3+}, Yb^{3+}$, et de la transition $^2H_{9/2}-^4I_{15/2}$ pour (b) $KY_3F_{10} : Er^{3+}, Yb^{3+}$ (d) $NaYF_4 : Er^{3+}, Yb^{3+}$ et (f) $Y_2O_3 : Er^{3+}, Yb^{3+}$

III.3.2. Contrôle de la température

Les mesures en fonction de la puissance d'excitation ont permis, comme nous l'avons décrit précédemment, de vérifier l'attribution des émissions observées dans le visible à des processus d'up conversion mais elles permettent, également, de contrôler l'évolution de la température de la solution, paramètre important pour l'application envisagée.

Alors que les cellules saines peuvent survivre jusqu'à une température de 42°C, les cellules tumorales sont détruites [82] par conséquent, une faible élévation de température de 37°C à 42°C est capable de causer la mort des cellules cancéreuses. Cette voie de destruction des cellules malignes par hyperthermie fait d'ailleurs l'objet d'un grand nombre d'études actuellement [83-97, 50, 98-108, 25]. Notre objectif étant la destruction des cellules malignes par génération de radicaux libres, il était important de contrôler l'influence de la puissance d'excitation infrarouge sur la température du milieu car les particules, en particulier pour les systèmes KY_3F_{10} et $NaYF_4$, sont fortement dopées en ions Yb^{3+} qui absorbent efficacement l'excitation en résonance avec la transition de l'état fondamental ($^2F_{7/2}$) vers son unique état excité ($^2F_{5/2}$).

L'utilisation de l'ion Er^{3+} comme sonde de température *in situ* a été récemment démontrée [109] par des mesures en AFM pour le contrôle de l'échauffement local de circuits électroniques, depuis les recherches sur la mise au point de « nanothermomètres » pour un usage en biologie n'ont cessé de se développer [25, 30]. L'avantage de Er^{3+} pour ce propos est lié aux multiplets $^2H_{11/2}$ et $^4S_{3/2}$ à l'origine de l'émission « verte » entre 500 et 570 nm. Ces deux états sont séparés par une faible énergie ($<1200 \text{ cm}^{-1}$) et sont donc en équilibre thermique à la température ambiante. Pour une température T, le rapport des intensités d'émission de ces deux niveaux est régi par la loi de Boltzmann [110, 111].

$$\frac{I_{2H_{11/2}}}{I_{4S_{3/2}}} = C \cdot \exp\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right) \quad (1)$$

$$\ln\left(\frac{I_{2H_{11/2}}}{I_{4S_{3/2}}}\right) = \ln(C) - \frac{\Delta E}{kT} \quad (2)$$

Avec :

$I(^{2S+1}L_J)$: l'intensité d'émission issue du multiplet $^{2S+1}L_J$

C : constante de proportionnalité qui dépend du matériau

ΔE : l'écart énergétique entre les niveaux $^2H_{11/2}$ et $^4S_{3/2}$

k : constante de Boltzmann

T : la température (°K)

Afin de valider notre méthode nous avons tout d'abord considéré les résultats obtenus pour $NaYF_4$, système pour lequel les propriétés de nanothermomètre ont été publiées par Vetrone et *al.* [25]. Le rapport $I(^2H_{11/2}) / I(^4S_{3/2})$ est tout d'abord calculé par intégration des deux émissions pour les différentes puissances d'excitation infrarouge, les valeurs ainsi obtenues sont rassemblées sur la Figure III.9.

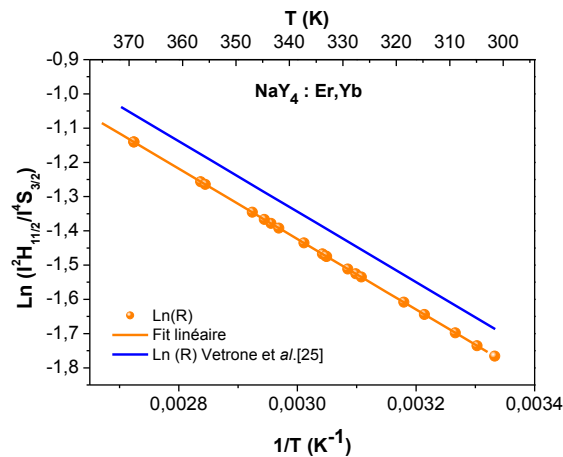


Figure III.9 : Rapport $I(^2H_{11/2}) / I(^4S_{3/2})$ en fonction de l'inverse de T, pour différentes valeurs de puissances d'excitation, pour $NaYF_4$ codopé Yb^{3+} , Er^{3+}

Comme nous l'avons montré sur la Figure III.2, le spectre expérimental (UC NYF) obtenu dans ce travail est en tout point identique à celui reporté par Vetrone et *al.* [25], l'émission verte de l'ion Er^{3+} est constituée de deux bandes distinctes centrées à 525 et 545 nm et attribuées aux transitions issues des niveaux $^2H_{11/2}$ et $^4S_{3/2}$ vers le niveau fondamental $^4I_{15/2}$ respectivement ($\Delta E=714 \text{ cm}^{-1}$).

Pour déterminer la température à partir de nos résultats expérimentaux en utilisant l'Equation (2), il faut émettre l'hypothèse suivante : la puissance d'excitation la plus faible (0.55 W) ne provoque pas d'échauffement. En négligeant tout échauffement, le rapport $\Delta E/k$ est alors égal à $1028 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{K}$. $\text{Ln}(C)$ est calculé à partir du rapport $I(^2\text{H}_{11/2}) / I(^4\text{S}_{3/2})$, mesuré pour la plus faible puissance infrarouge utilisée (soit 0.20161 pour 0.55 W), est égal à 1.66. Cette valeur est très proche de 1.74, valeur reportée dans les travaux de Krämer et *al.* [4]. La constante C et le rapport $\Delta E/k$ étant déterminés, la température expérimentale est calculée à partir de l'équation (2). Les résultats obtenus sont rassemblés sur la Figure III.9 en comparaison avec les valeurs calculées à partir des coefficients obtenus dans la référence [25] $\text{Ln}(I_{525}/I_{545}) = 1.74 - 1028 (1/T)$. Les deux courbes sont strictement parallèles. La température varie de 26° à 73°C pour NaYF_4 .

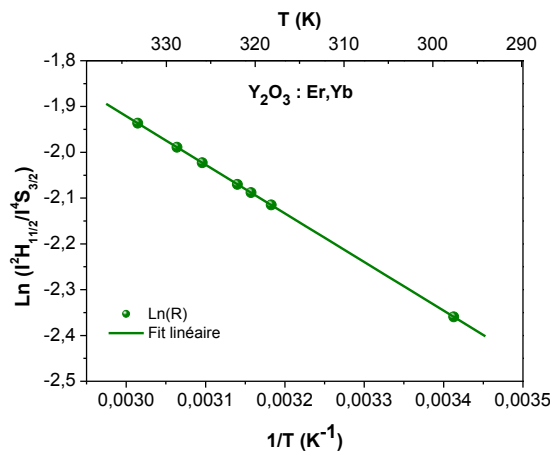


Figure III.10 : Evolution du rapport $I(^2\text{H}_{11/2}) / I(^4\text{S}_{3/2})$ en fonction de l'inverse de T , pour différentes valeurs de puissances d'excitation, pour Y_2O_3 codopé Yb^{3+} , Er^{3+}

La démarche étant validée, les mêmes calculs ont été effectués pour Y_2O_3 . Les émissions issues des niveaux $^2\text{H}_{11/2}$ et $^4\text{S}_{3/2}$ sont centrées à 523 et 544 nm respectivement, $\Delta E/k$ est, dans ce cas, égal à $1062 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{K}$. En considérant le rapport $I(^2\text{H}_{11/2}) / I(^4\text{S}_{3/2})$ mesuré pour la plus faible puissance infrarouge utilisée, $\text{Ln}(C)$ est évalué à 1.265, l'ajustement des valeurs expérimentales à la courbe d'équation $\text{Ln}(I(^2\text{H}_{11/2}) / I(^4\text{S}_{3/2})) = 1.265 - 1062/T$ (Figure III.10), permet de mesurer la température qui varie de 20 à 48°C lorsque la puissance d'excitation infrarouge varie de 1 W à 19 W.

Le rapport des intensités entre les deux émissions vertes pour Er pour les différents matériaux en fonction des différentes puissances d'excitation, a aussi été représenté (Figure III. 11).

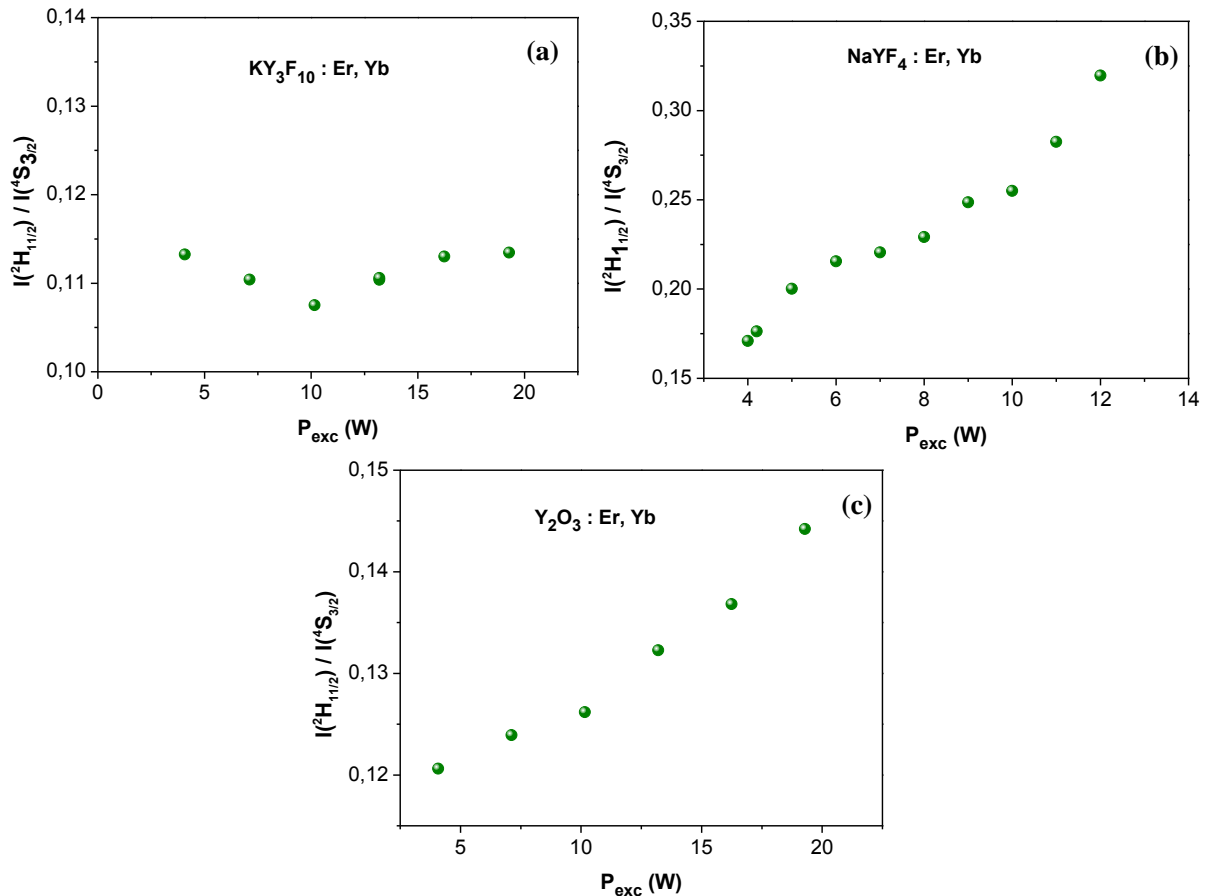


Figure III.11 : Evolution du rapport $I(^2H_{11/2}) / I(^4S_{3/2})$ en fonction de la puissance d'excitation, pour (a) KY_3F_{10} (b) $NaYF_4$ et (c) Y_2O_3

Nous constatons que, pour KY_3F_{10} , le rapport reste constant sur le domaine des puissances d'excitation infrarouge utilisées comme l'illustre la Figure III.11 (a), ce qui n'est pas le cas pour $NaYF_4$ et Y_2O_3 (Figure III.11 (b) et (c)).

III.3.3. Comparaison des matrices

Les expériences précédemment exposées ont été réalisées pour une géométrie fixe (excitation et analyse), des concentrations comparables pour KY_3F_{10} et $NaYF_4$. Le signal d'up conversion étant très important en ce qui concerne l'émission rouge enregistrée pour Y_2O_3 , saturant la détection, les mesures ont été réalisées avec des solutions diluées de moitié (soit 2 mg/mL). De plus, l'objectif de ce travail est à priori d'optimiser l'émission située dans le rouge pour une sensibilisation optimale du PS (ZnPc). La Figure III.12 permet de comparer les différents systèmes (les données obtenues pour Y_2O_3 sont multipliées par 2 afin de pouvoir comparer les résultats pour une concentration de particules de 4.4 mg/mL).

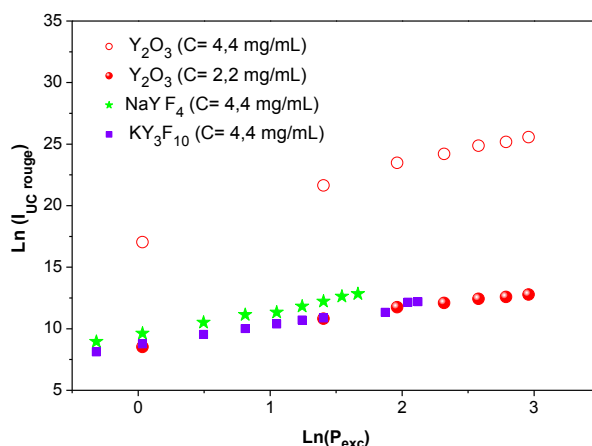


Figure III.12 : Variation de l'intensité de l'émission rouge (niveau ${}^4F_{9/2}$) en fonction de la puissance incidente pour (■) KY_3F_{10} (★) $NaYF_4$ et (●) Y_2O_3

L'efficacité de l'émission rouge pour KY_3F_{10} est comparable à celle de $NaYF_4$, alors que celle de Y_2O_3 est bien supérieure pour toutes les valeurs de puissances infrarouge utilisées. Ce résultat est conforme à ce qui avait été observé lors des premiers travaux sur l'up conversion dans les systèmes codopés Er^{3+}/Yb^{3+} , et Y_2O_3 est reconnu depuis lors comme l'un des meilleurs matériaux émettant dans le rouge par up conversion [66].

B. Dynamique de luminescence

Comme il a été souligné précédemment, les spectres de luminescence ne sont que très peu sensibles à l'environnement en particulier dans le cadre de cette étude, ils ne donnent pas d'informations suffisantes. Au contraire, la dynamique de désexcitation est très sensible à l'environnement, à la distribution des ions (en particulier pour les particules de petites tailles [62-64] et aux transferts d'énergie qui en résultent. De plus, l'objectif est de sensibiliser les molécules de $ZnPc$ présentes dans la couche de silice mésoporeuse par transfert d'énergie $Er^{3+} \rightarrow ZnPc$, pour ces raisons, l'étude complète de la dynamique de luminescence a été entreprise pour les différents systèmes en portant une attention particulière sur l'effet de la structure des particules.

Le rendement de luminescence est estimé par le rapport τ_{exp} / τ_{rad} , avec τ_{exp} , le temps de vie mesuré expérimentalement et τ_{rad} le temps de vie radiatif ($\tau_{rad} = W_{rad}^{-1}$). τ_{exp} résulte de l'émission spontanée à laquelle s'ajoutent des termes non radiatifs dus aux interactions avec

les phonons de la matrice (relaxation multiphonon) avec éventuellement des ions proches (transferts d'énergie)... :

$$\tau_{rad} = (A_{rad})^{-1} + (W_{MP})^{-1} + (W_{ET})^{-1} \quad (3)$$

A_{rad} et W_{MP} dépendent du réseau uniquement, W_{ET} dépend de la concentration des dopants et codopants ainsi que, dans le cas des nanoparticules, du nombre de centres émetteurs proches de la surface. Les centres proches de la surface sont susceptibles d'être couplés avec les groupements type OH⁻ ou autres groupements organiques adsorbés à la surface (résultant de la synthèse ou groupements du solvant adsorbés en surface pour les particules en solution) ce qui mène au quenching de leur luminescence. L'enrobage d'une coquille inerte doit permettre de pallier à ces effets, généralement cette coquille est constituée de silice qui présente l'avantage de rendre les particules biocompatibles et de permettre le greffage de molécules biologiques [8]. En ce qui concerne les particules dopées terres rares, une coquille de silice n'est pas efficace pour diminuer le quenching des centres émetteurs de surface car les vibrations Si-O sont énergétiques (1100 cm⁻¹) ce qui favorise les relaxations non radiatives des centres émetteurs de surface.

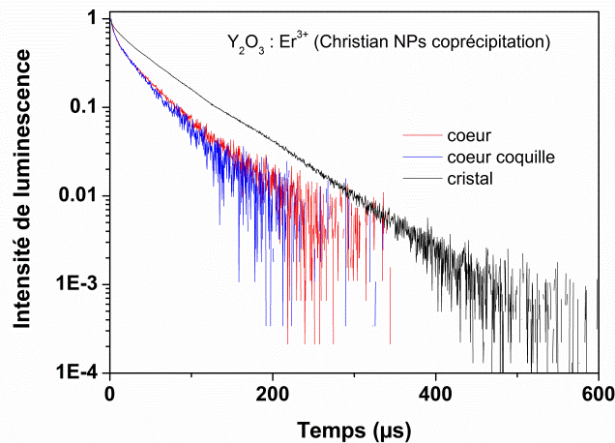


Figure III.13 : Déclin de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$ (Er) pour des particules nue (cœur), des particules recouvertes d'une coquille de SiO_2 , un cristal de Y_2O_3 dopé Er^{3+} avec la même concentration [79]

La Figure III.13 illustre l'inefficacité de l'enrobage de nanoparticules de Y_2O_3 dopées Er^{3+} sur l'amélioration du rendement de luminescence, c'est-à-dire un allongement de la durée de vie du niveau $^4S_{3/2}$, un allongement de la durée de vie indique la suppression de voies de désexcitation non radiative.

Le niveau $^4S_{3/2}$ (Er^{3+}) est une sonde parfaite pour tester la présence d'effets dégradant les propriétés optiques. En effet, le gap énergétique le séparant du niveau d'énergie immédiatement inférieur, le niveau $^4F_{9/2}$, est relativement modeste ($\approx 2500 \text{ cm}^{-1}$) le rendement quantique de l'émission $^4S_{3/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$ est donc très sensible à la fréquence des phonons couplés à Er^{3+} , phonons de la matrice ou de groupements adsorbés en surface dans le cas de particules. Par conséquent, comme on peut l'observer sur la Figure III.1, la présence d'une coquille de silice autour des particules de Y_2O_3 ne modifie pas le déclin de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$, ce qui signifie son inefficacité, c'est pourquoi dans ce travail, une structure différente des particules a été envisagée.

Des particules de différentes configurations (particules « nues », particules dopées recouverte d'une coquille cristalline du matériau non dopé de faible épaisseur, particules cœur-coquille enrobées d'une coquille de silice mésoporeuse) ont été synthétisées. Les résultats obtenus pour les différents matériaux sélectionnés (Y_2O_3 , KY_3F_{10} , $NaYF_4$) pour les différentes configurations sont exposés dans la suite de ce document. L'avantage d'une coquille cristalline du matériau non dopé est de deux ordres : tout d'abord, le couplage des centres émetteurs de surface s'effectue avec le même matériau constituant le cœur de la particule ce qui ne doit pas modifier les probabilités de désexcitation non radiative par couplage avec les phonons puisque ce sont les mêmes que le matériau soit dopé ou non, ensuite, la couche non dopée doit exercer un effet protecteur vis-à-vis des groupements éventuellement adsorbés en surface.

Pour les raisons évoquées ci-dessus l'intérêt a été focalisé sur la dynamique de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$ pour les matériaux codopés Er^{3+} , Yb^{3+} pour évaluer l'effet bénéfique ou non des différentes configurations, les résultats obtenus sur la dynamique de désexcitation du multiplet $^4F_{9/2}$ sont également présentés. Comme il a été souligné dans l'introduction, l'essentiel des études porte sur KY_3F_{10} , par conséquent les résultats obtenus sur les deux autres matrices Y_2O_3 et $NaYF_4$ seront traités simultanément et ne seront que brièvement commentés.

I. KY₃F₁₀ : Résultats expérimentaux

Les mesures de déclin de luminescence ont été effectuées essentiellement pour les niveaux $^4S_{3/2}$ et $^4F_{9/2}$ de Er³⁺, excités soit dans le niveau $^4F_{7/2}$ (à 486 nm) soit par up conversion (à 976 nm) sur poudre (particules déposées sur une lame de verre) et pour les particules en solution dans du Poly-éthylène-glycol (PEG) avec une concentration de 4.4 mg/mL.

Afin de faciliter la comparaison, les déclins de luminescence enregistrés sur poudre et en solution dans le PEG enregistrés dans les mêmes conditions d'excitation et d'analyse sont présentés simultanément.

Excitation Stokes dans le niveau $^4F_{7/2}$ (Er³⁺)

L'ensemble des résultats est rassemblé sur la Figure III.14 pour l'analyse du niveau $^4S_{3/2}$ la Figure III. 15 pour le niveau $^4F_{9/2}$.

I.1.1. Niveau $^4S_{3/2}$

Les profils des déclins, en particulier pour le niveau $^4S_{3/2}$ s'écartent fortement d'une loi exponentielle comme il est généralement observé dans le cas des nanoparticules [62-64] car le niveau $^4S_{3/2}$ est très sensible aux interactions Er³⁺-Er³⁺ et Er³⁺-Yb³⁺ (voir Figure I.13) qui introduisent des processus de transferts d'énergie ce qui provoque un écart à la loi exponentielle aux temps courts. Le but de ce travail n'étant pas une étude complète des processus mais plutôt de comprendre l'influence de la configuration des particules sur les propriétés optiques, nous ne sommes pas attachés à la modélisation complète des courbes mais plutôt à dégager une tendance.

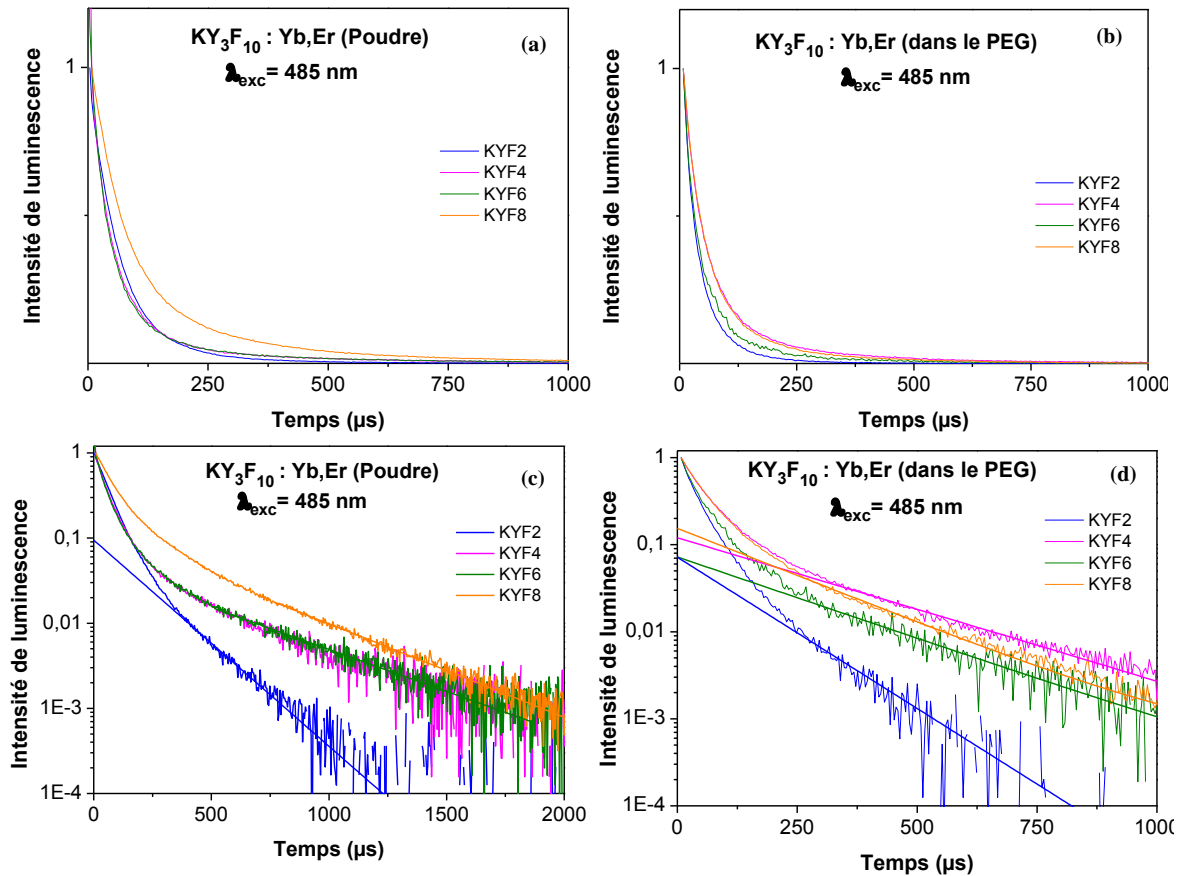


Figure III.14 : Déclin de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$ (Er) pour KY_3F_{10} pour toutes les structures en poudre (a) et (c) et en solution dans le PEG à une concentration égale à 8,8 mg/mL (b) et (d)

La représentation en échelle semi-logarithmique sera souvent utilisée car elle est plus favorable pour déceler les différences, cependant, la représentation linéaire sera utilisée en particulier lorsqu'il y a un temps de montée (cas du niveau $^4F_{9/2}$ ou des déclins enregistrés en excitation par up conversion). Ainsi, en ce qui concerne l'émission du niveau $^4S_{3/2}$, une évolution des profils des déclins est clairement visible avec la configuration des particules que les mesures soient effectuées sur poudre ou en solution dans le PEG. Dans les deux cas, la partie asymptotique du déclin est plus rapide pour les particules « nues » comparé aux autres configurations. Pour les mesures effectuées sur poudre, le comportement aux temps longs des particules recouvertes d'une coquille cristalline (configuration 4) est tout à fait similaire à celui des particules recouvertes d'une sur-coquille de silice mésoporeuse (configuration 6). L'introduction des molécules de ZnPc (configuration 8) modifie notablement le profil de déclin.

Les mêmes tendances sont observées lorsque les particules sont en solution dans le PEG avec une réduction notable des constantes de temps évaluées pour la partie asymptotique, on peut remarquer cependant un comportement légèrement différent aux temps courts entre les configurations 4 et 6 ; ce point sera largement discuté ultérieurement. Les différentes constantes de temps sont rassemblées dans le Tableau III.2.

Tableau III.2 : Constantes de temps calculées pour KY₃F₁₀ :20% Yb, 2% Er du niveau ⁴S_{3/2}, pour toutes les configurations en poudre et en solution dans le PEG (excitation Stokes)

Configuration	$\tau(^4S_{3/2})$ (μ s)	
	Poudre	PEG
2	179	125
4	439	243
6	439	232
8	398	199

Dans le cas des particules en solution, la durée de vie du niveau ⁴S_{3/2} pour les particules « nues » est réduite de 70% par rapport à la mesure effectuée sur poudre, cette réduction s'explique par l'interaction des centres de surface (ou proches de la surface) avec les molécules de PEG constituées de groupements ayant des fréquences de vibration élevées favorables à une relaxation multiphonon efficace. La présence de la coquille cristalline produit un allongement du temps de vie du niveau ⁴S_{3/2} dans les deux cas (poudre et PEG) de l'ordre de 245% et 200% pour les mesures sur poudre et dans le PEG respectivement. Cette coquille non dopée possède les mêmes propriétés vibrationnelles que celles du matériau constituant le cœur, l'introduction des dopants en faible concentration ne modifie pas notablement les fréquences de vibration, par conséquent elle constitue un « spacer » protégeant les centres sensibles aux couplages vibroniques avec les groupements extérieurs. Néanmoins, comme l'indique le Tableau III.2, les déclinés mesurés pour les particules en solution démontrent un quenching comparé aux mesures effectuées sur poudre (70%, 54%, 54%, 50% pour les configurations 2, 4, 6 et 8 respectivement), ces résultats indiquent que la protection, vis-à-vis des molécules de solvant, n'est pas totale car la faible épaisseur de la coquille (50 nm) est insuffisante pour une protection complète [112].

Cependant pour les applications visées, la taille des particules est limitée afin de ne pas entraver l'endocytose des particules par les cellules. Les résultats obtenus en présence du ZnPc (configuration 8) seront largement discutés au Chapitre IV.

I. Niveau $^4F_{9/2}$

Les mesures de la dynamique de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ excité dans le niveau supérieur ($^4F_{7/2}$), mesures effectuées sur poudres et pour les particules en suspension dans le PEG sont rassemblées dans la Figure III.15 pour les deux modes de représentation.

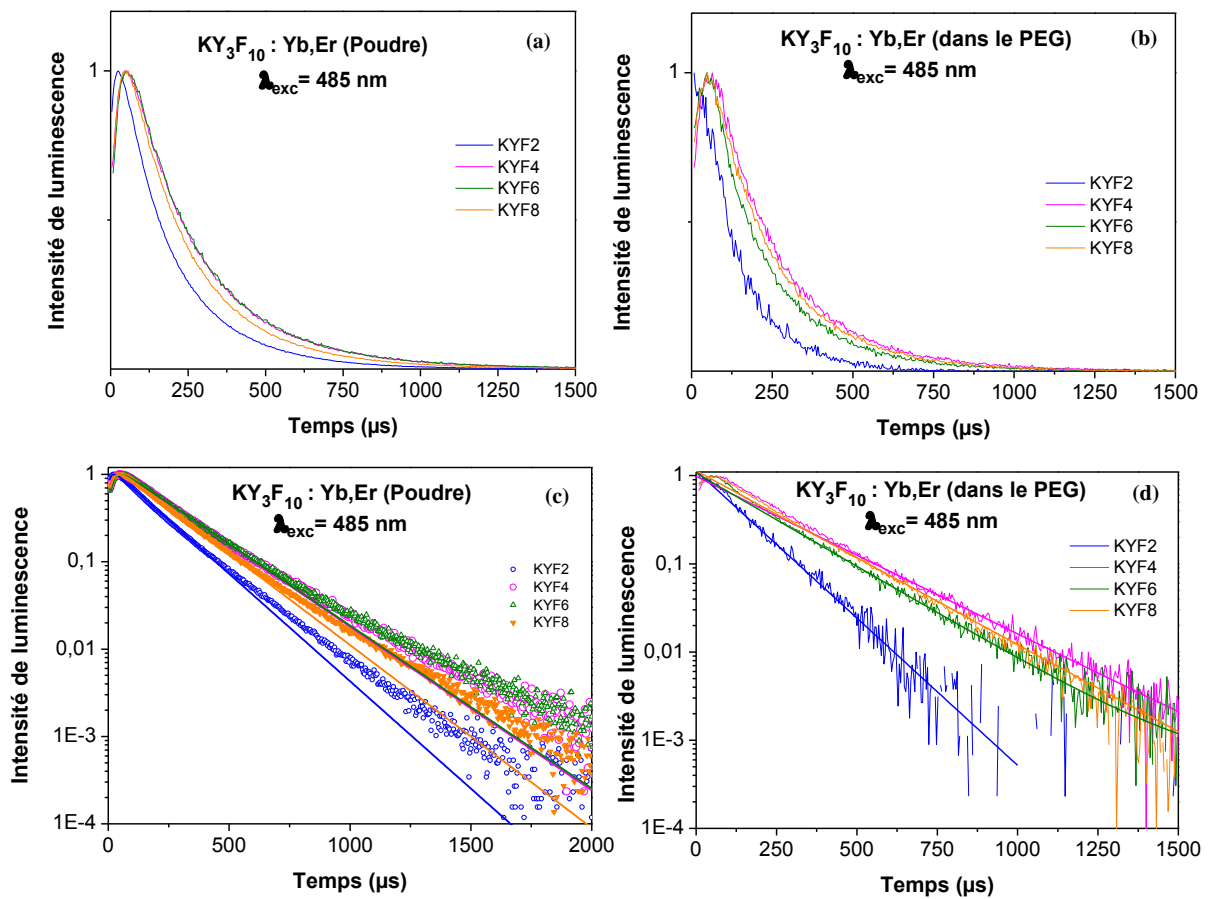


Figure III.15 : Déclin de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ (Er) pour KY_3F_{10} pour toutes les structures en poudre (a) et (c) et en solution dans le PEG à une concentration égale à 8,8 mg/mL (b) et (d)

Les profils de déclin enregistrés pour les particules en solution dans le PEG semblent plus simples, comme le montre la Figure III.15 (c) et (d), puisque la partie décroissante de la fonction $I=f(t)$ peut être modélisée par une loi exponentielle alors que pour les poudres, hormis pour la configuration 2, une simple loi exponentielle ne suffit pas pour décrire la dépendance temporelle de l'intensité d'émission du niveau $^4F_{9/2}$ en fonction du temps. Pour les temps longs (Figure III.15 (a) et (b)), une composante supplémentaire, de très faible intensité, doit être ajoutée, cette observation sera confirmée ultérieurement. Les courbes complètes $I=f(t)$ pour le niveau $^4F_{9/2}$ sont modélisées à partir de la formule suivante :

$$I = A.\exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) - B.\exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right)$$

(4)

Avec :

τ_1 le temps de déclin (s)

τ_2 le temps de montée (s)

L'écart à la loi simple apparaît très faible en échelle linéaire comme le représente la Figure III.16 (b) pour le déclin de $^4F_{9/2}$ mesuré pour la configuration 4.

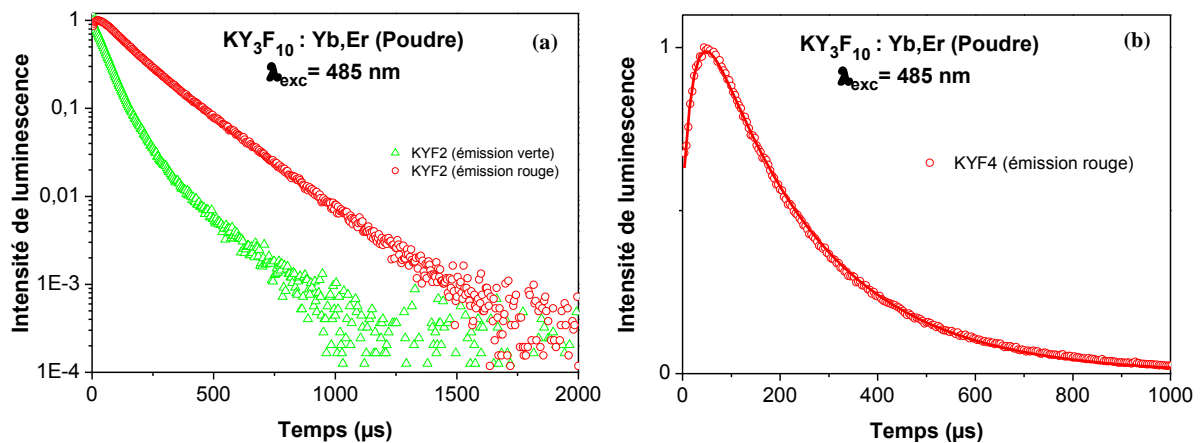


Figure III.16 : Comparaison des déclin de luminescence des niveaux $^4S_{3/2}$ et $^4F_{9/2}$ pour $KY_3F_{10}:Yb,Er$ (en poudre) pour la configuration KYF2 (a) déclin du niveau $^4F_{9/2}$ pour $KY_3F_{10}:Yb,Er$ (en poudre) pour la configuration KYF4 (la courbe théorique est obtenue par ajustement des résultats expérimentaux par l'Equation (4)) (b)

L'ensemble des constantes de temps décrivant au mieux les résultats expérimentaux à partir de l'Eq.(4) sont rassemblées dans le Tableau III.3.

En ce qui concerne la configuration la plus simple des particules (configuration 2), la courbe expérimentale pour le niveau ${}^4F_{9/2}$ est parallèle à celle mesurée pour le niveau ${}^4S_{3/2}$. Pour une excitation Stokes, le niveau ${}^4F_{9/2}$ est peuplé par la relaxation multiphonon à partir du niveau ${}^4S_{3/2}$, la dépendance temporelle est décrite par l'équation (Y). La durée de vie de ${}^4F_{9/2}$ (τ_1) étant généralement plus courte que celle de ${}^4S_{3/2}$ (τ_2), le temps de déclin correspond en fait au processus de population du niveau ${}^4F_{9/2}$ soit, dans ce cas, le temps de vie du niveau ${}^4S_{3/2}$ ce qui est observé sur la Figure III.16 (b).

Tableau III.3 : Constantes de temps vie calculées pour KY_3F_{10} :20%Yb, 2% Er du niveau ${}^4F_{9/2}$, pour toutes les configurations en poudre (excitation Stokes)

Poudre Configuration	$\tau({}^4F_{9/2})$ (μs)			$\tau({}^4S_{3/2})$ (μs)
	τ (montée)	τ_1 (déclin)	τ_2 (déclin)	
2	13	177	-	179
4	24	232	375	439
6	22	233	372	439
8	22	207	287	398

Il est possible de faire un parallèle avec les mesures effectuées pour les particules en solution dans le PEG (Figure III.16). Les valeurs résultant de la modélisation des courbes expérimentales par l'équation (4) sont rassemblées dans le Tableau III.4. Les constantes de temps sont réduites par rapport à celles obtenues précédemment.

Tableau III.4 : Constantes de temps ajustées par l'Equation (4) pour KY_3F_{10} :20%Yb, 2% Er du niveau ${}^4F_{9/2}$, pour toutes les configurations en solution dans le PEG (excitation Stokes)

PEG Configuration	$\tau({}^4F_{9/2})$ (μs)		$\tau({}^4S_{3/2})$ (μs)
	τ (montée)	τ_1 (déclin)	
2	-	125	129
4	27	265	243
6	21	215	232
8	24	200	199

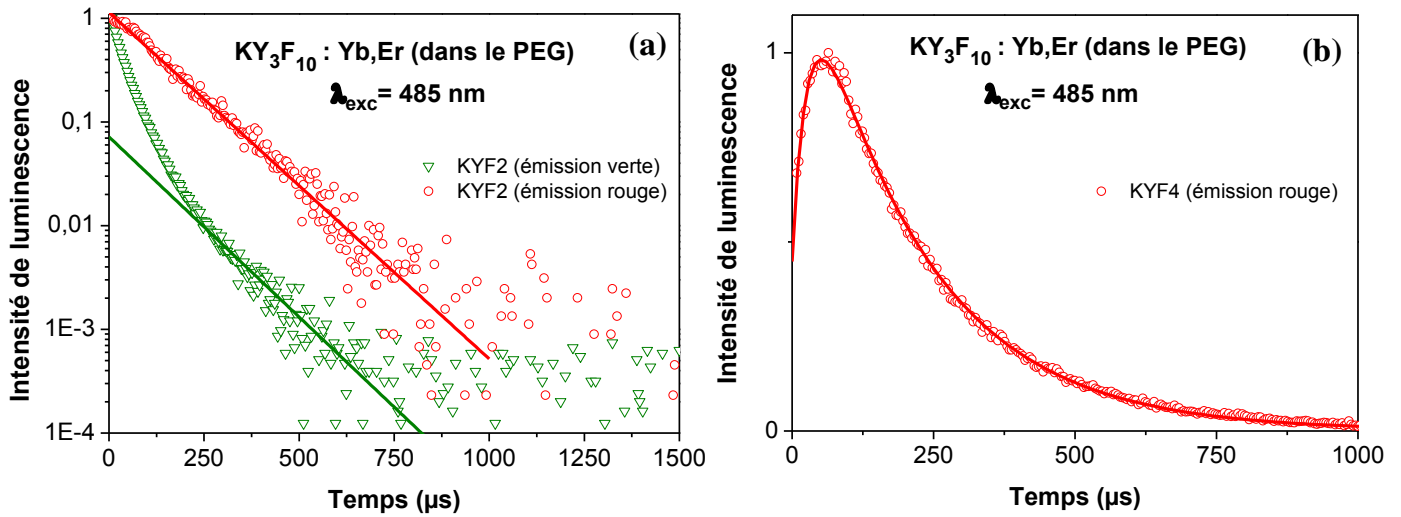


Figure III.17 : Déclins de luminescence des niveaux $^4S_{3/2}$ et $^4F_{9/2}$ pour $KY_3F_{10} : Yb, Er$ (dans le PEG) pour la configuration KYF2 (a) ; déclin du niveau $^4F_{9/2}$ pour la configuration KYF4 (la courbe théorique est obtenue par ajustement des résultats expérimentaux par l'Equation (4)) (b)

I.1. Excitation par up conversion

Les déclins de luminescence des niveaux $^4S_{3/2}$ et $^4F_{9/2}$ excités par up conversion enregistrés sur poudre et pour les particules en solution dans le PEG sont représentés sur les Figures III.18 et III.19 respectivement. Pour l'excitation par up conversion, nous attacherons une attention particulière aux déclins du niveau $^4F_{9/2}$.

I.1.1. I.2.1. Mesures sur poudres

Tableau III.5 : Constantes de temps ajustées par l'Equation (4) pour $KY_3F_{10} : 20\%Yb, 2\% Er$ du niveau $^4F_{9/2}$, pour toutes les configurations en poudre (excitation anti-Stokes)

Poudre Configuration	$\tau(^4F_{9/2})$ (μs)	
	τ (montée)	τ (déclin)
2	15	202
4	34	247
6	31	241
8	25	211

Les constantes de temps décrivant les courbes expérimentales selon l'équation (4) sont rassemblées dans le Tableau III.5. Contrairement à l'excitation Stokes, les courbes sont assez bien décrites par l'équation (4) quelle que soit la configuration comme l'illustre la Figure III.17.

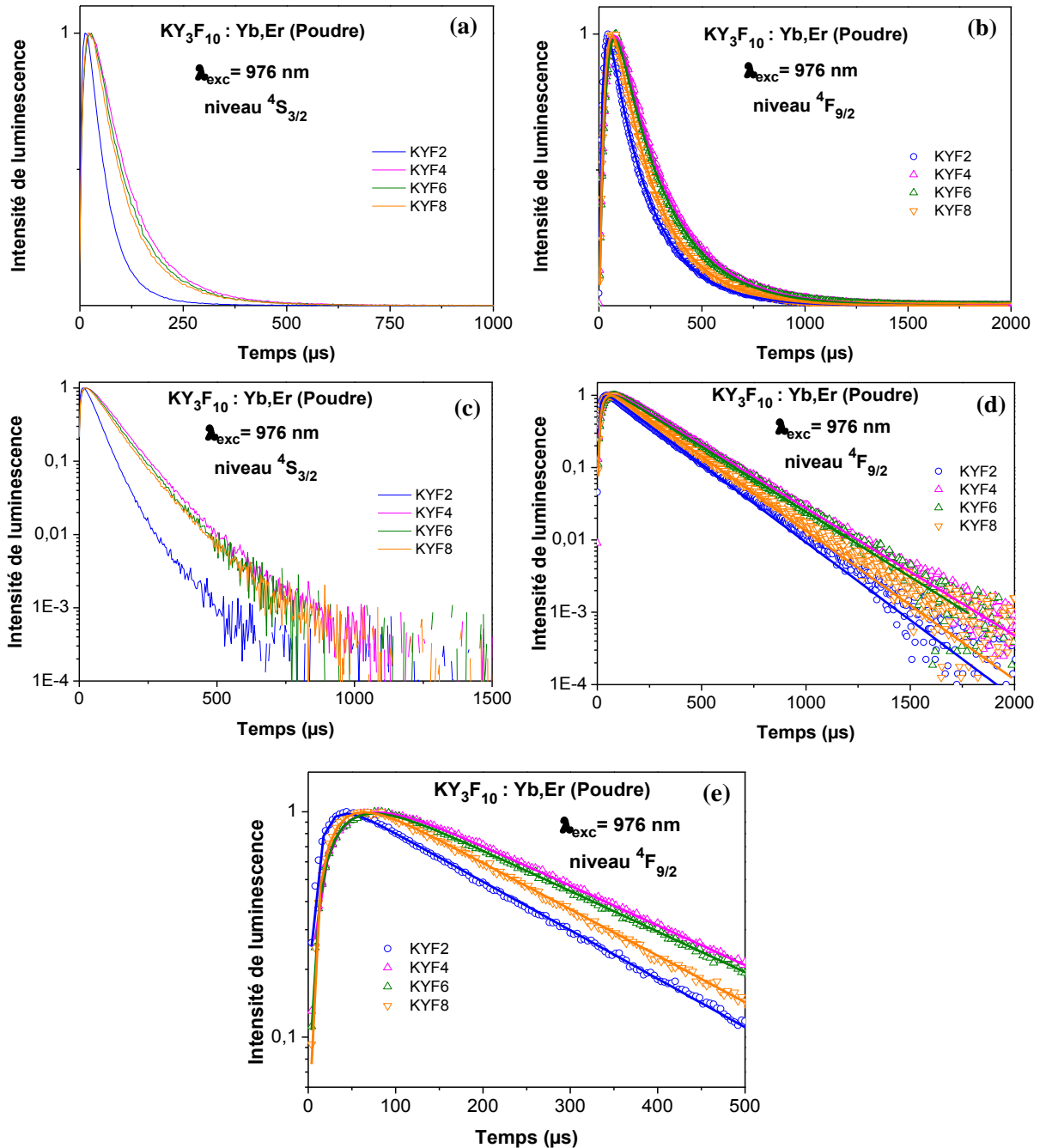


Figure III.18 : Déclins de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$ (Er) pour KY_3F_{10} pour toutes les configurations en poudre (a) e (c) Déclins de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ (Er) pour KY_3F_{10} pour toutes les configurations en poudre (b), (d) et (e)

I.1.2. I.2.2. Mesures dans le PEG

L'ensemble des courbes expérimentales est représenté sur la Figure III.19.

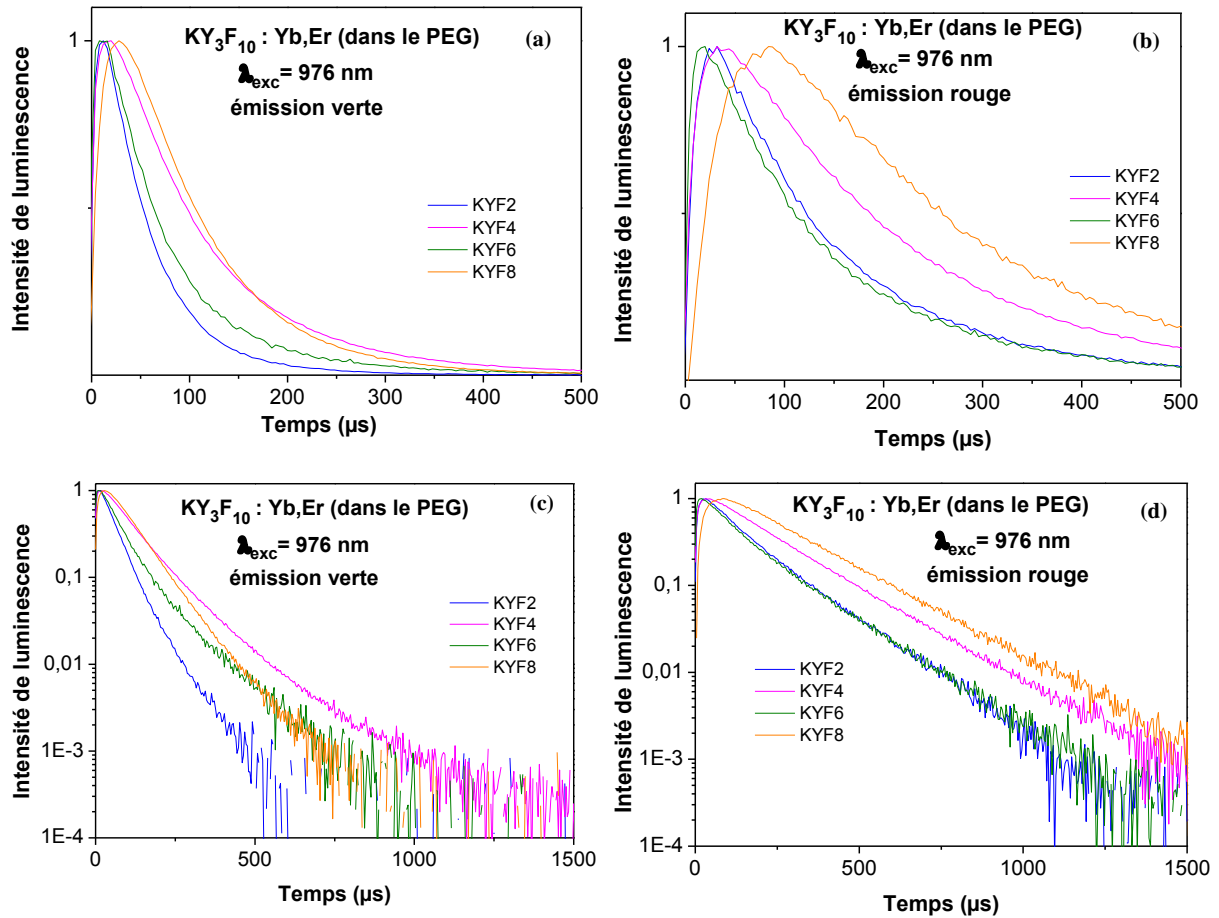


Figure III.19 : Déclins de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$ (Er) pour KY_3F_{10} pour toutes les configurations en solution (dans le PEG, $cc = 8,8$ mg/mL) (a) et (c) Déclins de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ (Er) pour KY_3F_{10} pour toutes les configurations en solution (dans le PEG, $cc = 8,8$ mg/mL) (b) et (d)

Contrairement à l'excitation Stokes, le profil de déclin de l'émission du niveau $^4S_{3/2}$, excité par up conversion, présente un temps de montée. L'analyse complète du profil de déclin est, dans ce cas, très complexe car plusieurs mécanismes sont mis en jeu dans le processus de up conversion, les transferts d'énergie entre les niveaux métastables $^4I_{11/2}$ (Er^{3+}) et $^2F_{5/2}$ (Yb^{3+}) interviennent dans la première étape du processus, les éventuelles interactions $^4S_{3/2}$ (Er^{3+}) - $^4S_{3/2}$ (Er^{3+}), $^4S_{3/2}$ (Er^{3+}) - $^2F_{5/2}$ (Yb^{3+}) etc. (l'ensemble des processus possibles est schématisé sur la Figure I.13).

Notre propos ici, comme nous l'avons souligné précédemment, est plutôt d'essayer de comprendre le lien entre les différentes configurations de particules et leur dynamique. Les courbes associées à la décroissance de l'intensité de luminescence du niveau $^4S_{3/2}$ (Figure III.19 (a)) présentent un comportement difficile à commenter, contrairement à ce qui avait été observé en excitation Stokes. Plusieurs raisons sont à l'origine de ces résultats. Tout d'abord, ce niveau est très sensible aux effets de concentration soit par « self quenching » dû aux interactions Er-Er par la relaxation R1 soit par le transfert possible vers Yb selon la relaxation R2 représentée sur la Figure I.13.

L'objectif principal de ce travail étant la sensibilisation du ZnPc par l'émission rouge ($^4F_{9/2} \rightarrow ^4I_{15/2}$) de Er^{3+} , nous nous focaliserons essentiellement sur la dynamique du niveau $^4F_{9/2}$ pour établir un lien avec les configurations particulières des particules et mettre en évidence l'effet de la présence du ZnPc.

Le comportement de l'intensité de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ en fonction du temps semble plus simple (Figure III.18 (d), échelle semi-log) que celle du niveau $^4S_{3/2}$, cependant l'examen des courbes en échelle linéaire (Figure III.18 (b)) permet de révéler plusieurs problèmes. Les profils de déclin pour les configurations 2 et 6 semblent assez proches. Les temps de montée et de déclin sont allongés pour la configuration 4, résultat conforme à ce qui est attendu grâce à l'effet protecteur de la coquille cristalline, par contre, la dynamique (montée et déclin) observée pour les particules enrobées de silice mésoporeuse et imprégnées par le ZnPc (configuration 8) est beaucoup plus lente. Ces considérations, ajoutées aux observations relatives aux résultats obtenus pour le niveau $^4S_{3/2}$, nécessitent un traitement plus approfondi des résultats.

En résumé, le cas de la configuration 8 mis à part puisque la présence de molécules de ZnPc est supposée induire des processus de transferts $Er^{3+} - ZnPc$ supplémentaires, la Figure III.20 présente une synthèse des résultats obtenus par up conversion et met en exergue l'effet de la structure des particules sur les déclin de luminescence, ce point est discuté au Chapitre IV.

La Figure III.20 (a) présente l'avantage de la structure coeur-coquille pour le rendement de luminescence des niveaux $^4S_{3/2}$ et $^4F_{9/2}$, l'allongement notable des temps de vie est dû à la suppression de voies de désexcitation non radiatives. L'enrobage des particules à structure coeur-coquille par de la silice mésoporeuse produit l'effet contraire comme le représente la Figure III.20 (b).

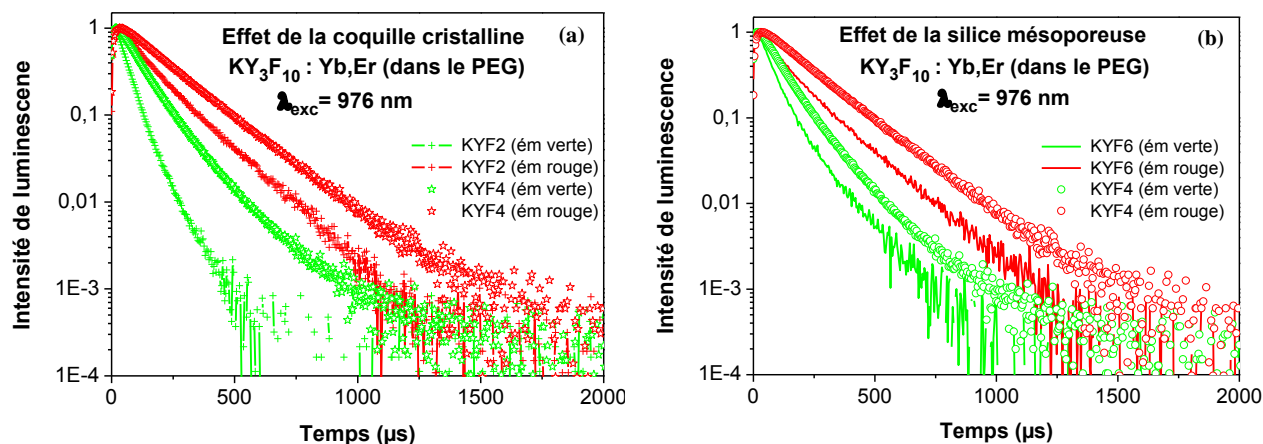


Figure III.20 : Effet de la structure sur les déclin de luminescence des niveaux $^4S_{3/2}$ et $^4F_{9/2}$ (comparaison des configurations 2 et 4) des particules $KY_3F_{10} : Yb, Er$ solution dans le PEG, $cc=8,8mg/mL$ (a) Effet de la coquille cristalline (comparaison des configurations (2 et 4) (b) Effet de l'enrobage par la silice mésoporeuse (comparaison des configurations (4 et 6))

Afin de dissocier les différents effets possibles, la silice mésoporeuse a été déposée directement sur les particules nues, ces particules seront notées 2' dans la suite de ce manuscrit. Une partie de ces particules a été imprégnée par le ZnPc selon le protocole décrit au Chapitre II, elles seront notées 2''. Les déclin de luminescence mesurés sur les particules type 2' et 2'' sont ensuite comparés aux résultats obtenus précédemment sur les particules type 2, 4, 6 et 8. Nous nous focaliserons principalement sur l'émission du niveau $^4F_{9/2}$ excité par up conversion. Les résultats sont rassemblés sur la Figure III.21, la courbe correspondant aux particules de type 2 n'est pas représentée puisqu'elle est très similaire à celle obtenue pour le type 6 (voir Figures III.19 (c) et (d)).

Il semble que plusieurs mécanismes coexistent, et leur contribution à l'intensité de la luminescence dépend de la structure des particules. L'ajustement à une courbe théorique du déclin de $^4F_{9/2}$ pour la configuration 6 est représenté sur la Figure III.22 (courbe 1). L'accord avec la courbe expérimentale est très bon aux temps courts, les temps de montée et de déclin (jusqu'à 300 μs environ) sont bien reproduits mais une grande différence subsiste pour les temps plus longs du déclin, ce qui est plus visible en représentation semi logarithmique de la courbe (1) Figure III.22 (c). L'écart entre la courbe théorique et la courbe expérimentale (courbe (1) en pointillés), présente une grande similitude avec la partie asymptotique de la courbe (2) correspondant aux résultats expérimentaux obtenus avec les particules de type 8.

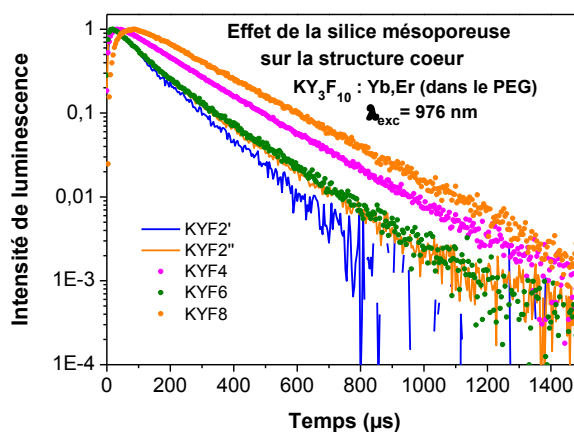


Figure III.21 : Mise en évidence de l'effet de l'enrobage par la silice mésoporeuse sur les déclin de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ (comparaison des configurations 2', 2'', 4, 6 et 8) en solution dans le PEG, $cc=8,8mg/mL$, excitation anti-Stokes

Par ailleurs, une grande similitude est observable sur la Figure III.20 entre les déclin associés aux particules de type 4 et 8 alors que les temps de montée sont très différents. Cette observation nous amène à supposer que deux mécanismes régissent la dépendance temporelle de l'émission du niveau $^4F_{9/2}$ pour les particules de type 4 et 8 mais avec une pondération de leur importance différente.

Comme il est possible de constater sur la Figure III.23, la différence entre les courbes enregistrées avec les particules de type 8 et 4 (courbe (1) sur la Figure III.23) présente une grande similarité avec les déclin de luminescence observés à partir de la courbe (1) Figure III.22. Pour faciliter la comparaison, les courbes ont été décalées dans en abscisse (Figure III.23 (b), il apparait que les processus mis ainsi en évidence correspondent à des mécanismes communs puisqu'ils présentent les mêmes constantes de temps (temps de montée et temps de déclin).

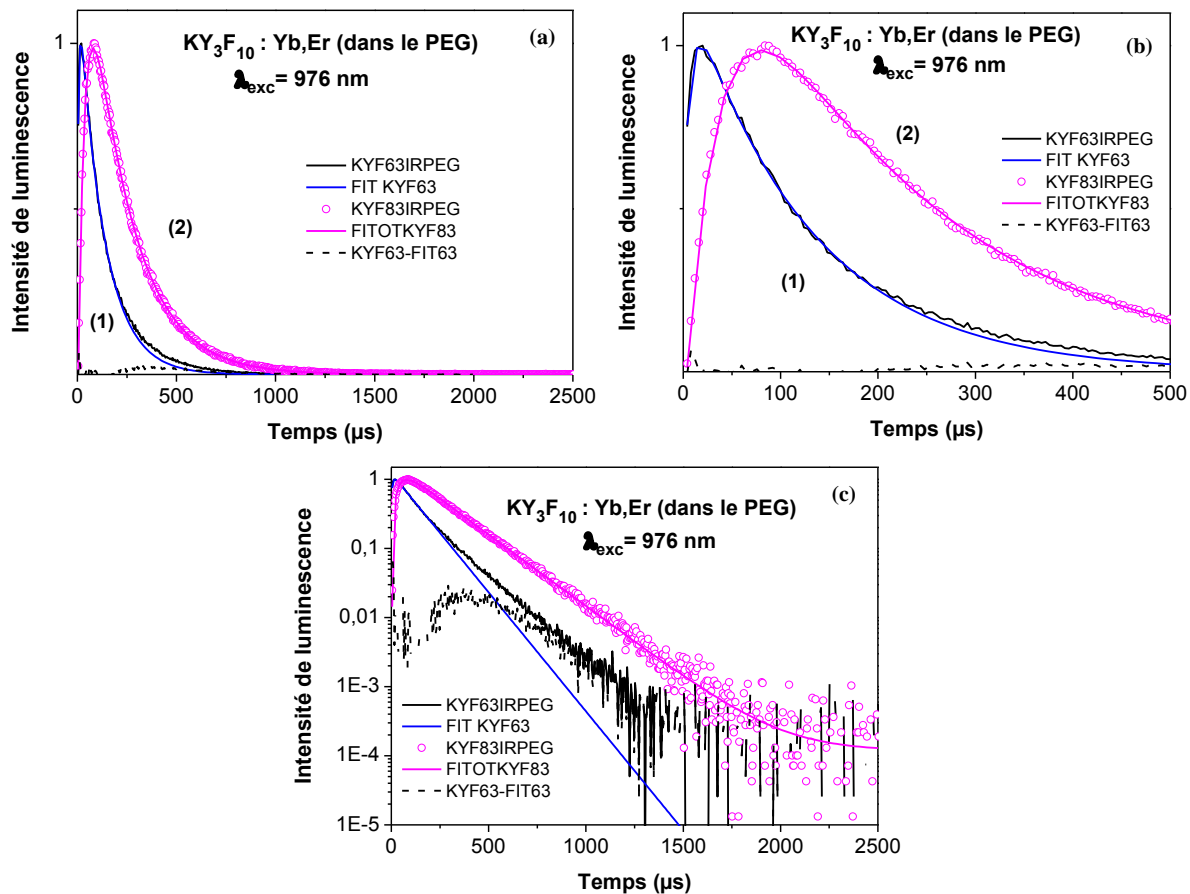


Figure III.22 : Déclins de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ pour $KY_3F_{10} : Yb, Er$ (dans le PEG, $cc = 8,8$ mg/mL) pour les configurations KYF6 et KYF8 (la courbe théorique est obtenue par ajustement des résultats expérimentaux par l'Equation (4))

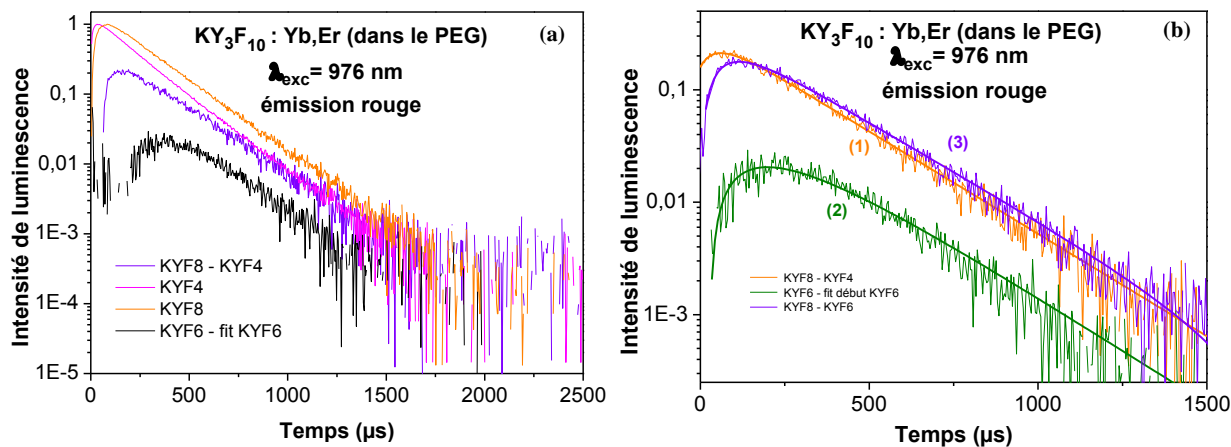


Figure III.23 : Déclins de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ pour $KY_3F_{10} : Yb, Er$ (dans le PEG, $cc = 8,8$ mg/mL) pour les configurations KYF4 et KYF8 (la courbe théorique est obtenue par ajustement des résultats expérimentaux par l'Equation (4) pour la configuration KYF6)

Ces résultats nous permettent d'affirmer que deux types de centres coexistent dans les particules, leur contribution respective étant fortement liée à la configuration des particules.

Par exemple, la courbe calculée pour modéliser la dépendance de l'intensité d'émission du niveau $^4F_{9/2}$ pour la configuration 6 (courbe (1) sur la Figure III.22) se superpose parfaitement à la courbe expérimentale obtenue pour les particules de type 2' (silice directement sur le cœur) comme le montre la Figure III.24.

D'autre part, il faut rappeler que les courbes obtenues pour les particules de type 6 (cœur+coquille+MS) sont exactement semblables à celles des particules de type 2'' (cœur+MS+PS).

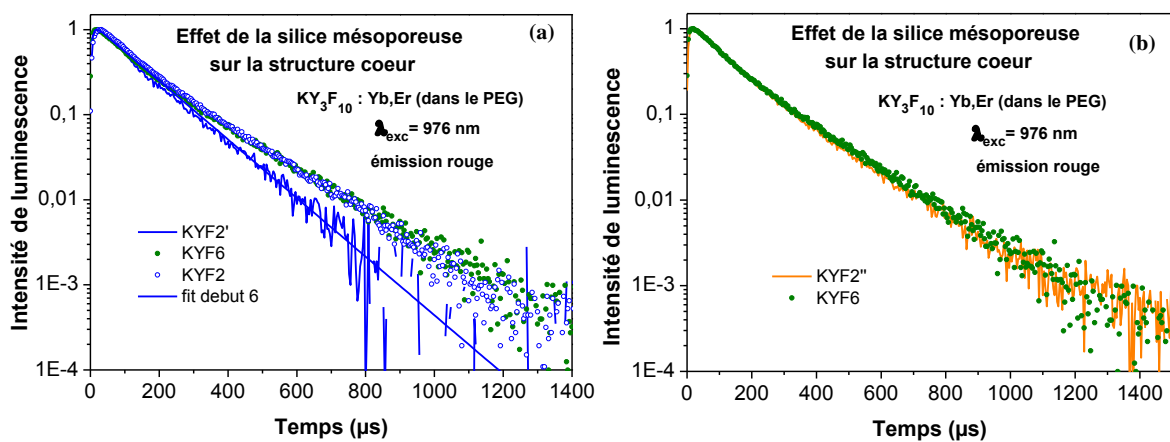


Figure III.24 : Effet de l'enrobage par la silice mésoporeuse sur les déclin de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ des particules $KY_3F_{10} : Yb, Er$ en solution dans le PEG, $cc = 8,8 mg/mL$ (a) comparaison des configurations 2, 2' et 6 (b) comparaison des configurations 2'' et 6

I.2. Attribution des mécanismes 1 et 2 aux différents centres

Nous avons mis en évidence deux dynamiques de luminescence que nous allons nommer M1 et M2 dans la suite de ce rapport et l'analyse des résultats en fonction de M1 et M2 est schématisée sur la Figure III.25.

- Le mécanisme M1 est visible avec toutes les configurations sauf avec celle de type 8. Il semble naturel d'attribuer le mécanisme M1 aux centres de cœur.
- M1 et M2 sont observés avec une intensité à peu près équivalente pour la configuration 4. En considérant l'effet protecteur de la coquille cristalline non dopée, il semble que M2 soit dû aux centres de surface. M2 est fortement atténué avec l'enrobage par la silice mésoporeuse (configurations de type 6 et 2''), ce qui peut s'expliquer par le couplage

des centres de surface avec les vibrations élevées de la silice ($\approx 1100 \text{ cm}^{-1}$). En outre, hormis le cas de la configuration 4, on peut remarquer que le mécanisme M2 est observé uniquement en présence de ZnPc, et prédomine dans le cas de la configuration de type 8.

Ces observations nous permettent d'avancer les conclusions suivantes :

Le mécanisme M1 est dû aux centres de cœur alors que le mécanisme M2 est attribué aux centres de surface. La contribution du mécanisme M1, attribué aux centres de cœur, à l'intensité totale de luminescence est beaucoup plus importante et est la plus efficace au niveau du transfert d'énergie vers le ZnPc. Par conséquent, la luminescence des centres de cœur (M1) est « quenchée » par le transfert radiatif $\text{Er}^{3+} \rightarrow \text{ZnPc}$ (ce point est détaillé au Chapitre IV), on observe alors la luminescence des centres de surface (M2).

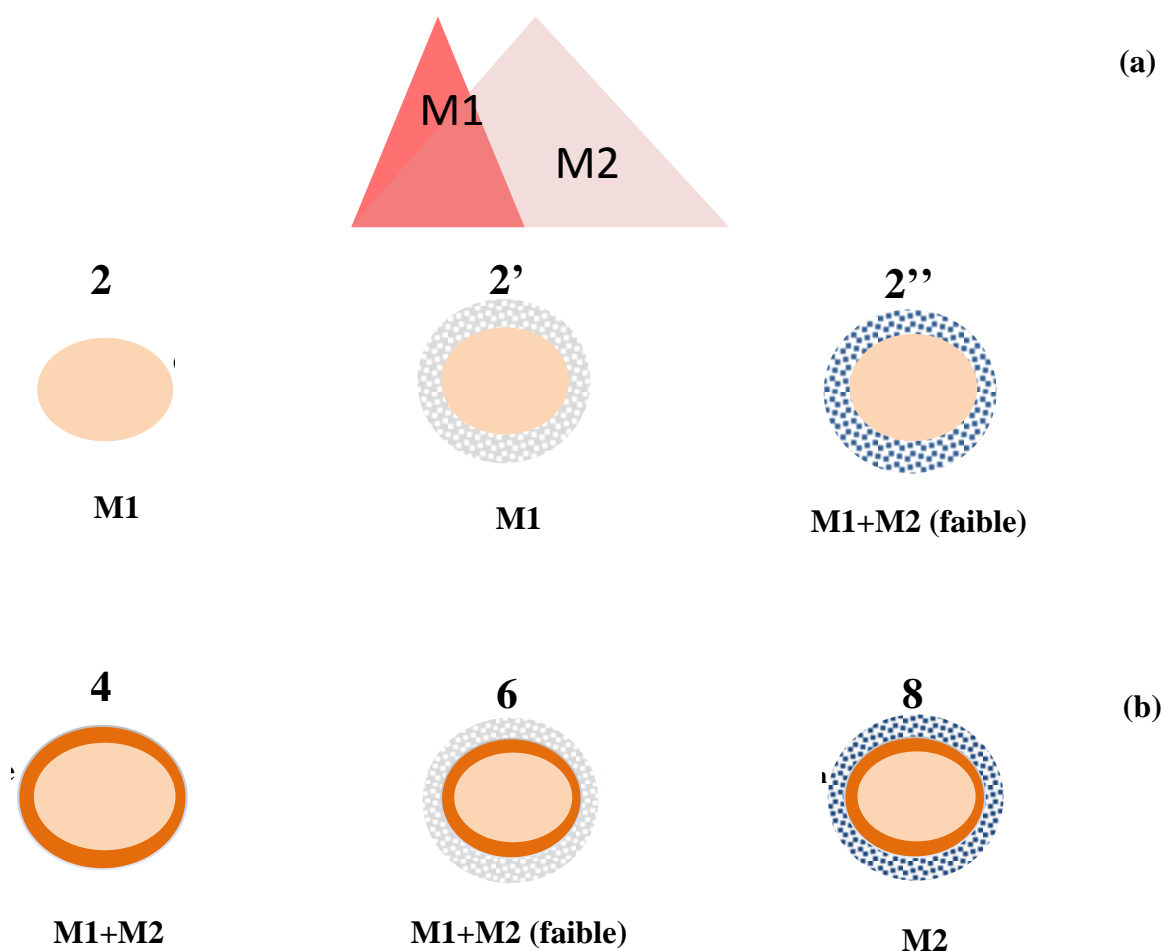


Figure III.25 : (a) schéma de la dynamique des processus M1 et M2 ; (b) Schéma des différentes configurations de particules et processus observé(s) contribuant à la dynamique du niveau $^4F_{9/2}$ (Er) excité par up conversion

II. Autres systèmes (NaYF₄ et Y₂O₃) : Résultats expérimentaux

De même que pour KY₃F₁₀, les mesures de déclin de luminescence ont été effectuées essentiellement pour les niveaux ⁴S_{3/2} et ⁴F_{9/2} de Er³⁺, excités soit dans le niveau ⁴F_{7/2} (à 490 nm) soit par up conversion (à 976 nm) sur poudre et pour les particules de NaYF₄ et Y₂O₃ en solution dans du Poly-éthylène-glycol (PEG). Seuls les résultats obtenus par up conversion seront présentés. Nous attacherons une attention particulière aux déclins du niveau ⁴F_{9/2}.

Les déclins de luminescence du niveau ⁴F_{9/2} excité par up conversion enregistrés sur poudre et pour les particules en solution dans le PEG sont représentés sur la Figure III.26 pour NaYF₄ et sur la Figure III.27 pour Y₂O₃.

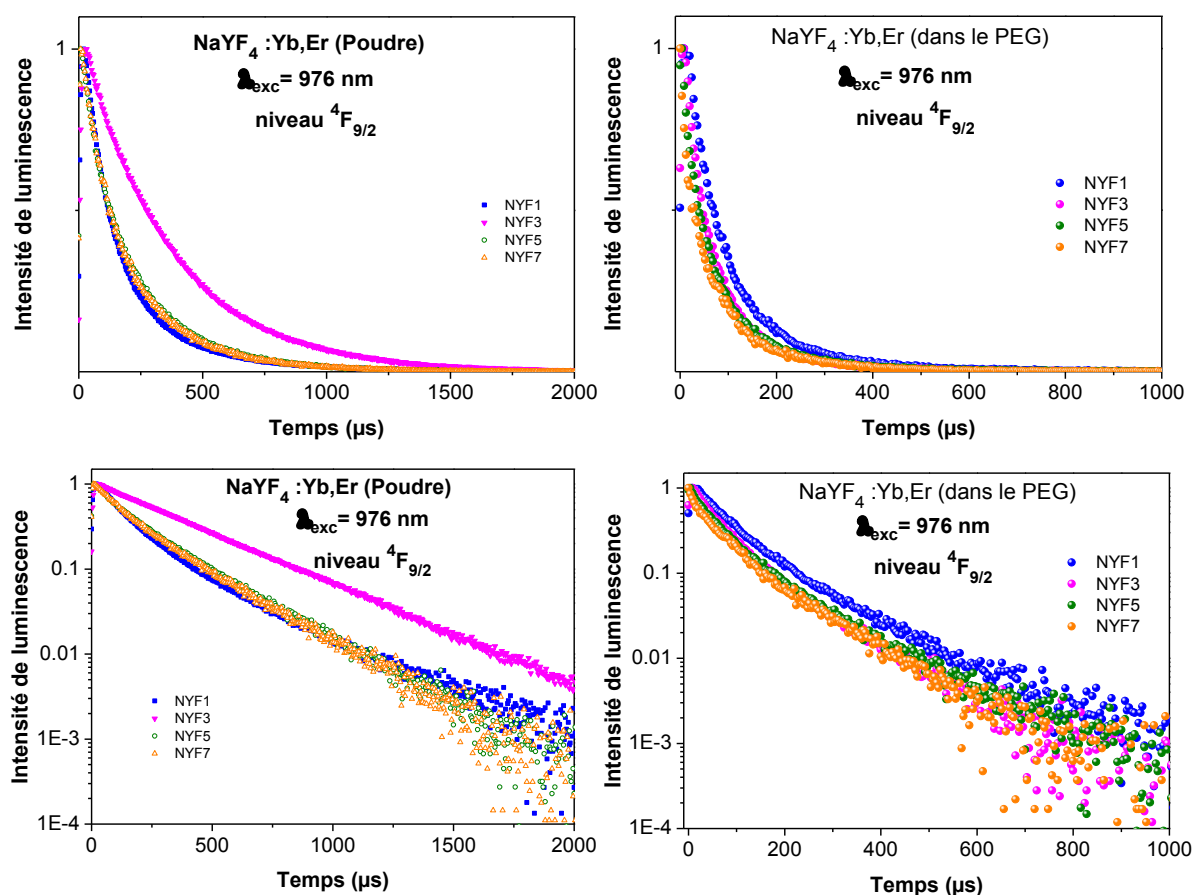


Figure III.26 : Déclins de luminescence du niveau ⁴F_{9/2} (Er) pour NaYF₄ pour toutes les configurations en poudre et en solution dans le PEG

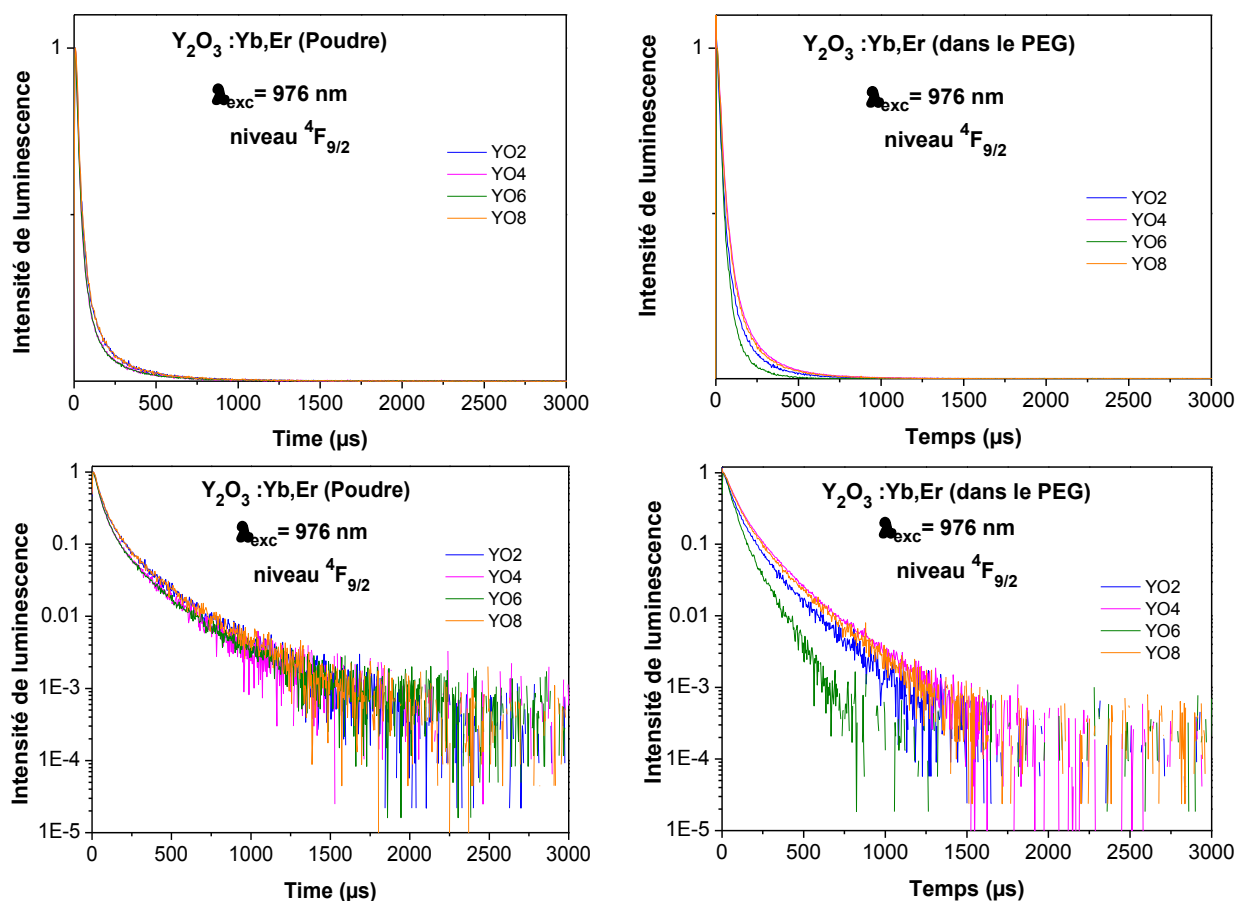


Figure III.27 : Déclins de luminescence du niveau $^4F_{9/2}$ (Er) pour Y_2O_3 pour toutes les configurations en poudre et en solution dans le PEG

Les résultats observés par up conversion (Figure III.26 et Figure III.27) confirment les conclusions précédentes. Pour $NaYF_4$, l'effet le plus important remarqué concerne le caractère protecteur de la coquille cristalline. Pour Y_2O_3 , le quenching de la luminescence par enrobage de silice, nettement visible pour les particules en solution dans le PEG, peut apparaître néfaste au rendement de luminescence mais il est nécessaire afin de pouvoir insérer le photosensibilisateur dans la couche de silice mésoporeuse sans trop dégrader les propriétés optiques.

C. Conclusion

En conclusion de l'étude spectroscopique, les spectres de luminescence excités dans le visible ou l'infrarouge sont caractéristiques des spectres enregistrés dans les mêmes matériaux massifs. Les transitions entre les différentes composantes Stark sont fines et bien séparées spectralement ce qui révèle un bon état de cristallisation des particules. Les transitions $4f-4f$ étant très peu sensibles aux effets externe, l'analyse des spectres de luminescence, en particulier de la transition $4S_{3/2} \rightarrow 4I_{15/2}$ (Er^{3+}) qui présente peu de composantes, ne nous a pas permis d'établir une corrélation entre les émissions des différents centres Er^{3+} (centres de cœur ou de surface).

Par contre, l'effet des différentes configurations des particules sur les propriétés spectroscopiques sur la dynamique de luminescence est très clair. L'analyse des profils de déclin, principalement pour du niveau $4F_{9/2}$ de Er^{3+} dans KY_3F_{10} suite à une excitation Stokes ou anti-Stokes, a permis de discerner deux mécanismes (M1 et M2) de population et de désexcitation. En fonction de l'importance de leur contribution respective selon les différentes configurations, le mécanisme M1 a été identifié à la contribution des centres de cœur tandis que le mécanisme M2 provient de la participation des centres de surface. Les effets sont moins clairs pour les deux matériaux, bien que suivant les mêmes tendances, ceci est probablement dû à leur diamètre (faible pour $NaYF_4$ et important pour Y_2O_3).

Références bibliographiques

- [1] S. Heer, K. Kömpe, H-U. Güdel, M. Haase, *Advanced Materials*, 16 (2004) 2102-2105
- [2] G. Yi H. Lu, S. Zhao, D. Chen, L-H. Guo, J. Cheng, *Journal of Materials Chemistry* 14 (2004) 1336 - 1341.
- [3] G. Yi, H. Lu, S. Zhao, Y. Ge, W. Yang, D. Chen, L. H. Guo, *Nano Letters* 4 (2004) 2191-2196.
- [4] J. F. Suyver, J. Grimm, K. W. Krämer, H-U. Güdel, *Journal of Luminescence* 114 (2005) 53-59
- [5] G-M. Chow, Y. G-Shun, *Journal of Materials Chemistry* 15 (2005) 4460 - 4464.
- [6] L. Wang, Y. Li, *Chemical Communucations* 24 (2006) 2557 - 2559.
- [7] F. L. Yang Wei, X. Zhang, D. Chen, *Journal of Alloys and Compounds* 427 (2007) 333-340.
- [8] A-J. Rufaihah, Y. Zhang, *Biomaterials* 29 (2008) 4122-4128.
- [9] D. K. Chatterjee, Abdul J. Rufaihah, Y. Zhang, *Biomaterials* 29 (2008) 937-943.
- [10] D. K. Chatterjee, Z. Yong, *Nanomedicine* 3 (2008) 73-82.
- [11] Z. Li, Y. Zhang, *Nanotechnology* 19 (2008) 345606.
- [12] M. Nyk, R. Kumar, T. Y. Ohulchanskyy, E. J. Bergey, P. N. Prasad, *Nano Letters* 8 (2008) 3834-3838.
- [13] R. Qin, H. Song, G. Pan, L. Hu, H. Yu, S. Li, X. Bai, L. Fan, Q. Dai, X. Ren, H. Zhao, T. Wang, *Materials Research Bulletin* 43 (2008) 2130-2136.
- [14] F. Vetrone, J. A. Capobianco, *International Journal of Nanotechnology* 5 (2008) 1306 - 1339.
- [15] F. Wang, X. Liu, *Journal of the American Chemical Society* 130 (2008) 5642-5643.
- [16] G. Wang, W. Qin, L. Wang, G. Wei, P. Zhu, R. Kim, *Optics Express* 16 (2008) 11907-11914.
- [17] H. Hu, L. Xiong, J. Zhou, F. Li, T. Cao, *Chemistry – A European Journal* 15 (2009) 3577-3584.
- [18] N. M. Idris, Z. Li, L. Ye, E. K.W. Sim, R. Mahendran, P. C-L. Ho, Y. Zhang, *Biomaterials*, 30 (2009) 5104-5113.
- [19] R. Kumar, M. Nyk, T. Y. Ohulchanskyy, C. A. Flask, P. N. Prasad, *Advanced Functional Materials* 19 (2009) 853-859.
- [20] H. S. Qian, H. C. Guo, P. C-L. Ho, R. Mahendran, Y. Zhang, *Small* 5 (2009) 2285-2290.
- [21] S. Schietinger, T. Aichele, H-Q. Wang, T. Nann, O. Benson, *Nano Letters* 10 (2009) 134-138.
- [22] S. Wu, G. Han, D. J. Milliron, S. Aloni, V. Altoe, D. V. Talapin, B. E. Cohen, P. J. Schuck, in, 2009, pp. 10917-10921.

-
- [23] S-Z. Zhang, L-D. Sun, H. Tian, Y. Liu, J-F. Wang, C-H. Yan, *Chemical Communications* (2009) 2547–2549.
- [24] H. Guo, H. Qian, N. M. Idris, Y. Zhang, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 6 (2010) 486-495.
- [25] F. Vetrone, R. Naccache, A. Zamarrón, A. Juarranz de la Fuente, F. S-Rodríguez, L. M. Maestro, E. M. Rodriguez, D. Jaque, J. G. Solé, J. A. Capobianco, *ACS Nano* 4 (2010) 3254-3258.
- [26] L. Xiong, T. Yang, Y. Yang, C. Xu, F. Li, *Biomaterials* 31 (2010) 7078-7085.
- [27] A. Yin, Y. Zhang, L. Sun, C. Yan, *Nanoscale* 2 (2010) 953-959.
- [28] X-F. Yu, Z. Sun, M. Li, Y. Xiang, Q-Q Wang, F. Tang, Y. Wu, Z. Cao, W. Li, *Biomaterials* 31 (2010) 8724-8731.
- [29] H. Zhang, Y. Li, I. A. Ivanov, Y. Qu, Y. Huang, X. Duan, *Angewandte Chemie International Edition* 49 (2010) 2865-2868.
- [30] L. H. Zhou, L. P. Qian, H-P. Too, G-M. Chow, *Journal of Nanoparticle Research* 13 (2011) 499-510.
- [31] J. Shan, S. J. Budijono, G. Hu, N. Yao, Y. Kang, Y. Ju, R. K. Prud'homme, *Advanced Functional Materials* 21 (2011) 2488-2495.
- [32] D. Tu, L. Liu, Q. Ju, Y. Liu, H. Zhu, R. Li, X.Chen, *Angewandte Chemie International Edition* 50 (2011) 6306-6310.
- [33] Y. Wang, K. Liu, X. Liu, K. Dohnalová, T. Gregorkiewicz, X. Kong, M. C. G. Aalders, Wybren J. Buma, H. Zhang, *The Journal of Physical Chemistry Letters* 2 (2011) 2083-2088.
- [34] A. Xia, Y. Gao, J. Zhou, C. Li, T. Yang, D.Wu, L. Wu, F. Li, *Biomaterials* 32 (2011) 7200-7208.
- [35] J-C. Zhou, Z-L. Yang, W. Dong, R-J. Tang, L-D. Sun, C-H. Yan, *Biomaterials* 32 (2011) 9059-9067.
- [36] J. Zhou, M. Yu, Y. Sun, X. Zhang, X. Zhu, Z. Wu, D.Wu, F. Li, *Biomaterials* 32 (2011) 1148-1156.
- [37] E. M. Chan, G. Han, J. D. Goldberg, D. J. Gargas, A. D. Ostrowski, P. J. Schuck, B.E. Cohen, D. J. Milliron, *Nano Letters* 12 (2012) 3839-3845.
- [38] F. Chen, S.Zhang, W. Bu, Y. Chen, Q. Xiao, J. Liu, H. Xing, L. Zhou, W. Peng, J. Shi, *Chemistry – A European Journal* 18 (2012) 7082-7090.
- [39] S. Cui, H. Chen, H. Zhu, J. Tian, X. Chi, Z. Qian, S. Achilefu, Y. Gu, *Journal of Materials Chemistry* 22 (2012) 4861-4873.
- [40] Y. Dai, D. Yang, P. Ma, X. Kang, X. Zhang, C. Li, Z. Hou, Z. Cheng, J. Lin, *Biomaterials* 33 (2012) 8704-8713.
- [41] J-N. Liu, W. Bu, L-M. Pan, S. Zhang, F. Chen, L. Zhou, K-L. Zhao, W. Peng, J. Shi, *Biomaterials* 33 (2012) 7282-7290.
- [42] J. Liu, W. Bu, S. Zhang, F. Chen, H. Xing, L. Pan, L. Zhou, W. Peng, J. Shi, *Chemistry – A European Journal* 18 (2012) 2335-2341.
- [43] A. D. Ostrowski, E. M. Chan, D. J. Gargas, E. M. Katz, G. Han, P. J. Schuck, D. J. Milliron, B. E. Cohen, *ACS Nano* 6 (2012) 2686-2692.
-

-
- [44] G.Tian, Z. Gu, L. Zhou, W. Yin, X. Liu, L. Yan, S. Jin, W. Ren, G. Xing, S. Li, Y.Zhao, *Advanced Materials* 24 (2012) 1226-1231.
- [45] Y-F. Wang, L-D. Sun, J-W. Xiao, W. Feng, J-C. Zhou, J. Shen, C-H. Yan, *Chemistry – A European Journal* 18 (2012) 5558-5564.
- [46] W. Zhang, F. Ding, Stephen Y. Chou, *Advanced Optical Materials* 24 (2012) 236-231.
- [47] T. Yang, Y. Sun, Q. Liu, W. Feng, P. Yang, F. Li, *Biomaterials* 33 (2012) 3733-3742.
- [48] W. Zhang, F. Ding, S. Y. Chou, *Advanced Materials* 24 (2012) 236-241.
- [49] C. H. Kam, S. Buddhudu, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 85 (2004) 1-12.
- [50] K. X. H. Gu, Z. Yang, C. K. Chang, B. Xu, *Chemical Communications* (2005) 4270 - 4272.
- [51] W. Tang, H. Xu, R. Kopelman, M. A. Philbert, *Photochemistry and Photobiology* 81 (2005) 242-249.
- [52] F. Aghahosseini, F. A-Kalati, L. A. Fashtami, G. E. Djavid, M. Fateh, J. M. Beitollahi, *Lasers in Surgery and Medicine* 38 (2006) 33-38.
- [53] M. E. Wieder, D. C. Hone, M. J. Cook, M. M. Handsley, J. Gavrilovic, D. A. Russell, *Photochemical & Photobiological Sciences* 5 (2006) 727 - 734.
- [54] D. K. Chatterjee, L. S. Fong, Y. Zhang, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1627-1637.
- [55] J. Milanezi de Almeida, L. H. Theodoro, A. F. Bosco, M. J. H. Nagata, M. Oshiiwa, V. G. Garcia, *Journal of Periodontology* 79 (2008) 1081-1088.
- [56] B. Ungun, R. K. Prud'homme, S. J. Budijono, J. Shan, S. F.Lim, Y. Ju, R. Austin, *Optics Express* 17 (2009) 80-86.
- [57] P. Huang, Z. Li, J. Lin, D. Yang, G. Gao, C. Xu, L. Bao, C. Zhang, K. Wang, H. Song, H. Hu, D. Cui, *Biomaterials* 32 (2011) 3447-3458.
- [58] C. Wang, H. Tao, L. Cheng, Z. Liu, *Biomaterials* 32 (2011) 6145-6154.
- [59] N. M. Idris, M. K. Gnanasammandhan, J. Zhang, P. C. Ho, R. Mahendran, Y. Zhang, *Nature Medicine* 18 (2012) 1580-1585.
- [60] M. E. Lim, Y-L. Lee, Y Zhang, J. J. H. Chu, *Biomaterials* 33 (2012) 1912-1920.
- [61] C-K. Lim, J. Heo, S. Shin, K. Jeong, Y. H. Seo, W-D. Jang, C. R. Park, S.Y. Park, S. Kim, I. C. Kwon, *Cancer Letters* 334 (2013) 176-187.
- [62] T. Basiev, Y. Orlovskii, K. Pukhov, *Nanotechnologies in Russia* 3 (2008) 551-559.
- [63] K. Pukhov, T. Basiev, Y. Orlovskii, *JETP Letters* 88 (2008) 12-18.
- [64] K. K. Pukhov, T. T. Basiev, *Optical Materials* 32 (2010) 1664-1667.
- [65] W. F. Krupke, *Physical Review B* 145 (1966) 325-337.
- [66] J. P. Wittke, I. Ladany, P. N. Yocom, *Journal of Applied Physics* 43 (1972) 595-600.
- [67] F. Vetrone, J-C. Boyer, J. A. Capobianco, A. Speghini, M.Bettinelli, *Chemistry of Materials* 15 (2003) 2737-2743.
- [68] H.Eilers, *Materials Letters* 60 (2006) 214-217.
-

-
- [69] X. Wang, G. Shan, K. Chao, Y. Zhang, R. Liu, L. Feng, Q. Zeng, Y. Sun, Y. Liu, X. Kong, *Materials Chemistry and Physics* 99 (2006) 370-374.
- [70] H. Guo, Y. M. Qiao, *Optical Materials* 31 (2009) 583-589.
- [71] V. Singh, V. K. Rai, I. Ledoux-Rak, S. Watanabe, T. K. G. Rao, J. F. D. Chubaci, L. Badie, F. Pelle, S. Ivanova, *Journal of Physics D-Applied Physics* 42 (2009).
- [72] M. Venkataramanan, V. Fiorenzo, N. Rafik, S. Adolfo, A. C. John, *Advanced Materials* (2009) 4025-4028.
- [73] S. Hüfner, *Optical spectra of transparent Rare Earth Compounds* New York, San Francisco, London, 1978.
- [74] C. Linares, *Le journal de Physique* (1968) 917-925.
- [75] R. H. Page, K. I. Schaffers, P. A. Waide, J. B. Tassano, S. A. Payne, W. F. Krupke, W. K. Bischel, *Journal of The Optical Society of America B* 15 (1998) 996-1008.
- [76] F. Auzel, *Chemical Reviews* 104 (2004) 139-173.
- [77] S. Ivanova, F. Pellé, *Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics* 26 (2009) 1930-1938.
- [78] Thèse de L. Caillat : Nanosondes optiques à forte non-linéarité pour imagerie cellulaire à haute résolution (2013).
- [79] Thèse de C. Andriamadamanana : Addition de photons dans des couches minces nanostructurées pour les applications photovoltaïques (2012).
- [80] J-C. Boyer, F. C. J. M. van Veggel, *Nanoscale* 2 (2010) 1417-1419.
- [81] M. Pollnau, D. R. Gamelin, S. R. Lüthi, H. U. Güdel, M. P. Hehlen, *Physical Review B* 61 (2000) 3337-3346.
- [82] A. P. Herrera, M. Rodriguez, M. T-Lugo, C. Rinaldi, *Journal of Materials Chemistry* 18 (2008) 855-858.
- [83] V. R. M. Lombardi, M. García, L. Rey, R. Cacabelos, *Journal of Neuroimmunology* 97 (1999) 163-171.
- [84] J. Arends, *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 182 (2000) 339-347.
- [85] P. Maroni, P. Bendinelli, C. Zuccorononno, L. Schiaffonati, R. Piccoletti, *Cell Biology International* 24 (2000) 145-152.
- [86] N. P. Singh, *Experimental Cell Research* 256 (2000) 328-337.
- [87] W. F. Yuen, K. P. Fung, C. Y. Lee, Y. M. Choy, S. K. Kong, S. Ko, T. T. Kwok, *Life Sciences* 67 (2000) 725-732.
- [88] S. Barni, P. Pontiggia, V. Bertone, R. Vaccarone, M. G. Silvotti, E. Pontiggia, G. Mathé, *Biomedecine & Pharmacotherapy* 55 (2001) 170-173.
- [89] K. Kameda, T. Kondo, K. Tanabe, Q-L. Zhao, H. Seto, *International Journal of Radiation Oncology*Biography*Physics* 49 (2001) 1369-1379.
- [90] T. Ohtsubo, H. Igawa, T. Saito, H. Matsumoto, H. J. Park, C. W. Song, E. Kano, H. Saito, *International Journal of Radiation Oncology*Biography*Physics* 49 (2001) 1391-1398.
- [91] L. Yuwen, W. Cunxin, Z. Congyi, W. Zhiyong, W. Haixiang, Q. Songsheng, *Thermochimica Acta* 369 (2001) 51-57.
-

-
- [92] B.Hildebrandt, P. Wust, O.Ahlers, A. Dieing, G. Sreenivasa, T. Kerner, R. Felix, H. Riess, *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 43 (2002) 33-56.
- [93] S. Kokura, N. Yoshida, M. Ueda, E. Imamoto, T. Ishikawa, T. Takagi, Y. Naito, T.Okanoue, Toshikazu Yoshikawa, *Cancer Letters* 201 (2003) 89-96.
- [94] L. Li, Y-C. Tian, M. O. Tadé, Y. Feng, S. S. Qu, *Journal of Thermal Biology* 28 (2003) 321-329.
- [95] D. P. O'Neal, L. R. Hirsch, N. J. Halas, J. D. Payne, J. L. West, *Cancer Letters* 209 (2004) 171-176.
- [96] T. Souslova, D. A. A-Bates, *International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics* 60 (2004) 1538-1551.
- [97] A. K. Zaidi, R. S. Bagewadikar, M. Subramanian, G. S. Kaklij, M. S. Patil, *Journal of Thermal Biology* 29 (2004) 3-8.
- [98] M. Nikfarjam, V. Muralidharan, C. Christophi, *Journal of Surgical Research* 127 (2005) 208-223.
- [99] S. Barni, E. Pontiggia, V. Bertone, P. Pontiggia, G. Mathé, *Biomedecine & Pharmacotherapy* 60 (2006) 227-232.
- [100] Q-L.i Zhao, Y. da Fujiwara, T. Kondo, *Free Radical Biology and Medicine* 40 (2006) 1131-1143.
- [101] A. Dieing, O.Ahlers, B. Hildebrandt, T. Kerner, I. Tamm, K. Possinger, P. Wust, S. H.Shanker, *Progress in Brain Research*, Elsevier (2007) 137-152.
- [102] M. G. White, L. E. Luca, D. Nonner, O. Saleh, B. Hu, E. F. Barrett, J. N. Barrett, S. H. Shanker, *Progress in Brain Research*, Elsevier (2007) 347-371.
- [103] F. Chen, C-C. Wang, E. Kim, L. E. Harrison, *Cell Biology International* 32 (2008) 715-723.
- [104] E. D. Borkamo, O. Fluge, O Mella, L. A. Akslen, O. Bruland, O. Dahl, *Radiotherapy and Oncology* 86 (2008) 435-442.
- [105] J.Du, H-S. Di, L. Guo, Z-H. Li, G-L. Wang *Journal of Thermal Biology* 33 (2008) 37-47.
- [106] K. Janjetovic, M. Misirkic, L. Vucicevic, L. Harhaji, V. Trajkovic, *European Journal of Pharmacology* 583 (2008) 1-10.
- [107] K. Li, S-Q. Shen, C-L. Xiong, *Journal of Surgical Research* 145 (2008) 97-104.
- [108] T. C. Stover, Y. S. Kim, T. L. Lowe, M. Kester, *Biomaterials* 29 (2008) 359-369.
- [109] L. Aigouy, G. Tessier, M. Mortier, B. Charlot, *Applied Physics Letters* 87 (2005) 184105-184103.
- [110] H. Berthou, C. K. Jørgensen, *Optics Letters* 15 (1990) 1100-1102.
- [111] E. Maurice, G. Baxter, G. Monnom, B. Dussardier, A. Saïssy, D. B. Ostrowsky, *Optics Letters* 19 (1994) 990-992.
- [112] L. Peng Qian, D. Yuan, G. S. Yi, G. M. Chow, *Journal of Materials Research* 24 (2009) 3559-3568
-

Chapitre IV :
Détection de
l'oxygène singulet

A. Généralités

L'oxygène, élément indispensable à la vie, est également, du fait de son caractère fortement oxydant, une espèce toxique. Son potentiel rédox est en effet de 1.23 V à pH = 0, valeur comparable à celles du dichlore (1.36 V) ou du dibrome (1.09 V), oxydants très puissants et toxiques [1]. La raison pour laquelle le vivant est capable d'utiliser une telle molécule est qu'elle est cinétiquement inactivée vis à vis d'une majorité de molécules organiques du fait de sa configuration électronique à l'état fondamental.

I. Structure électronique de l'oxygène singulet

La molécule d'oxygène à l'état fondamental ($^3\text{O}_2$) possède deux électrons célibataires de spins parallèles, en absorbant 22 kcal (énergie élevée, rarement fournie par les réactions biochimiques), elle apparie ses deux électrons célibataires et se transforme en oxygène singulet ($^1\text{O}_2$). Dès lors, cette forme d'oxygène, échappant à la règle d'interdiction de spin devient très réactionnelle.

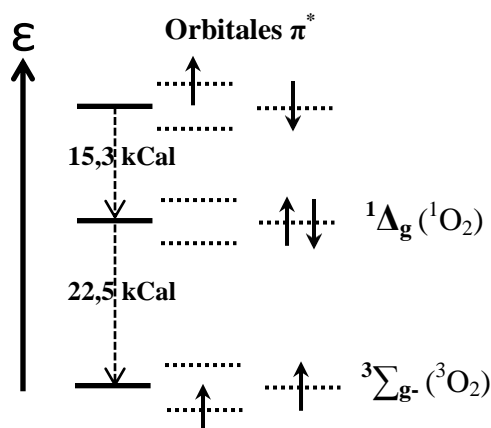


Figure VI.1 : Les différentes configurations électroniques de l'oxygène

L'oxygène singulet se caractérise par une configuration électronique particulière, notée $^1\Delta_g$, dans laquelle deux électrons de spins opposés ($\uparrow \downarrow$) se trouvent sur une orbitale antiliante π^*_x , alors que le dioxygène triplet paramagnétique (forme habituelle de l'oxygène) est noté $^3\Sigma_g^-$ et correspond à deux électrons de même spin ($\uparrow \uparrow$) répartis entre deux orbitales π^*_x et π^*_y .

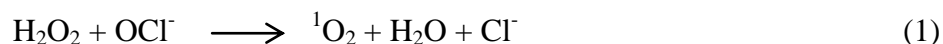
Un second état instable existe, noté $^1\Sigma_g^+$, qui diffère de l'état singulet $^1\Delta_g$ par le fait que les deux électrons de spins opposés ($\uparrow \downarrow$) se répartissent sur deux orbitales π_x^* et π_y^* . Les différentes configurations électroniques de l'oxygène sont résumées sur la Figure VI.1.

I. Rappel historique

Jusqu'en 1964, l'oxygène singulet n'avait présenté d'intérêt que pour les astrophysiciens qui furent les premiers à déceler l'existence de l'oxygène singulet, dans la nature, en observant le spectre émis par les aurores boréales.

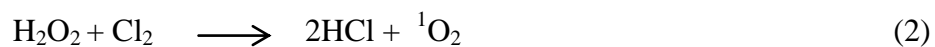
Les recherches spectroscopiques de cette forme d'oxygène excitée, découverte en 1924, avaient commencé en 1931. L'astrophysicien et prix Nobel, Herzberg découvrit en 1934, dans le spectre solaire infrarouge une raie à 1290 Å qu'il attribua à un état excité de l'oxygène correspondant à l'oxygène singulet [2].

En 1927, Mallet a montré que l'anion OCl^- réagit avec le peroxyde d'hydrogène en provoquant un dégagement d'oxygène, cette réaction s'accompagnant d'une très faible luminescence rouge foncée [2].



Cependant l'observation la luminescence à l'œil nu exige des concentrations élevées de réactifs pour observer [3].

En 1964, Khan et Kasha reproduisent l'expérience de Mallet et en étudient la luminescence avec un spectroscopie. Ils identifient ainsi l'état $^1\text{O}_2$ pour la première fois dans un système chimique qui était celui de la réaction découverte par Mallet. L'équation (1) devait s'écrire :



La chimiluminescence qui survient au cours des réactions d'oxydation de molécules organiques est associée à l'excitation d'états métastables de l'oxygène moléculaire, en systèmes peroxydés [4].

En 1970, Foote attire l'attention sur l'importance de l'état $^1\text{O}_2$ en biologie et découvrit un « quencheur » naturel de celui-ci, le carotène β [5, 6].

II. Modes de formations de l'oxygène singulet *in vitro*

II.1. Par réactions photosensibilisées

Sous l'action d'une lumière visible, les PS (colorants sensibilisateurs) sont portés dans un état excité (Figure IV.2). Cette excitation consiste en un passage d'un électron d'une paire dans une orbitale de basse énergie vers une orbitale vide de haute énergie. Le spin de cet électron soit peut garder son orientation, la molécule restant à l'état singulet, soit subir une inversion et la molécule passe à un état triplet. Le retour de l'état triplet vers l'état fondamental est quantiquement interdit (loi de conservation de spin) et l'échange d'énergie entre le triplet et $^3\text{O}_2$ aura plus de chance de se produire.

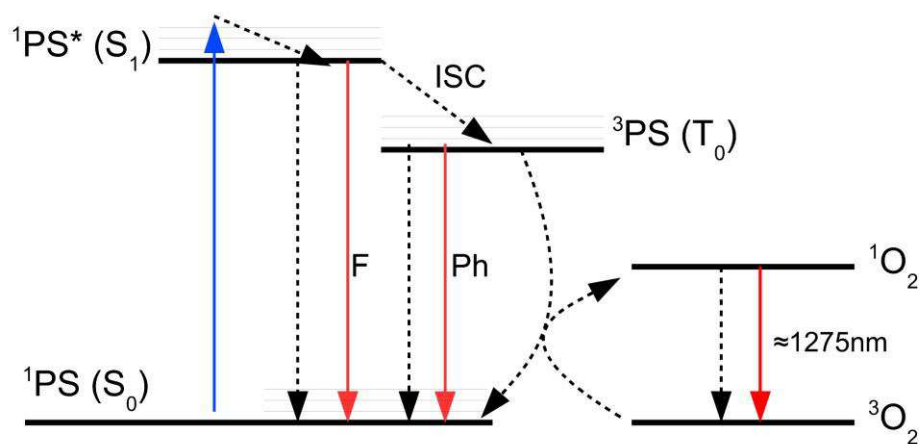


Figure IV.2 : Formation de l'oxygène singulet par réaction photosensibilisée

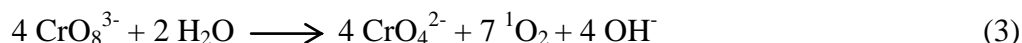
II.2. Par conversion thermique

Le passage de l'état de deux spins parallèles à l'état de deux électrons appariés lors du chauffage à l'obscurité d'un mélange oxygène triplet/acétylène, s'accompagne de la formation d'un complexe triplet pourvu de propriétés catalytiques [7]. Cette conversion implique un facteur d'entropie important. Citons comme exemple de production de $^1\text{O}_2$ par conversion thermique, la réaction à partir d'un endoperoxyde anthracénique [8].

II.3. Par réactions chimiques

III.3.1. Réaction de Mallet (décrite plus haut dans le paragraphe 1)

III.3.2. Décomposition du perchromate de potassium



III.3.3.A partir du 1-phospho-2, 8, 9-trioxaadamantane ozonide [9, 10]

III.3.4. Au cours de la dismutation de l'anion superoxyde

En 1987, Corey met en évidence, par spectroscopie à 1260 nm, la formation de ${}^1\Delta_g$ par introduction d'eau dans une suspension de KO_2 en solvants aprotiques [11]. Khan et Kasha m l'apparition d'une chimiluminescence centrée autour de 1268 nm, caractéristique de ${}^1\text{O}_g$ en produisant de l'anion superoxyde par réaction de H_2O_2 avec le superoxyde de potassium dissous par un éther en milieu aprotique [12]. En 2000, Martinez et al. contestent ces travaux [13] en mettant en évidence l'impossibilité de la réaction de l'anion superoxyde avec H_2O_2 pour des raisons thermodynamiques.

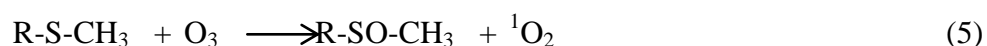
III.3.5. Réaction du peroxydinitrite avec H_2O_2



Cette réaction publiée par Di Mascio et al. en 1994, a été contestée par Koppenol, qui démontra l'impossibilité énergétique d'une transformation de ONOO^- en ${}^1\text{O}_2$ par des calculs thermodynamiques et quantiques [14].

III.3.6. Génération par l'ozone

Kanofsky montre que diverses molécules organiques, particulièrement les thiols, réagissent avec l'ozone pour produire ${}^1\text{O}_2$ [15].



III.3.7. Décomposition des peroxydes organiques (Figure IV.3)

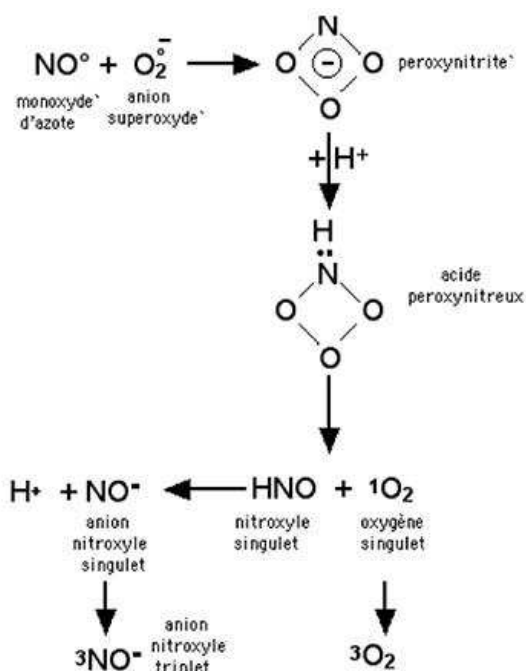


Figure IV.3 : Décomposition des peroxydes organiques [16]

La réaction de décomposition des peroxydes a été proposée par Khan et al. [16] et a été envisagée surtout *in vivo* et a été contestée par Martinez et al. [13]

III. Détection de l'oxygène singulet

La détection de l'oxygène singulet est délicate du fait de sa courte durée de vie et de sa haute réactivité. Afin d'y parvenir, deux approches sont couramment exploitées pour la détection de l'oxygène singulet.

La 1^{ère} approche consiste à détecter directement ou indirectement les espèces réactives formées dans le milieu suite à l'activation du PS par irradiation. Dans cette approche, la méthode la plus utilisée est une méthode physique reposant sur l'observation de la luminescence de l'oxygène singulet.

La 2^{ème} approche repose sur l'étude des réactions biologiques ou biochimiques se produisant suite à l'ajout d'espèces réactives dans le milieu après activation du PS.

III.1. 1^{ère} approche : Détection de l'oxygène singulet

L'état singulet de l'oxygène est un état excité instable car il se désexcite rapidement jusqu'à l'état triplet fondamental. Il y a deux sortes d'émission possibles : l'émission caractéristique de la présence d'oxygène singulet (Figure IV.4.A) et une émission due à la possibilité de collision entre deux radicaux libres (Figure IV.4.B).

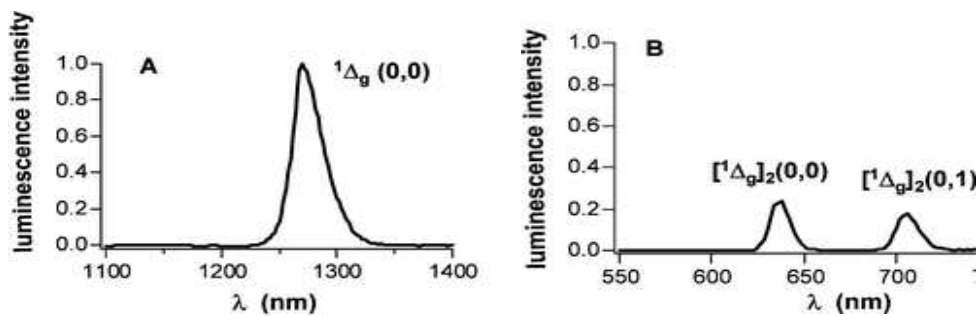
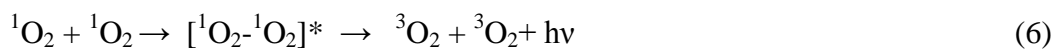


Figure IV.4 : Spectres de luminescence de l'oxygène singulet

Le photon émis lors du phénomène de luminescence possède une énergie de $94,3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ environ et est détectable à 1268 nm. Le rendement quantique de luminescence de l'oxygène singulet étant connu, il permet de quantifier le rendement de production d'oxygène singulet par le PS.

La collision entre deux molécules d'oxygène singulet forme un "dimère" qui se désexcite en émettant 2 radiations à 633 et 703 nm. Cependant, cette émission n'est pas une preuve de la présence de l'oxygène singulet.



Une autre technique de détection de l'oxygène singulet est la calorimétrie dont le principe est basé sur l'efficacité de la désexcitation du ${}^1\text{O}_2$ en utilisant une électrode de cobalt enrobé par du platine. La chaleur dégagée lors de la désexcitation du ${}^1\text{O}_2$ correspond à l'énergie d'excitation.

Le « quenching » de l'oxygène singulet peut être d'origine physique ou chimique et implique la désexcitation du ${}^1\text{O}_2$.

Chapitre IV : Détection de l'oxygène singulet

Le « quenching » est d'origine chimique lorsque $^1\text{O}_2$ réagit avec une molécule Q appelée « quencheur » pour donner l'entité QO_2 en modifiant ses propriétés spectroscopiques.

L'évolution des bandes d'absorption ou d'émission de fluorescence de ces composés permet d'évaluer la vitesse de production d'oxygène singulet par le photosensibilisateur, présent dans la solution contenant le « quencheur ». Les résultats de cette mesure ne sont valables qu'en absence d'interactions entre le PS et le « quencheur » (accepteur d'oxygène singulet).

Quelques molécules possédant ces propriétés ont été identifiées et parmi lesquelles peut citer : le 1,3-diphenylisobenzofurane (DPBF), le 9,10-Anthracène diyl-Bis(méthylène)Dimalonic acide (ABDA) ou encore le 9,10-anthracenedipropionic acide (ADPA).

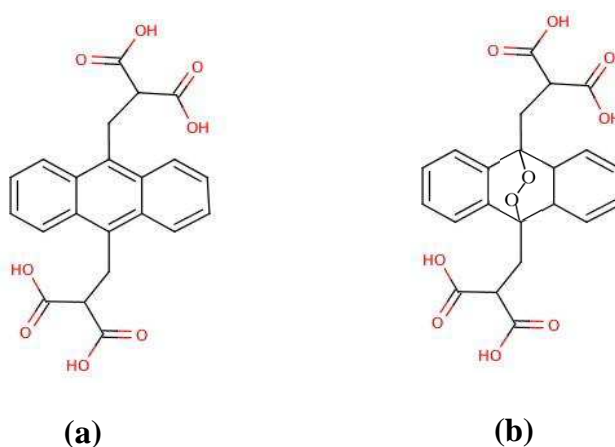
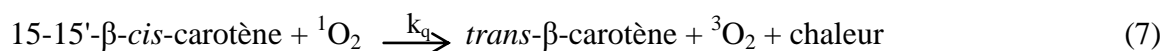


Figure IV.5 : Structure chimique 9,10-Anthracène diyl-Bis(méthylène)Dimalonic acide (ABDA) (b) sa forme endopéroxyde

Le « quenching » est d'origine physique lorsque $^1\text{O}_2$ retourne à l'état fondamental ($^3\text{O}_2$) sans consommation ou production d'oxygène. Le β -carotène est l'un des « quencheurs » physiques les plus connus (Figure IV.6). Sous l'apport énergétique de $^1\text{O}_2$, il passe de la forme *cis* la forme *trans*, au cours d'une réaction exothermique, par transfert d'énergie électronique (Equation 7).



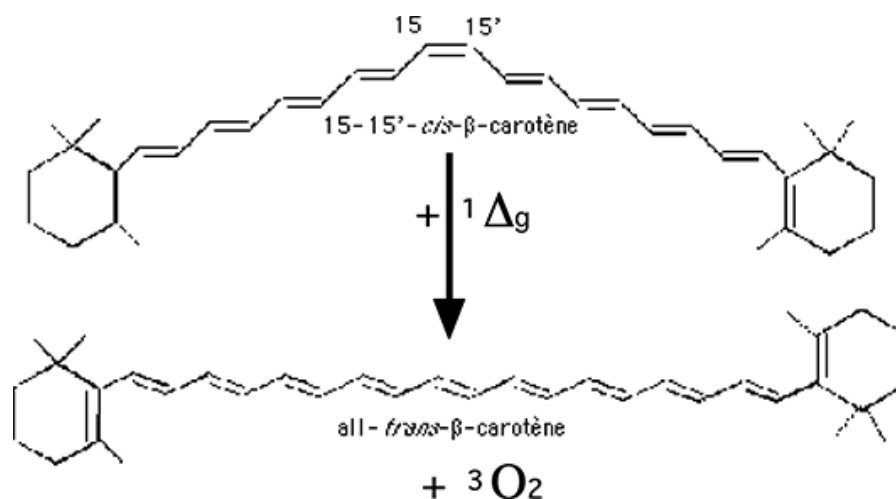


Figure IV.6 : « Quenching » physique du $^1\text{O}_2$, par transfert d'énergie électronique, par le β -carotène [17, 18]

La constante de vitesse de « quenching » k_q de cette réaction est égale à $1,2 \cdot 10^{10} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ [17]. Le β -carotène, à la molarité de 10^{-4}M , inhibe 95% des réactions de $^1\text{O}_2$ avec une molécule organique [18]. Une molécule de β -carotène suffit pour piéger au moins 100 molécules de $^1\text{O}_2$.

Il existe d'autres « quencheurs » physiques connus, avec des constantes de vitesse élevées, tels que le sodium azide NaN_3 ($k = 2 - 45 \cdot 10^8 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$).

Les solvants jouent également un rôle très important dans la détection de l'oxygène singulet. Wilkinson et al. [19] ont publié une volumineuse compilation des constantes de décroissance de $^1\Delta_g$ selon les milieux solvants. H_2O a une forte énergie vibrationnelle qui rend la durée d'existence de $^1\text{O}_2$ très courte; l'eau deutérée D_2O a une énergie nettement plus faible, ce qui permet une durée de $^1\text{O}_2$ 10 à 13 fois plus longue [20].

L'utilisation d'eau deutérée, pour démontrer qu'un phénomène dépend de la présence de l'oxygène singulet, est devenue courante depuis les travaux de Merkel [21]. D_2O prolonge la durée de vie de $^1\text{O}_2$ et amplifie les phénomènes de luminescence.

Ainsi s'explique l'usage de l'eau deutérée, D_2O , dans la détection de l'oxygène singulet. Le méthanol deutéré : CD_3OD est également couramment utilisé.

III.2. 2^{ème} approche : détection des espèces radicalaires formées

Cette approche permet la détection des espèces réactives formées dans le milieu après activation du PS par ajout d'enzymes spécifiques (Figure IV.8).

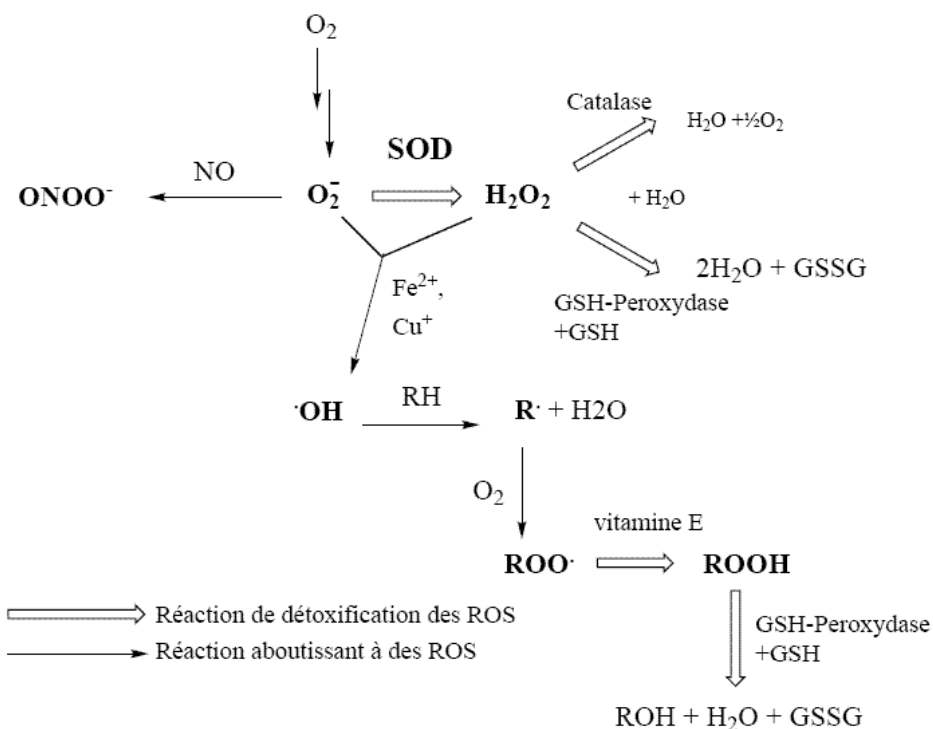
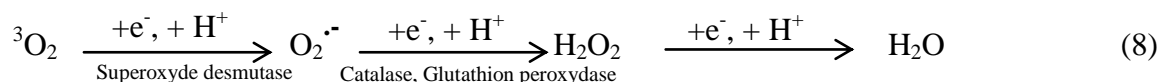
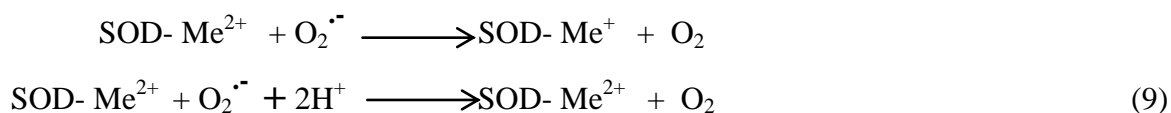


Figure IV.7 : détection des espèces radicalaires formées (ROS) par ajout d'enzymes spécifiques

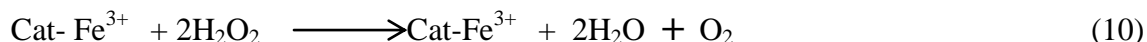


En 1969, McCord et Fridovich ont démontré que la constante de vitesse de la réaction k , décrite par l'Equation 8, est égale à $2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [22].



La superoxyde destumase (SOD) est une enzyme oxydoréductase métallique où Me^{2+} peut être soit Cu^{2+} ou Zn^{2+} pour SOD cytoplasmique, soit Mn^{2+} et SOD est mitochondrial [23].

Le peroxyde d'hydrogène qui peut être formé par la réaction photochimique de type I, peut être éliminé par l'enzyme catalase superoxydase (Cat).



La réaction photochimique de type I peut aussi générer un radical hydroxyle dont l'action peut être inhibée par l'ajout de fortes doses de réactifs donneurs d'hydrogène tels que le mannitol, l'éthanol, le ter-butanol, l'acétate et l'acide benzoïque [24].

La durée de vie des radicaux libres type $\text{O}_2^{\cdot-}$ (anion superoxide) ou hydroxyle OH^{\cdot} est très courte (de l'ordre de la μs) d'où l'idée de piéger ces radicaux en utilisant des réactifs pièges (spin traps) et former un chélate qu'il est possible de caractériser par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE).

Un exemple de réactif piège : le 2, 2, 6, 6-tétra-méthylpiperidine (TEMP) qui réagit avec l'oxygène singulet pour former le chélate TEMPO. TEMPO est un radical nitroxyde stable qui présente un pic RPE triplet typique caractérisé par les paramètres $a_N = 16.3$ et $g = 2.0056$ [25].

IV. Stabilité et durée de vie de l'oxygène singulet

Par sa très haute réactivité et par le phénomène d'"auto-quenching" par collision, la durée de vie de $^1\text{O}_2$ est extrêmement courte et dépend fortement de la nature du milieu dans lequel il est dissout (plus de six ordres de grandeurs entre les vitesses extrêmes mesurées dans les divers solvants). Il est important de noter que les solvants ayant les fréquences vibrationnelles les plus élevées accélèrent la disparition de $^1\text{O}_2$.

L'existence de $^1\text{O}_2$ au sein des membranes cellulaires, aprotiques, est plus longue qu'en phase aqueuse.

La durée de vie τ de $^1\text{O}_2$, en présence d'un quencher, est mesurable par l'application de l'équation de Stern-Volmer :

$$1/\tau = 1/\tau_0 + k^* [C] \quad (11)$$

Avec :

τ_0 : la durée de vie sans quencheur

C : la concentration molaire

V. Applications de l'oxygène singulet

Après la génération de l'oxygène singulet, il peut soit perdre son énergie par des processus radiatifs ou non radiatifs soit interagir avec un substrat. La réactivité de l'oxygène singulet peut être un inconvénient dans certains cas, par exemple dans le cas de la photodégradation des polymères.

V.1. Les synthèses de chimie fine et le traitement des eaux usées

La versatilité et la haute stéréosélectivité de l'oxygène singulet fait de lui un agent de synthèse très utilisé et très efficace.

L'utilisation de l'énergie solaire dans les traitements d'eaux usées peut être comme une solution économique pour un problème environnemental.

Quelques exemples de son utilisation pour des réactions de synthèses en chimie fine: la synthèse du 5-hydroxy-5H-furan-2-one en utilisant du furfural en présence des PS comme le bleu de méthylène ou le rose bengale dans l'éthanol [26].

La réaction du cyclopentadiène avec l'oxygène singulet qui a pour résultat la formation de l'endoperoxide, est bien décrite dans la littérature. Selon les conditions de réaction, l'endoperoxide est par la suite converti en d'autres produits comme le 4,5-époxy-2-pentén-1-one, le 1,3-dihydroxy-2-cyclopentène ou le 3-hydroxy-2-cyclopenténone [27].

V.2. Les processus photodynamiques

L'effet photodynamique repose sur la combinaison de trois éléments : le PS, la lumière visible et l'oxygène. L'oxygène singulet joue le rôle majeur dans cet effet. Parmi les applications qui se basent sur les processus photodynamiques on peut citer la stérilisation du sang, la photothérapie dynamique et les insecticides et des herbicides.

VI.2.1. La stérilisation du sang

La Croix-Rouge suisse et allemande utilise le bleu de méthylène comme PS pour la décontamination d'unités plasma fraîchement gelées [28]. Connu pour son manque de toxicité aux humains, ce PS participe à la destruction extracellulaire des virus enveloppés. Malheureusement, des enzymes cellulaires réduisent ce PS à une forme incolore photodynamiquement inactive, limitant ainsi son utilisation comme PS *in vivo*. Les phthalocyanines à base de silicium [29] sont aussi étudiées pour la stérilisation de composants de sang.

VI.2.2. La PDT (décrite dans le chapitre I généralités et Objectifs)

VI.2.3. Insecticides et herbicides

Les herbicides et insecticides photodynamiques se basent sur la toxicité de l'oxygène singulet pour détruire les plantes indésirables et les parasites.

Les herbicides et insecticides photodynamiques causent l'accumulation indésirable de la chlorophylle, tétrapyrroles, métabolites intermédiaires de la tétrapyrroles, dans les plantes vertes. Après exposition à la lumière blanche, les tétrapyrroles accumulés agissent comme des PS et produisent de l'oxygène singulet qui tue les plantes traitées par oxidation des tissus.

Les porphyrines ont été récemment étudiées pour l'utilisation comme insecticides [30]. En raison de leurs bandes d'absorption dans des régions diverses dans le spectre UV /Visible, ces composés peuvent être activés par une large gamme de longueurs d'ondes et se sont révélés être des insecticides efficaces.

B. Détection de l'oxygène singulet : résultats expérimentaux (Bleaching)

I. Effet du ZnPc sur les spectres de up conversion

Comme il a été largement décrit dans le chapitre III, la dynamique de luminescence semble démontrer que pour la configuration de type 6 (enrobage de silice mésoporeuse), les effets bénéfiques de la coquille cristalline sont atténués.

Pour expliquer ce résultat, il faut se reporter au Chapitre III et considérer que la synthèse de la structure 6 est effectuée en milieu aqueux et que, pour conserver la nature mésoporeuse de la silice, aucun traitement thermique n'est possible. En conséquence, il est évident que de nombreuses molécules d'eau résident dans les pores de la silice et participent à l'extinction de la luminescence. L'imprégnation des particules avec le ZnPc, très hydrophobe, a probablement un effet sur la concentration des molécules d'eau dans les pores et contribue à restituer les propriétés de luminescence.

L'effet de l'imprégnation des particules par le ZnPc est alors difficile à évaluer, c'est pourquoi nous allons considérer les spectres des configurations 4 ; 6 et 8 enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales (concentrations des particules en solution dans le PEG, géométrie de l'expérience, puissance d'excitation) pour évaluer l'effet de la présence du ZnPc sur l'intensité de l'émission « rouge ».

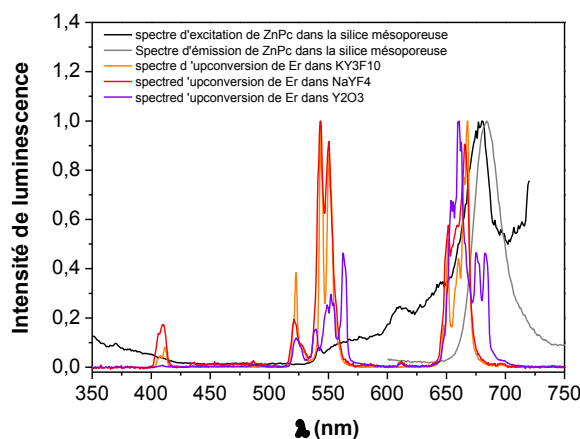


Figure IV.8 : Mise en évidence du recouvrement entre les spectres d'émission des matrices KY_3F_{10} , $NaYF_4$ et Y_2O_3 et spectre d'excitation de l'émission du ZnPc des particules de silice mésoporeuse imprégnée

Afin d'évaluer l'effet de l'interaction Er - ZnPc sur les spectres d'émission excités par up conversion, il est nécessaire, auparavant, de comparer les spectres d'excitation/ d'absorption du ZnPc et d'émission de Er^{3+} puisqu'il s'agit, dans ce cas, d'un transfert radiatif dont l'efficacité dépend du recouvrement entre l'émission du donneur (Er^{3+}) et l'excitation de l'accepteur (ZnPc). A titre d'exemple, les spectres d'émission de Er^{3+} excités par up conversion dans les différents matériaux considérés dans ce travail sont représentés, sur la Figure IV.8, en comparaison avec le spectre d'excitation de l'émission du ZnPc enregistré pour des particules de SiO_2 mésoporeuses imprégnées dans les mêmes conditions que les particules dopées Er, Yb enrobées de silice mésoporeuse.

D'après l'analyse des déclin de luminescence pour les différentes configurations de particules, il apparait que les centres de cœur soient principalement impliqués pour la sensibilisation du photosensibilisateur. L'étude de l'effet de cette interaction sur les spectres sera donc effectuée en comparant les intensités enregistrées pour les configurations 4 et 8 pour les particules en solution dans le PEG.

Les solutions contenant la même quantité de particules, les spectres étant calibrés (système Avantes), la puissance d'excitation infrarouge étant fixée à 4W pour toutes les mesures (puissance modérée pour éviter l'échauffement, précaution importante principalement pour NaYF_4 et Y_2O_3 , et de se placer avant la saturation du processus de up conversion). Les différents résultats ont rassemblés dans la Figure IV.9.

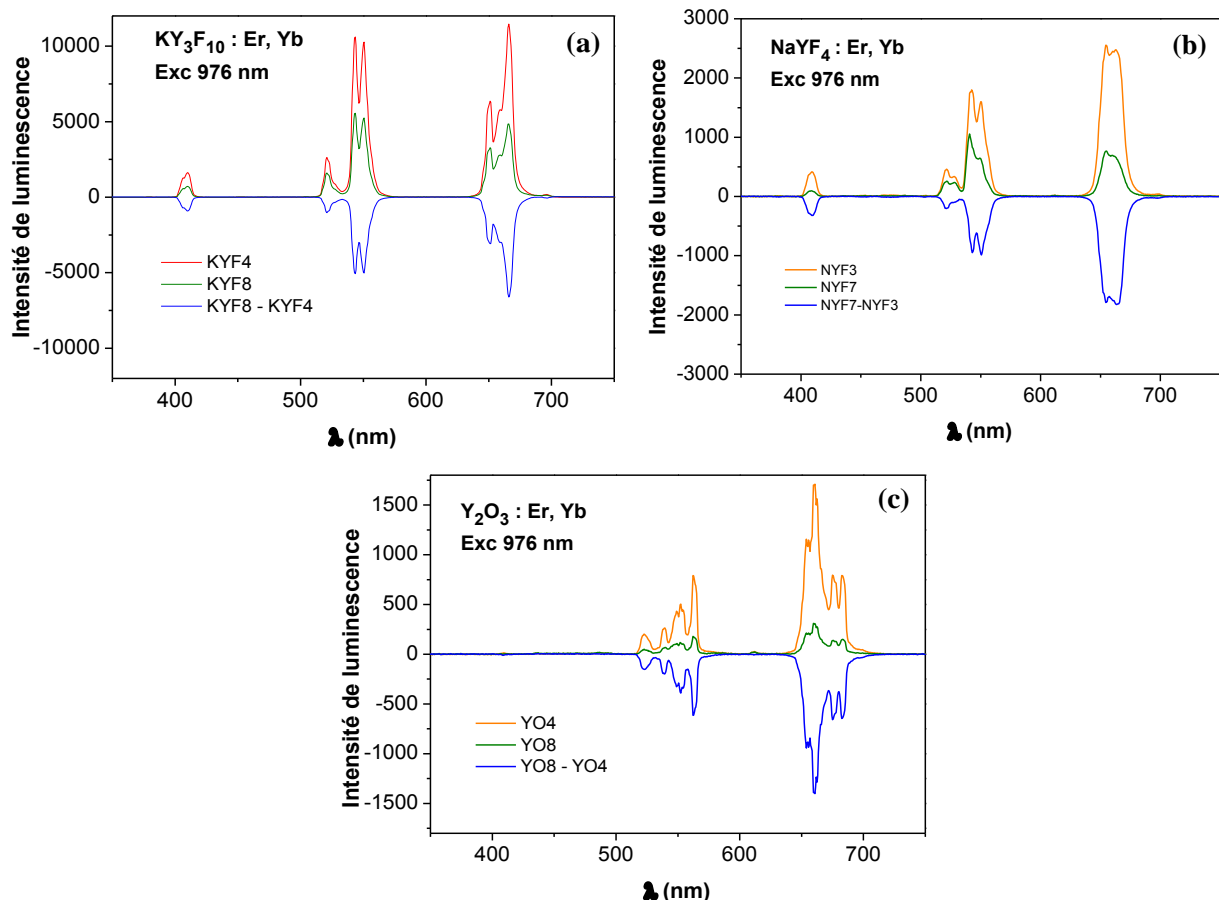


Figure IV.9: Spectres de fluorescence de Er^{3+} enregistrés pour les particules codopées Er/Yb , des configurations 4 et 8 pour une excitation anti-Stokes (a) KY_3F_{10} (b) NaYF_4 (c) Y_2O_3

Pour les trois matrices étudiées, l'émission du niveau $^4F_{9/2}$ (émission « rouge ») est la plus affectée en présence du ZnPc, l'effet le plus important est observé pour Y_2O_3 . Aucune émission « bleue » n'est observée pour Y_2O_3 compte tenu de la faible puissance utilisée pour réaliser ces expériences et la fréquence de phonon de Y_2O_3 , supérieure à celle des fluorures, est moins favorable pour observer des émissions par APTE à 3 photons. Contrairement à ce qui est déclaré dans la littérature, excepté la référence [1], toutes les transitions excités par up conversion sont également affectées, dans une moindre mesure, par la présence du ZnPc dans la silice mésoporeuse. Les résultats de la référence [31] sont reproduits sur la Figure IV.10, où les nanoparticules sont $NaYF_4$ codopées Er^{3+}/Yb^{3+} .

Un résultat identique a été observé dans le cas de particules de $NaYF_4$ codopées Er^{3+}/Yb^{3+} en présence de le Rose Bengale (autre molécule photoactivable) [32] (Figure IV.10).

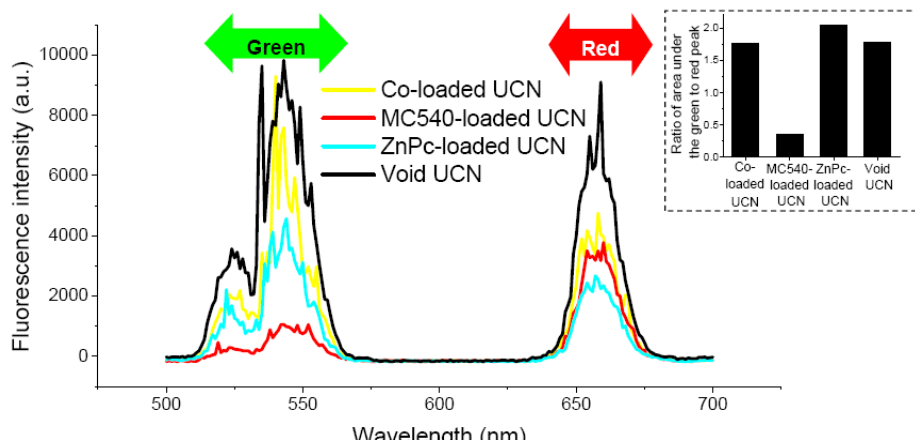


Figure IV.10: Comparaison des spectres de fluorescence de Er^{3+} enregistrés pour des particules de $NaYF_4$ codopées Er/Yb sous excitation anti-Stokes pour 4 systèmes (NP non imprégnés, NP-ZnPc, NP-MC540, NP-MC540-ZnPc) [31]

Alors que les références citées précédemment ne considèrent pas le schéma électronique réel des PS, les travaux décrits dans la référence [32] permettent d'expliquer l'effet de l'interaction Er-PS sur l'ensemble des émissions de Er^{3+} excitées par up conversion.

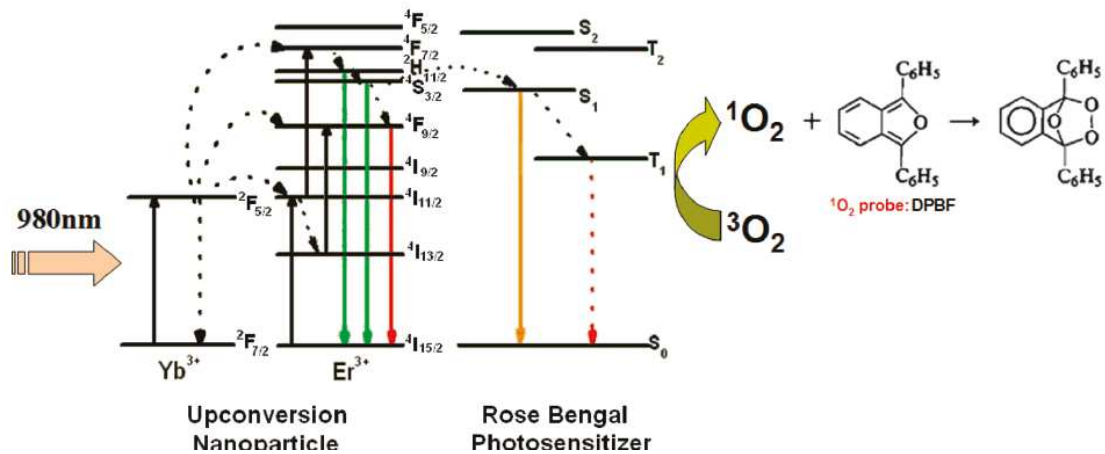


Figure IV.11 : l'effet de l'interaction Er-RB (Rose bengale) sur l'ensemble des émissions de Er^{3+} excitées par up conversion des particules $NaYF_4$ [32]

Si dans le cas de notre étude, il s'agit de ZnPc, molécule différente de celle du Rose Bengale, les molécules organiques de ce type possèdent un schéma électronique plus complexe que celui qui est considéré généralement dans les études des nanoparticules à up conversion pour la PDT. En particulier, la bande observée vers 400 nm sur le spectre d'absorption du ZnPc (bande de Soret) ne peut être négligée, les résultats observés dans la référence [31] confirment par ailleurs cette affirmation. Ces considérations peuvent expliquer l'effet du ZnPc sur les transitions de Er^{3+} observées dans le bleu, le vert et le rouge.

Afin de quantifier l'effet de la présence du ZnPc sur l'émission up convertie, il est préférable de considérer l'intensité globale avec et sans PS plutôt que le rapport vert/rouge comme il est couramment pratiqué. Le rapport des intensités d'émissions obtenues par up conversion intégrées sur tout le spectre, avec et sans PS est représenté sur la Figure IV.12. D'après la Figure IV.12, il semble que l'effet du ZnPc sur les spectres de Er^{3+} soit le plus important pour Y_2O_3 , le plus faible pour KY_3F_{10} .

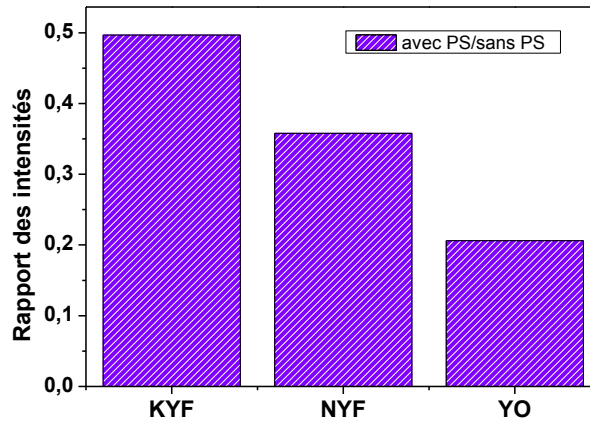


Figure IV.12 : Evolution du rapport des intensités d'émissions obtenues par up conversion intégrées sur tout le spectre, avec et sans PS pour KY_3F_{10} et $NaYF_4 Y_2O_3$

Ces résultats sont conformes à ce qui a été démontré précédemment (Chapitre III. Paragraphe III.3.3.) Bien que les intensités de up conversion observées pour $NaYF_4$ et KY_3F_{10} soient équivalentes, l'interaction Er-ZnPc est plus efficace pour $NaYF_4$ que dans le cas de KY_3F_{10} car l'émission « rouge » est plus intense que celle enregistrée pour KY_3F_{10} , comme le montre la Figure IV.13 où l'intensité de luminescence excitée par up conversion a été normalisée par la transition du niveau $^2H_{11/2}$ située au minimum d'absorption du ZnPc.

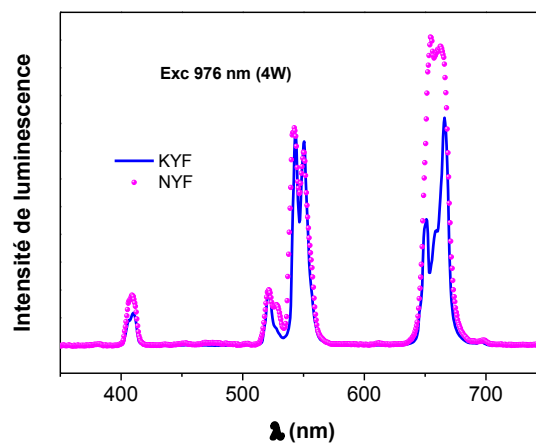


Figure IV.13 : Spectres d'émission de Er excité par up conversion normalisés par la transition du niveau $^2H_{11/2}$ pour $NaYF_4$ et KY_3F_{10}

Par ailleurs, Y_2O_3 se révèle être le plus efficace pour sensibiliser le ZnPc car d'une part le recouvrement entre la bande Q du ZnPc et l'émission « rouge » est le plus important et, d'autre part, l'intensité de l'émission rouge est nettement plus intense que celle des deux autres matrices pour une excitation infrarouge de puissance équivalente (Chapitre III. paragraphe III.3.3).

Ces résultats démontrent l'existence d'une interaction Er-ZnPc dans les trois matériaux avec une efficacité variable, des expériences de bleaching ont été menées afin de vérifier la génération de radicaux 1O_2 issus de cette interaction.

II. Détection des radicaux 1O_2 : Bleaching

Les radicaux libres de type 1O_2 possèdent une durée de vie très courte ($\sim \mu s$) et une très haute réactivité, leur détection directe est délicate. Pour les mettre en évidence, deux méthodes sont couramment employées soit une méthode physique qui consiste à détecter directement la luminescence de l'oxygène singulet (transition $^3T_1 \rightarrow ^1S_0$) soit une méthode chimique qui consiste à utiliser une molécule dont les propriétés sont modifiées en présence des radicaux 1O_2 . La seconde méthode a été utilisée dans ce travail. La molécule « quencheur » choisie est le 9,10-Anthracène diyl-Bis(méthylène)Dimalonic acide (ABDA). L'ABDA est un dérivé d'anthracène soluble dans l'eau et dans le PEG et qui en présence de 1O_2 est convertie en sa forme endoperoxyde correspondante non fluorescente (photobleached).

II.1. Protocole expérimental

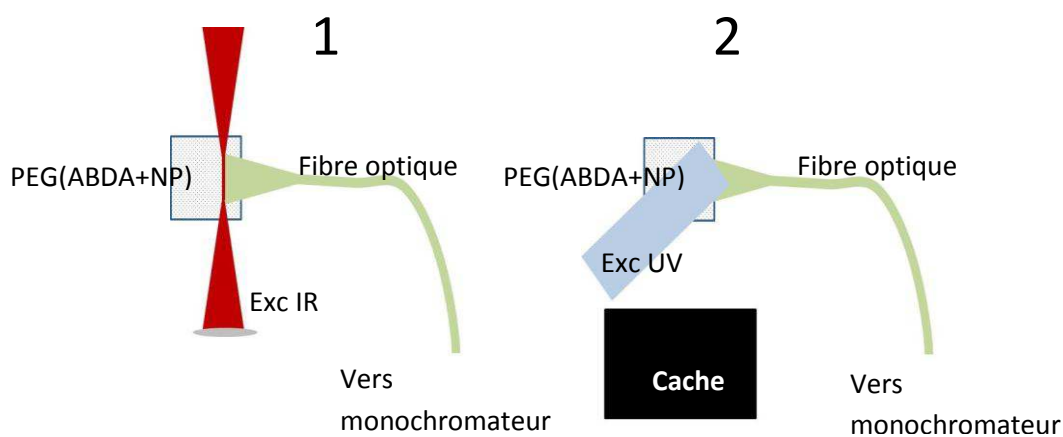


Figure IV.14 : Schéma du montage utilisé pour la détection des radicaux 1O_2

Il est important de signaler que la diode IR est cachée pour garder la même puissance car elle est sujette à l'équilibre thermique.

II.2. Résultats expérimentaux

L'ABDA est ajouté aux solutions de nanoparticules imprégnées de ZnPc dans le PEG avec une concentration de 10 μM . Parallèlement une solution « référence » est préparée à partir d'ABDA dans le PEG sans les particules (concentration ABDA= 10 μM). En préliminaire, la solution « référence » est soumise à l'excitation infrarouge (à 976 nm, P= 4 W) pendant 60 minutes, le spectre de fluorescence (excité à 380 nm) étant enregistré à plusieurs reprises au cours de cette période, le but étant de contrôler un éventuel échauffement sur la fluorescence de l'ABDA. Les résultats sont rassemblés dans la Figure IV.15. Les spectres représentés sur la Figure IV.15 (a) sont tout à fait semblables à ce qui est publié [31, 34].

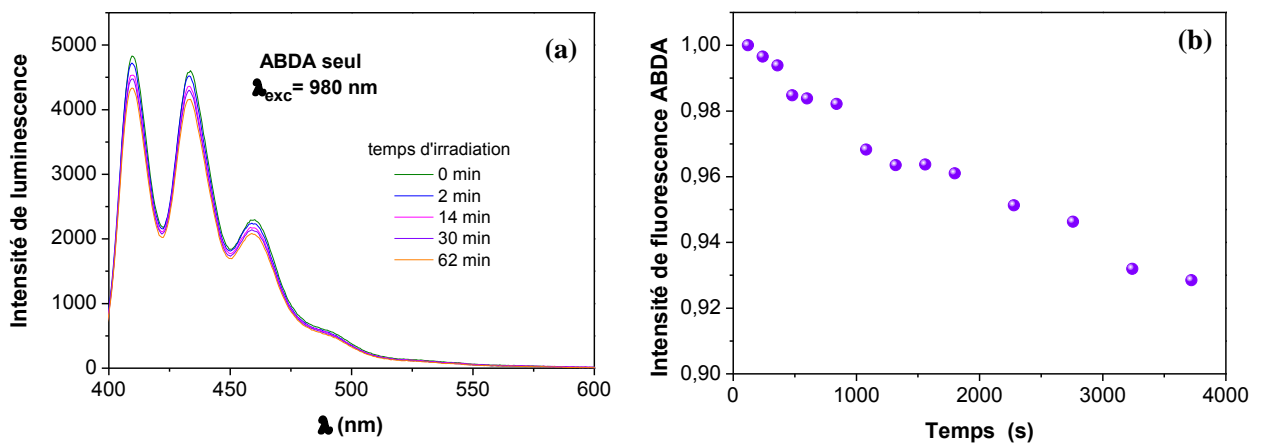


Figure IV.15 : Spectres de fluorescence de l'ABDA (solution d'ABDA dans le PEG, $cc= 10\mu\text{M}$) excité à 980 nm à des intervalles d'irradiation de 0 à 62 min (a) Evolution de l'intensité de fluorescence de l'ABDA en fonction du temps d'irradiation (b)

Lors d'une irradiation infrarouge pendant 62 minutes, l'intensité intégrée de fluorescence de l'ABDA passe de 1 à 0.93.

La même expérience est ensuite effectuée avec les solutions comportant les particules des différents matériaux étudiés. L'intensité intégrée de fluorescence de l'ABDA, excitée à 380 nm, enregistrée après différents temps d'irradiation infrarouge et pour deux expériences indépendantes est représentée sur la Figure IV.16 pour KY_3F_{10} .

Les mesures de l'intensité de fluorescence de l'ABDA en fonction du temps d'irradiation infrarouge dans une solution contenant les particules non imprégnées (configuration 6) sont identiques à ceux obtenus sans particules codopées, ce qui démontre une corrélation entre l'émission upconvertie et le quenching de la fluorescence de l'ABDA et confirme la génération de radicaux $^1\text{O}_2$ sous l'effet de l'excitation infrarouge du matériau codopé $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$. En présence des nanoparticules codopées, l'intensité de fluorescence de l'ABDA décroît avec le temps d'irradiation selon une loi exponentielle avec une constante de vitesse égale à $1.27 \cdot 10^{-3} \text{ s}$. Pour affirmer ces résultats, la température de la solution a été contrôlée par le rapport des intensités des transitions à partir des niveaux $^2\text{H}_{11/2}$ et $^4\text{S}_{3/2}$ vers le niveau fondamental $^4\text{I}_{15/2}$ (Figure IV.16 (b)). Le rapport reste constant après 60 min d'excitation infrarouge, par conséquent aucun échauffement de la solution ne se produit.

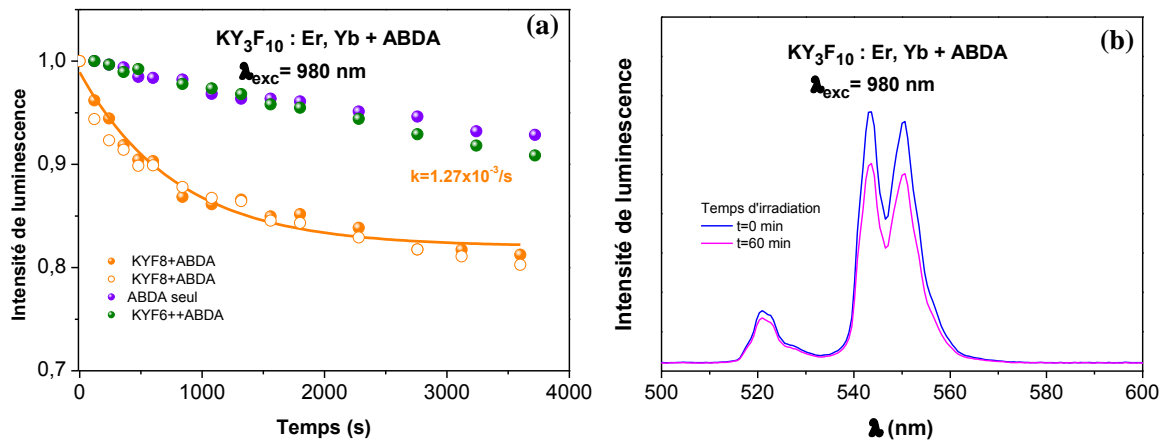


Figure IV.16 : (a) Evolution de l'intensité de fluorescence de l'ABDA en fonction du temps d'irradiation pour $\text{KY}_3\text{F}_{10}:\text{Yb}, \text{Er}$ (configuration 6 et 8) en comparaison avec l'ABDA seul (b) Spectres de fluorescence de l'ABDA excité à 980 nm à 0 à 62 min d'irradiation

Le bleaching de l'intensité de fluorescence de l'ABDA en présence des particules de NaYF_4 et Y_2O_3 codopées $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ est représenté sur les Figures IV.17 et IV.18 respectivement.

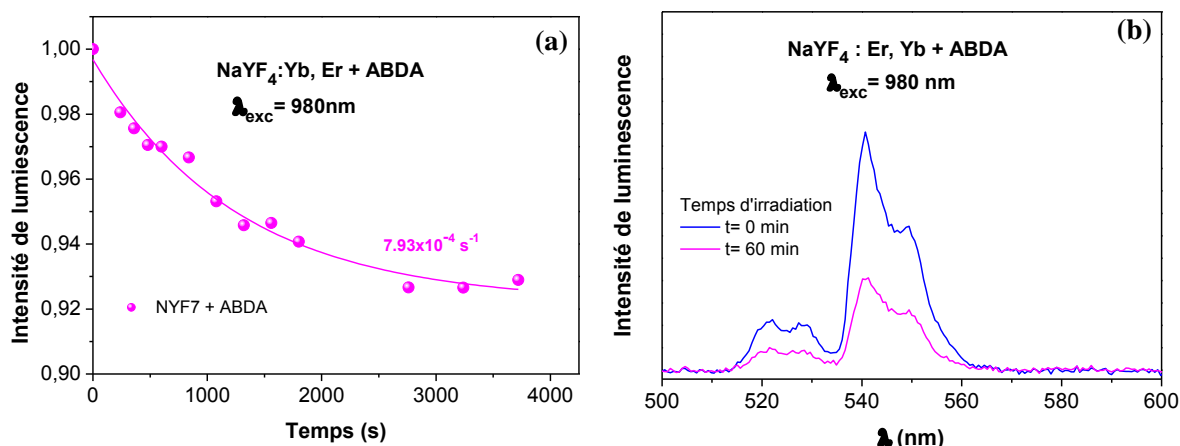


Figure IV.17 : (a) Evolution de l'intensité de fluorescence de l'ABDA en fonction du temps d'irradiation pour $\text{KY}_3\text{F}_{10}:\text{Yb}, \text{Er}$ (configuration 6 et 8) en comparaison avec l'ABDA seul (b) Spectres de fluorescence de l'ABDA excité à 980 nm à 0 à 62 min d'irradiation

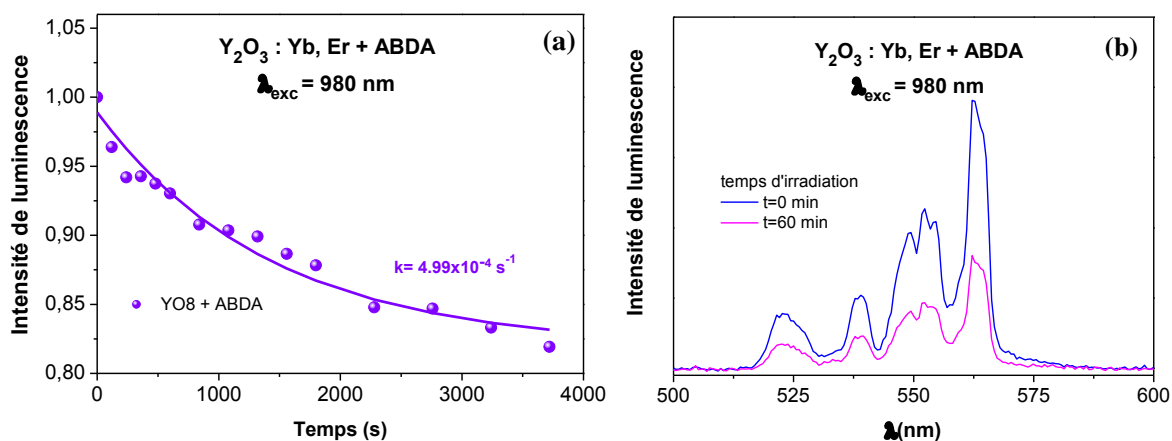


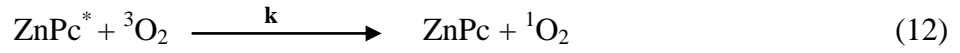
Figure IV.18 : (a) Evolution de l'intensité de fluorescence de l'ABDA en fonction du temps d'irradiation pour $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Yb}, \text{Er}$ (configuration 6 et 8) (b) Spectres de fluorescence de l'ABDA excité à 980 nm à 0 à 62 min d'irradiation

De même la température des solutions en fin d'expérience a été contrôlée à partir du rapport des intensités des émissions $^2\text{H}_{11/2}$ et $^4\text{S}_{3/2}$. L'augmentation de température déduite est négligeable (environ 7° dans les deux cas).

La décroissance de l'intensité de l'ABDA décroît exponentiellement dans tous les cas. La discussion sur la cinétique du processus est délicate, car plusieurs mécanismes interviennent comme il est décrit dans la référence pour le 9,10-anthracenedipropionic acide (ADPA), un « quencheur » semblable à l'ABDA [33].

Chapitre IV : Détection de l'oxygène singulet

La formation de l'oxygène singulet induit la régénération du ZnPc et l'ABDA se convertie à sa forme endoperoxyde suivi par un retour de $^1\text{O}_2$ à son état fondamental selon les étapes suivantes :



Avec :

k : contante du « quenching » de ZnPc^*

k_c et k_p : constante chimique et constante physique du « quenching » de ${}^1\text{O}_2$

k_d : constante de « déclin » de ${}^1\text{O}_2$ (retour de ${}^1\text{O}_2$ à son état fondamental)

La vitesse de réaction de l'ABDA en présence de l'oxygène singulet est alors égal à :

$$-d[\text{ABDA}]/dt = k_c * [\text{ABDA}] * [{}^1\text{O}_2] = k_c * [\text{ABDA}] * [{}^1\text{O}_2]_0 * e^{-(k't)} \quad (16)$$

Avec :

$$k' = k_d + (k_c + k_p) * [\text{ABDA}]_t$$

$[{}^1\text{O}_2]_0$: concentration de l'oxygène singulet formé initialement

Si nous admettons que l'équation (13) est l'étape cinétiquement déterminante de la diminution de l'intensité de fluorescence de l'ABDA, nous pouvons négliger les autres étapes et déterminer la constante chimique de « quenching » de l'ABDA dû principalement à la présence de l'oxygène singulet.

$$[\text{ABDA}]_t = [\text{ABDA}]_0 * \exp(k_c * [{}^1\text{O}_2]_0 * t) \quad (17)$$

Les valeurs de k_c déterminées pour chaque matrice sont : $k_c [\text{KY}_3\text{F}_{10}] = 1,27 * 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $k_c [\text{NaYF}_4] = 7,93 * 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ et $k_c [\text{Y}_2\text{O}_3] = 4,99 * 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

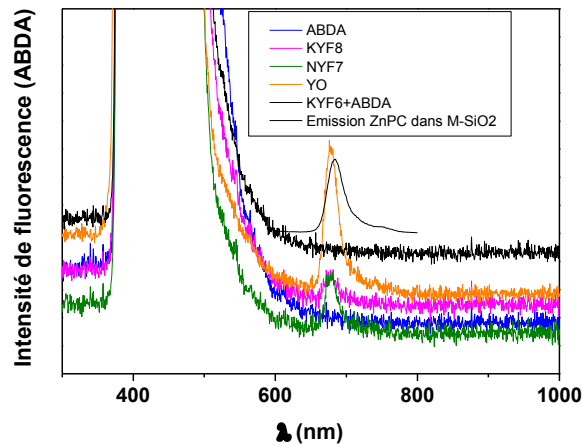


Figure IV.19 : Comparaison des spectres de fluorescence de l'ABDA centré vers 690 nm pour ABDA seul, KYF8, NYF7 et YO8 et spectre de fluorescence du ZnPc dans les particules de silice mésoporeuse imprégnée

En examinant attentivement les spectres de fluorescence de l'ABDA enregistrés en présence des particules, une bande est observée, avec une très faible intensité vers 690 nm. Comme le représente la Figure IV.19, la longueur d'onde de cette fluorescence est indépendante de la nature des particules en solution. Elle est absente du spectre avec des particules non imprégnées (sur la Figure IV.19, seul l'exemple de KYF6 est représenté), et elle ne correspond pas à l'émission de Er^{3+} mais elle est très semblable à la fluorescence du ZnPc enregistré pour des particules de silice mésoporeuse imprégnées. Pour ces raisons, cette luminescence est attribuée au ZnPc, luminescence excitée à 380 nm, excitation utilisée pour l'ABDA et correspondant à la bande Soret du ZnPc. L'intensité de cette émission a été étudiée également en fonction du temps d'excitation infrarouge pour les solutions contenant des particules de NaYF_4 et Y_2O_3 , l'intensité de cette fluorescence pour les solutions de KY_3F_{10} est trop faible pour évaluer correctement les variations. Les résultats sont rassemblés dans la Figure IV.20.

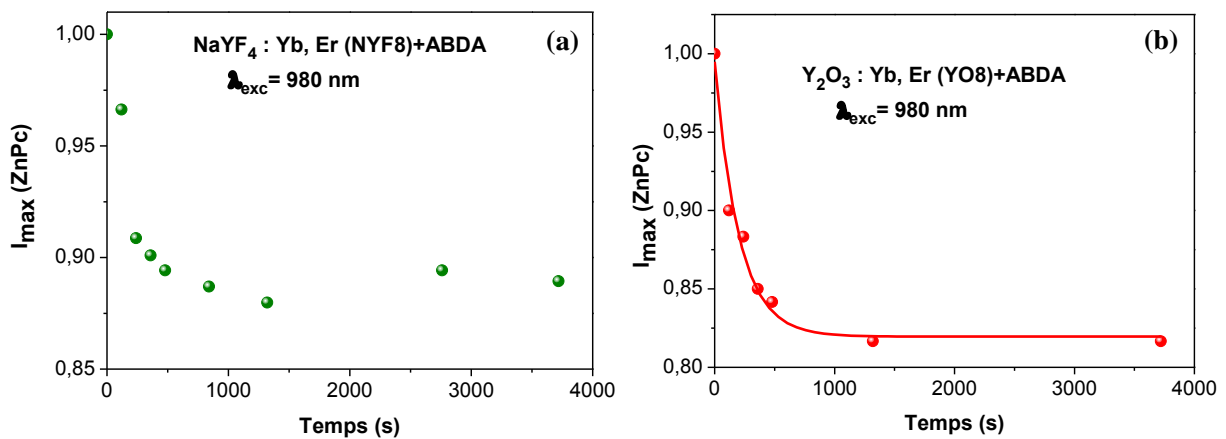


Figure IV.20 : Evolution de l'intensité de l'émission du ZnPc pour (a) NaYF_4 (b) Y_2O_3

Les courbes représentées sur la Figure IV.20 s'expliquent par le quenching de la fluorescence du ZnPc en fonction du temps d'excitation infrarouge associé à la génération des radicaux $^1\text{O}_2$. Ces résultats constituent une preuve supplémentaire à la création de l'oxygène singulet.

C. Conclusion

La génération des radicaux libres d'oxygène singulet dépend directement de l'interaction Er-ZnPc. Dans un premier temps, l'effet de l'interaction Er-ZnPc a été évalué par les spectres d'émission des matériaux codopés Yb, Er et excités en continu par up conversion à 980 nm. Contrairement aux résultats de la littérature, l'intensité de toutes les émissions de l' Er^{3+} dans le visible, à savoir l'émission du niveau $^2\text{G}_{9/2}$ (émission bleue), du niveau $^4\text{S}_{3/2}$ (émission verte) et du niveau $^4\text{F}_{9/2}$ (émission rouge), sont absorbées pour toutes les matrices synthétisées dans ce travail i.e. KY_3F_{10} , NaYF_4 et Y_2O_3 . Cependant, l'émission du niveau $^4\text{F}_{9/2}$ est la plus affectée par la présence du ZnPc dans les pores de la silice, particulièrement pour la matrice Y_2O_3 .

Le rapport des intensités d'émissions obtenues par up conversion intégrées sur tout le spectre, avec et sans PS, démontre que l'effet du ZnPc sur les spectres de Er^{3+} est plus important pour Y_2O_3 et le moins important pour KY_3F_{10} . Ces résultats sont en parfait accord avec les résultats de la comparaison des matrices dans le chapitre III.

Dans un deuxième temps, la détection de la production d'oxygène singulet a été effectuée par voie chimique en présence de l'ABDA. Le principe de cette technique connue sous le nom de « bleaching » se base sur la mesure de l'intensité de fluorescence de l'ABDA, en présence ou non des NP imprégnées par ZnPc, excitées par up conversion à 980 nm. La diminution de l'intensité de la fluorescence de l'ABDA est une preuve de la présence de l'oxygène singulet.

L'intensité intégrée de la fluorescence de l'ABDA seul passe de 1 à 0,93 suite à une irradiation infrarouge qui a duré 62 minutes. Le même résultat est observé pour les nanoparticules de KY_3F_{10} de configuration 6.

Le « bleaching » de l'intensité de fluorescence en présence des particules de configuration 8 (particules imprégnées par ZnPc) de toutes les matrices a été réalisée. L'intensité intégrée de la fluorescence de l'ABDA en présence de KY_3F_{10} et Y_2O_3 passe de 1 à 0,82 et en présence de $NaYF_4$ passe de 1 à 0,93. Les constantes de « quenching » de l'ABDA en présence de l'oxygène singulet ont été calculées. Le contrôle de la température de la solution en fin d'expérience a été réalisé à partir du rapport des intensités des émissions $^2H_{11/2}$ et $^4S_{3/2}$ vers le niveau fondamental $^4I_{15/2}$.

Une bande de très faible intensité vers 690 nm a été observée sur les spectres de fluorescence de l'ABDA en présence des NP imprégnées de ZnPc, particulièrement pour $NaYF_4$ et Y_2O_3 . L'intensité de cette émission a été évaluée en fonction du temps pour $NaYF_4$ et Y_2O_3 et les courbes obtenues sont en parfaite concordance avec les résultats du « quenching » de la fluorescence de l'ABDA, ce qui nous permet de confirmer que la génération de l'oxygène singulet est associé au quenching de la fluorescence du ZnPc.

Références bibliographiques

- [1] F. Miomandre, S. Saki, P. Audebert, R. M-Renault, L'électrochimie : Des concepts aux applications (Dunod, Paris) 2^{ème} édition (2011)
- [2] G. Herzberg, Nature 133 (1934) 759-759
- [3] L. Mallet, Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris) 185 (1927) 352
- [4] A. U. Khan, M. Kasha, Journal of the American Chemical Society 88 (1966) 1574-1576
- [5] C.S. Foote, Science 162 (1968) 963-970
- [6] C. S. Foote, Y. C. Chang, R. W. Denny, Journal of the American Chemical Society 92 (1970) 5216-5218
- [7] N. J. Turro, V. Ramamurthy, K-C. Liu, A. Krebs, R. Kemper, Journal of the American Chemical Society 98 (1976) 6758-6761.
- [8] N. J. Turro, M-F. Chow, J. Rigaudy, Journal of the American Chemical Society 103 (1981) 7218-7224
- [9] K. Goda, T. Kimura, A. L. Thayer, K. Kees, A. P. Schaap, Biochemical Biophysical Research Communications 58 (1974) 660-666
- [10] A. P. Schaap, A. L. Thayer, G. R. Faler, K. Goda, T. Kimura, Journal of the American Chemical Society 96 (1974) 4025-4026
- [11] E. J. Corey, M. M. Mehrotra, A. U. Khan, Biochemical Biophysical Research Communications 145 (1987) 842-846
- [12] A. U. Khan, M. Kasha, Proceedings of the National Academy of Sciences 91 (1994) 12365-12367
- [13] G. R. Martinez, P. Di Mascio, M. G. Bonini, O. Augusto, K. Briviba, H. Sies, P. Maurer, U. Röthlisberger, S. Herold, W. H. Koppenol, Proceedings of the National Academy of Sciences 97 (2000) 10307-10312
- [14] P. Di Mascio, E. J. Bechara, M. H. Medeiros, K. Briviba, H. Sies, FEBS Letters 355 (1994) 287-289
- [15] J. R. Kanofsky, P. Sima, Singlet oxygen production from the reactions of ozone with biological molecules. The Journal of Biological Chemistry 266 (1991) 9039-9042
- [16] A. U. Khan, D. Kovacic, A. Kolbanovskiy, M. Desai, K. Frenkel, N. E. Geacintov, Proceedings of the National Academy of Sciences 97 (2000) 2984-2989.
- [17] E. Kohen, R. Santus, J. Hirschberg, Recent Progress in Photobiology (Academic press, San Diego) (1995)
- [18] C. S. Foote, R. W. Denny, Journal of the American Chemical Society 90 (1968) 6233-6235.
- [19] F. Wilkinson, W. P. Helman, A. B. Ross, The Journal of Physical Chemistry 24 (1995) 663-1021.
- [20] J.G. Parker, W.D. Stanbro, Journal of Photochemistry 25 (1984) 545-547
- [21] P. B. Merkel, R. Nilsson, D. R. Kearns, Journal of the American Chemical Society 94 (1972) 1030-1031

- [22] J.M. McCord, I. Fridovich, *The Journal of Biological Chemistry* 244 (1969) 6049-6055
- [23] I. Fridovich, *Free Radicals in Biology* (Academic Press, New York) 6^{ème} édition (1976) 239-277
- [24] C.S. Foote, Doiron, D.R, Gomer, C.J. (EDs.) *Porphyrin Localisation and treatment of Tumors*. Alan R. Liss Inc., New York, (1984) 3-18
- [25] L.Y. Zang, Z. Zhang, H.P. Misra, *Photochemistry and Photobiology* 52 (1990) 677-683
- [26] P. Esser, B. Pohlmann, H.D. Scharf, *Angewandte Chemie* 106 (1994) 2093- 2108
- [27] R. Gerdes, O. Bartels, G. Schneider, D. Wöhrle, G. Schulz-Ekloff, *Polymers for Advanced Technology* 12 (2001) 152-160
- [28] W. M. Sharman, G. M. Allen, J. E. VanLier, *Drug Discovery Today* 4 (1999) 507-517
- [29] N. L. Olenick, A. K. Antunez, M. E. Clay, B. D. Rihter, M. E. Kenney, *Journal of Photochemistry and Photobiology* 57 (1993) 242
- [30] (a) T. Ben Amor, M. Tronchin, L. Bortolotti, R. Verdiglione, G. Jori, *Journal of Photochemistry and Photobiology* 67 (1998) 206
- (b) T. Ben Amor, L. Bortolotti, G. Jori, *Journal of Photochemistry and Photobiology* 71 (2000) 123
- [31] N. M. Idris, M. K. Gnanasammandhan, J. Zhang, P. C. Ho, R. Mahendran, Y. Zhang, *Nature Medicine* 18 (2012) 1580-1585
- [32] Yu Wang, K.Liu, X. Liu, K. Dohnalová, T. Gregorkiewicz, X. Kong, M. C. G. Aalders, W. J. Buma, H. Zhang, *The Journal of Physical Chemistry Letters* 2 (2011) 2083-2088.
- [33] F. Yan, R. Kopelman, *Photochemistry and Photobiology* 78 (2003) 587-591
- [34] J. Tu, T. Wang, W. Shi, G. Wu, X. Tian, Y. Wang, D. Ge, *Biomaterials* 33 (2012) 7903-79

Conclusion
Générale

Même si la photothérapie dynamique devient un traitement reconnu, elle reste en cours de développement et doit faire ses preuves pour devenir un traitement standard.

Si sa grande force vient de la simplicité de ce traitement trimodal, ainsi surtout que de permettre de s'affranchir des inconvénients des techniques classiques de traitement du cancer, ses faiblesses résident dans son manque de sélectivité tissulaire, dans la difficulté d'administration du PS et de la lumière et enfin d'une insuffisance de pénétration en profondeur des effets de la PDT.

Ce travail de thèse a ainsi été consacré au développement d'un système multicouche pour contourner les faiblesses de la PDT. Un tel système est constitué de nanoparticules dopées par des ions terres rares (le cœur), entourées d'une première couche cristalline non dopée, servant de protection vis-à-vis des propriétés optiques du cœur. Suit une coquille de silice mésoporeuse, permettant l'incorporation d'un photosensibilisateur *via* les pores de la couche de silice.

Pour atteindre ce but, différentes matrices ont été étudiées. Y_2O_3 est un composé versatile et constitue l'élément clé de plusieurs applications. En effet, il présente une énergie de phonons assez élevée, qui reste la plus faible parmi les oxydes connus.

Contrairement aux oxydes, les fluorures présentent généralement une faible énergie de phonons et une grande stabilité chimique et peuvent être utilisés comme sonde en biologie après fonctionnalisation de la surface avec une biomolécule. Dans les nombreuses matrices fluorées étudiées, nous nous sommes particulièrement intéressés à la matrice KY_3F_{10} , qui, à ce jour, a été très peu étudiée à l'échelle nanométrique. $NaYF_4$ codopé Ln^{3+} qui est réputé comme étant l'une des matrices les plus efficaces pour des processus d'up conversion entre Er^{3+} ou Tm^{3+} et Yb^{3+} grâce à leurs niveaux 4f-4f, nous sert également de matrice de référence.

Dans une première partie, chacune des matrices a été caractérisée d'un point de vue structural, morphologique et éventuellement par spectroscopie Infrarouge ou UV-Visible lors de chaque étape de la formation du système multicouche.

i) Le cœur : Les trois matrices synthétisées cristallisent dans le système cubique. Le diamètre moyen estimé pour Y_2O_3 , KY_3F_{10} et $NaYF_4$ est de 100, 30 et 9 nm, respectivement. Les distributions en taille réalisées sur un nombre N de particules à partir des clichés MET montrent des distributions relativement homogènes, et ces objets vont être donc entourés d'une première coquille cristalline.

ii) La coquille cristalline : Si les particules d'oxyde Y_2O_3 peuvent être entourées d'une coquille homogène, la caractérisation des particules issues des synthèses de la structure cœur coquille cristalline pour KY_3F_{10} et $NaYF_4$ indique que la croissance de la coquille est accompagnée de la formation de nouvelles particules non dopées. Nous avons néanmoins pu utiliser ces NPs pour la suite.

iii) La silice mésoporeuse : La fonctionnalisation des nanoparticules de structure cœur coquille cristalline a été réalisée par un enrobage polymérique d'alcoxysilanes (enrobage par de la silice) afin de rendre la surface des nanoparticules biocompatible et permettre l'incorporation du PS pour l'application PDT envisagée. L'épaisseur moyenne de la couche de silice en surface des nanoparticules obtenue est égale à 50 nm.

iv) Incorporation du Photosensibilisateur : Le PS choisi est le ZnPc, PS de 2^{ème} génération ayant des propriétés très intéressantes et une action accrue en PDT grâce à sa phototoxicité élevée. Le recouvrement entre l'émission de l' Er^{3+} et l'absorption du ZnPc justifie également le choix de ce PS. Le ZnPc a été incorporé aux particules de structure cœur coquille cristalline via les pores de la couche de silice mésoporeuse à la surface par simple imprégnation. Cette méthode d'incorporation physique a été caractérisée par spectroscopie UV-Visible et s'est avérée relativement robuste.

Dans une deuxième partie, les propriétés spectroscopiques des particules de différentes structures sont présentées pour les trois matrices sélectionnées. Nous nous sommes attachés à étudier en particulier, l'effet de la structure des particules sur les propriétés de luminescence et plus particulièrement sur la dynamique de luminescence.

Par ailleurs, sous excitation infra-rouge, ces nanoparticules émettent (suivant les dopants) dans la gamme du visible. Pour le couple Yb^{3+}/Er^{3+} , celles-ci émettent dans le bleu (410 nm), le vert (550 nm) et dans le rouge (665 nm). Les spectres de ces deux émissions en poudre et en solution dans le PEG sous une excitation Stokes et anti-Stokes ont été explorées.

Nous observons que l'intensité de l'émission rouge issue du niveau $^4F_{9/2}$ de l'Er est généralement renforcée. Les spectres de luminescence des particules en solution dans le Polyéthylène Glycol (PEG) nous ont permis tout d'abord d'évaluer l'influence de l'addition de la coquille cristalline du matériau non dopé sur le rendement de luminescence, puis l'effet de la présence du photosensibilisateur dans la couche de silice mésoporeuse. Cependant, les spectres de luminescence ne sont que très peu sensibles à l'environnement dans le cadre de cette étude.

La dynamique de désexcitation est très sensible à l'environnement, à la distribution des ions (en particulier pour les particules de petites tailles) et aux transferts d'énergie qui en résultent, et les déclins de fluorescence enregistrés nous ont permis de comprendre la dynamique de fluorescence de chaque matériau pour toutes les étapes de synthèse.

L'analyse des profils de déclins, principalement celui du niveau $^4F_{9/2}$ de Er^{3+} dans KY_3F_{10} suite à une excitation Stokes ou anti-Stokes, a permis de discerner deux mécanismes (M1 et M2) de population et de désexcitation. D'après l'importance de leur contribution respective lors de chacune des étapes de synthèse, le mécanisme M1 a été identifié comme venant de la contribution des centres de cœur tandis que le mécanisme M2 provient de la participation des centres de surface.

Pour les trois matrices étudiées, l'émission du niveau $^4F_{9/2}$ (émission « rouge ») est la plus affectée en présence du ZnPc, et l'effet le plus important est observé pour Y_2O_3 . Aucune émission « bleue » n'est observée pour Y_2O_3 compte tenu de la faible puissance utilisée pour réaliser ces expériences et la fréquence de phonon de Y_2O_3 , supérieure à celle des fluorures, est moins favorable pour observer des émissions par APTE (Addition de Photons par Transfert d'Energie) à 3 photons. Contrairement à ce qui est déclaré dans la littérature, toutes les transitions excitées par up conversion voient leur intensité également affectée, par la présence du ZnPc dans la silice mésoporeuse. Cette interaction Er-ZnPc est à l'origine de la génération des radicaux libres d'oxygène singulet.

La détection de l'oxygène singulet a été réalisée par le protocole de « bleaching » en présence des particules enrobées de silice mésoporeuse, avec ou sans ZnPc incorporé dans le PEG et de l'ABDA. L'ABDA seul a également été testé pour servir de référence.

L'intensité de la fluorescence de l'ABDA diminue en présence des nanoparticules imprégnées de ZnPc diminue considérablement contrairement aux NPs sans ZnPc. Ce résultat est une preuve de la génération de l'oxygène singulet par le ZnPc excité par l'intermédiaire du cœur des NPs.

L'intensité intégrée de la fluorescence de l'ABDA en présence de KY_3F_{10} et Y_2O_3 passe de 1 à 0,82 et en présence de $NaYF_4$ passe de 1 à 0,93.

En examinant les spectres de fluorescence de l'ABDA en présence des NP imprégnées de ZnPc, la détection d'une bande de très faible intensité vers 690 nm et caractéristique de la luminescence du ZnPc, a été observée (particulièrement pour $NaYF_4$ et Y_2O_3). L'intensité de cette émission a été évaluée en fonction du temps pour $NaYF_4$ et Y_2O_3 et les courbes obtenues sont en parfaite concordance avec les résultats du « quenching de la fluorescence de l'ABDA, ce qui nous permet de confirmer que la génération de l'oxygène singulet est associé au quenching de la fluorescence du ZnPc.

Plusieurs perspectives sont actuellement envisagées pour la finalisation de cette étude.

i) L'étude *in vivo* est actuellement en cours en collaboration avec l'ENS Cachan. Les NPs enrobées de silice mésoporeuse, avec ou sans ZnPc incorporé de chaque matrice seront déposées sur des cellules malignes marquées et excitées à 980 nm. L'observation de l'état de la cellule tumorale avant et après irradiation sera détaillée et les spectres d'émission de l'Er seront également réalisés.

ii) D'autre part, une optimisation des paramètres de synthèse de la structure coeur-coquille cristalline de KY_3F_{10} et $NaYF_4$ doit être lancée, afin d'éviter la croissance de nouvelles particules non dopées et ainsi améliorer les propriétés de PDT.

iii) La génération de l'oxygène singulet, par up conversion des nanoparticules dopées terres rares sous une excitation infrarouge à 980 nm, sans utilisation de PS a aussi été envisagée. En effet, les ions terres rares absorbent dans le visible sous une excitation infrarouge (dans la fenêtre thérapeutique) et pourraient donc générer les radicaux libres d'oxygène. Ceci pourrait permettre de s'affranchir de quelques étapes de synthèse et de mieux maîtriser la dispersion des objets en milieu biologiquement compatible.

Annexes

I. Enrobage de silice

I.1. Mode opératoire

Le protocole expérimental d'enrobage des particules par une couche de silice s'appuie sur un procédé de Stöber modifié décrit par Fu et *al.* [1].

Dans un ballon bi- ou tri-col, 100 mg de nanoparticules sont dispersés dans une solution composée de 8.3 mL d'eau, 68 mL d'éthanol et 6.64 mL d'ammoniaque 28%. Une suspension colloïdale des particules d'oxyde est alors obtenue. Une solution composée de 66 μ L de TEOS et 30 mL d'éthanol est alors ajoutée goutte à goutte lentement au mélange à l'aide d'une ampoule à brome. Après ajout, la solution est laissée à reflux à 40°C pendant 16 heures. Une suspension laiteuse est alors obtenue, contenant des particules. Elles sont ensuite extraites de la solution par centrifugations suivies de trois lavages successifs à l'éthanol à 1200 tr/min pendant 20 minutes. Le produit final est obtenu après séchage à 100°C pendant 24 h puis 250°C pendant 2 heures.

II. Caractérisations physico-chimiques

II.1. Effet de la charge de surface

La passivation de la surface des nanoparticules par la silice permet de les rendre biocompatibles. Du fait de la grande diversité des alcoxy-silanes existants, un enrobage de silice permet d'envisager le greffage de molécules sur la surface, telles que les photosensibilisateurs. Afin de tester l'efficacité de la formation de la coquille de silice sur les particules, le potentiel de surface des particules a été déterminé par ξ métrie en utilisant l'appareil Malvern Zetasizer 5000. Ceci consiste en une mesure électrophorétique où des franges lumineuses sont créées par deux faisceaux laser au sein d'une cellule de mesure, aux extrémités de laquelle se trouvent des électrodes. Lorsqu'une tension alternative est établie entre ces deux électrodes, les particules chargées présentes en solution entrent en mouvement et traversent le système de franges à une fréquence qui est directement liée à la vitesse des particules. Les photons détectés sont ensuite analysés par un corrélateur, ce qui permet de retrouver les valeurs de la mobilité électrophorétique des particules.

L'équation de Smoluchowski permet alors de calculer le potentiel ξ . On admet généralement que si le potentiel ξ est tel que $|\xi| > 30$ mV, les nanoparticules sont stables en solution ; sinon elles sont instables.

Ce potentiel ξ caractérise la charge au niveau de la limite des plans internes et externes de la double-couche d'Helmoltz entourant la particule et dépend de la valeur du pH de la solution. Plus le pH augmente, plus la charge de surface des particules est négative. L'allure des courbes de potentiel ξ en fonction du pH est donc toujours la même, passant d'une valeur positive aux faibles pH à une valeur négative aux forts pH. La valeur de pH pour laquelle le potentiel ξ s'annule est appelée point de charge nulle (PCN).

Le PCN est une valeur qui dépend de la nature de l'oxyde considéré, des adsorptions spécifique et de l'état de surface. Les PCN des oxydes purs peuvent être déterminés expérimentalement par l'étude de la variation du potentiel électrocinétique en fonction du pH. Le Tableau I présente les valeurs de PCN pour plusieurs oxydes métalliques.

Tableau I 1 : Valeur du point de charge nulle pour quelques oxydes métalliques [2-4]

Matériaux	PCN
α -Al ₂ O ₃	8-9
Y₂O₃	8
Fe ₃ O ₄	6.5
MgO	12.4
SiO₂ (amorphe et cristallisé)	2-3
TiO ₂	4-6
ZrO ₂	4-6

Les PCN de Y₂O₃ et SiO₂ étant bien distincts, si les particules sont entourées d'une coquille de silice, leur PCN devrait nettement diminuer.

La Figure présente les variations du potentiel ξ des particules de Y₂O₃, avant et après enrobage par une coquille de silice SiO₂ en fonction du pH.

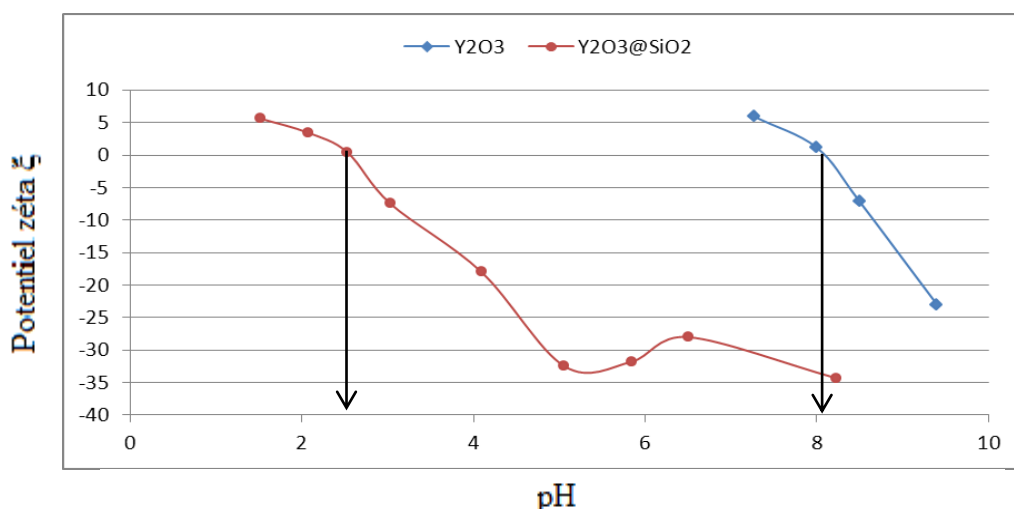


Figure I.1 : Variation du potentiel ζ des nanoparticules de Y_2O_3 (2%Yb, 0.5%Tm)@ SiO_2 en fonction du pH

Ces mesures ont été réalisées à partir d'une solution de particules à pH 8,3, diluée dans de l'eau dont le pH a été ajusté avec de la soude ou de l'acide chlorhydrique. Lors de ces mesures, la force ionique varie (ajout d'ions en changeant le pH), mais le point de charge nulle n'est pas modifié. Le PCN des particules de Y_2O_3 est mesuré comme étant à pH 8, ce qui est en accord avec la littérature [5]. En revanche, après l'étape d'enrobage par la silice, le PCN descend autour de pH 2.5, caractéristique des particules de silice et en parfait accord avec la valeur donnée par la littérature. L'enrobage des particules par la silice par le protocole décrit semble donc bien efficace.

I.2.2. Epaisseur de la coquille de SiO_2

L'épaisseur de la couche de silice déposée en surface des particules est évaluée par microscopie électronique en transmission.

Sur les clichés de MET, nous constatons tout d'abord que les particules, bien séparées avant enrobage (Figure I.2 (a) et (b)), restent dispersées même après enrobage (Figure I.2 (c) et (d)). De plus, les particules obtenues sont uniformément enrobées d'une coquille de silice d'une épaisseur d'environ 15 nm clairement visible sur la Figure I.2 (d).

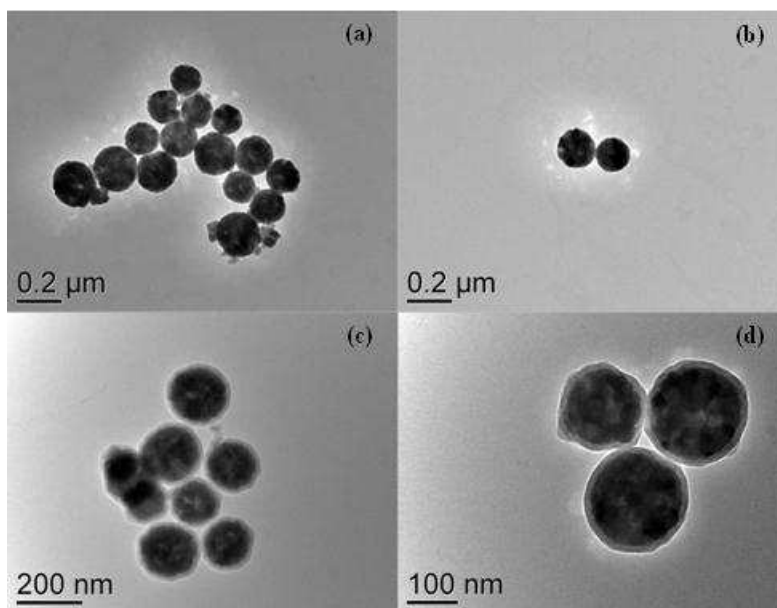


Figure I.2 : Images MET des (a) (b) particules « nues » de Y_2O_3 (0,5%Tm, 2%Yb) et (c) (d) des mêmes particules après enrobage d'une coquille amorphe de silice

La distribution en taille des particules d'oxyde d'yttrium dopé Yb/Tm et de la coquille de silice formée autour de ces particules, est représenté sur la Figure I.3.

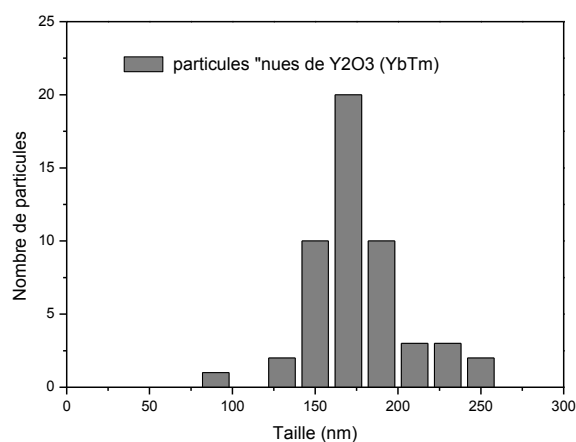


Figure I.3 : distribution en taille des particules « nues » Y_2O_3 (0,5%Tm, 2%Yb)

La valeur moyenne par le calcul sur 50 particules est de 15 nm pour la coquille de SiO_2 dense et de 175 nm pour les particules « nues » de Y_2O_3 correspondantes.

La concentration en TEOS introduit est de l'ordre de 0,5 mmol/m² et la concentration initiale des nanoparticules est égale à 5 nM, soit une surface de nanoparticules de 8,3 m²/L.

Une estimation de la taille de la coquille de silice formée autour des particules de Y_2O_3 de taille moyenne de 175 nm a été calculée théoriquement en supposant que la totalité du TEOS introduit dans le milieu réactionnel a été consommé. Le volume de SiO_2 formé est égal à 9.10^4 nm^3 soit une coquille d'épaisseur 27 nm. L'épaisseur expérimentale de la coquille de silice déposée étant plus faible, cela indique que des billes de silice ont par ailleurs été synthétisées pendant la réaction. Cependant, elles ne sont pas visibles sur les clichés de microscopie, et ont peut-être été éliminées lors des étapes de purification par centrifugation.

B. Références bibliographiques

- [1] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, *Journal of Colloid Interface Science* 26 (1968) 62-65
 - [2] M. J. Weber, *Physical Review B* 4 (1971) 2932-2939
 - [3] M.R. Brown, W.A. Shand, *Physical Letters* 18 (1965) 95
 - [4] J.P. Van Der Ziel, L.G. Van Uitert, W.H. Grodkiewicz, *Journal of Applied Physics* 10 (1970) 3308
 - [5] R.C. Plaza, F. G-Caballero, A. V. Delgado, *Colloid and Polymer Science* 279 (2011) 1206-1211
-

I. Appareillage et étalonnage

I.1. Appareillage

La luminescence a été excitée par un oscillateur Paramétrique Optique dont la fréquence est de 10 Hz, le temps de pulse de 5 ns et une longueur d'onde ajustables de 220 nm à 2 μ m (cas d'une excitation pulsée).

La luminescence anti stokes été excitée par une diode laser LIMO7-F200, centrée à 980 nm (cas d'excitation continue) et collectée au moyen d'une fibre optique. Le spectromètre utilisé est un spectromètre AvaSpec-2048-TEC piloté par le logiciel AvaSoft.

Les spectres d'émission ont été réalisés avec un monochromateur ARC (Acton Research Corporation) à 3 réseaux dont deux sont blasé à 500 nm (300 et 1200 traits) et le 3^{ème} est blasé à 1,2 μ m (600 traits) piloté par le logiciel WinSpec.

Le signal est analysé par une ICCD (Intensified Charge Coupling Device) Roper Scientific Camera PIMAX 4 comprenant une barette de 1024 diodes dont la plage de détection va de 200 à 900 nm, pilotée elle aussi par le logiciel Winspec.

Quelques spectres d'émission ont été réalisés avec un double monochromateur HR460 Jobin-Yvon, le signal a été détecté par un photomultiplicateur EMI 9558 QBM (photocathode type S20) relié à un système d'acquisition Spectraq2 (Jobin-Yvon) relié par une interface GPIB à un ordinateur.

Pour l'enregistrement des déclins de fluorescence le signal détecté par le photomultiplicateur a été numérisé et moyenné par un oscilloscope (TDS350 Tektronics) relié à l'ordinateur piloté par le logiciel Monocontrol.

I.2. Etalonnage

La diode laser a été étalonnée et la courbe en réalisant des mesures de la puissance en fonction de l'intensité I. La courbe $P=f(I)$ obtenue est représentée sur la Figure II.1.

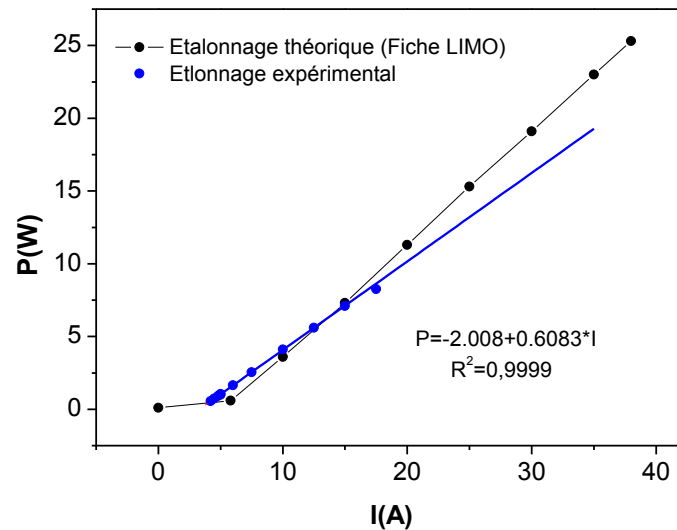


Figure II.1 : Courbe d'étalonnage de la diode laser $P=f(I)$

II. Les terres rares

II.1. Définition

Les terres rares appartiennent à un groupe de métaux aux propriétés chimiques très proches et contrairement à ce que suggère leur appellation, ils sont assez répandus dans l'écorce terrestre, à l'égal des métaux usuels.

Les lanthanides regroupent le lanthane, le cérium, le praséodyme, le néodyme, le prométhium, le samarium, l'euporium, le gadolinium, le terbium, le dysprosium, l'holmium, l'erbium, le thulium, l'ytterbium, le lutécium ainsi que l'yttrium et le scandium.

II.2. Propriétés physico-chimiques

Sous forme élémentaire, les terres rares ont un aspect métallique et sont assez malléables et ductiles, chimiquement actifs surtout à des températures élevées ou lorsqu'ils sont finement divisés.

Nombreux de ces éléments possèdent des propriétés uniques qui les rendent utiles dans de nombreuses applications en particulier dans le domaine de l'optique (émissions laser de l'ultraviolet à l'infrarouge, dispositifs d'affichage, et plus récemment le traitement quantique de l'information).

II.3. Spectroscopie des terres rares

II.3.1. Structure électronique

La configuration électronique des Lanthanides est la suivante : $[\text{Xe}][4f^n 5d^1 6s^2]$ pour lanthane, cérium ($n=1$), gadolinium ($n=7$) et lutétium ($n=14$) et $[\text{Xe}][4f^n 5d^0 6s^2]$ pour les autres éléments, où $[\text{Xe}]$ représente la configuration électronique du xénon de numéro atomique $Z=54$. Le groupe des terres rares est donc caractérisé par le remplissage progressif de la couche électronique 4f alors que les couches plus externes sont déjà remplies. Cela entraîne un phénomène dit de « contraction des lanthanides » qui se manifeste par une contraction de la fonction d'onde 4f à partir du Lanthane : le maximum de la fonction 4f se trouve par conséquent à l'intérieur des couches pleines $5s^2 5p^6$ de la configuration électronique du xénon, conférant aux ions terres rares des propriétés optiques particulières.

Les terres rares peuvent donc s'ioniser à l'état trivalent (TR^{3+}), pour la plupart, en perdant soit deux électrons 6s et un électron 4f, soit deux électrons 6s et un électron 5d, à l'état divalent (europium, dysprosium, samarium, terbium, ytterbium) ou tétravalent (terbium, dysprosium).

II.3.2. Niveaux d'énergie et hamiltonien

L'hamiltonien d'un ion TR^{3+} inséré dans une matrice cristalline s'écrit comme suit :

$$H = H_0 + H_{\text{crist}} \quad (1)$$

Avec :

- H_0 l'hamiltonien de l'ion libre que l'on peut décomposer de la manière suivante :

$$H_0 = H_{\text{config}} + H_{\text{coul}} + H_{\text{spin-orbite}} \quad (2)$$

(*) H_{config} décrit le mouvement des électrons dans l'approximation du champ central où chaque électron est animé d'un mouvement à force centrale autour du noyau considéré indépendamment des autres électrons. La résolution de l'hamiltonien H_{config} introduit les nombres quantiques n , l , m_l et définit les niveaux énergétiques nl .

(*) H_{coul} traduit la répulsion électronique entre les électrons (force de type coulombienne). La prise en compte de H_{coul} conduit à l'introduction des nombres quantiques L et S ainsi qu'à la décomposition des niveaux nl en termes spectraux ^{2S+1}L .

(*) $H_{\text{spin-orbite}}$ est l'hamiltonien d'interaction spin-orbite qui provoque une levée de dégénérescence partielle des niveaux ^{2S+1}L en multiplets $^{2S+1}L_J$ selon la notation de Russell-Saunders. Il est couramment admis que, dans le cas des terres rares, le couplage de Russell-Saunders (couplage faible) s'applique ($H_{\text{coul}} < H_{\text{spin-orbite}}$) mais en réalité, le couplage est plutôt de type intermédiaire ($H_{\text{coul}} \sim H_{\text{spin-orbite}}$). Le couplage L-S introduit l'éclatement des termes spectraux ^{2S+1}L en multiplets notés $^{2S+1}L_J$.

- H_{crist} représente les interactions de type électrostatique entre les électrons de l'ion de terre rare et son environnement et ne représente qu'une perturbation par rapport aux précédentes interactions. L'hamiltonien H_{crist} possède la symétrie du site cristallographique occupé par l'ion terre rare. L'action de H_{crist} lève la dégénérescence des multiplets $^{2S+1}L_J$ en plusieurs composantes (niveaux Stark). La dégénérescence des multiplets $^{2S+1}L_J$ est égale à $2J+1$ si J est un nombre entier et à $(2J+1)/2$ si J est demi-entier (ions de Kramer).

Les levées de dégénérescence engendrées par ces hamiltoniens sont représentées sur la Figure II.2.

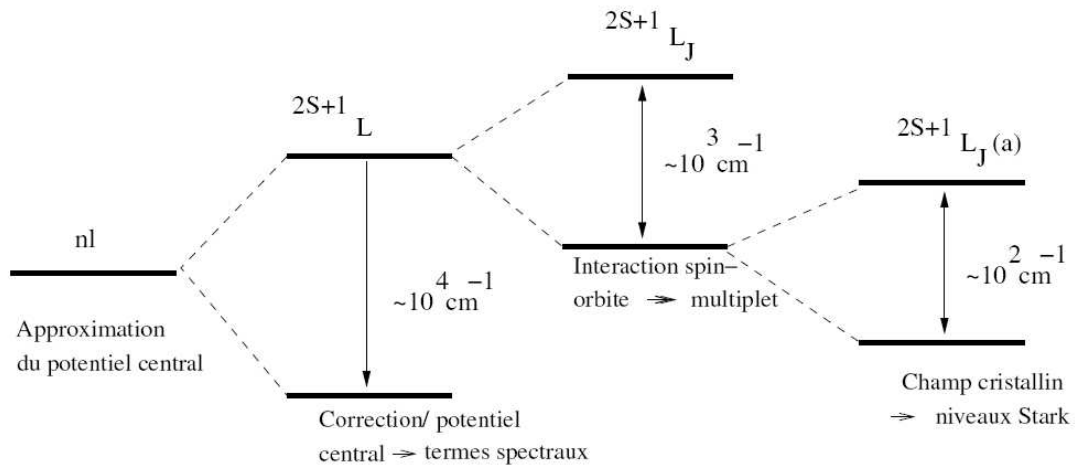


Figure II. 2: Action des différents termes de l'hamiltonien sur les électrons 4f

1.3.3. Transitions optiques

L'interaction d'un ion avec un rayonnement électromagnétique induit des transitions optiques entre les différents multiplets $2S+1 L_J$. Ces transitions sont régies par des règles de sélection déterminées en écrivant les éléments de matrice des opérateurs dipolaire électrique et dipolaire magnétique.

Pour un ion lanthanide libre, les transitions dipolaires électriques sont régies par les règles de Laporte :

$$\Delta l = \pm 1 \qquad |\Delta L| \leq 2l \qquad \Delta S = 0 \qquad |\Delta J| \leq 2l \qquad (3)$$

La parité d'un niveau est égale à $(-1)^{\sum_{i=1}^n l_i}$. Ces règles impliquent que les transitions dipolaires électriques entre niveaux de même parité sont interdites. Cela veut dire que les transitions dipolaires électriques internes à la configuration 4f sont interdites. Cependant, les transitions dites « dipolaires électriques forcées » internes à la configuration 4f sont observées grâce à l'influence du champ cristallin dont les termes impairs ($\neq 0$ lorsque le site occupé par la terre rare ne possède pas de centre de symétrie) mélangent les niveaux 4f avec ceux de la configuration 5d de parité opposée. Ce mélange lève donc partiellement l'interdiction pour l'observation de transitions dipolaires électriques internes à la configuration 4f.

Les transitions dipolaires magnétiques sont permises entre états de même parité et sont régies par les règles de sélection suivantes :

$$\Delta l=0 \quad \Delta L = 0 \quad \Delta S=0 \quad |\Delta J|=0, \pm 1 \quad \text{avec } J=0 \leftrightarrow J=0 \text{ interdit} \quad (4)$$

Puisque la plupart des transitions observées sur les spectres optiques enregistrés pour des ions terre rare sont de type dipolaire électrique, cela implique des temps de vie de la luminescence sont très longs (typiquement de l'ordre de la milliseconde). De plus, les électrons 4f étant protégés par effet d'écran par les électrons des couches externes, ils sont peu sensibles aux effets du champ cristallin ainsi qu'aux fluctuations engendrées par les vibrations de réseau, la largeur des raies observées en absorption ou en émission est réduite.

Dans le cas où une matrice de diélectrique dopée par un ion TR^{3+} est considérée, les niveaux électroniques correspondant aux états 4f de TR^{3+} sont localisés dans la bande interdite entre la bande de valence et la bande de conduction. Etant donné que les électrons de la couche 4f sont très localisés et que les fonctions d'onde ne se recouvrent pas (même en cas de très fortes concentrations en ions TR^{3+}), les niveaux électroniques correspondent à des niveaux discrets. De plus, grâce à l'effet d'écran exercé par les électrons des couches externes, la position énergétique des multiplets $^{2S+1}L_J$ varie très peu d'un matériau à l'autre. Le diagramme de Dieke [3] rassemblant le schéma d'énergie des niveaux pour les différents ions de terre rare à l'état trivalent est représenté sur la Figure II.3.

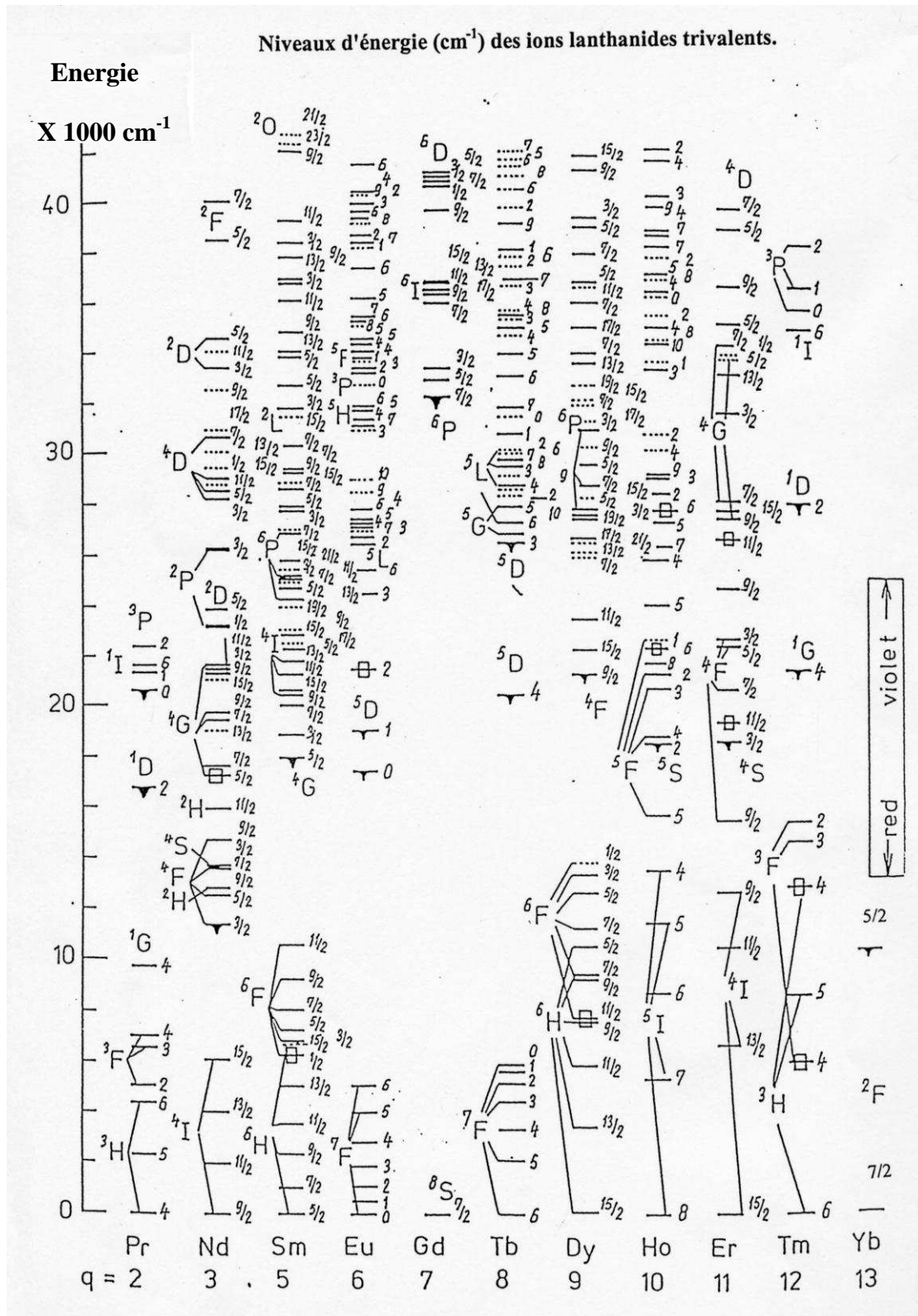


Figure II. 3 : Diagramme des niveaux d'énergie de Ln^{3+} dans LaCl_3 [1]

Certains processus se présentent comme des facteurs limitant la luminescence des ions terres rares, ils concernent des mécanismes se produisant pour des ions isolés d'autres apparaissent lorsque la concentration en ion dopants permet des interactions entre ions voisins.

II.3.4. Mécanismes internes à un ion isolé

i. Relaxation multiphonon

L'énergie des vibrations du réseau cristallin est quantifiée, le quantum d'énergie est le phonon. Lorsqu'un ion est porté à l'état excité, il peut se relaxer radiativement par émission de photons soit non radiativement en transférant son énergie sous forme de phonons à la vibration du réseau, c'est le cas de la relaxation multiphonon. Ce phénomène provoque un dépeuplement rapide de l'état excité et par conséquent annihile la luminescence. Cela se produit uniquement lorsqu'un nombre faible de phonons est requis pour franchir le gap d'énergie entre les niveaux d'énergie voisins de l'ion terre rare concerné. Dans le cadre du modèle du phonon effectif ($\hbar\omega_{eff}$) la probabilité de la relaxation multiphonon W_{NR} entre deux niveaux séparés par une énergie ΔE est proportionnelle à $exp(-\alpha.\Delta E)$ où $\Delta E = N \hbar\omega_{eff}$, avec N le nombre de phonons d'énergie $\hbar\omega_{eff}$ nécessaires pour couvrir le gap énergétique entre le niveau excité et le niveau immédiatement inférieur, α est une constante caractéristique de la matrice, c'est la loi du gap [4]. On considère communément que lorsque l'énergie maximale des phonons de la matrice ($\hbar\omega_{eff}$) est supérieure à 25% du gap entre les deux niveaux, la luminescence sera complètement annihilée. Pour une énergie maximale des phonons comprise entre 10 et 25% du gap, l'extinction de la luminescence deviendra dépendante de la température. Elle sera négligeable pour le cas où la matrice présente des phonons moins énergétiques (N grand).

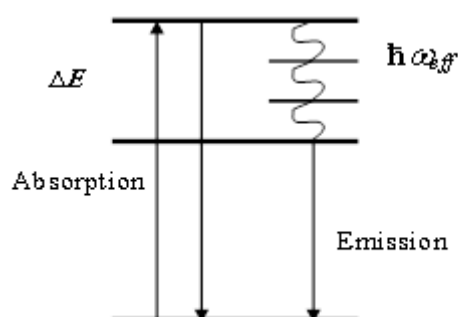


Figure II.4 : Schéma représentant l'interaction des électrons avec les photons (absorption, émission) et avec les phonons (relaxation multiphonon)

L'importance de la relaxation multiphonon dépend donc très fortement de la nature de la matrice hôte ainsi que de la structure électronique des ions terres rares présents.

ii. Absorption dans l'Etat Excité (AEE ou ESA - Excited State Absorption)

L'absorption dans l'état excité est un processus séquentiel qui ne fait intervenir qu'un seul ion de terre rare en ne tenant pas compte de la migration d'énergie. Il s'agit simplement de l'absorption successive de photons d'une certaine énergie à partir des niveaux électroniques réels (contrairement aux transitions à deux photons faisant intervenir des niveaux virtuels). C'est l'un des processus d'up conversion (il permet de convertir une basse fréquence en haute fréquence). Il est souvent observé dans le cas des ions terre rare en raison du très grand nombre de niveaux électroniques et de leur résonance énergétique et du caractère métastable des niveaux d'énergie concernés qui permet d'éviter la relaxation dès la première promotion.

Dans une première étape, l'ion dans l'état fondamental (1) absorbe un photon d'énergie $h\nu$, il se trouve alors dans l'état excité (2) d'où il peut absorber un second photon de même énergie, il se trouve alors dans l'état excité (3). L'électron se relaxe ensuite en émettant un photon d'énergie plus grande que les photons absorbés. Le processus est résumé sur la Figure II.5 ci-après :

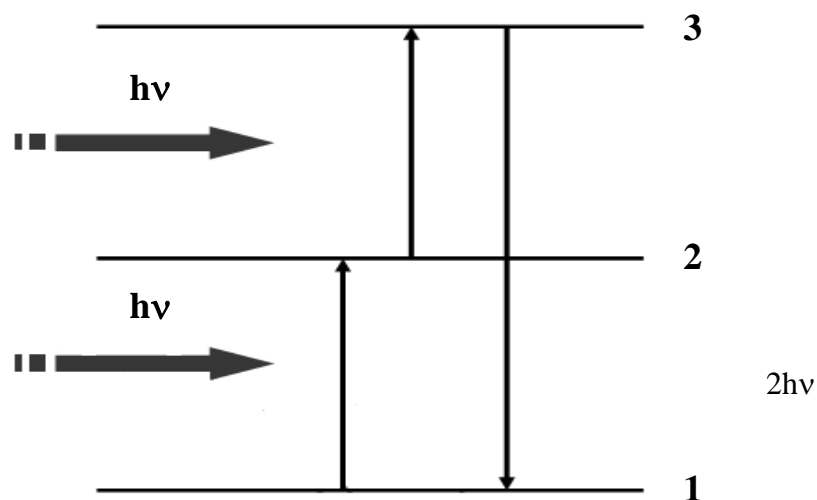


Figure II.5 : Absorption dans l'Etat Excité (principe)

D'autres mécanismes, transferts d'énergie peuvent se produire qui mettent en jeu l'interaction entre plusieurs ions.

II.3.5. Mécanismes multi-centres : Transferts d'énergie

Lorsque la concentration en ions terre rare est suffisante pour trouver deux ou plusieurs ions proches les uns des autres, ils interagissent sous l'influence de forces électrostatiques. Dans le cas des ions Tr^{3+} , les interactions de type multipolaires électriques sont les plus importantes, la probabilité de transfert par unité de temps entre un ion donneur et un ion accepteur est de la forme [5, 6] :

$$W_{DA}(R) = \frac{C^{(6)}}{R^6} + \frac{C^{(8)}}{R^8} + \frac{C^{(10)}}{R^{10}} + \dots \quad (5)$$

où C est la constante de couplage, R la distance donneur-accepteur, les exposants 6, 8, 10 correspondent à des interactions dipôle – dipôle, dipôle – quadripôle, quadripôle – quadripôle respectivement.

La probabilité de transfert donneur-accepteur s'écrit le plus souvent sous la forme

$$W_{DA}(R) = \frac{1}{\tau_0} \left(\frac{R_0}{R} \right)^s \quad (6)$$

où τ_0 est la durée de vie du donneur en l'absence d'accepteur, R_0 la distance critique, distance à laquelle le taux de transfert d'énergie est égal au taux de désexcitation radiative du donneur ($1/\tau_0$), s prend les valeurs 6, 8 ou 1 à selon la nature de l'interaction. D'après les Equations (5) et (6), la constante C est définie par la relation suivante :

$$C = \frac{R_0^s}{\tau_0}$$

On distingue plusieurs cas de limites pour les transferts d'énergie, des modèles macroscopiques ont été établis pour les décrire et exprimer le déclin de fluorescence de l'ion donneur.

i. Transfert direct

Dans ce cas, un ion donneur à l'état excité transfère directement son énergie à un ion accepteur (dans l'état fondamental), ce dernier se trouvant dans un proche voisinage de l'ion donneur. (Figure II.6a). Ce processus a été modélisé par Inokuti et Hirayama (7) et l'intensité de fluorescence du donneur en fonction du temps s'écrit :

$$I(t) = I(0) \exp \left[-\frac{t}{\tau_0} - \frac{4}{3} \pi \Gamma \left(1 - \frac{3}{s} \right) N_a R_0^3 \left(\frac{t}{\tau_0} \right)^{3/s} \right] \quad (7)$$

où τ_0 est la durée de vie intrinsèque du donneur, R_0 la distance critique, N_a la concentration en ions accepteurs.

ii. Diffusion limitée

L'énergie d'excitation peut migrer dans le système des ions donneurs avant qu'un transfert direct donneur→accepteur se produise (Figure I.5b). Ce mécanisme a été modélisé par Yokota et Tanimoto pour une interaction donneur-accepteur de type dipolaire électrique (8), et prévoit une variation de l'intensité de luminescence du donneur en fonction du temps selon l'expression suivante :

$$I(t) = I(0) \exp \left[-\frac{t}{\tau_0} \right] \exp \left[-\frac{4}{3} \pi^{3/2} N_a (Dt)^{1/2} \left(\frac{1 + 10.87x + 15.50x^2}{1 + 8.743x} \right)^{3/4} \right] \quad (8)$$

où $x = DC^{-1/3} t^{2/3}$, avec D la constante de diffusion, τ_0 la durée de vie intrinsèque du donneur, N_a la concentration en accepteur. Lorsque la diffusion dans le système des ions donneurs est négligeable, l'expression 8 est réduite à l'Equation 7.

Ces deux types de transferts d'énergie sont schématisés sur la Figure I.5.

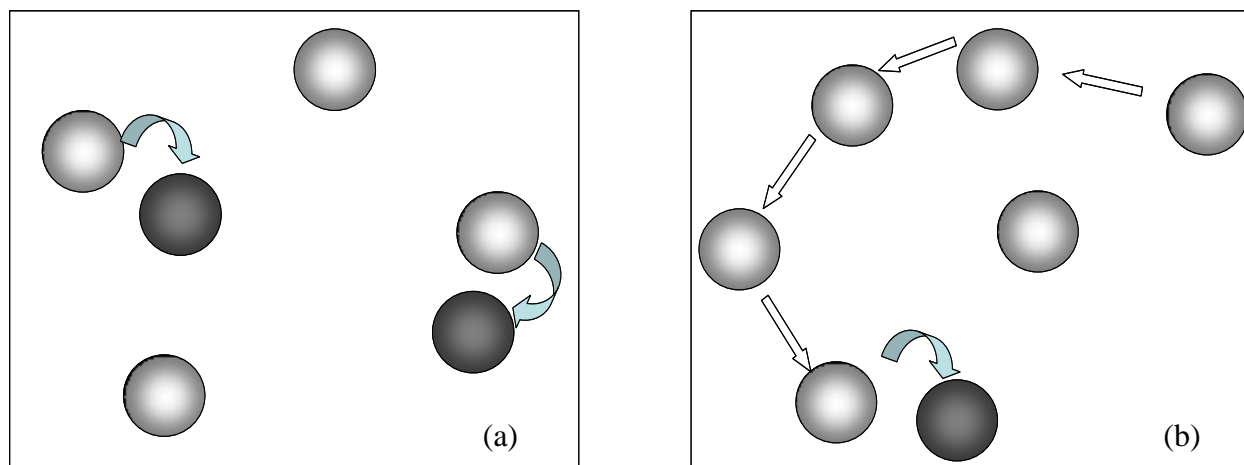


Figure II.6 : Mécanismes de transferts d'énergie entre ions donneurs et accepteur
(a) transfert direct (modèle de Inokuti et Hirayama), (b) diffusion limitée (modèle de Yokota et Tanimoto)

iii. Diffusion rapide

L'énergie peut migrer très rapidement dans le système donneur avant d'être piégée par une impureté (Figure II.7). Dans ce modèle de diffusion rapide, le déclin de fluorescence suit une loi exponentielle avec une constante de temps beaucoup plus faible que le temps de vie du niveau du donneur mesuré pour de très faibles concentrations, ou en l'absence d'accepteurs.

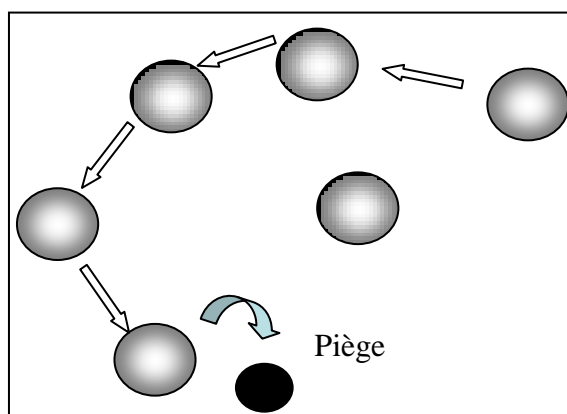


Figure II.7 : Mécanisme de diffusion rapide

iv. Addition de Photon par Transfert d'Énergie

Le transfert d'énergie peut également se produire entre deux ions à l'état excité, le processus de l'addition de Photons par Transfert d'Énergie mis en évidence par F. Auzel [9-13] est schématisé sur la Figure I.8. L'absorption du premier photon permet une promotion d'électron dans l'état excité métastable de l'ion B (représenté par une flèche en trait plein sur la figure). L'absorption du second photon par l'ion A introduit la même transition. Puis l'interaction entre ces deux ions se trouvant dans l'état excité métastable peut introduire un transfert d'énergie. Le transfert est représenté sur la figure en pointillés: la relaxation de l'ion A permet une seconde promotion dans l'état encore plus élevé pour l'ion B. Un trait plein partant du second niveau excité représente l'émission du photon dont l'énergie est supérieure à celle des photons absorbés.

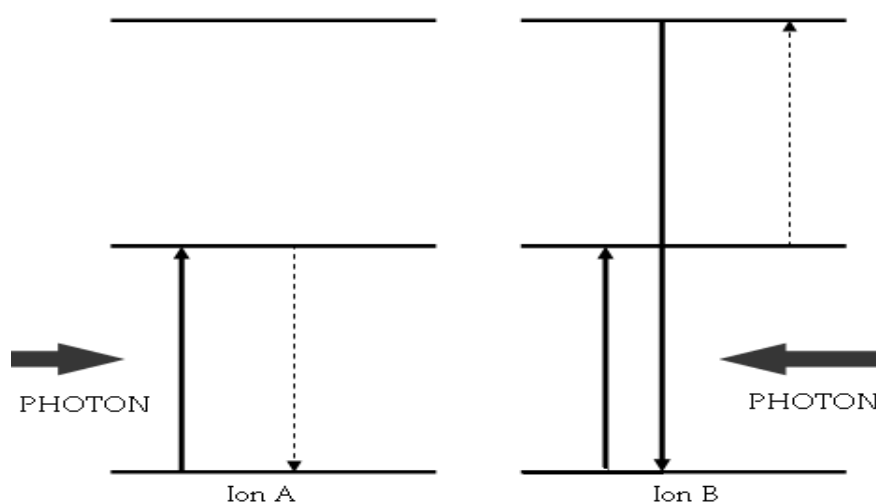


Figure II.8 : Schéma du principe de l'Addition de Photons par Transferts d'Énergie (APTE).

Ainsi, le APTE est un processus qui nécessite l'absorption de deux photons pour l'émission d'un photon. Il faut de plus que l'on dispose d'au moins deux ions terres rares suffisamment proches, afin que l'interaction entre deux ions excités soit plus probable ; et que les durées de vies des niveaux considérés soient suffisamment longues. L'énergie mise en jeu dans ce processus est conservée, mais les écarts entre niveaux d'énergie peuvent varier légèrement. Dans ce cas, la conservation de l'énergie est assurée par la participation des phonons de la matrice.

v. AEE versus APTE

Les deux principaux phénomènes (les plus efficaces) conduisant à l'up conversion sont l'Absorption dans l'Etat Excité (AEE) et l'Addition de Photons par Transferts d'Energie (APTE), dénommé désormais ETU pour Energy Transfer Up conversion. Le mécanisme d'up conversion est contraire au principe de Stokes qui stipule que l'énergie d'absorption de photons par un électron est supérieure à l'énergie d'émission : lorsque l'énergie d'émission est supérieure à l'énergie d'absorption on parle d'émission anti-Stokes.

Le fait qu'il faille absorber plusieurs photons pour en émettre un seul conduit à la non linéarité des deux phénomènes. De plus, la proximité des ions de terre rare implique certaines interactions conduisant parfois à une diminution de la luminescence. Pour une matrice donnée, il s'agit donc de trouver la concentration optimale des dopants pour obtenir le meilleur rendement d'up conversion.

III. Références bibliographiques

- [1] P. Goldner, O. Guillot-Noël, G. Dantelle, M. Mortier, T.H. My, F. Bretenaker, *The European Physical Journal Applied Physics* 37 (2007) 161–168
 - [2] P. Goldner, O. Guillot-Noël, M. Tonelli, F. Bretenaker, T.H. My, *The European Physical Journal Applied Physics* 42 (2008) 121–124
 - [3] G. H. Dieke, *Spectra and Energy Levels of Rare Earth Ions in Crystals*, H.M. Crosswhite and H. Crosswhite, Edts, Interscience Publishers, New York (1968) 142
 - [4] L. A. Riseberg, H.W. Moos, *Physical Review B* 174 (1968) 429-438
 - [5] D. L. Dexter, *The Journal of Chemical Physics* 21 (1953) 836-850
 - [6] T. Förster, *Annals of Physics* 2 (1948) 55-75
 - [7] M. Inokuti, F. Hirayama, *The Journal of Chemical Physics* 43 (1965) 1978-1989
 - [8] M. Yokota, I. Tanimoto, *Journal of the Physical Society of Japan* 22 (1967) 779
 - [9] F. Auzel, *Les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris)* 262 (1966) 1016
 - [10] F. Auzel, *Les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris)* 263 (1966) 765
 - [11] F. Auzel, *Les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris)* 263 (1966) 819-
 - [12] F. Auzel, *Proceeding of the I.E.E.E* 61 (1973) 758-786
-
-

[13] F. Auzel, D. Pécile, Les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris) B 277 (1973) 155
