

Nano-objets photo-activés pour le ciblage cellulaire et l'hyperthermie

Xue Hou

▶ To cite this version:

Xue Hou. Nano-objets photo-activés pour le ciblage cellulaire et l'hyperthermie. Optique / photonique. Université Paris Saclay (COmUE), 2019. Français. NNT: 2019SACLC011. tel-02051858

HAL Id: tel-02051858 https://theses.hal.science/tel-02051858

Submitted on 28 Feb 2019

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.





Nano-objets photo-activés pour le ciblage cellulaire et l'hyperthermie

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay préparée à CentraleSupélec

École doctorale n°573 Interfaces : approches interdisciplinaires, fondements, applications et innovation

Spécialité de doctorat : Physique

Thèse présentée et soutenue à Cachan, le 28 janvier 2019, par

Madame Xue HOU

Composition du Jury:

Renaud Bachelot

Professeur, Université de Technologie de Troyes Rapporteur

Nordin Felidi

Professeur, Université Paris Diderot Rapporteur

Souhir Boujday

Professeure, Sorbonne Université Examinatrice

Yves Borensztein

Directeur de Recherches, CNRS – Sorbonne Université Examinateur

Bernard Bourguignon

Directeur de Recherches, CNRS – Université Paris-Saclay Président du jury

Paolo Maiol

Maître de conférences, Université Claude Bernard – Lyon 1 Examinateur

Bruno Palpant

Professeur, CentraleSupélec Directeur de thèse

— Niels Bohr.

Remerciements

Merci à Mme. Isabelle Ledoux, directrice du Laboratoire de photonique quantique et moléculaire (LPQM), m'a permis de réaliser ma thèse dans le laboratoire.

Je m'en souviens encore le moment où j'ai reçu le mail de Bruno qui m'a offert cette opportunité de travailler sur ce sujet de thèse passionnant. Merci à Bruno de m'avoir fait la confiance et m'avoir soutenue tout au long de ma thèse sur la recherche et les missions complémentaires d'enseignement. Je ne saurais pas trouver des termes convenables pour exprimer ma reconnaissance pour sa patience et sa bonne humeur surtout pendant la période de rédaction et de correction. Il a consacré un temps énorme pour corriger et discuter sur l'article et mon manuscrit. Il m'a appris la rigueur scientifique en donnant l'exemple. Avant chaque présentation orale, il a toujours essayé de trouver le temps d'écouter et d'améliorer ma répétition. Les choses qu'il m'a appris non seulement sur la recherche me serviront surement pour toute ma vie. C'est vraiment une chance d'être formé par lui pendant ma thèse.

Merci à tous les collègues avec qui j'ai étroitement travaillé sur le projet *Nan'Onsen*, Emilie, Céline, Cécile, Nicolas, Raj, Toni, Guillaume et Guilhem. J'ai beaucoup appris avec eux sur les aspects de chimie, de biologie et biomédical du projet. Vos aides et vos travaux actifs m'encourage de surmontrer les difficultés que j'ai rencontrés sur les expériences. Surtout un grand merci à Emilie, qui essaie toujours à trouver un créneau, même à 6h du matin, pour que je puisse correctement planifier des expériences.

Je voudrais aussi remercier les collègues de l'équipe, Nadia, Christine, Nadezda et Van. Merci à Nadia qui m'ont beaucoup aidé non seulement sur l'expérience mais aussi sur le déménagement du labo. Elle est toujours prête à répondre aux questions même après son départ. Merci à Christine pour les très bons gâteaux faits maison. Merci à Nadezda pour sa motivation de travailler sur la culture cellulaire jusqu'aux derniers jours avant les vacances. Merci à Van pour la bonne ambiance dans le bureau et dans la salle de manip. C'est une fille qui est très généreuse pour aider les gens. Merci à tous les voisins de bureau pendant ma thèse pour tous les discussions intéressantes : Timothée, Tadele, Majid, Adrien, Naby, Syrine.

Merci à Jean-Michel Gillet, Pierre-Aymeric Janolin, Bruno et Thomas, qui m'ont offert la possibilité de faire l'enseignement à Centrale. C'est une expérience très riche qui me permet de reprendre certain cours et de creuser plus que ma période de l'école d'ingénieur. Merci à Nicolas Giraud qui m'a formé et beaucoup aidé pour la TP RMN.

Je remercie les membre de jury, Renaud Bachelot, Nordin Felidj, Souhir Boujday, Yves Borensztein, Bernard Bourguignon, Paolo Maioli pour avoir accepté de participer à ma jury de 4 REMERCIEMENTS

thèse et le temps consacré pour lire et corriger mon manuscrit. Merci pour tous les remarqueurs que vous avez fait pour éclaircir mon manuscrit.

Enfin, je tiens à remercier ma famille, et mon copain. Merci particulièrement à ma mère pour ses soutiens dans tous mes choix et les visites qu'elle m'a rendu au cours de ma thèse. Merci à Shihe pour sa décision difficile de retourner en France et m'accompagner depuis la rédaction. Merci à Youning de m'accompagner pour la soutenance.

Table des matières

K	emer	ciements		
In	trod	uction		7
1	Nar	opart	icules plasmoniques	9
	1.1	Propr	iétés optiques de nanoparticules d'or	10
		1.1.1	Réponse stationnaire	10
		1.1.2	Réponse transitoire ultrarapide	19
	1.2	Conve	ersion photothermique	24
		1.2.1	Source lumineuse continue	25
		1.2.2	Source laser impulsionnelle	27
	1.3	La the	érapie photothermique du cancer	29
		1.3.1	Vectorisation moléculaire	31
		1.3.2	Ciblage avec polymères thermosensibles	31
2	Abs	$\mathbf{sorptio}$	on d'impulsions ultrabrèves par les nanoparticules plasmoniques	35
	2.1	Descri	iption de l'expérience	37
		2.1.1	Caractérisation de la solution de nanobâtonnets d'or	37
		2.1.2	Dispositif expérimental et quantités mesurées	38
		2.1.3	Linéarité des détecteurs	40
		2.1.4	Circulation de la solution	40
	2.2	Résult	tats expérimentaux	42
	2.3	Analy	se	44
		2.3.1	Simulation	44
		2.3.2	Influence de l'intensité crête	46
		2.3.3	Influence de la morphologie réelle des échantillons	49
		2.3.4	Influence de la fréquence de répétition du laser	51
		2.3.5	Discussion sur le changement de morphologie au-dessus du seuil	52
		2.3.6	Réversibilité des expériences au-dessous du seuil	55
		2.3.7	Influence de la durée d'impulsion	57
		2.3.8	Effet la de nature athermal de la distribution électronique	58
	2.4	Consé	quences pour les applications biomédicales	59
		2.4.1	Evaluation de Δ_{abs} dans le cas où $\lambda_{laser} = \lambda_{LgSPR}$	59
		2.4.2	Application à la conversion photothermique	61
3	Nar	ohybr	rides pour de nouvelles thérapies anti-cancéreuses	65
	3.1	Les po	olymères thermosensibles et les greffages associés	66

		3.1.1	Nanohybrides de Jeffamine modifiée	67
		3.1.2	Nanohybrides de PVCL	71
	3.2	Carac	térisation des nanohydrides	72
		3.2.1	Transtion de phase des nanohybrides	73
		3.2.2	Cytotoxicité des nanohybrides	78
	3.3	Expér	iences in vitro avec nanohybrides de PVCL	88
		3.3.1	Dispositif expérimental pour l'irradiation	89
		3.3.2	Protocole de test de viabilité cellulaire	93
		3.3.3	Résultats	96
	3.4	Expér	iences in vivo avec nanohybrides de PVCL	106
		3.4.1	Etude de la transmittance du tissu tumoral avec le laser c w $\ldots\ldots\ldots$	106
		3.4.2	Expérience in vivo : méthodes	109
		3.4.3	Résultats	111
	3.5	Traite	ment du cancer du sein surexprimant HER2 par des nanocoquilles sous	
		illumi	nation laser	116
		3.5.1	Cytotoxicité	117
		3.5.2	Effet photothermique	118
	DI	. 1		
4	Pho	otolum	inescence des nanoparticules d'or $:$ étude bibliographique ϵ	${f et}$
		1711		100
		délisat		123
	moo 4.1	Revue	des études sur la photolumine scence de nano-objets plasmoniques	124
		Revue	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon	124 125
		Revue 4.1.1 4.1.2	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques	124 125 131
		Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon	124 125 131 132
		Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques	124 125 131 132 132
		Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon	124 125 131 132 132 134
		Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique	124 125 131 132 132 134 136
	4.1	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon	124 125 131 132 132 134 136 138
	4.1	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation	124 125 131 132 132 134 136 138
	4.1	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation at de simulation numérique	124 125 131 132 132 134 136 138 140
	4.1	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me Résult 4.3.1	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation at de simulation numérique Spectre de photoluminescence d'un AuNR	124 125 131 132 132 134 136 138 140 140
	4.1	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation at de simulation numérique	124 125 131 132 132 134 136 138 140
Co	4.1 4.2 4.3	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me Résult 4.3.1	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation at de simulation numérique Spectre de photoluminescence d'un AuNR	124 125 131 132 132 134 136 138 140 140
	4.2 4.3	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me Résult 4.3.1 4.3.2	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation at de simulation numérique Spectre de photoluminescence d'un AuNR	124 125 131 132 134 136 138 140 140
A	4.2 4.3 System	Revue 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.1.5 4.1.6 4.1.7 Un me Résult 4.3.1 4.3.2	des études sur la photoluminescence de nano-objets plasmoniques Photoluminescence à 1 photon Synthèse des résultats sur la 1PPL Photoluminescence multiphotonique Absorption multiphotonique séquentielle Diffusion inélastique de la lumière Rayonnement thermique Synthèse des résultats sur la MPPL odèle en régime de haute intensité d'excitation at de simulation numérique Spectre de photoluminescence d'un AuNR Étude de l'ordre de non-linéarité	124 125 131 132 134 136 138 140 140 142 147

Introduction

L'utilisation de nanoparticules plasmoniques pour les arts décoratifs remonte à plusieurs siècles avant notre ère. Exemple emblématique, la coupe de Lycurgue est datée du 4^e siècle. Elle est connue pour son dichroïnsme, sa couleur variant selon qu'elle est observée en transmission ou en réflexion diffuse. Les nanoparticules de métaux nobles furent beaucoup utilisées pour la coloration du verre au Moyen Age. Il faut attendre jusqu'à 1904, avec les travaux de J. C. Maxwell-Garnett, pour comprendre la couleur du "verre rubis" [1]. La théorie de Mie, développée à la même époque, démontre clairement dans le cas d'une particule métallique sphérique homogène la présence d'une résonance dans son spectre d'extinction [2]. On l'appelle la résonance de plasmon de surface (surface plasmon resonance en anglais, ou SPR) localisé. Elle est due à l'oscillation collective des électrons de conduction de part et d'autre du cœur ionique, induite par une onde électromagnétique de fréquence ad hoc. Les nanoparticules plasmoniques sont largement étudiées pour leur section efficace d'absorption élevée, l'exaltation du champ proche à leur voisinage et leur grande efficacité de conversion photothermique. De plus, la SPR peut être accordée à un certain domaine spectral en jouant sur la forme, la taille de la particule et son milieu environnant. Par exemple, dans le cas des nanobâtonnets d'or (AuNR), la brisure partielle de symétrie par rapport à la sphère fait apparaître deux modes plasmon. L'un est généré par un champ électrique parallèle au grand axe du AuNR; il est appelé mode SPR longitudinal (LgSPR). L'amplitude et la longueur d'onde de la LgSPR augmentent avec le rapport d'aspect du AuNR [3]. L'accord de la LgSPR à la fenêtre de transparence des tissus biologiques (650 - 1350 nm) [4] est relativement facile grâce à la méthode de synthèse des AuNR aujourd'hui bien maitrisée [5,6].

L'avènement des lasers à impulsions ultrabrèves a élargi l'étude de la réponse dynamique de nombreux systèmes dans divers domaines. Par exemple, la dynamique de la réponse optique de nanoparticules plasmoniques est beaucoup étudiée grâce aux mesures de type pompe-sonde [7–10]. De plus, les lasers femtosecondes peuvent induire une ablation de matière précise [11], ce qui fait qu'ils sont très intéressants par exemple dans le domaine de la nanochirurgie [12], comme dans la technique Lasik (Laser-Assisted In-Situ Keratomileusis) femtoseconde. Le prix Nobel de physique 2018 a été attribué pour moitié pour la découverte d'une méthode de production d'impulsions optiques ultracourtes de haute intensité. En excitant des nanoparticules plasmoniques par de telles impulsions ultracourtes, on peut générer d'autres phénomènes intéressants. Par exemple, le profil d'échauffement par conversion photothermique est plus confiné autour des nanoparticules que dans le cas d'une excitation par laser continu [13]; l'éjection photo-induite d'électrons des nanoparticules métalliques peut produire dans l'eau des dérivés réactifs de l'oxygène (reactive oxygen species en anglais, ou ROS) [14]. On peut aussi générer de la cavitation à cause de l'élévation de température importante ou via le nano-plasma résultant de la photo-émission d'électons [15]. Ces effets peuvent causer des dommages aux cellules biologiques, voire les détruire. Ceci fait des nanoparticules

8 INTRODUCTION

plasmoniques une solution potentielle pour la thérapie contre le cancer. Parmi les métaux nobles, l'or est connu pour être un métal chimiquement inerte. Grâce à cette stabilité, beaucoup d'études ont été menées sur la cytotoxicité, la biodistribution et la pharmacocinétique des nanoparticules d'or en vue d'applications thérapeutiques [16–18]. De plus, la photoluminescence des nanoparticules plasmoniques, observée dès le début des années 2000 [19–21], est un phénomène intéressant pour l'imagerie biomédiale [22]. Du côté fondamental, l'orgine de ce phénomène est aujourd'hui encore controversée dans la communauté de la plasmonique.

Cette thèse a pour but principal de développer et d'étudier des nanohybrides photo-activés pour la thérapie contre le cancer. Elle nécessite d'œuvrer en collaboration avec chimistes, biologistes et médecins. Dans le cadre de cette thèse, nous avons choisi de travailler avec des polymères thermosensibles greffés à la surface de AuNR. Lorsque'une solution aqueuse de tels polymères thermosensibles est chauffée au-delà d'une certaine température, les polymères initialement hydrophiles deviennent hydrophobes. Leur affinité pour les membranes cellulaires est alors augmentée. En les greffant sur la surface des AuNR, nous formons des nanohybrides qu'une irradiation laser impulsionnelle permet de chauffer grâce à l'effet photothermique local, afin d'induire le ciblage cellulaire; avec une deuxième impulsion, les cellules tumorales ainsi ciblées sont détruites par hyperthermie localisée.

La thèse est structurée de la manière suivante. Dans le chapitre 1, nous présenterons des outils théoriques et numériques permettant de calculer les propriétes optiques stationnaires et transitoires ultrarapides de l'or massif et de nanoparticules d'or. Ensuite, nous nous intéresserons à la conversion photothermique pour deux types de sources d'excitation : laser continu et laser subpicoseconde. Enfin, nous présenterons deux exemples d'application à la thérapie contre le cancer avec des nanoparticules plasmoniques, mettant en œuvre deux méthodes de ciblage différentes.

Dans le chapitre 2, nous décrirons un travail expérimental qui démontre la variation ultrarapide de la section efficace d'absorption optique de nanostructures plasmoniques pendant le passage de l'impulsion ultracourte excitatrice. Ce résultat est bien interprété grâce au modèle développé depuis plusieurs années dans l'équipe. Il démontre l'importance de tenir compte de la nature non thermale de la distribution électronique pour évaluer l'énergie absorbée sous excitation laser ultracourte.

Dans le chapitre 3, nous entrerons au cœur du sujet de thèse. Nous exposerons le travail multidisciplinaire effectué en collaboration avec nos collègues. Nous commencerons par la méthode de synthèse de nanohybrides et leur caractérisation, en particulier par spectrophotométrie. Ensuite, nous présenterons l'évaluation de la cytotoxcité de ces nanohybrides. Enfin, nous décrirons les résultats d'expériences *in vitro* et *in vivo* mettant en œuvre l'interaction d'impulsions subpicosecondes et de nanohybrides en présence d'objets biologiques.

Dans le dernier chapitre, nous présenterons une étude sur la photoluminescence de nanoparticules plasmoniques. Il s'agit d'un travail préliminaire qui s'appuie sur le modèle athermal utilisé dans le chapitre 2. Une étude bibliographique sera d'abord présentée. Ensuite, nous nous focaliserons sur la photoluminescence multiphotonique en régime de haute intensité incidente. Nous proposerons un modèle basé sur le mécanisme de rayonnement thermique du gaz d'électrons chauds photo-généré dans les nanoparticules métalliques.

Chapitre 1

Nanoparticules plasmoniques

Sommaire

1.1 Pr	opriétés optiques de nanoparticules d'or	10
1.1.1	Réponse stationnaire	10
1.1.2	Réponse transitoire ultrarapide	19
1.2 Co	nversion photothermique	24
1.2.1	Source lumineuse continue	25
1.2.2	Source laser impulsionnelle	27
1.3 La	thérapie photothermique du cancer	29
1.3.1	Vectorisation moléculaire	31
1.3.2	Ciblage avec polymères thermosensibles	31

Introduction

Les nanoparticules plasmoniques possèdent une section efficace d'absorption importante dans le domaine spectral de leur résonance plasmon qui leur confère une grande efficacité de conversion photothermique. Le confinement thermique peut alors être modulé selon le choix du le type de source lumineuse utilisée (impulsionnelle ou continue). Ces propriétés ouvrent une nouvelle voie pour la thérapie contre le cancer par hyperthermie. Afin de développer une telle application biomédicale, il est nécessaire de bien évaluer l'énergie absorbée, la température des AuNP et la topographie de l'échauffement dans le milieu environnant. Dans ce but, nous commençons par présenter les travaux déjà effectués sur les propriétés optiques de AuNP en régime stationnaire et en régime transitoire ultrarapide. Ceci nous permettra d'estimer l'énergie absorbée par les AuNP avec différents types de source lumineuse. Ensuite, nous étudierons l'effet photothermique selon les sources d'excitation utilisées. Enfin, nous présenterons deux exemples d'application à la thérapie contre le cancer par photothermie en mettant en œuvre des méthodes de ciblage différentes. Notons que la partie la modélisation du régime de distribution électronique athermale est basée sur la thèse de T. Labouret, effectuée précédemment dans notre équipe [23].

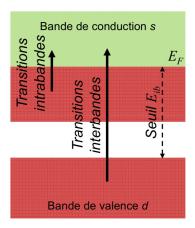


Fig. 1.1 – Schéma simplifié des bandes d'énergie de l'or autour du niveau de Fermi, et des deux types de transitions électroniques induites par l'absorption d'un photon. D'après [29].

1.1 Propriétés optiques de nanoparticules d'or

1.1.1 Réponse stationnaire

a. Réponse optique de l'or massif

La réponse optique de l'or massif est décrite par sa fonction diélectrique $\varepsilon(\omega)$ qui relie le déplacement électrique $\mathbf{D}(\omega)$ à l'intérieur du métal au champ appliqué $\mathbf{E}(\omega)$ par la relation constitutive pour un milieu continu, homogène, linéaire et isotrope [24]:

$$\mathbf{D}(\omega) = \varepsilon_0 \varepsilon(\omega) \mathbf{E}(\omega), \tag{1.1}$$

où ε_0 est la permittivité du vide. Le matériau est dispersif en raison de l'inertie des charges. Le fait que la réponse s'établisse avec un retard par rapport à l'excitation est traduit par une valeur complexe de la fonction diélectrique qui peut s'écrire sous la forme complexe :

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega). \tag{1.2}$$

Ses parties réelle, $\varepsilon_1(\omega)$, et imaginaire, $\varepsilon_2(\omega)$, sont reliées par les relations de Kramers-Kronig :

$$\varepsilon_{1}(\omega) = 1 + \frac{1}{\pi} V P \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\varepsilon_{2}(\omega')}{\omega' - \omega} d\omega'
\varepsilon_{2}(\omega) = \frac{-1}{\pi} V P \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\varepsilon_{1}(\omega')}{\omega' - \omega} d\omega', \tag{1.3}$$

où VP est la valeur principale de Cauchy. En utilisant ces relations, on peut par exemple déduire la fonction diélectrique d'un matériau de la mesure de sa réflectance [25, 26]. Pour l'or, les valeurs de $\varepsilon(\omega)$ à température ambiante sont la plupart du temps prises égales à celles de Johnson & Christy [27] ou à celles reportées dans l'ouvrage de Palik [28]. La fonction diélectrique de l'or dans le domaine visible ou son voisinage consiste en deux contributions différentes (Fig. 1.1). L'une est due aux transitions induites par l'absorption d'un photon depuis un état d'énergie inférieure à

l'énergie de Fermi dans la bande de conduction vers un état vacant de cette même bande. Il s'agit donc d'une transition intrabande dont la contribution domine dans le domaine infrarouge-rouge. L'autre contribution est due aux transitions d'électrons depuis la bande de valence vers un état vacant dans la bande de condution, en absorbant un photon d'énergie supérieure à un certain seuil. C'est donc une transition interbande dont la contribution domine dans la domaine UV-bleu. La fonction diélectrique peut s'écrire comme la somme de la contribution intrabande (susceptibilité de Drude, χ^D) et de la contribution interbande (susceptibilité χ^{ib}):

$$\varepsilon(\omega) = 1 + \chi^{D}(\omega) + \chi^{ib}(\omega). \tag{1.4}$$

Contribution intrabande à la fonction diélectrique. Les transitions intrabandes ne concernent que les électrons de la bande de conduction. Le modèle de Drude décrit les électrons quasi-libres d'un métal comme des particules classiques indépendantes. L'application d'un champ électromagnétique peut entraîner un mouvement de ces électrons dont la simple équation nous permet de trouver facilement la susceptibilité diélectrique de la contribution intrabande :

$$\chi^{D}(\omega) = -\frac{\omega_{p}^{2}}{\omega(\omega + i\Gamma)},\tag{1.5}$$

où $\omega_p = \sqrt{\frac{ne^2}{m^*\varepsilon_0}}$ est la pulsation de plasmon de volume de l'or décrite par la densité des électron de conduction, n, la charge élémentaire, e, et la masse effective des électrons, m^* . Γ est le taux de diffusion, constante d'atténuation phénoménologique qui rend compte de tous les processus de diffusion subis par les électrons au cours de leur mouvement. D'après la règle de Matthiesen [30], Γ s'écrit alors dans le métal massif à une température suffisante pour pouvoir négliger le rôle de la diffusion par les impuretés et les défauts 1 :

$$\Gamma = \Gamma_{e-e} + \Gamma_{e-ph},\tag{1.6}$$

où Γ_{e-e} est le taux de diffusion par collisions électron-électron qui dépend de la température électronique, T_e , et Γ_{e-ph} le taux de diffusion par des phonons, qui dépend à la fois de T_e et de la température du réseau, T_l . On distingue deux types de processus de diffusion : ceux pour lesquels on a conservation du vecteur d'onde total, qui sont appelés «normaux» (ou N-processus), et ceux pour lesquels le vecteur d'onde total n'est conservé qu'à un vecteur du réseau réciproque près, qui sont appelés «umklapp» (ou U-processus). Pour les diffusions e-e, seuls les U-processus assistent l'absorption de photons [31]. Γ_{e-e} a été calculé par Gurzhi avec la théorie de Landau des liquides de Fermi en supposant que le gaz d'électrons est à l'équilibre à la température T_e [32] :

$$\Gamma_{e-e}(\hbar\omega, T_e) = \frac{(k_B T_e)^2}{\hbar^2 \omega_p} \left[1 + \left(\frac{\hbar\omega}{2\pi k_B T_e} \right)^2 \right], \tag{1.7}$$

où $\hbar\omega$ est l'énergie du photon absorbé et k_B est la constante de Boltzmann. Pour les diffusions e-ph les deux types de diffusion contribuent. Le coefficient d'absorption lié aux transitions électroniques assistées par phonons est donné par la règle d'or de Fermi au second ordre. Dans l'hypothèse d'une

^{1.} C'est déjà largement le cas à l'ambiante.

bande de conduction parabolique, et dans le domaine des fréquences optiques où l'énergie des phonons (quelques dizaines de meV) est négligeable devant celle des photons, le taux de collisions e - ph, Γ_{e-ph} , s'écrit [33,34] :

$$\Gamma_{e-ph}(\hbar\omega, T_l) = \frac{G_{ph}}{\hbar\omega} \int_0^\infty \sqrt{E}\sqrt{E + \hbar\omega} f(E) \left[1 - f(E + \hbar\omega)\right] dE, \tag{1.8}$$

où G_{ph} est un paramètre de couplage électron-phonon, E l'énergie d'un électron et f la distribution électronique. Pour des températures du réseau T_l supérieures à la température de Debye (la température de Debye pour l'or est de 170 K), G_{ph} est proportionnelle à T_l [33], ce qui entraîne :

$$\Gamma_{e-ph}(\hbar\omega, T_l) \propto \frac{T_l}{\hbar\omega} \int_0^\infty \sqrt{E}\sqrt{E + \hbar\omega} f(E) [1 - f(E + \hbar\omega)] dE.$$
 (1.9)

La constante de proportionnalité dans l'Eq. (1.9) peut être déduite avec les valeurs expérimentales à température ambiante, ce qui donne une valeur d'environ $6 \times 10^{29} \text{ W m}^{-3}\text{K}^{-2}$ [35].

Contribution interbande à la fonction diélectrique. Pour induire une transition interbande, il faut que l'énergie de photon soit supérieure à l'écart d'énergie, E_{ib} , séparant le haut de la bande d et le niveau de Fermi, E_F (Fig. 1.1). E_{ib} est appelée le seuil interbande. Le calcul de la contribution interbande ne peut être effectué que par une approche quantique. Cette contribution est souvent calculée en utilisant la théorie de Lindhard [36]. Sous excitation par une onde électromagnétique plane de vecteur d'onde \mathbf{q} et de plusation ω :

$$\varepsilon_2^{ib}(\mathbf{q},\omega) = 1 - \lim_{\alpha \to 0} \frac{e^2}{q^2 \varepsilon_0} \sum_{\mathbf{q}} |M_{\mathbf{k},d}^{\mathbf{k}+\mathbf{q},sp}|^2 \frac{f_{\mathbf{k},d} - f_{\mathbf{k}+\mathbf{q},sp}}{E_{\mathbf{k},d} - E_{\mathbf{k}+\mathbf{q},sp} + \hbar(\omega - i\alpha)},$$
(1.10)

où $M_{\mathbf{k},d}^{\mathbf{k}+\mathbf{q},sp}$ est l'élément de matrice associé à la transition entre l'état électronique de la bande d de vecteur d'onde \mathbf{k} et l'état électronique de la bande sp de vecteur d'onde $\mathbf{k} + \mathbf{q}$, f est le taux d'occupation et E l'énergie de l'état électronique. Le paramètre α est introduit phénoménologiquement pour rendre compte de la largeur des transitions. Pour l'or, les contributions principales aux transitions interbandes dans le visible sont autour des points X(début à ~ 1.8 eV) et L (début à ~ 2.4 eV) de la zone de Brillouin (Fig. 1.2) [37]. Bien que la transition d'énergie la plus basse se produise au voisinage du point X, la force d'oscillateur des transitions proches du point L devient rapidement plus grande dès que l'énergie de photon atteint ~ 2.5 eV [39]. De plus, il a été démontré que seules les transitions proches du point L contribuent de manière significative à la réponse optique transitoire ultrarapide de l'or [34,40] (cas du Chap. 2). Par conséquent, les propriétés optiques dues à la contribution interbande seront décrites en considérant uniquement les transitions au voisinage du point L. La structure de bande autour du point L est modélisée d'après Rosei [34,41] par un ensemble de branches paraboliques (Fig. 1.3). Les masses effectives positives associées aux deux bandes dans les directions $L\Gamma$ et LW (notées par les symboles \parallel et \perp , respectivement) sont désignées par $m_{p\parallel},\,m_{p\perp},\,m_{d\parallel}$ et $m_{d\perp}$. Leurs valeurs numériques peuvent être trouvées dans les thèses de Y. Guillet et T. Labouret [23, 34]. Les écarts énergétiques au point L entre les deux bandes, d'une part, et entre la bande sp et le niveau de Fermi, d'autre part, sont notés $\hbar\omega_0 = 1{,}55$ eV et $\hbar\omega_f = 0{,}71$ eV, respectivement. En appliquant la théorie de Lindhard et le modèle de Rosei au point L, la partie imaginaire de la contribution

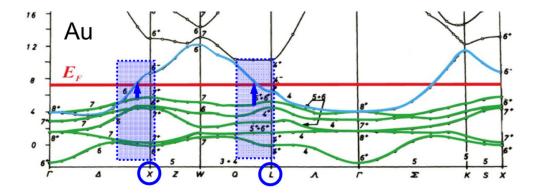


Fig. 1.2 – Structure de bande de l'or d'après Christensen & Seraphin [38]. E_F est le niveau de Fermi de l'or (en rouge). Vert : bandes d. Bleu : bande sp.

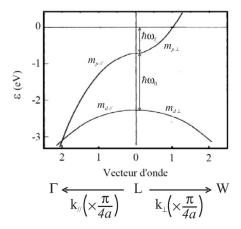


Fig. 1.3 – Modèle de Rosei (bandes paraboliques) de la structure de bandes autour du point L de la zone de Brillouin de l'or. ε est l'énergie relative par rapport au niveau de Fermi. Les m sont les masses effectives dans les bandes sp et d des deux directions considérées ($L\Gamma$ et LW). Reproduit d'après Guillet [34].

interbande, ε_2^{ib} , peut être calculée pour des transitions verticales par l'expression [8,23] :

$$\varepsilon_2^{ib}(\hbar\omega) \propto \frac{1}{\omega^2} |M_d^{sp}|^2 J_{d-sp}(\hbar\omega),$$
 (1.11)

où $J_{d-sp}(\hbar\omega)$ est la densité d'états jointe (JDOS) pour la transition d-sp à la pulsation ω . Elle s'écrit [34] :

$$J_{d-sp}(\hbar\omega) = \int_0^{E_{sup}} D_{d-sp}(E,\hbar\omega)[1 - f(E)]dE, \qquad (1.12)$$

avec

$$E_{sup} = -\hbar\omega_f + \frac{m_{d\parallel}}{m_{d\parallel} - m_{sp\parallel}} (\hbar\omega - \hbar\omega_0) \qquad \text{si } \hbar\omega \le \hbar\omega_0,$$

$$= -\hbar\omega_f + \frac{m_{d\perp}}{m_{d\perp} + m_{sp\perp}} (\hbar\omega - \hbar\omega_0) \qquad \text{si } \hbar\omega \ge \hbar\omega_0.$$
(1.13)

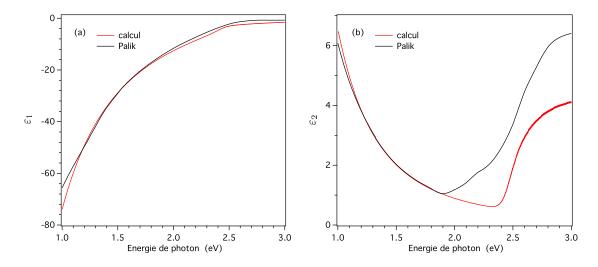


Fig. 1.4 – Fonction diélectrique de l'or à température ambiante. (a) Partie réelle, (b) partie imaginaire. Trait rouge : calcul. Trait noir : fonction diélectrique de l'or dans d'après Réf. [28].

 $D_{d-sp}(E,\hbar\omega)$ est la distribution en énergie de la densité d'états jointe (EDJDOS) exprimée comme :

$$D_{d-sp}(E,\hbar\omega) = \frac{F_{d-sp}}{16\pi^2\hbar^2} \left[\frac{\hbar}{m_{sp\perp}} (\hbar\omega - \hbar\omega_0 - \hbar\omega_f - E) - \frac{\hbar}{m_{d\perp}} (E + \hbar\omega_f) \right]^{-1/2}, \quad (1.14)$$

où F_{d-sp} est un facteur géométrique donné par :

$$F_{d-sp} = \sqrt{\frac{m_{d\perp} m_{d\parallel} m_{sp\perp} m_{sp\parallel}}{m_{d\perp} m_{sp\parallel} + m_{d\parallel} m_{sp\perp}}} . \tag{1.15}$$

Le facteur de proportionnalité dans l'Eq. (1.11) multiplié par $|M_d^{sp}|^2$ peut être trouvé par correspondance avec les valeurs calculées par Guerrisi et al. [37]. La partie réelle de la contribution interbande, ε_1^{ib} , peut être calculée à partir de ε_2^{ib} avec les relations de Kramers-Kroning (1.3). Nous présentons sur la Fig. 1.4 la fonction diélectrique de l'or déterminée par notre modèle en comparaison avec celle d'après la Réf. [28]. Dans la gamme d'énergie de photon étudiée, nous avons un accord suffisant entre notre calcul et les données reportées dans la littérature. La différence sur ε_2 pour les énergies de photons supérieures à 1,9 eV est due à la contribution des transitions interbandes autour du point X de la zone de Brillouin (Fig. 1.2), négligée dans notre modèle. Nous rappelons que cette différence n'est pas importante pour nous car la longueur d'onde d'excitation utilisée dans cette thèse est ~ 800 nm (1,55 eV) et notre modèle a pour but de simuler la réponse optique transitoire ultrarapide des nanoparticules d'or via la variation de ε_2 , qui est dominée par la contribution des transitions interbandes autour du point L de la zone de Brillouin.

b. Réponse optique de nanoparticules d'or

Réduit à l'échelle nanométrique, l'or présente des propriétés optiques différentes de celles de l'état massif. Nous présentons sur la Fig. 1.5 la photographie d'hydrogels contenant des nanoparticules d'or (AuNP) de formes différentes. La couleur de ces échantillons n'est pas la même et diffère également de la couleur dorée de l'or massif. Ces nouvelles propriétés optiques des AuNP sont dues au phénomène de résonance de plasmon de surface (surface plasmon resonance

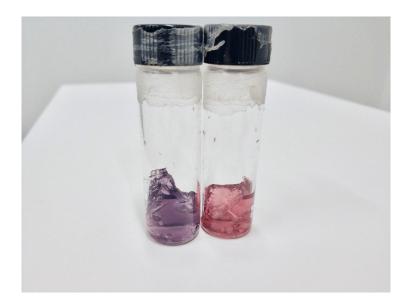


Fig. 1.5 – Photographie de deux hydrogels de couleurs différentes contenant des AuNP de formes distinctes.

en anglais, ou SPR) localisé. Pour une particule métallique de taille très inférieure à la longueur d'onde du champ électromagnétique qui lui est appliqué, les électrons de conduction voient un champ homogène et oscillent de manière collective de part et d'autre du cœur ionique. Ce système oscillant possède une fréquence propre de résonance qui est la SPR. Lorsque la fréquence de l'onde appliqués est accordée à la SPR de la particule, on a un transfert d'énergie maximal de l'onde électromagnétique à la particule. L'énergie est dissipée soit de manière non radiative (diffusion de e-e et de e-ph) soit de manière radiative (diffusion de la lumière) pour les grandes particules. Ce phénomène peut être facilement compris en faisant une analogie mécanique avec un oscillateur harmonique forcé de pulsation de résonance $\omega_{SPR} = \sqrt{\frac{k}{m}}$ (de masse m). La "raideur" k est ici liée à la force d'attraction coulombienne entre le gaz d'électrons et le cœur ionique. L'amortissement de cet oscillateur est décrit par Γ , le taux de collision électronique total introduit dans la section précédente. Les différentes couleurs des échantillons sur la Fig. 1.5 sont dues aux différentes valeurs de ω_{SPR} des nanoparticules d'or, liées à leur taille, leur forme, et leur milieu environnant.

Nanoparticules sphériques

Commençons par examiner le cas d'une particule sphérique homogène de rayon $R \ll \lambda$, placée dans un milieu hôte de constante diélectrique ε_d , sous le champ électrique $\mathbf{E_0}e^{-i\omega t}$, où λ et ω sont respectivement la longueur d'onde et la pulsation du champ incident. La section efficace d'extinction peut être obtenue via [42] :

$$\sigma_{ext}(\omega) = k \text{Im}[\alpha(\omega)],$$
 (1.16)

où k est le vecteur d'onde du champ incident et $\alpha(\omega)$ est la polarisabilité de la particule. Le moment dipolaire induit par le champ incident dans la particule peut s'écrire :

$$\mathbf{p} = \alpha(\omega)\varepsilon_0\varepsilon_d\mathbf{E_0}.\tag{1.17}$$

La puissance rayonnée par ce moment dipolaire est aussi la puissance diffusée par la particule. Elle est donnée par [42] :

$$\mathcal{P}_{ray} = \frac{\omega^4}{12\pi\varepsilon_0 c^3} |\mathbf{p}|^2. \tag{1.18}$$

On peut déduire la section efficace de diffusion, σ_s , avec les Eqs. (1.17) et (1.18) :

$$\sigma_s(\omega) = \frac{k^4}{6\pi} |\alpha(\omega)|^2. \tag{1.19}$$

La section efficace d'absorption est donc $\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_s$. Dans l'approximation dipolaire, si l'on néglige la correction radiative (ce qui est valable lorsque $kR \ll 1$), la polarisabilité $\alpha(\omega)$ de la particule sphérique est donnée par [42] :

$$\alpha(\omega) = 4\pi R^3 \frac{\varepsilon(\omega) - \varepsilon_d}{\varepsilon(\omega) + 2\varepsilon_d}.$$
 (1.20)

Nous pouvons remarquer que $\sigma_{abs} \propto R^3$ et $\sigma_s \propto R^6$. Pour des particules petites, nous pouvons négliger le terme de diffusion devant celui d'absorption, ce qui sera le cas dans cette thèse. On a alors [43] :

$$\sigma_{abs}(\omega) = 9 \frac{\omega}{c} \varepsilon_d^{3/2} V \frac{\varepsilon_2(\omega)}{[\varepsilon_1(\omega) + 2\varepsilon_d]^2 + \varepsilon_2(\omega)^2}.$$
 (1.21)

Nous pouvons voir facilement avec l'Eq. (1.21) que σ_{abs} atteint sa valeur maximale dans le cas d'une faible dispersion et/ou de petites valeurs de $\varepsilon_2(\omega)$ lorsque $\varepsilon_1(\omega) = -2\varepsilon_d$. Lorsque $\Gamma \ll \omega$ ($\hbar\Gamma \sim 100$ meV dans le domaine visible), nous pouvons déduire :

$$\omega_{SPR} = \frac{\omega_p}{\sqrt{\varepsilon_1(\omega_{SPR}) + 2\varepsilon_d}}.$$
(1.22)

Avec les Eqs. (1.22) et (1.21) on peut voir que lorsque ε_d augmente le plasmon se décale vers le rouge et son amplitude augmente. Pour des particules sphériques, outre cet effet du milieu hôte sur la SPR, la tailles de particules a aussi une influence importante. Pour des agrégats de quelques centaines d'atomes ($R \leq 2$ nm), on ne peut plus décrire leurs propriétés optiques avec la fonction diélectrique de l'or massif en raison de la modification du libre parcours moyen des électrons, à la diminution globale de la densité électronique dans la nanoparticule, et la modification du seuil des transitions interbandes au point X [29,34,44–46]. Pour des particules de grande taille (R > 30 nm), les effets multipolaires apparaissent, qui peuvent déplacer la résonance et l'amoindrir [29]. La diffusion n'est alors plus négligeable devant l'absorption.

Nanobâtonnets

Selon les applications visées, on souhaite parfois accorder la SPR à un certain domaine spectral. Dans ce but, on peut modifier la forme des nanoparticules pour changer leur SPR, voire faire apparaître plusieurs modes plasmons. Ici, nous nous intéressons aux nanobâtonnets d'or (AuNR). Habituellement de forme cylindrique avec deux hémisphères aux extrémités, cette morphologie s'accompagne d'une lévée de dégénérescence partielle de la SPR due à la brisure de symétrie par

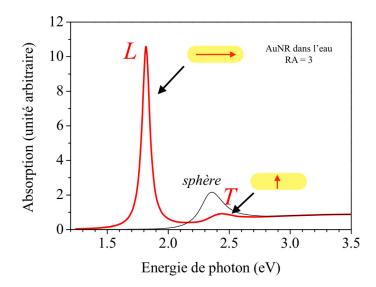


Fig. 1.6 – Spectre d'absorption de deux nanoparticule d'or de même volume dans l'eau, excités par un champ incident de polarisation aléatoire : une AuNS (noir) et un AuNR (rouge) avec RA=3. L et T désignent les modes plasmon longitudinal et transverse, respectivement. La flèche rouge indique la polarisation du champ électrique par rapport à l'orientation du bâtonnet. Reproduit d'après [35].

rapport à la sphère. Le paramètre caractéristique de cette forme est le rapport d'aspect (RA) qui est le rapport de la longueur à la largeur du bâtonnet. Celui-ci possède deux modes SPR dépendant de la polarisation de l'onde incidente (Fig. 1.6). Si cette polarisation est parallèle au petit axe du AuNR, le mode transverse est excité, les électrons oscillent parallèlement au petit axe. Si la lumière incidente est polarisée le long du grand axe du AuNR, le mode longitudinal est excité, les électrons oscillent parallèlement au grand axe. La SPR transverse (TrSPR) est proche de celle de la sphère, elle se déplace légèrement vers le bleu lorsque le RA augmente. Le mode longitudinal correspond à une énergie de résonance plus faible par rapport à celle du mode transverse. Intuitivement, ceci peut être compris par la plus faible variation relative de densité local lors du mouvement électronique longitudinal induit par l'onde. En conséquence, la force de rappel est moindre donc la fréquence de résonance est plus faible. Lorsque le RA de l'AuNR augmente, la SPR longitudinale (LgSPR) se décale vers le rouge. On observe également l'augmentation de l'amplitude du plasmon longitudinal avec le RA jusqu'à une certaine valeur (RA \sim 8). Ceci est dû au découplage progressif du mode plasmonique d'avec les transitions interbandes qui induit un effet d'atténuation et d'élargissement de la résonance. Au contraire, comme on peut le voir sur la Fig. 1.6, ce couplage augmente pour le mode transverse lors de son déplacement vers le bleu, conduisant à l'amortissement croissant de la TrSPR.

Il n'existe pas de formule analytique pour calculer la section efficace d'absorption d'un AuNR. Il faut passer par une approche numérique pour évaluer la réponse optique de ce type de nanoobjet. Parmi les méthodes de calcul souvent utilisées, nous allons en présenter brièvement deux : l'approximation des dipôles discrets (DDA) [47,48] et la méthode des éléments frontières (Boundary Element Method en anglais, BEM) [49].

La méthode DDA permet de déterminer les champs électromagnétiques diffusé et absorbé par des particules de forme arbitraire, voire par des structures périodiques, excitées par une onde plane [48,50]. Elle peut calculer à la fois des propriétés de champ lointain comme σ_{abs} , σ_s et σ_{ext} , et des propriétés de champ proche comme le facteur d'exaltation de champ local [51]. Le principe de cette méthode consiste à discrétiser un objet continu par un grand nombre de volumes élémentaires considérés comme des dipôles ponctuels. Le moment dipolaire en chaque point est induit par la somme du champ incident et des champs diffusés par les autres dipôles. La DDA calcule de manière auto-cohérente la polarisation induite dans chaque élément. Les propriétés optiques sont ensuite déterminées à partir de ces polarisations induites via le calcul de la polarisabilité.

La BEM est une méthode pour résoudre des équations aux dérivées partielles linéaires qui ont été formulées comme des équations intégrales. Cette méthode est adaptée pour un milieu diélectrique ou des objets de fonctions diélectriques, homogènes et isotropes, différentes, séparés par des interfaces abruptes. Les interfaces sont discrétisées par un grand nombre de petits éléments frontières. Les équations de Maxwell aux interfaces sont exprimées sous forme intégrale en utilisant les conditions aux limites. Les distributions de charges et de courant de surface sont déterminées, puis les propriétés optiques de l'objet considéré sont déduites [49]. Cet approche est moins générale que la DDA qui peut convenir même à des objets ne présentant aucune symétrie. Cependant, au lieu de discrétiser tout le volume, cette discrétisation aux interfaces entre différents matériaux permet une simulation plus rapide.

La méthode de calcul utilisée dans cette thèse est la BEM. Une étude sur σ_{abs} , σ_s et le facteur d'exaltation de champ proche déterminés avec la DDA et la BEM pour un AuNR de taille 67×10 nm² est présentée dans la thèse de T. Labouret [23]. Les conditions de discrétisation doivent vérifier les équations suivantes pour obtenir une bonne approximation des sections efficaces [52]:

$$\begin{cases}
|\tilde{n}(\lambda)|k d < 1 \\
|\tilde{n}(\lambda) - 1| \lesssim 3 \\
N > 10^4,
\end{cases}$$
(1.23)

où $\tilde{n}(\lambda)$ est l'indice optique complexe de l'objet, d la distance inter-dipôle et N le nombre de dipôles définissant l'objet. T. Labouret a fixé comme condition de convergence :

$$|\tilde{n}(\lambda)|k\,d < 0.1. \tag{1.24}$$

Pour une valeur de N supérieure à 10^4 , l'Eq. (1.24) implique que $a_{eff} < 30$ nm, a_{eff} étant le rayon effectif défini par $a_{eff} = \sqrt[3]{\frac{3V}{4\pi}}$, où V est le volume du AuNR. Dans le cas de T. Labouret, $a_{eff} = 10,6$ nm. La condition de convergence permet de fixer la valeur de N par la comparaison entre la longeur d'onde de LgSPR calculée, λ_{LgSPR} , et la longueur d'onde correspondant au maximum du spectre d'extinction, λ_{exp} (Fig. 1.7). Deux calculs avec $N_1 \sim 10^4$ et $N_2 \sim 10^5$ sont réalisés. Un écart de 5 nm entre λ_{exp} et λ_{LgSPR} est jugé satisfaisant. La largeur plus grande pour le spectre d'extinction expérimental est due à la distribution de formes des NR dans la solution. La contibution de la diffusion à l'extinction (pointillés rouges) est négligeable devant celle de l'absorption. Ce résultat calculé avec $N=N_2$ est ensuite utilisé pour trouver les conditions de convergence pour la BEM.

Pour la BEM, il y a deux méthodes de calcul : quasi-statique standard (STAT) et quasi-statique sur un nombre fini de modes propres (EIG). Pour la résolution de la distribution de

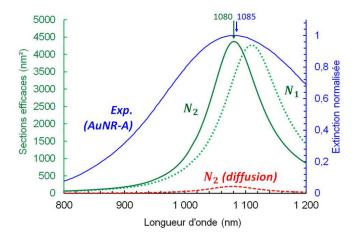


Fig. 1.7 – Section efficace d'absorption de AuNR de dimensions $67 \times 10 \text{ nm}^2$ calculée par la DDA avec un nombre de dipôles $N_1 \sim 10^4$ (pointillés verts) et $N_2 \sim 10^5$ (trait vert), en comparaison avec le spectre d'extinction expérimental de la solution de AuNR (bleu) reporté dans la Réf. [23]. La section efficace de diffusion pour N_2 est présentée en pointillés rouges.

charges de surfaces, contrairement à la méthode STAT dans laquelle on résout les équations de Maxwell aux interfaces, la méthode EIG résout les équations avec la méthode de développement en modes propres. La simulation EIG est plus rapide et suffisamment précise pour calculer la SPR d'une nanostructure simple [53]. Le nombre de modes propres est fixé à 20 qui est un nombre suffisant pour obtenir des réponses similaires à la théorie de Mie pour une AuNS dans les mêmes conditions [23,53]. Les conditions de convergence à définir sont alors celles concernant la discrétisation des interfaces. Les nombres d'éléments de surface associés à la longueur du cylindre central, aux extrémités hémisphériques et à la circonférence du bâtonnet sont notés i, j et k, respectivement. Le volume du AuNR est fixé égale à celui du NR de dimension $67 \times 10 \text{ nm}^2$ [23]. La section efficace d'absorption est calculée pour plusieurs valeurs des paramètres [23] (Fig. 1.8). Les triplets (i,j,k) donnent un résultat qui reste quasiment identique à celui obtenu avec (225, 20, 50). En gardant le même volume et en changeant le RA à 7,1, on vérifie bien que le pic de LgSPR se déplace vers le rouge. De plus, le profil obtenu est en bon accord avec celui calculé par la DDA. Les deux méthodes fournissent aussi des résultats cohérents pour le facteur d'exaltation en champ proche [23] que nous n'allons pas détailler ici.

Dans la suite de cette thèse, nous allons garder les mêmes paramètres de simulation pour nos calculs. La taille des AuNR considérés sera typiquement de $50 \times 12,5$ nm², similaire à celle utilisée par de T. Labouret [23].

1.1.2 Réponse transitoire ultrarapide

Lorsqu'on excite une NP avec une impulsion ultrabrève, l'énergie absorbée par la NP relaxe sous forme de chaleur vers le milieu environnant via une série de processus d'échanges d'énergie, illustrée sur la Fig. 1.9 [54]. Le champ électromagnétique d'excitation du mode plasmon induit une oscillation cohérente des électrons. La cohérence est perdue au bout de quelques femtosecondes. Le gaz d'électrons est alors constitué des électrons excités par l'absorption de photons et du reste du gaz d'électrons non excités. La distribution électronique (Fig. 1.10) est alors hors équilibre. On appelle cette phase le régime athermal. L'énergie absorbée est redistribuée via des collisions e-e au sein du gaz d'électrons, ce qui conduit à sa thermalisation interne au bout de quelques centaines

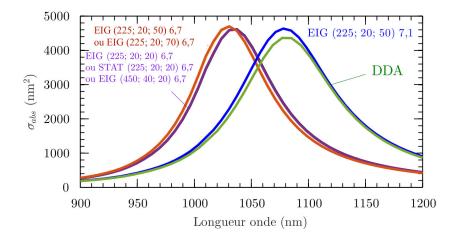


Fig. 1.8 – Section efficace d'absorption d'un AuNR de dimension 67×10 nm² calculée par la BEM avec des paramètres de simulation notés : "méthode (EIG ou STAT), (i,j,k), rapport d'aspect" (courbes rouges et violettes). Sont ajoutées les courbes obtenues pour un AuNR de RA= 7,1 et de même volume avec la BEM (bleue) et pour comparaison la DDA avec $\sim 10^5$ dipôles (verte). D'après [23].

de femtosecondes. La distribution électronique suit donc à nouveau la statistique de Fermi-Dirac avec une température T_e plus élevée que la température initiale, T_0 . On appelle cette phase le régime thermal. En parallèle de ces deux régimes, les collisions e-ph permettent un échange d'énergie entre le gaz d'électrons et le réseau ionique métallique. L'énergie électronique est donc convertie en vibrations ce qui induit un échauffement de la particule. Le temps caractéristique des collisions e-ph est de l'ordre de quelques picosecondes. La chaleur est ensuite transférée au milieu environnant par collisions ph-ph à l'interface, ce qui conduit au refroidissement de la particule et à l'échauffement du milieu hôte en contact. Selon les propriétés de transport thermique, le temps caractéristique de ce processus peut varier de quelques picosecondes à quelques nanosecondes. La chaleur est enfin évacuée principalement par diffusion dans le milieu hôte. A plus grande échelle, c'est l'ensemble du milieu inhomogène qui est chauffé. Il l'est d'autant plus que la densité volumique de NP est importante. Nous avons vu précédemment que la fonction diélectrique de l'or dépend de T_l , T_e et f(E), qui évoluent au cours des processus d'échanges d'énergie. Ceci s'accompagne d'une évolution rapide des propriétés. Dans le cadre de cette thèse, nous nous intéresserons à la variation ultrarapide des propriétés optiques pendant la première picoseconde.

Nous présentons brièvement le modèle à deux température (TTM) et le modèle athermal (ou non thermal) que nous allons mettre en œuvre pour décrire la réponse optique ultrarapide de AuNR. Le modèle athermal développé au cours de différentes thèses dans l'équipe [23, 34, 35] est l'approche principale utilisée dans le prochain chapitre.

Le modèle à deux température (TTM). Dans ce modèle, la NP est séparée en deux sous-systèmes [3] : le réseau métallique à la température T_l et le gaz d'électron à la température T_e . Dans ce modèle, on suppose que le gaz d'électrons est en équilibre thermique interne à chaque instant. La distribution électronique suit donc la statistique de Fermi-Dirac à la température $T_e(t)$. Le transfert d'énergie de la NP vers le milieu environnant est négligé, ce qui limite l'usage du TTM à quelques picosecondes de la dynamique seulement. L'évolution des températures T_e et T_l peut

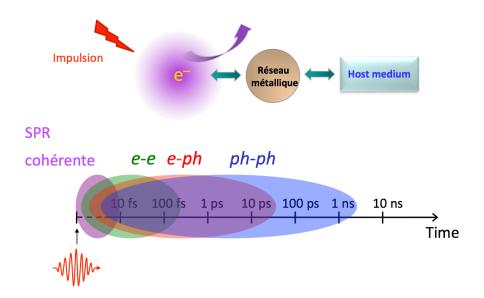


Fig. 1.9 – Schéma des processus d'échanges d'énergie dans une NP plasmonique après une excitation laser ultrabrève. D'après [54].

être décrite par les deux équations suivantes :

$$C_e(T_e)\frac{\partial T_e}{\partial t} = -G(T_e)(T_e - T_l) + P_{abs}(t) , \qquad (1.25)$$

$$C_l \frac{\partial T_l}{\partial t} = G(T_e)(T_e - T_l) , \qquad (1.26)$$

où $P_{abs}(t)$ est la puissance volumique instantanée absorbée à l'instant t, $C_e(T_e)$ et C_l sont les capacités thermiques du gaz d'électrons et du réseau métallique, respectivement, et $G(T_e)$ est la constante de couplage électron-phonon. Au-dessus de la température de Debye, T_D , C_l est une constante égale à $2,49 \times 10^6$ J m⁻³ K⁻¹ pour l'or [55]. Les comportements de C_e et G s'écartent de ceux à basse température lorsque T_e atteint quelques milliers de Kelvin. Ceci est pris en compte en utilisant les résultats calculés par Lin et al. pour $C_e(T_e)$ et de $G(T_e)$ [56]. Le TTM est couramment utilisé pour calculer l'évolution de T_e et de T_l aux temps courts, même sur des échelles de l'ordre de quelques dizaines de femtoseconde [15]. Nous allons cependant voir dans le chapitre suivant que l'utilisation de ce modèle peut induire de grosses erreurs à cette échelle de temps.

Le modèle athermal. A l'échelle subpicoseconde, pour bien comprendre la réponse optique transitoire ultrarapide de la NP, il est nécessaire de bien prendre en compte la nature non thermale de la distribution électronique [57]. Pour décrire la dynamique de la distribution électronique dans le cas général, il est nécessaire de résoudre l'équation de Boltzmann [58,59]. Elle est constituée de trois termes correspondant aux collisions e - e, e - ph et à l'absorption de photons qui peuvent modifier la distribution électronique :

$$\frac{\partial f(E)}{\partial t} = \left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{e-e} + \left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{e-ph} + \left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{abs}.$$
 (1.27)

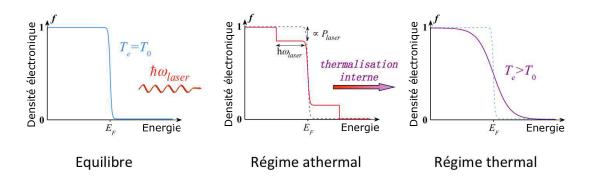


Fig. 1.10 — Evolution de la distribution électronique induite par l'excitation lumineuse impulsionnelle. Gauche : avant l'excitation. Milieu : juste après absorption de photons. Droite : après thermalisation interne. D'après [54]. Ce schéma repose sur des processus d'absorption à 1 photon (maximum) par électron.

L'évolution de T_l adaptée au cas général est [23] :

$$C_l \frac{\partial T_l}{\partial t} = -\int_0^{E_c} \left(\frac{\partial f(E)}{\partial t} \right)_{e-ph} E \rho(E) dE , \qquad (1.28)$$

où E_c est l'énergie critique d'éjection d'électrons correspondant au travail de sortie du métal dans le milieu environnant, $\rho(E)$ est la densité d'état électronique variant en \sqrt{E} [23, 30]. Les expressions des trois termes de l'équation de Boltzmann ont été déterminées par Grua et al. [60].

Terme d'absorption

Nous ne considérons que le cas d'une absorption linéaire intrabande assistée par phonons ou électrons. Le vecteur d'onde des photons est négligeable devant celui des phonons, en revanche, l'énergie des photons est très grande devant celle des phonons. L'absorption de photons par les électrons est décrite sous une forme simplifiée exprimée avec les énergies de photons et d'électrons en respectant la conservation de l'énergie [23,60]:

$$\left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{abs} = \frac{P_{abs}(t)}{K} df_{abs}(E) ,$$
(1.29)

où K est un paramètre de normalisation et $df_{abs}(E)$ est constitué des quatre processus suivants [23,60]:

$$df_{abs}(E) = k_a^+(E) + k_{em}^+(E) + k_a^-(E) + k_{em}^-(E) . {(1.30)}$$

Les termes correspondent à la probabilité qu'un processus d'absorption ou d'émission d'un photon (notés a et em, respectivement) contribue à augmenter ou diminuer le taux d'occupation électronique au niveau d'énergie E (notés + ou -, respectivement). Si l'on néglige la variation de la densité d'états électronique entre E et $E \pm \hbar \omega_{laser}$ (ω_{laser} pulsation de l'onde d'excitation), ils

s'écrivent par le principe de Pauli [60] :

$$k_a^+(E) = f(E - \hbar \omega_{laser}) [1 - f(E)],$$
 (1.31)

$$k_{em}^{+}(E) = f(E + \hbar \omega_{laser}) [1 - f(E)],$$
 (1.32)

$$k_a^-(E) = -f(E) \left[1 - f(E + \hbar \omega_{laser}) \right],$$
 (1.33)

$$k_{em}^{-}(E) = -f(E) \left[1 - f(E - \hbar \omega_{laser}) \right].$$
 (1.34)

On a donc :

$$df_{abs}(E) = f(E - \hbar \omega_{laser}) - 2f(E) + f(E + \hbar \omega_{laser}). \qquad (1.35)$$

D'après la conservation de l'énergie pour le processus d'absorption, on a :

$$P_{abs}(t) = \int_0^{E_c} \left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{abs} E \,\rho(E) dE \,, \tag{1.36}$$

ce qui donne:

$$K = \int_0^{E_c} df_{abs} E \rho(E) dE . \qquad (1.37)$$

Terme des collisions e - ph

L'absorption, l'émission spontanée et l'émission stimulée de phonons contribuent au terme des collision e - ph. Pour les métaux nobles, à température ambiante et au-delà, on a $T_l > T_D$ et dans l'approximation du potentiel de déformation [30], en considérant que l'énergie de l'électron est grande devant celle du phonon, le taux de collision e-ph s'écrit sous la forme approchée [23,60] :

$$\left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{e-ph} \approx \frac{C_{e-ph}}{\sqrt{E}} \frac{\partial}{\partial E} \left(f(E)\left[1 - f(E)\right] + k_B T_l \frac{\partial f}{\partial E}\right),$$
(1.38)

où

$$C_{e-ph} = \frac{\pi^2 \, \hbar^3 \, G(T_e^*)}{\sqrt{2} \, k_B \, m_e^{3/2}} \tag{1.39}$$

et G est la constante de couplage e-ph calculée par Lin et al. [56], et T_e^* est la température électronique effective pour une distribution électronique athermale, définie par :

$$k_{\rm B} T_e^* = \frac{1}{f(0)} \int_0^{E_c} f(E') \left[1 - f(E') \right] dE'$$
 (1.40)

Terme des collisions e - e

En considérant que les évènements permettant un échange d'énergie de l'ordre de $E_c - E_F$ sont rares devant l'ensemble des évènements de collisions, on peut faire l'approximation $E_c \to \infty$. En ajoutant les contraintes liées à la conversion d'énergie et au nombre d'électrons, le taux de collision

e-e peut s'écrire sous une forme similaire à celle du taux de collision de e-ph [60] :

$$\left(\frac{\partial f(E)}{\partial t}\right)_{e-e} \approx \frac{f(0) C_{e-e}}{\sqrt{E}} \frac{\partial}{\partial E} \left(f(E) \left[1 - f(E)\right] + k_B T_e^* \frac{\partial f}{\partial E}\right).$$
(1.41)

Cette expression est valable lorsque le temps caractéristique d'évolution de la fonction de distribution est grand devant le temps typique de collision e - e. C_{e-e} est donnée par :

$$C_{e-e} = \alpha_{e-e} \frac{\sqrt{2} n_e h^3}{16 \pi m_e^{3/2} f(0)} \left\langle \frac{1}{\tau_{e-e}} \right\rangle,$$
 (1.42)

où α_{e-e} est un paramètre ajustable sans dimension de l'ordre de l'unité et

$$\left\langle \frac{1}{\tau_{e-e}} \right\rangle = \frac{\int_0^{E_c} \frac{f(E') \left[1 - f(E') \right]}{\tau_{e-e}(E')} dE'}{\int_0^{E_c} f(E') \left[1 - f(E') \right] dE'}$$
(1.43)

est la fréquence moyenne de collisions e-e. A chaque valeur de α_{e-e} variant de 0,6 à 10, le système évolue toujours vers le même état stationnaire [60]. Nous fixons donc $\alpha_{e-e}=1$. D'après la théorie de Landau des liquides de Fermi, on a [59]:

$$\tau_{e-e}(E) = \tau_0 \frac{E_F^2}{(E - E_F)^2} ,$$
(1.44)

où $\tau_0 = 0.8$ fs pour l'or [59]. Pour obtenir f(E,t), l'équation de Boltzmann est résolue avec un schéma numérique aux différences finies implicite centré [23]. Pour tenir compte de l'éjection d'électrons, la condition $f(E > E_c) = 0$ est imposée.

La fonction diélectrique de l'or peut être déduite de T_e (ou T_e^*), T_l , et/ou f(E,t) calculés avec soit le TTM, soit le modèle athermal, selon les équations (1.5) à (1.15).

1.2 Conversion photothermique

Dans cette section, nous allons nous focaliser sur l'échange énergétique entre la NP et son milieu environnant. Nous allons examiner la topographie de la température dans le milieu en régime stationnaire (illumination continue) et en régime transitoire (illumination impulsionnelle typiquement de ~ 100 fs). Dans cette partie, contrairement à la précédente, nous supposons que la thermalisation e-ph est atteinte instantanément, et les propriétés optiques et thermodynamiques des matériaux (l'or et le milieu hôte) ne changent pas.

Commençons par une AuNS de rayon R dans l'eau. Nous supposons que le temps caractéristique d'observation est grand devant le temps de collision des phonons thermiques dans le milieu hôte, de sorte que la transport thermique soit assuré uniquement par des processus diffusifs [54, 61]. L'évolution de la température, T(r,t), dans la AuNS et le milieu hôte est décrite par la loi de

Fourier et les conditions aux limites à l'interface de la AuNS et du milieu [13] :

Equations de diffusion (loi de Fourier) :
$$\rho_{Au}c_{Au}\partial_{t}T(r,t) = \kappa_{Au}\nabla^{2}T(r,t) + p(r,t) \quad \text{pour} \quad r < R,$$

$$\rho_{w}c_{w}\partial_{t}T(r,t) = \kappa_{w}\nabla^{2}T(r,t) \quad \text{pour} \quad r > R,$$

$$\text{Conditions aux limites à } r = R :$$

$$\kappa_{w}\partial_{r}T(R^{+},t) = \kappa_{Au}\partial_{r}T(R^{-},t),$$

$$-\partial_{r}T(R^{+},t) = \frac{1}{l_{K}}\Delta T(t),$$

$$(1.45)$$

où p(r,t) est le terme source (en W m⁻³), ρ est la masse volumique, c est la capacité calorifique, et κ est la conductivité thermique. R^+ et R^- désignent les lieux part et d'autre de l'interface. ΔT représente le saut thermique à l'interface dû à la résistance d'interface finie. Les indices Au et w désignent l'or et l'eau, respectivement. $l_K = \kappa_w/g$ est appelée longueur de Kapitza, et g est la conductivité thermique d'interface. Les constantes physiques impliquées sont reportées dans le tableau suivant [13]:

Constantes physiques	Au	$_{\mathrm{H_2O}}$
$\kappa \; (\mathrm{W} \; \mathrm{m}^{-1} \; \mathrm{K}^{-1})$	317	0,60
$c \; (\mathrm{J} \; \mathrm{kg}^{-1} \; \mathrm{K}^{-1})$	129	4187
$\rho \ (\times 10^3 \ {\rm kg \ m^{-3}})$	19,32	1,00

Nous allons nous intéresser au profil d'échauffement du milieu hôte au voisinage de la AuNP selon le type de source utilisé. Dans cette section, nous négligeons l'effet possible de modification ultrarapide des propriétés de la NP pendant le passage de l'impulsion qui peut, selon les conditions d'illumination, influencer fortement sa section efficace d'absorption de AuNP comme nous le verrons dans le chapitre 2. Cet effet pourra aisément être pris en compte en utilisant la section efficace d'absorption effective que nous définirons et calculerons alors, à la place de la section efficace stationnaire. Le calcul de température est effectué avec le module de transfert de chaleur basé sur la loi de Fourier dans COMSOL Multiphysics qui est un logiciel de résolution optimisée d'équations aux dérivées partielles par la méthode des éléments finis.

1.2.1 Source lumineuse continue

Nous commençons par une AuNS de rayon R dans l'eau excitée par un laser continu accordé à la longueur d'onde de SPR. Le schéma de l'échantillon virtuel pour la simulation est présenté sur la Fig. 1.11. Le cube de $2 \times 2 \times 2 \ \mu m^3$ est consititué du milieu hôte (eau). Le rayon de la AuNS est très inférieur à l'arête du cube, si bien que nous pouvons supposer que les faces du cube sont toujours thermalisées à l'ambiante $T_0 = 20$ °C. Le terme source dans le système d'équations (1.45) devient $p(r) = \sigma_{abs}I/V_{NP}$ pour r < R, où I est l'intensité incidente du laser continu et V_{NP} le volume de la AuNS. Nous avons choisi R = 11 nm, qui est le rayon effectif d'un AuNR de 12.5×50 nm². La section efficace d'absorption σ_{abs} associée à la LgSPR d'un tel AuNR est calculée avec la BEM, puis est utilisée pour calculer p(r). En régime stationnaire, pour $g \to \infty$ (pas de résistance thermique d'interface) et I = 10 MW m⁻², la topographie de la température dans le plan y0z et le profil de température de la AuNS selon l'axe 0x sont présentés sur la Fig. 1.12. Bien évidemment, nous observons une dépendance radiale de T(r) en raison de la symétrie sphérique

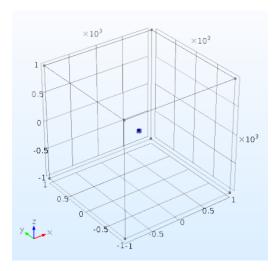


Fig. 1.11 – Schéma de l'échantillons virtuel utilisé pour la simulation. La AuNS est au centre d'un cube constitué du milieu hôte (ici : eau) avec une arête de 2 μ m.

de la nano-source. La solution analytique des équations donnant la température est [13] :

$$T(r) = \frac{\sigma_{abs}I}{4\pi\kappa_w r} \quad \text{pour} \quad r > R,$$

$$= \frac{\sigma_{abs}I}{4\pi\kappa_w R} \quad \text{pour} \quad r < R.$$
(1.46)

$$= \frac{\sigma_{abs}I}{4\pi\kappa_w R} \quad \text{pour} \quad r < R. \tag{1.47}$$

Ce résultat théorique se superpose très bien avec le résultat du calcul numérique que nous avons réalisé sous COMSOL (Fig. 1.12(b)). Pour un AuNR du même rayon effectif, et de même σ_{abs} , les mêmes résultats sont présentés sur la Fig. 1.13. Nous pouvons constater que la température du AuNR est inférieure à celle de la AuNS, car le rapport de la surface au volume est plus grand dans le cas du AuNR. Le profil de température de l'eau est similaire à celui avec la AuNS, et à longue distance de la particule l'échauffement du milieu devient isotrope.

Dans le cas où la conductivité thermique de l'interface n'est pas infinie, le profile de température reste inchangé à l'extérieur de la AuNS en régime stationnaire [13,62], mais la température atteinte par la AuNS est plus élevée que dans le cas où $g \to \infty$. On a en effet :

$$T(r) = \frac{\sigma_{abs}I}{4\pi\kappa_w R}(1+\lambda_K), \tag{1.48}$$

où λ_K est un paramètre sans dimension égal à l_K/R . Prenons $g=76.9~\mathrm{MW~m^{-2}~K^{-1}}$ correspondant à la conductivité totale à l'interface d'une AuNP greffée par des chaînes de polymère thermosensible dans l'eau [63]. Le profil de température est présenté sur la Fig. 1.14. Le résultat du calcul sous COMSOL est en très bon accord avec la solution analytique. A cause de la conductivité thermique finie de l'interface, nous avons un saut de température entre la AuNS et le milieu environnant (Fig. 1.14, en insert).

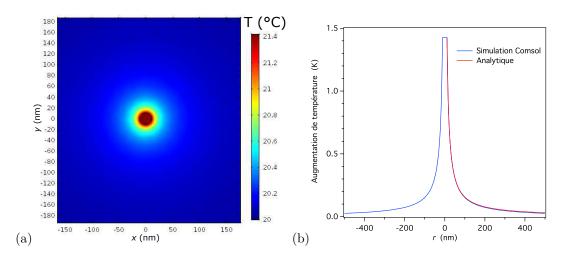


Fig. 1.12 – Température d'une AuNS de rayon 11 nm dans l'eau sous illumination laser continue d'intensité 10 MW cm^{-2} , en supposant une résistance thermique d'interface nulle. (a) Cartographie de la température dans le plan x0y. (b) Augmentation de température en fonction de la distance r, calculée analytiquement (rouge) ou par simulation sous COMSOL (bleu).

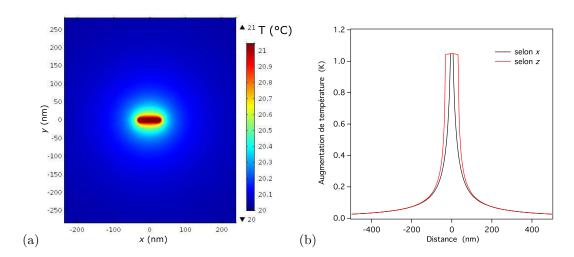


Fig. 1.13 – Température d'un AuNR dans l'eau. (a) Cartographie de la température dans le plan x0z. (b) Augmentation de température selon x et z.

1.2.2 Source laser impulsionnelle

Le même modèle de simulation (mêmes σ_{abs} et R) est considéré dans le cas d'une source impulsionnelle. Nous nous intéressons uniquement à l'excitation par une impulsion de 100 fs avec une fréquence de répétition de 5 kHz, qui sont les paramètres expérimentaux de notre laser. Pour avoir une température maximale atteinte raisonnable ($\sim 100~\rm K$), nous avons choisi une intensité moyenne de laser $\langle I \rangle = 100~\rm mW~cm^{-2}$. L'évolution de la température de la AuNS est présentée sur la Fig. 1.15 en échelle temporelle logarithmique. La température est normalisée par l'augmentation de température maximale, soit $T_{NP}^0 = 164,7$ °C. T_{NP}^0 peut être estimée grâce à l'expression suivante :

$$T_{NP}^{0} = \frac{\sigma_{abs}\langle I \rangle}{f_{rep}V_{NP}\rho_{Au}c_{Au}},\tag{1.49}$$

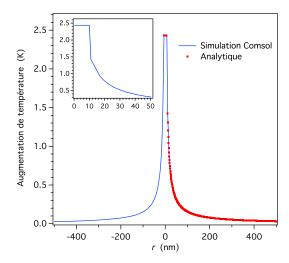


Fig. 1.14 – Profil spatial de l'augmentation de température autour d'une AuNR de rayon 11 nm greffée par une couche de polymère thermosensible dans l'eau. La conductivité d'interface vaut $g = 76.9 \; \mathrm{MW} \; \mathrm{m}^{-2} \; \mathrm{K}^{-1}$. L'intensité du laser continu est de 10 MW cm⁻². En insert un zoom entre x = 0 et 50 nm est présenté pour visualiser le saut de température à l'interface AuNR greffé par le polymère et l'eau.

où f_{rep} est la fréquence de répétition du laser. Avec cette expression, l'augmentation de température maximale estimée est de 170 K. La température de la AuNS peut être ajustée en utilisant une fonction exponentielle étendue [64]:

$$F(\tau) = \exp(-\tau/\tau_0)^n, \tag{1.50}$$

où τ est le temps normalisé par R^2/a_w et a_w est la diffusivité thermique de l'eau. Baffou et Rigneault ont déterminé les paramètres n et τ_0 par ajustement de leurs simulations numériques par la formule 1.50 : n=0.39 et $\tau_0=0.041$ [13] :

$$F(t) = exp \left[-\left(\frac{a_w t}{0.041R^2}\right)^{0.39} \right]. \tag{1.51}$$

Avec notre calcul, nous avons trouvé des paramètres d'ajustement similaires de n=0,53 et $\tau_0=0,05$. L'enveloppe spatiale de l'échauffement 2 est présentée sur la Fig. 1.16. La température est normalisée comme en Fig. 1.15, et la distance est normalisée par le rayon de la sphère, $\rho=r/R$. Notons que cette courbe présentée n'est pas le profil de température à un instant donnée. Si la source est considérée comme ponctuelle et l'échauffement de la NP est supposé instantané, alors l'enveloppe suit un profil en $1/r^3$. Baffou et Rigneault ont montré que dans le cas d'une AuNS de taille finie, l'enveloppe d'échauffement (normalisé) peut aussi être décrite par une fonction exponentielle étendue donnée par [13] :

$$F(\rho) = exp\left[-\left(\frac{\rho - 1}{\rho_0}\right)^n\right]. \tag{1.52}$$

^{2.} Il s'agit de l'ensemble des points d'abscisse égale à la distance r et d'ordonnée égale à la valeur maximale de température atteinte à cette distance pendant la dynamique de transfert thermique de la NP vers le milieu.

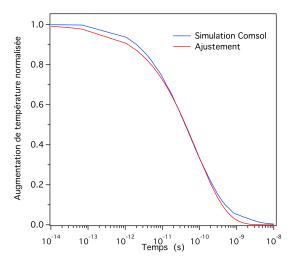


Fig. 1.15 – Augmentation de température normalisée de la AuNS en fonction du temps. La NP est excitée par une impulsion de 100 fs avec une fréquence de répétition de 5 kHz et une intensité moyenne de 100 mW cm⁻².

Ils ont déterminé des paramètres d'ajustement n=0.45 et $\rho_0=0.060$. En ajustant notre résultat issu du calcul sous COMSOL, nous avons trouvé des paramètres très proches : n=0.499 et $\rho_0=0.069$. Nous pouvons clairement constater que l'enveloppe d'échauffement du milieu est beaucoup plus confinée dans le cas de l'illumination par une impulsion ultrabrève que par une source continue. Plus l'impulsion est courte, plus l'échauffement est localisé [35,54,65]. Par conséquent, l'utilisation d'impulsions laser ultracourtes est notamment intéressante pour la thérapie contre le cancer par hyperthermie. Elle permet d'induire moins d'effets indésirables sur les tissus sains autour de la tumeur. Enfin, notons que le processus thermique dépend légèrement de la forme de la particule [66]. Dans le cas d'un AuNR, nous pouvons appliquer le modèle présenté plus haut en utilisant son rayon effectif; le refroidissement est alors plus rapide que pour une sphère en raison de son plus grand rapport de surface à volume [13].

1.3 La thérapie photothermique du cancer

Nous avons discuté de la conversion photothermique dans les NP plasmoniques avec deux types de source d'excitation. Dans cette section nous allons nous focaliser sur les applications biomédicales de cet effet. Comme nous l'avons vu dans la section précédente, les AuNP peuvent se comporter comme des nanosources de chaleur. Selon le type de laser ou la durée des impulsions, nous pouvons avons un profil d'échauffement plus ou moins confiné. Ceci fait des AuNP d'excellents candidats pour des traitements par hyperthermie localisée. Grâce à une ingénierie de surface des AuNP adaptée, cet échauffement des NP elles-mêmes peut aussi déclencher certaines fonctionnalités.

La thérapie photothermique (TPT) du cancer est une méthode relativement douce et non invasive par rapport aux méthodes traditionnelles, comme par exemple la chimiothérapie et la radiothérapie. La chimiothérapie est connue pour les effets secondaires qu'elle induit pendant le traitement. La radiothérapie induit aussi des effets indésirables pour les tissus sains proches de la tumeur traitée. Différentes molécules absorbantes sont utilisées habituellement pour la TPT [67,68]. Cependant, la faible section efficace d'absorption et le photo-blanchiment de ces molécules sont des inconvénients majeurs, que ne présentent pas les AuNP. De plus, pour avoir une profondeur de

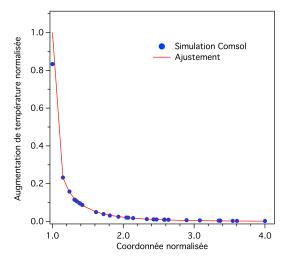


Fig. 1.16 – Enveloppe de l'échauffement de l'eau au voisinage d'une AuNS illuminée initialement par une impulsion laser fs.

pénétration de la lumière la plus grande possible, il faut accorder la longueur d'onde d'excitation à l'une des deux fenêtres thérapeutiques situées de 650 à 950 nm et de 1000 à 1350 nm [4]. Dans le cas des AuNP, on peut facilement changer leur(s) SPR en modifiant leur forme. Par exemple, avec les AuNR, on peut accorder la LgSPR aux fenêtres thérapeutiques en changeant leur RA grâce à une méthode de synthèse bien maitrisée [5]. Par ailleurs, comme nous l'avons vu dans la section précédente, le confinement de l'échauffement au voisinage des AuNP permet d'éviter des effets indésirables sur les tissus sains autour de la tumeur illuminée. Enfin, l'or est connu pour être un métal inerte y compris dans sa forme nanométrique [69–71]. Pour toutes ces raisons, l'utilisation de AuNP est une voie potentielle pour la thérapie de certains cancers.

Grâce aux avantages mentionnés ci-dessus, beaucoup d'études in vitro et in vivo sont menées avec différentes AuNP par différents groupes [18,72,73]. Dans cette thèse, nous ne nous intéressons qu'aux AuNR à cause de la relative simplicité de leur synthèse et du contrôle de leur LgSPR. L'inconvénient majeur des AuNR est que l'agent surfactant utilisé au cours de la synthèse, le bromure de cétyltriméthylammonium (CTAB), est très toxique. Il a un rôle non seulement pour la croissance anisotrope des NR, mais aussi de stabilisation des AuNR en solution aqueuse grâce à sa structure en bicouche (Fig. 1.17). Par conséquent, pour contourner la toxicité du CTAB, il est nécessaire de greffer une autre molécule à la surface des NR métalliques pour les stabiliser en solution et éventuellement pour les fonctionnaliser. Une alternative consiste à recouvrir les NR d'une couche de matériau diélectrique non toxique comme la silice [74]. Pour optimiser l'efficacité de destruction d'une tumeur, il faut favoriser une accumulation préférentielle des AuNR sur/dans la tumeur. Pour un greffage "neutre" (pas d'affinité spécifique pour la tumeur), grâce à l'effet EPR "Enhanced Permeability and Retention", les NP de taille de l'ordre de quelques nanomètres à une centaine de nanomètres ont une tendance à s'accumuler plus sur les cellules tumorales que sur les tissus sains (laxité de l'endothélium des vaisceaux sanguins tumoraux) [75, 76]. Selon les NP utilisées (différentes formes ou tailles), le contraste d'accumulation entre la tumeur et les tissus sains (organe ou muscle) varie [18]. Afin d'optimiser la quantité de NP accumulées sur la tumeur, on peut greffer à leur surface des molécules qui permettent de cibler la tumeur. Deux méthodes de ciblage sont présentées ci-dessous.

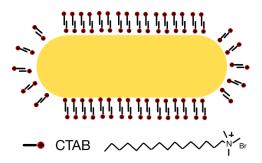


Fig. 1.17 – Schéma illustrant la stabilisation d'un AuNR en solution par une bicouche de CTAB. Le CTAB est une molécule possédant une tête hydrophile et une queue hydrophobe.

1.3.1 Vectorisation moléculaire

Les anticorps sont connus non seulement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme agents de ciblage [77, 78]. Cette vectorisation spécifique intéresse les chercheurs pour développer des nanoparticules fonctionnalisées par anticorps dans le domaine de la nano-médecine [79–81]. Cependant, cette méthode de ciblage est limitée à certains types de cancer [82]. Nous prenons comme exemple le résultat de Liu et al. [83], présenté sur la Fig. 1.18. Des nanocoquilles d'or (pGSN, pour PEG-functionalized gold nanoshell on silica nanorattle, cf. Fig. 1.18(g)) sont vectorisées par la transferrine (Tf) qui est un ligand de ciblage de cancer largement utilisé [84]. En trempant ces nanohybrides dans le Docétaxel (Doc), un médicament utilisé dans le traitement du type de cancer considéré ici, les chercheur obtiennent un agent thérapeutique qui, sous illumination laser dans le proche IR (accordé à la SPR des nanocoquilles), permet le ciblage des cellules tumorales et donc l'accumulation des nanohybrides, l'hyperthermie localisée, et la délivrance ciblée du médicament. Testé sur des souris "nude" xénogreffées (cf. Chap. 3) par une tumeur de cancer du sein MCF-7, ce protocole conduit à une régression de la tumeur impressionnate grâce à l'effet synergétique de la combinaison de ces effets.

1.3.2 Ciblage avec polymères thermosensibles

Le ciblage peut être aussi réalisé de manière photo-active. Les polymères thermosensibles permettent a priori d'atteindre cet objectif. Ces polymères possèdent une transition de phase de l'état hydrophile à l'état hydrophobe (dans lequel ils ont plus d'affinité avec les membranes cellulaires) lorsque la température augmente au-dessus de la température critique (LCST, Lower critical solution temperature en anglais). Les chaînes de polymère, en solution, s'effondrent alors sur elles-mêmes sous forme de pelote. Une fois greffées sur des AuNP, ces chaînes permettent d'activer par voie optique le changement de phase via la conversion photothermique localisée. Il est possible de piéger des molécules de médicament dans la réticulation des chaînes greffées à l'état hydrophile en solution aqueuse. Sous éclairement accordé à la SPR l'effondrement des polymères chauffés au-dessus de leur température de transition expulse l'eau et libère les molécules piégées. Ces nanohybrides sont ainsi étudiés pour réaliser la délivrance ciblée de médicament [85]. A titre d'exemple, je présente les travaux de l'équipe de Zhang et al. [74]. Ils ont greffé des polymères pNIPAM (poly(N-isopropylacrylamide)) sur des AuNR recouverts par une couche de silice (Fig. 1.19(a)). Des molécules de Doxorubicine (Dox), médicament utilisé dans le traitement par chimiothérapie de certains cancers, sont piégées autour des AuNR. Grâce à l'illumination par

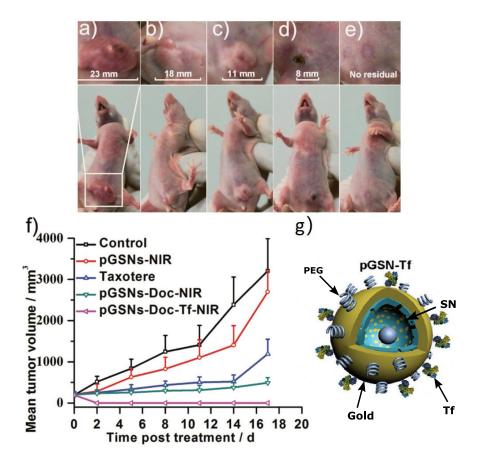


Fig. 1.18 – Photographies de souris xénogreffées par une tumeur de cancer du sein MCF-7 17 jours après traitement avec un laser proche infrarouge (NIR) avec ou sans nanocoquilles et/ou médicament (Docétaxel, ou Doc), représentant le groupe de (a) contrôle, (b) nanocoquilles sans vectorisation par Tf, (c) Taxotere (formulation du médicament Docétaxel) seul sans illumination, (d) nanocoquilles sans vectorisation mais avec Doc, (e) nanocoquilles vectorisées par Tf et avec Doc. (f) Volume tumoral moyen de chaque groupe en fonction de nombre du jours après le traitement. (g) Schéma en coupe des nanocoquilles pGSN. D'après [83].

laser de la tumeur, les nanohybrides dans et au voisinage de la tumeur sont chauffés, ce qui permet : (i) de rendre plus laxes les parois des vaisceaux, permettant aux NP de franchir plus facilement l'endothélium, (ii) de détruire les cellules par hyperthermie et (iii) de déclencher la délivrance localisée de la Dox. Un excellent effet sur la régression de la tumeur induit par la combinaison de ces mécanismes est démontré, comme on peut l'observer sur la Fig. 1.19.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté un aperçu des outils théoriques et numériques qui permettent de calculer les propriétés optiques de l'or, à l'état de solide massif puis à l'échelle nanométrique. Dans le cas d'une excitation lumineuse ultracourte, une série d'échanges d'énergie a lieu (transitions électroniques par absorption de photons, collisions e - e, e - ph, transfert thermique à l'interface métal-milieu hôte) au cours de laquelle nous avons une évolution de la distribution électronique, de la température électronique (réelle ou effective), des températures du

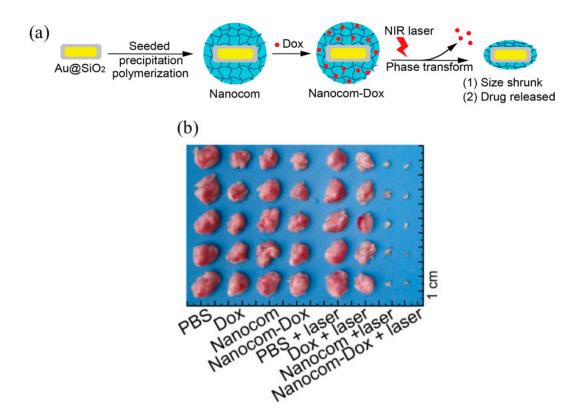


Fig. 1.19 – (a) Principe de fonctionnement des nanohybrides (Nanocom) constitués de AuNR recouverts de silice (SiO₂) puis greffés avec un polymère thermosensible (pNIPAM). Le réseau formé par les chaînes de polymère autour des NR est chargé par des molécules de Doxorubicine (Dox). Un éclairement par laser est alors appliqué induisant l'échauffement local, le changement de phase du polymère et la délivrance du médicament. (b) Tumeurs observées après différents traitements (avec 5 réplicats par traitement). PBS (phosphate buffered saline) servent de le contrôle. D'après [74].

réseau métallique et du milieu hôte. Ceci induit une évolution des propriétés optiques. Dans le chapitre suivant, nous étudierons en détail l'évolution de la réponse optique de AuNR pendant le passage d'une impulsion laser ultracourte, qui peut affecter de manière importante l'énergie absorbée par les AuNR. Nous nous sommes ensuite penchés sur l'effet photothermique pour une AuNS excitée par deux types de source laser (impulsionnelle et continue). Avec une source continue, en régime stationnaire, nous avons un profil spatial d'échauffement dans le milieu variant en 1/roù r est la distance à la NP. Avec une source impulsionnelle ultracourte, il varie suivant une loi de type exponentielle étendue, et il est beaucoup plus confiné que dans le cas d'une source continue. La température atteinte localement par les AuNS sous impulsions laser ultrabrèves est aussi très supérieure à celle sous éclairement continu. Ces propriétés sont intéressantes pour la thérapie de certains cancers par hyperthermie localisée, afin d'éviter une surchauffe indésirable autour de la tumeur. Enfin, nous avons vu deux exemples d'application à la thérapie du cancer pratiquant deux méthodes de ciblage différentes. Ces deux méthodes démontrent l'une comme l'autre un effet de traitement efficace. Dans la suite de cette thèse (Chap. 3), nous travaillerons sur le ciblage par des NP d'or, basé sur des polymères thermosensibles et dédié au cas de cancers sans expression de récepteur (pour lequels il est donc impossible de cibler les cellules tumorales avec une vectorisation). Nous présenterons également une autre étude sur l'utilisation de NP plasmoniques vectorisées par anticorps, pour un autre type de cancer exprimant un récepteur spécifique.

Chapitre 2

Absorption d'impulsions ultrabrèves par les nanoparticules plasmoniques

Sommaire

2.1 Des	cription de l'expérience	37
2.1.1	Caractérisation de la solution de nanobâtonnets d'or	37
2.1.2	Dispositif expérimental et quantités mesurées	38
2.1.3	Linéarité des détecteurs	40
2.1.4	Circulation de la solution	40
2.2 Rés	ultats expérimentaux	42
2.3 Ana	alyse	44
2.3.1	Simulation	44
2.3.2	Influence de l'intensité crête	46
2.3.3	Influence de la morphologie réelle des échantillons $\dots \dots \dots$	49
2.3.4	Influence de la fréquence de répétition du laser \dots	51
2.3.5	Discussion sur le changement de morphologie au-dessus du seuil	52
2.3.6	Réversibilité des expériences au-dessous du seuil	55
2.3.7	Influence de la durée d'impulsion	57
2.3.8	Effet la de nature athermal de la distribution électronique	58
2.4 Cor	nséquences pour les applications biomédicales	59
2.4.1	Evaluation de Δ_{abs} dans le cas où $\lambda_{laser} = \lambda_{LgSPR}$	59
2.4.2	Application à la conversion photothermique	61

Introduction

Nous avons vu dans le chapitre précédent que suite à l'absorption d'une impulsion lumineuse, la distribution des électrons de conduction dans le métal est fortement modifiée : une distribution athermale est d'abord créée, qui évolue vers l'équilibre interne par diffusion électron-électron. Le gaz des électrons chauds se refroidit ensuite par transfert d'énergie dans le réseau métallique par

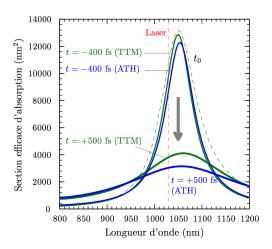


Fig. 2.1 – Spectre de la section efficace d'absorption d'un AuNR de 10×67 nm² excité par une impulsion laser de 400 fs linéairement polarisée le long du grand axe du NR à 1030 nm (ligne verticale pointillée rouge) à différents instants. Le calcul est effectué soit dans le cadre du modèle TTM (vert), soit du modèle athermal (bleu) c'est-à-dire via l'équation de Boltzmann. Traits fins : t = -400 fs, traits épais : t = +500 fs. Pointillés noirs : valeurs initiales, d'après Palik [28]. D'après [89].

diffusion électron-phonon, et la chaleur est libérée vers le milieu environnant via l'interface. De plus, l'absorption multiphotonique peut entraîner dans les premiers instants la perte d'énergie des électrons par rayonnement (photoluminescence) [86–88], ainsi que l'éjection d'électrons [89, 90]. Ces processus transitoires modulent les propriétés optiques des nano-objets. La dynamique de la réponse optiques des NP plasmoniques a été largement étudiée en utilisant la spectroscopie pompesonde résolue en temps et une modélisation appropriée [8-10]. Récemment, un travail de simulation de notre groupe a montré un fort amortissement des résonances plasmon pendant le passage de l'impulsion, dû à la distribution d'électrons chauds créée [89]. Pour illustrer cela, je reporte sur la Fig. 2.1 du spectre de la section efficace d'absorption d'un nanobâtonnet d'or telle que calculé dans la Ref. [89]. Cet AuNR a pour dimensions $10 \times 67 \text{ nm}^2$. Il est excité par une impulsion de 400 fs (centrée à t=0), de longueur d'onde 1030 nm et linéairement polarisée le long du grand axe du NR. L'intensité crête est $I_0 = 1 \text{ GW cm}^{-2}$. L'évolution du spectre est calculée avec la BEM en utilisant la fonction diélectrique transitoire de l'or modélisée par le TTM et ou le modèle athermal (cf. Chap. 1). Nous pouvons observer un fort amortissement du plasmon pendant le passage de l'impulsion. Les résultats calculés avec les deux modèles montrent un comportement similaire. Cet amortissement de plasmon ultrarapide affecte directement la quantité d'énergie absorbée sous une excitation par impulsions ultracourtes. Cependant, dans la littérature celle-ci est évaluée la plupart du temps en se basant sur les propriétés optiques stationnaires du métal [9,13,15,91,92].

Dans ce chapitre, nous démontrons par une simple expérience de transmission optique l'influence de la distribution des électrons sur la section efficace d'absorption des AuNR dans l'eau, excités par un laser pulsé subpicoseconde accordé dans le domaine de résonance plasmonique longitudinale. Les résutats sont interprétés à travers le modèle athermal. Nous étudions également avec ce modèle l'influence du rapport d'aspect des AuNR et de la durée d'impulsion sur la section efficace d'absorption des NR. Nous démontrons le rôle de la nature non thermale des électrons chauds sur σ_{abs} en comparant les résultats calculés avec le TTM. Nous appliquons ces simulations pour

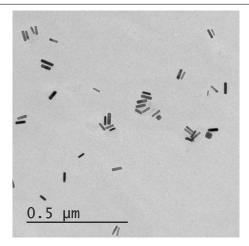


Fig. 2.2 – Image de TEM de AuNR de la solution étudiée avec un rapport d'aspect moyen égal à 4,0.

évaluer l'élévation de température maximale pouvant être atteinte par les AuNR. A la fin, nous utilisons les résultats calculés dans le cas d'un accord parfait entre la longueur d'onde excitatrice et la longueur d'onde de LgSPR, et donnons une formule numérique de la variation relative de la section efficace effective avec l'intensité crête. Le travail de ce chapitre est publié dans l'article [93].

2.1 Description de l'expérience

2.1.1 Caractérisation de la solution de nanobâtonnets d'or

La solution de AuNR étudiée est synthétisée par N. Sanson du laboratoire Sciences et Ingénierie de la Matière Molle (SIMM) à l'ESPCI. La méthode de synthèse de AuNR la plus utilisée est la méthode de croissance de germes [5]. Elle consiste à préparer deux solutions : la solution de germes, et la solution de croissance. La solution de germes contient des nanoparticules quasi-sphériques d'or, qui sont obtenues en réduisant le sel d'or. La solution de croissance contient principalement du réducteur, l'acide ascorbique, le sel d'or Au³⁺, et du CTAB. Avant d'introduire la solution de germes, l'acide ascorbique ne peut pas réduire le sel d'or en Au⁰; la réduction se fait après avoir introduit les grains d'or. Le CTAB a une affinité particulière pour certains plans cristallins d'or : la croissance des grains sera favorisée dans une direction donnée grâce à la présence du CTAB. La forme des AuNR est proche d'un cylindre aux extrémités hémisphériques. Pour avoir un meilleur accord entre la LgSPR de la solution de AuNR et la longueur d'onde de notre laser, nous avons utilisé une méthode de synthèse proposée par X. Ye et ses collègues [6] permettant de modifier le rapport d'aspect des NP. Elle consiste à utiliser un additif aromatique dans la solution de croissance, l'acide 5-bromosalicylique. En ajustant la quantité de la solution de germes, on peut accorder la LgSPR dans le domaine spectral du proche infrarouge.

Pour obtenir la distribution de taille des AuNR dans la solution, nous avons analysé les images de AuNR obtenues par Microscopie Electronique en Transmission (MET). L'une des images est présentée sur la Fig. 2.2. Les images de MET sont analysées sous le logiciel ImageJ. Les calculs statistiques sont faits avec plus de 200 particules. Pour notre solution étudiée dans ce chapitre, les AuNR ont un RA moyen de 3.96 ± 0.70 , et un diamètre de section moyen de 6.48 ± 1.61 nm. Le spectre d'absorption optique stationnaire mesuré à température ambiante est présenté sur la Fig. 2.3 (bleu). On peut identifier clairement le plasmon transverse et le plasmon longitudinal

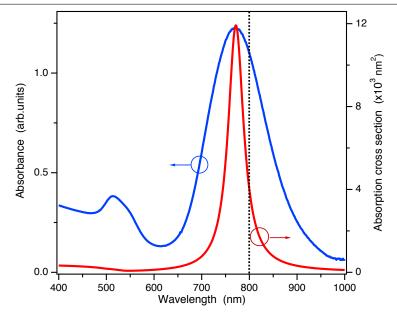


Fig. 2.3 – Spectre d'absorption de la solution de AuNR (bleu, échelle de gauche) et spectre de section efficace d'absorption d'un AuNR de 50×12.5 nm² (RA=4) avec une polarisation de champ parallèle à l'axe longitudinal du AuNR calculé par la BEM (rouge, échelle de droite). La ligne verticale en pointillés indique la longueur d'onde de notre laser.

sur le spectre expérimental à petite et à grande longueur d'onde, respectivement. Le maximum apparent d'absorbance est à 772 nm ($h\nu=1,61$ eV) correspondant à la LgSPR d'un AuNR dans l'eau avec un RA égal à 4,0 et un diamètre de section égal à 12,5 nm. Le spectre de section efficace d'absorption d'un tel AuNR est calculé par la BEM dans la configuration où la polarisation du champ est parallèle au grand axe du AuNR (Fig. 2.3, rouge). La position spectrale du maximum est bien reproduite par le calcul, la largeur spectrale est plus étroite par rapport au cas expérimental en raison de la distribution de taille et de forme dans la solution réelle.

2.1.2 Dispositif expérimental et quantités mesurées

Pour démontrer expérimentalement cette variation ultrarapide de la section efficace d'absorption des AuNR nous avons determiné l'absorption optique effective des AuNR pendant le passage d'une impulsion laser. Plutôt que de mettre en œuvre une expérience de type "pompesonde", avec une très grande résolution temporelle, cette grandeur peut être facilement accessible avec une simple expérience optique en mesurant la transmittance de la solution sous l'excitation d'impulsions femtosecondes. Or les impulsions femtosecondes ont des intensités crêtes très élevées, qui peuvent induire une changement de morphologie des AuNR, faussant les mesures par la suite. Il faut donc suivre en même temps l'alteration lente ou permanente des propriétés optiques des AuNR. Pour cela, nous avons effectué des mesures de transmittance de notre solution de AuNR avec une configuration de double laser : un laser impulsionnel et un laser continue. Le schéma du montage est présenté sur la Fig. 2.4. Notre laser pulsé est un laser femtoseconde amplifié (Hurricane, Spectra Physics). Il peut générer des impulsions de 100 fs d'énergie $\sim 200~\mu J$ à 800 nm. La fréquence de répétition peut être changée par rapport à celle du faisceau pompe délivré par l'amplificateur à l'aide d'un diviseur. Le laser continu utilisé est à 800 nm, il peut délivrer une puissance maximale de 1200 mW. Afin de garder la même fluctuation d'intensité des lasers, nous réglons leur puissance incidente non pas en modifiant le courant d'alimentation électrique, mais

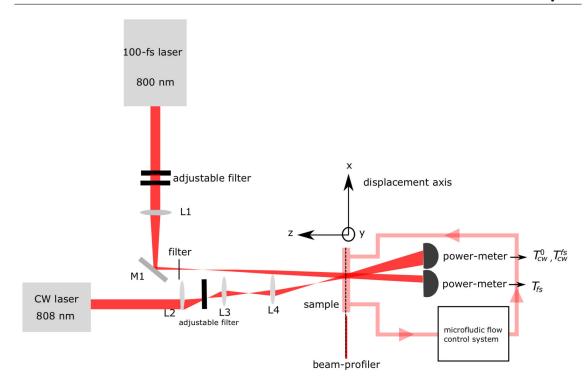


Fig. 2.4 – Montage expérimental. L désigne une lentille, et M désigne un miroir.

plutôt en utilisant des densités ajustables. La solution de AuNR est dans une cuvette optique de 2 mm qui est placée sur un rail permettant de la déplacer selon x (Fig. 2.4) et circule à l'aide d'un système microfluidique que nous allons détailler par la suite. Les deux faisceaux sont superposés et réglés au même diamètre dans le plan de l'échantillon (à l'intérieur de la cuvette optique). Pour ce faire, l'analyseur de faisceau (beam-profiler) est placé sur le rail à côté de la cuvette de sorte que le plan du détecteur se superpose au plan passant au milieu de la cuvette (Fig. 2.4). Une translation selon x sur le rail permet ainsi passer de la cuvette au détecteur dans le même plan. Nous réglons les positions des lentilles pour avoir la même taille de faisceaux des deux lasers dans ce plan, et nous assurons aussi que les deux faisceaux se trouvent à la même hauteur selon l'axe y. La superposition des faisceaux à l'intérieur de la cuvette est réalisée en visualisant le trajet optique à travers la cuvette avec une caméra et en réglant le miroir M1 (Fig. 2.4). La position de la cuvette sous les faisceaux est repérée à l'aide d'une vis. On peut alors déplacer la cuvette selon x pour mesurer la puissance incidente puis revenir très rapidement à la position de mesure. Les puissances incidentes et transmises des deux lasers sont mesurées avec des puissance-mètres (nommés Nova et Newport).

Cette expérience consiste en deux séries de mesures différentes. Premièrement, la solution n'est irradiée que par le laser continu. Nous faisons varier la puissance incidente, et la puissance transmise correspondante est mesurée. Les mesures sont faites aussi avec de l'eau seule, ce qui permet de déduire la transmittance stationnaire des NR dans la solution, notée T^0_{cw} . Dans un deuxième temps, la solution est irradiée par deux faisceaux laser simultanément. La puissance incidente du laser continu est fixé à 200 mW. On fait varier la puissance incidente du laser femtoseconde, et les deux puissances transmises sont mesurées simultanément avec les deux puissance-mètres. On répète cette série de mesures avec de l'eau, et on en déduit deux transmittances des NR dans la solution associées au laser continu et au laser fs, notées T^{fs}_{cw} et T_{fs} , respectivement.

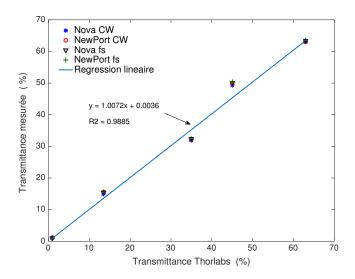


Fig. 2.5 – Courbe de caractérisation des puissance-mètres.

On s'intéresse maintenant aux informations données par chaque transmittance mesurée précédemment. T_{cw}^0 nous sert de référence. T_{fs} mesure la transmittance effective de la solution pendant le passage des impulsions, qui est donc directement liée à la puissance absorbée sur la durée d'une impulsion. Cette transmittance ne dépend que de la réponse optique pendant le passage de l'impulsion. Par ailleurs, T_{cw}^{fs} mesure la transmittance moyennée sur une durée largement supérieure au délai entre deux impulsions successives. Elle dépend donc des variations des propriétés optiques lentes ou permanentes de la solution.

2.1.3 Linéarité des détecteurs

Afin d'assurer que les deux puissances-mètres répondent linéairement avec les deux lasers, on fixe les puissances incidentes des deux lasers au maximum, on mesure les puissances transmises en changeant les filtres de densités optiques (D.O) différentes. Les caractéristiques des filtres mesurées par le fournisseur (Thorlabs) à 800 nm sont relevées et présentées en Tab. 2.1 Nous traçons donc les

D.O	0,2	0,3	0,6	1	3
Transmittance	63%	45%	35%	$13,\!5\%$	0,92%

Tab. 2.1 – Transmittance des filtres en fonction de leur D.O.

transmittances des filtres mesurées par les deux puissance-mètres en fonction des valeurs mesurées par le fournisseur (Fig. 2.5). Nous pouvons constater que la pente de la courbe est proche de 1, et le \mathbb{R}^2 l'est aussi. Les deux puissance-mètres répondent de la même manière pour les deux lasers. L'écart entre les transmittances mesurées et la transmittance fournie est dû à la différence de calibration des filtres par le fournisseur mais pas aux lasers.

2.1.4 Circulation de la solution

Pour éviter que l'alteration lente ou permanente de la solution fausse les mesures suivantes, nous voulons garantir que pour chaque puissance incidente les mesures sont faites avec une portion de solution ayant les mêmes propriétés que la solution initiale. C'est la raison pour laquelle nous avons fait circuler la solution avec un système microfluidique. La solution doit circuler toujours

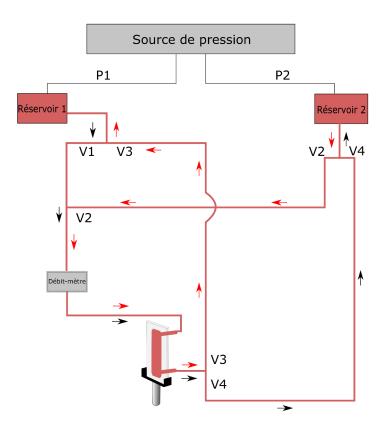


Fig. 2.6 – Schéma de circuit microfluidique. P : pression générée par la source. V : valve microfluidique. Quand P1> P2 , V1, V4 sont ouvertes, et V2, V3 sont fermées, la solution circule suivant le sens des flèches noires. Quand P2 > P1, V1, V4 sont fermées, et V2, V3 sont ouvertes, la solution circule suivant le sens des flèches rouges.

dans le même sens. Un schéma de ce dispositif est présenté sur la Fig. 2.6. Le système de contrôle du flux microfluidique (Elveflow) contient deux parties principale : OB1, la source de pression de 2 canaux, qui peut générer chacun une pression maximale de 8 bar; MUX, système de control de matrice de valve, qui peut fermer ou ouvrir 4 valves avec des combinaison définis par utilisateur. Les réservoirs 1 et 2 sont liés aux canaux générant des pressions notées P1 et P2, respectivement. Lorsque P1 > P2, V1 et V4 sont ouvertes, et V2 et V3 sont fermées : on vide le réservoir 1 et la solution circule dans le sens des flèches noirs indiquées sur la Fig. 2.6. Dans le cas contraire, la solution circule suivant la flèche rouge, ce qui correspond au sens de circulation dans la cuvette. Pour cette expérience, on utilise des valeurs de pression de 0 ou 2 bars, le débit-mètre mesure alors un débit de $\sim 5000~\mu$ l/min. La cuvette optique a une section de $9\times2~\rm mm^2$, la vitesse de circulation dans la cuvette est alors environ de $4,6~\rm mm/s$.

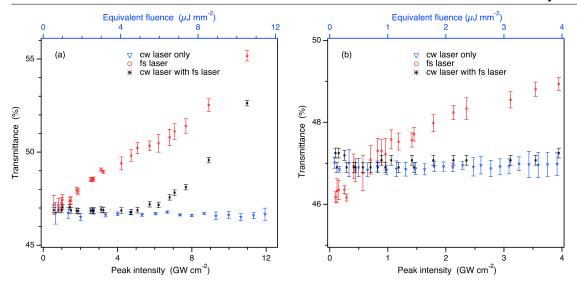


Fig. 2.7 – Transmittance de la solution de AuNR en fonction de I_0 mesurée avec le laser cw seul, T_{cw}^0 (triangles bleus), mesurée avec le laser fs à $f_{rep} = 2,5$ kHz, T_{fs} (cercles rouges) et mesurée avec le laser cw pendant l'illumination par le laser fs, T_{cw}^{fs} (étoiles noires). L'abscisse supérieure (bleue) est commune pour les deux types de laser. L'abscisse inférieure (noire) est l'intensité crête des impulsions fs, adaptée pour les mesures de T_{fs} et T_{cw}^{fs} . Les barres d'erreur sont dues à l'incertitude de mesure des puissance-mètres. (a) L'intensité crête varie de 1 GW cm⁻² à 10 GW cm⁻². (b) L'intensité crête varie de 0,1 GW cm⁻² à 4 GW cm⁻² (inférieure au seuil de fusion partielle).

2.2 Résultats expérimentaux

Les résultats expérimentaux sont présentés sur la Fig. 2.7a. Pour comparer les transmittances obtenues avec les deux types de laser, nous avons construit une abscisse commune, \mathcal{F}^{eq} , qui désigne la fluence équivalente à une impulsion à puissance moyenne égale pour les deux lasers (abscisse supérieur sur la Fig. 2.7a). \mathcal{F}^{eq} est donc la fluence de l'impulsion pour le laser fs, et pour le laser cw, elle est définie comme :

$$\mathcal{F}^{eq} = \mathcal{I}_{cw} / f_{ren}, \tag{2.1}$$

où f_{rep} est la fréquence de répétion du laser fs (ici : 2,5 ou 5,0 kHz) et \mathcal{I}_{cw} est l'intensité du laser cw. On peut constater sur la Fig. 2.7a que lorsque la solution de AuNR est illuminée avec laser cw seul, la réponse est linéaire, c'est-à dire que T_{cw}^0 (triangles bleus) est constante dans la gamme de puissance incidente de notre expérience (inférieure à 250 mW). Cependant, lorsque les AuNR sont excités par le laser fs, T_{fs} (cercles rouges) augmente avec l'intensité crête. La valeur de T_{fs} est sensible uniquement aux propriétés optiques de la solution pendant le passage de l'impulsion laser. Cette réponse optique ultracourte peut etre attribuée à la fois aux phénomènes transitoires ultrarapides induits dans les AuNR à chaque impulsion, et aux phénomènes induits par une impulsion laser qui durent plus longtemps que le délai entre deux impulsions successives, de sorte qu'ils peuvent être ressentis par l'impulsion suivante.

Pour cette raison, nous pouvons éliminer certains effets transitoires qui modifient les propriétés optiques des NP mais ne contribuent pas au signal T_{fs} détecté par notre expérience. Ces effets apparaissent dans un intervalle de temps plus grand que la durée d'impulsion, et relaxent sur des durées beaucoup plus petites que le délai entre deux impulsions successives (400 μ s), comme par

exemple : (i) la formation et l'effondrement de nanobulles. Le temps caractéristique de formation d'une bulle (~ 80 ns) est beaucoup plus grand que la durée de l'impulsion, mais en même temps la somme de ce temps de formation et du temps de l'effondrement de la bulle (~ 300 ns) est beaucoup plus petite que la période de répétition de notre laser pulsé [94] ; (ii) l'effet thermique non cumulatif : la durée d'une impulsion est trop courte pour que celle-ci soit sensible à l'échauffement des NP et de leur environnement dans le cas où le système se refroidit complètement entre deux impulsions successives [54] ; (iii) les effets mécaniques induits par une impulsion laser, comme par exemple la génération de vibrations acoustiques des NP, ou leur rotation dans le solvant [95,96]. L'échantillon utilisé dans notre expérience est une solution colloïdale où les NR sont orientés aléatoirement. Les mouvements possibles vibrationels ou rotationnels des NR se produisent avec des temps caractéristiques beaucoup plus grands que la durée d'impulsion ; lors de l'interaction de chaque impulsion laser avec les NR, ceux-ci peuvent alors être considérés comme "gelés". En raison du grand nombre de NR sondés par le faisceau, les effets mécaniques n'influencent pas la transmittance.

Nous pouvons déduire de ces arguments temporels que la nonlinéarité de la réponse optique de la solution de AuNR, révélée par la variation de T_{fs} , peut provenir soit des effets électroniques ultrarapides purs dans le métal pendant l'impulsion laser, soit des effets photothermiques lents ou irréversibles, voire des deux.

Les phénomènes photothermiques possibles sont : (i) l'échauffement local du solvant environnant les AuNR, conduisant à une diminution de l'indice local et donc à un blue-shift spectral de la LgSPR [97, 98]; on peut remarquer que, comme expliqué ci-dessus, cet effet ne peut être attribué qu'à l'échauffement local cumulatif par les impulsions successives [13]; (ii) les changements de morphologie permanents, comme l'agrégation ou la fusion partielle des NR [99–101]. D'une part, la fusion partielle des NR conduit à une diminution de leur RA puis à un décalage du mode LgSPR vers le bleu [92]. Contrairement à l'effet précédent (l'échauffement du solvant environnant), cette fusion partielle de AuNR ne peut avoir lieu que lorsqu'un certain seuil de puissance laser est atteint [92, 100, 102]. D'autre part, l'agrégation induit une diminution et un élargissement asymétrique du pic de LgSPR vers le rouge [99], de sorte qu'à une longueur d'onde proche de λ_{LgSPR} l'absorbance diminue, alors qu'à des longueurs d'onde beaucoup plus élevées que λ_{LgSPR} l'absorbance augmente. Comparée à T_{fs} , T_{cw}^{fs} est sensible uniquement à des variations lentes ou irréversibles de propriétés. Par exemple, la génération possible de nanobulles par des impulsions fs n'influence pas T_{cw}^{fs} car la période de répétition du laser est beaucoup plus grande que la durée des vie de nanobulles, comme indiqué plus haut.

Par conséquent, afin de savoir si la nonlinéarité observée (à travers T_{fs}) est due à un effet électronique ou un effet photothermique, nous devons comparer T_{cw}^0 et T_{cw}^{fs} (Fig. 2.7a, triangles bleus et étoiles noires, respectivement). Tant que l'intensité crête en excitation est inférieure à 5 GW cm⁻², T_{cw}^{fs} se superpose à T_{cw}^0 . Cela signifie que pour de faibles intensités d'excitation la morphologie des AuNR n'est pas modifiée, et il n'y pas d'échauffement cumulatif significatif du solvant autour des NPs. L'augmentation de l'écart entre T_{fs} et T_{cw}^{fs} est alors due à un effet électronique ultrarapide généré pendant le passage de l'impulsion. On remarque encore une fois que, lorsque les propriétés optiques des NP sont modifiées par les impulsions ultracourtes, la durée pendant laquelle ces changements sont significatifs (quelques picosecondes à quelques nanosecondes maximum) reste très petite comparée avec le délai entre deux impulsions successives (400 μ s). La contribution de ces modifications rapides au signal mesuré avec le laser continu est alors complètement négligeable, et T_{cw}^{fs} ne représente pratiquement que la transmittance stationnaire

de l'échantillon. Ceci peut expliquer que T_{cw}^{fs} se superpose avec T_{cw}^{0} dans la gamme de faible intensité d'excitation.

Lorsque l'intensité crête dépasse 5 GW cm $^{-2}$, T_{cw}^{fs} augmente. L'existence d'un seuil dans la dépendance en puissance de T_{cw}^{fs} révèle que la modification lente ou permanente des propriétés optiques peut être attribuée au changement de morphologie des AuNR plutôt qu'à l'échauffement du solvant. La fusion des NR et/ou leur agrégation peuvent correspondre à ce changement de morphologie. L'agrégation de NR pourrait être induite par des gradients thermiques, ou la déstabilisation de la solution en enlevant les molécules de surfactant à la surface des NR. Néanmoins, nous avons exclu cette hypothèse d'agrégation en procédant à des expériences complémentaires que nous discutons par la suite. Dans notre expérience, le changement de morphologie détecté est donc dû à la fusion partielle des AuNR. Les AuNR commencent à fondre partiellement, leur rapport d'aspect diminue [103] et la bande d'absorption du mode LgSPR se déplace vers le bleu par rapport à sa position initiale (Fig. 2.3, bleu). Puisque la transmittance est toujours mesurée à 800 nm, elle augmente à cause de ce blue-shift. Une plus grande intensité crête induit une fusion des AuNR plus forte, ce qui cause donc une augmentation de T_{cw}^{fs} . Notons que cela devrait aussi affecter la valeur de T_{fs} ; cependant, comme la section efficace d'absorption des AuNR à 800 nm diminue en raison de la modification de morphologie, l'effet de la nonlinéarité due à l'effect électronique diminue aussi ce qui compense l'augmentation de transparence liée à la déformation des AuNR. Par conséquent, on n'observe pas un changement de pente significatif de T_{fs} au-dessus du seuil de fusion partielle à $\sim 5 \text{ GW cm}^{-2}$.

Focalisons-nous maintenant sur le régime de faible intensité crête. Intuitivement, la courbe de T_{fs} devrait tendre vers la valeur stationnaire, c'est-à-dire T_{cw}^0 , lorsque l'intensité crête tend vers zéro. C'est d'ailleur ce qui semble se passer sur la Fig. 2.7a. Afin de vérifier ceci, nous avons réalisé des mesures additionnelles dans lesquelles l'intensité crête varie entre 0,1 et 0,4 GW cm⁻². Pour cela, nous gardons la même puissance laser qu'auparavant, et nous élargissons les diamètres des faisceaux pour atteindre des faibles intensités. Les résultats sont présentés sur la Fig. 2.7b. Étonnamment, les valeurs de T_{fs} sont inférieures à celles de T_{cw}^0 pour des intensités crêtes entre 0,1 et 0,4 GW cm⁻². Ces résultats seront interprété dans la section suivante. Notons enfin que les expériences réalisées sous le seuil de modification morphologique sont réversibles comme cela sera discuté dans § 2.3.6.

2.3 Analyse

2.3.1 Simulation

Pour avoir une compréhension plus profonde de nos résultats expérimentaux, nous simulons la réponse optique d'un AuNR unique de taille $50 \times 12,5$ nm² dans l'eau, exicté par une impulsion de 100 fs polarisée linéairement selon le grand axe du AuNR à une longueur d'onde de 800 nm. Puisque la durée de l'impulsion est très inférieure au temps de thermalisation interne des électrons (~ 500 fs) [7], il est plus approprié de prendre en compte la nature non-thermale de la distribution électronique. Nous allons donc utiliser le modèle "athermal" décrit dans le premier chapitre. Ce modèle nous permet d'accéder à l'évolution temporelle de la section efficace d'absorption, $\sigma_{abs}(t)$. Pour comparer les résultats expérimentaux et les résultats de simulation, il faut calculer la section efficace d'absorption effective, car la transmittance mesurée expérimentalement est une valeur moyennée sur le passage de l'impulsion laser. De plus, comme la transmittance de la solution

dépend de la concentration, nous nous intéressons à sa variation relative qui nous permet d'éliminer l'effet de la concentration.

On définit donc la section efficace d'absorption effective comme :

$$\langle \sigma_{abs} \rangle = \frac{\int \sigma_{abs}(t)I(t)dt}{\int I(t)dt}.$$
 (2.2)

où I(t) est la valeur instantanée de l'intensité. Nous avons considéré une impulsion gaussienne définie comme :

$$I(t) = I_0 \exp\left(-\frac{4ln(2)t^2}{\tau_p^2}\right)$$
(2.3)

où I_0 est l'intensité crête et τ_p est la durée de l'impulsion. La variation relative de la section efficace d'absorption effective par rapport à la valeur stationnaire, σ_{abs}^0 , est :

$$\Delta_{abs}^{theo} = \frac{\langle \sigma_{abs} \rangle}{\sigma_{abs}^0} - 1. \tag{2.4}$$

Nous devons ensuite extraire le paramètre expérimental équivalent, Δ^{exp}_{abs} , à partir des transmittances mesurées précédemment. Selon la loi de Beer-Lambert, en négligeant l'effet de diffusion au vu de la petite taille des NP, la transmittance de la solution de AuNR est liée à σ_{abs} à travers :

$$ln(T) = -\rho \sigma_{abs} z, \tag{2.5}$$

où ρ est la densité volumique de particules et z est le trajet optique dans la solution, égale à l'épaisseur interne de la cuvette. Nous avons donc :

$$\Delta_{abs}^{exp} = \frac{ln(T_{fs}) - ln(T_{cw}^{0})}{ln(T_{cw}^{0})}.$$
(2.6)

Tant que la morphologie des NP n'est pas affectée par l'irradiation laser fs, l'Eq. (2.6) peut aussi s'écrire :

$$\Delta_{abs}^{exp} = \frac{ln(T_{fs}) - ln(T_{cw}^{fs})}{ln(T_{cw}^{fs})}.$$
(2.7)

L'avantage d'utiliser T_{cw}^{fs} dans l'Eq. (2.7) est que Δ_{abs}^{exp} peut nous aider à identifier le seuil de fusion partielle des AuNR. Selon les résultats expérimentaux reporté sur la Fig. 2.7, la différence entre T_{fs} et T_{cw}^{fs} reste suffisamment petite dans la gamme d'intensité crête utilisée pour pouvoir effectuer un développement limité de l'Eq. (2.7) au premier ordre, conduisant à :

$$\Delta_{abs}^{exp} = \frac{T_{fs} - T_{cw}^{fs}}{T_{cw}^{fs} ln(T_{cw}^{fs})}.$$
 (2.8)

2.3.2 Influence de l'intensité crête

a. Variation de section efficace d'absorption

Nous étudions tout d'abord la variation de l'absorption effective avec l'intensité crête du laser, I_0 . La Fig. 2.8a représente la variation de Δ_{abs} simulée en échelle logarithmique. La section efficace d'absorption effective augmente d'abord pour les intensités jusqu'à $I_0 = 100$ MW cm⁻², diminue ensuite, devient inférieure à la valeur stationnaire (puisque $\Delta_{abs} < 0$) et diminue encore linéairement avec $logI_0$. La variation expérimentale correspondante est montrée dans la Fig. 2.8b. Dans la gamme expérimentale de I_0 , la comparaison avec la Fig. 2.8a montre que la variation de Δ_{abs} calculée est en bon accord avec la variation expérimentale tant que I_0 reste inférieur au seuil de fusion partielle discuté plus haut. Comme dans la simulation, Δ_{abs} passe des valeurs positives aux valeurs négatives lors de l'augmentaton de l'intensité crête. L'inversion de signe a lieu autour de 0,5-0,7 GW cm⁻² dans les deux cas.

b. Distribution électronique

Pour analyser cette nonlinéarité et le changement de signe de Δ_{abs} , nous avons choisi deux intensités crêtes : $100 \,\mathrm{MW}\,\mathrm{cm}^{-2}$ et $1 \,\mathrm{GW}\,\mathrm{cm}^{-2}$, correspondants aux valeurs de Δ_{abs} (Δ_{abs}^{theo} et Δ_{abs}^{exp}) positives et négatives, respectivement. Nous regardons tout d'abord la fonction de distribution électronique f aux deux intensités crêtes choisies. Les résultats calculés sont présentés sur la Fig. 2.9. Nous représentons sur la figure le profil de f à quatre instants différents par rapport à l'instant initial de l'impulsion, centrée en t=0 fs, $t_0=-125$ fs ($t< t_0, I(t)=0$), jusqu'à l'instant correspondant à la fin du passage de l'impulsion ($t=125 \,\mathrm{fs}$); nous ne verrons donc pas l'évolution ultérieure de la distribution électronique qui tend quasiment vers une distribution de Fermi-Dirac à température électronique plus élevée que la température ambiante (régime thermal). Les allures de f reportées sur la Fig. 2.9 présentent un caractère très athermal. La fonction de distribution électronique est creusée tout d'abord autour de l'énergie de Fermi dans les deux cas. Ensuite, plus intensité crête est importante, plus les états d'énergie autour $E_F - h\nu$ ($h\nu$, énergie de photon observé) se dépeuplent. Par conséquent, pour une intensité crête importante, nous pouvons avoir une absorption successive de plusieurs photons (Fig. 2.9b).

c. Fonction diélectrique

Afin d'avoir une compréhension plus profonde des propriétés optiques des AuNR, il faut que nous regardions l'évolution de la fonction diélectrique pour les deux intensités crêtes. Nous nous intéressons ici uniquement à la partie imaginaire de la fonction diélectrique qui décrit l'absorption dans l'or, la partie réelle étant calculée grâce à la relation de Kramers-Kronig. Sur la Fig. 2.10 l'évolution des parties interbande et intrabande de ε_2 est présentée pour les deux valeurs de I_0 . Dans le cas de faible intensité crête, nous pouvons observer une augmentation de la composante ε_2^{ib} jusqu'à $\sim 2,4$ eV, avec un maximum à 1,55 eV où une singularité apparaît dans la pente. Il s'agit d'une singularité de Van Hove expliquée par la discontinuité de la densité d'états joints lorsque la transition interbande exactement au point L est autorisé [23]. Ces variations sont dues aux états vidés autour de $E_F - h\nu$, ce qui abaisse le seuil de transition interbande. En revanche, la variation de la partie intrabande est très faible. En ce qui concerne l'intensité crête forte, l'augmentation autour de 1,55 eV est encore plus importante par rapport à la faible intensité, car la distribution électronique autour de $E_F - h\nu$ est encore plus creusée (Fig. 2.10). La partie intrabande augmente aussi dans le cas de forte intensité. Ceci est dû à l'augmentation de taux du diffusion Γ (principalement Γ_{e-ph}). En effet, dans le cas de la lumière visible on a ν \gg Γ , donc la

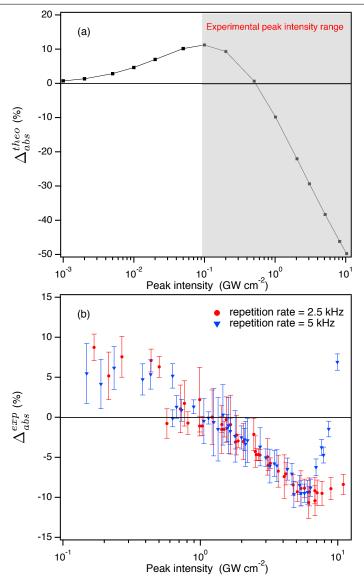


Fig. 2.8 – Variation relative de la section efficace d'absorption, Δ_{abs} , en fonction de l'intensité crête. (a) Résultat de simulations réalisées avec un AuNR de $50 \times 12,5$ nm² excité à $\lambda_{laser} = 800$ nm avec une impulsion de 100 fs polarisée linéairement le long du grand axe du AuNR. La zone grisée correspond à notre gamme expérimentale. (b) Δ_{abs} déterminée à partir des résultats expérimentaux à deux fréquences de répétition du laser : 5,0 kHz (triangles bleus) et 2,5 kHz (points rouges).

partie imaginaire de la susceptibilité intrabande, χ^D_2 , (Eq. (1.5)) peut être simplifiée sous la forme :

$$\chi_2^D(\omega) \simeq \frac{\omega_p^2 \Gamma}{\omega^3}.$$
(2.9)

La contribution intrabande est donc proportionnelle à Γ qui augmente dès lors que T_e^* ou T_l augmente. Comme la variation relative de la partie interbande est beaucoup plus importante que celle de la parite intrabande, la variation des propriétés optiques est dominée par la contribution interbande dans les deux cas. Cette évolution ultrarapide de la fonction diélectrique induit un fort amortissement de la LgSPR sur un échelle de temps de la durée de l'impulsion. Avant l'excitation, le mode de plasmon longitudinal du AuNR est complètement découplé de la transition

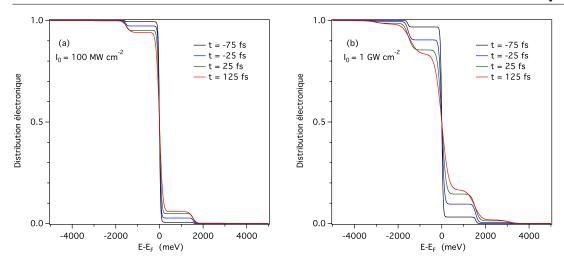


Fig. 2.9 – Fonction de distribution électronique f à différents instants t en fonction de $E - E_F$. (a) $I_0 = 100 \text{ MW cm}^{-2}$. (b) $I_0 = 1 \text{ GW cm}^{-2}$. L'énergie de photons observés est de 1,55 eV.

interbande dans notre cas : $h\nu > E_{ib}$ (ε_2^{ib} est nulle). Cependant, lors de l'absorption de l'impulsion ultracourte, nous avons une forte augmentation de ε_2^{ib} autour de l'énergie de photon d'excitation. La contribution interbande n'est plus négligeable par rapport à la contribution d'intrabande. Par conséquent, le plasmon longitudinal est fortement amorti lors du passage de l'impulsion. Dans le cas de forte intensité crête, l'effet de cette compétition entre mode plasmon et transition interbande est plus important qu'à faible intensité. De plus, comme la valeur de Γ augmente de manière significative, la contribution intrabande va aussi induire un amortissement accrue du mode plasmon.

d. Evolution ultrarapide du mode plasmon

L'évolution du spectre pour les deux intensités crêtes est présentée sur la Fig. 2.11. L'amortissement ultrarapide du plasmon est d'autant plus important que l'intensité crête de l'impulsion est forte. Cela n'est pas surprenant au regard des arguments ci-dessus. C'est tout sauf surprenant que l'amortissement ultrarapide du plasmon est d'autant plus important que l'intensité crête de l'impulsion est forte. La nonlinéarité complexe de Δ_{abs} peut être expliquée par l'amortissement de plasmon ultrarapide pendant l'absorption de l'impulsion. On peut observer que l'amortissement de la résonance plasmonique entraîne une diminution permanente de σ_{abs} au cours de l'impulsion dans une plage spectrale étroite autour du pic de LgSPR (ici à 772 nm). Au contraire, σ_{abs} augmente dans les ailes de basse et haute longueur d'onde. En comparant les Figs. 2.11a et 2.11b, nous pouvons voir que plus l'amortissement du plasmon est important (diminution de l'amplitude et élargissement du pic LgSPR), plus la bande spectrale correspondant à une augmentation de σ_{abs} est étroite. La situation à 800 nm est intermédiaire dans notre cas (Fig. 2.12) : σ_{abs} augmente au début de l'impulsion, diminue ensuite.

e. Section efficace d'absorption effective

Ainsi, en fonction de la longueur d'onde du laser, λ_{laser} , et notamment de l'intervalle spectral entre λ_{laser} et la longueur d'onde de plasmon, λ_{LgSPR} , $\langle \sigma_{abs} \rangle$ peut être plus grande ou plus petite que σ_{abs}^0 . Maintenant, l'augmentation de l'énergie de l'impulsion induit un amortissement et un élargissement de la LgSPR plus forts (Fig. 2.11). Par conséquent, pour λ_{laser} fixée, les variations instantanées de σ_{abs} pendant le passage de l'impulsion peuvent dépendre de I_0 , $\sigma_{abs}(t)$ peut être

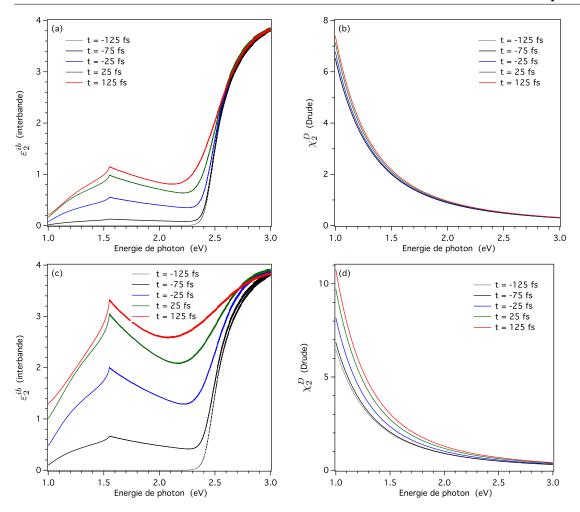


Fig. 2.10 – Evolution de la partie imaginaire de la fonction diélectrique du AuNR à différents instants de l'impulsion : instant initial t=-125 fs (pointillés noirs), t=-75 fs (noir), t=-25 fs (bleu), t=25 fs (vert), t=125 fs (rouge). (a) $I_0=100$ MW cm⁻², partie interbande, (b) $I_0=100$ MW cm⁻², partie intrabande, (c) $I_0=1$ GW cm⁻², partie interbande, (d) $I_0=1$ GW cm⁻², partie intrabande.

plus grande ou plus petite que la valeur stationnaire (Fig. 2.12), ce qui affecte la valeur moyenne effective $\langle \sigma_{abs} \rangle$. Ceci explique l'inversion de signe de Δ_{abs} observée sur les Figs. 2.8a et 2.8b.

2.3.3 Influence de la morphologie réelle des échantillons

Puisque le nanobâtonnet considéré pour la simulation correspond au plus représentatif de la distribution des NR dans l'échantillon expérimental, les variations de Δ^{theo}_{abs} simulées reproduisent bien celles de Δ^{exp}_{abs} . Cependant, on peut remarquer sur la Fig. 2.8 que les valeurs de Δ_{abs} prédites sont plus grandes que celles mesurées pour la même intensité crête. Ce désaccord peut être attribué à deux éléments liés à la morphologie de la distribution de NR dans la solution colloïdale : l'orientation et la forme des nanoparticules.

a. Influence de l'orientation aléatoire des AuNR dans la solution

Les NR sont orientés de manière aléatoire. Comme l'impulsion laser est polarisée linéairement, la réponse de NR orientés parallèlement au champ électrique va contribuer le plus à la réponse

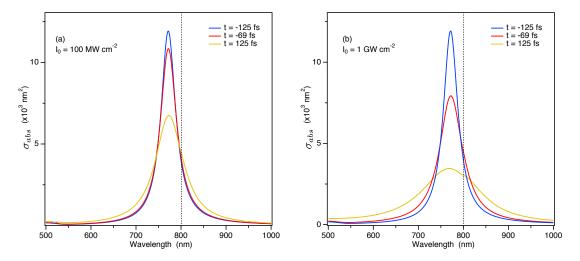


Fig. 2.11 – Spectre de la section efficace d'absorption d'un AuNR de $50 \times 12,5$ nm², excité par une impulsion de 100 fs centrée à t=0, linéairement polarisée le long du grand axe du AuNR, à trois instants : avant l'impulsion (bleu), pendant la première moitié de l'impulsion (rouge) et juste après l'impulsion (jaune). La ligne verticale pointillée indique la longueur d'onde du laser. (a) $I_0=100$ MW cm⁻², (b) $I_0=1$ GW cm⁻².

totale car ils reçoivent l'énergie incidente la plus élevée. C'est le cas qui correspond exactement à la simulation où seule la polarisation longitudinale est considérée. Néanmoins, les autres NR dans la solution absorbent moins d'énergie car ils ne sont pas alignés avec le champ, et leur amortissement de plasmon pendant l'impulsion correspond donc à une intensité crête effective plus faible que I_0 (partie gauche de la courbe par rapport à I_0 sur la Fig. 2.8a). La valeur vraie de Δ_{abs} tenant compte de l'effet de l'orientation aléatoire des NR est la valeur moyenne de tous les Δ_{abs} pour une intensité entre 0 et I_0 pondérée par la valeur de l'intensité crête correspondante. Par conséquent, la courbe de Δ_{abs} obtenue en moyennant spatialement sur l'ensemble de la distribution de NR orienté aléatoirement correspondrait à une courbe de même allure que celle de la Fig. 2.8a, mais présentant des variations plus faibles, le maximum et le point d'inversion de signe étant légèrement décalés vers les intensités crêtes plus élevées. Ceci permettrait donc d'améliorer l'accord avec nos résultats expérimentaux.

b. Influence de la distribution de forme des AuNR

L'échantillon réel contient des NR avec différents RA autour la forme la plus probable, tandis que le calcul est effectué pour un RA unique. Afin de comprendre le rôle de la distribution de forme, nous avons considéré trois valeurs de RA supplémentaires pour le calcul, les NR correspondants ayant la même volume que le NR de $50 \times 12,5$ nm² considéré jusqu'au présent. Les variations de Δ_{abs}^{theo} avec l'intensité crête sont présentées sur la Fig. 2.13. Suivant la discussion développée dans la section précédente, l'intervalle spectral entre λ_{laser} et λ_{LgSPR} varie car λ_{LgSPR} varie avec RA des AuNR, et λ_{laser} est fixée dans le calcul. Ceci mène à une dépendance de Δ_{abs} en I_0 très différente selon le RA considéré, comme on peut le voir sur la Fig. 2.13. Par conséquent, nous avons deux effects antagonistes : pour le AuNR avec $\lambda_{LgSPR} = \lambda_{laser}$ (cas RA = 4,3), Δ_{abs} diminue quand l'intensité crête augmente tandis que pour le AuNR de λ_{LgSPR} très différente de λ_{laser} , Δ_{abs} peut être soit positive, soit négative, selon l'intensité crête. Dans la solution, toutes les contributions des différents RA s'ajoutent, ce qui mène à une valeur de Δ_{abs} moyennée sur l'ensemble de la distribution de forme différente de celle attendue pour la forme la plus probable

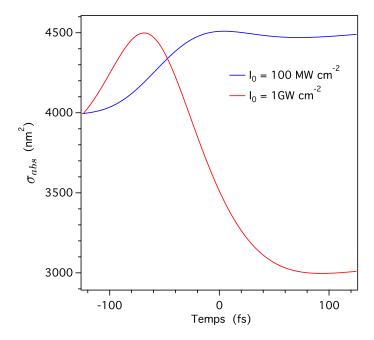


Fig. 2.12 – Evolution de la section efficace d'absorption instantanée calculée pendant l'impulsion laser à deux intensités crêtes différentes : $I_0 = 100 \text{ MW cm}^{-2}$ (bleu) et $I_0 = 1 \text{ GW cm}^{-2}$ (rouge).

uniquement. Soulignons finalement que lorsque le laser est parfaitement accordé à la LgSPR du NR (c'est-à-dire, $\lambda_{laser} = \lambda_{LgSPR}$) et le NR est aligné avec la polarisation des impulsions (losanges noir sur la Fig. 2.13), l'énergie réelle absorbée par le NR de l'impulsion n'est que la moitié de la valeur qui serait évaluée à partir des propriétés optiques stationnaire (σ_{abs}^0) pour une intensité crête relativement faible de 500 MW cm⁻². Ce facteur diminue jusqu'à 20% à 10 GW cm⁻². Cela met en évidence la nécessité de prendre en compte la réponse optique ultrarapide dans la détermination de l'énergie absorbée des impulsions ultracourtes par les nanostructures plasmoniques. Afin de calculer la valeur moyenne de Δ_{abs} exacte d'une solution de AuNR, il est alors nécessaire de prendre en compte à la fois l'orientation et la distribution de forme des AuNR.

2.3.4 Influence de la fréquence de répétition du laser

Nous avons également effectué des mesures à la fréquence de répétition double de la précédente soit $f_{rep} = 5.0$ kHz. Les résultats sont reportés sur la Fig. 2.14 où la transmittance est présentée en fonction de l'intensité crête. On peut observer que T_{cw}^{fs} s'écarte de T_{cw}^{0} même pour des valeurs faibles de I_0 , ce qui contraste avec ce qui avait été observé à 2,5 kHz (Fig. 2.7a). Cette tendance est encore renforcée après 5 GW cm⁻², cette fois-ci comme pour $f_{rep} = 2,5$ kHz. Les valeurs de Δ_{abs}^{exp} correspondantes sont reportées sur la Fig. 2.8b (triangles bleus) en fonction de I_0 . Les deux courbes aux deux fréquences de répétition se superposent assez bien au dessous du seuil de fusion partielle, car la différence entre T_{cw}^{fs} et T_{cw}^{0} est d'environ 1%, ce qui se traduit par une différence pour Δ_{abs}^{exp} trop faible pour être détectée sur la Fig. 2.8b, étant plus petite que la barre d'erreur. Diminuer le retard entre les impulsions laser successives peut entraîner des effets thermiques cumulatifs [13]. Dans ce cas, un fond thermique s'installe et sa température moyenne est d'autant plus élevée que l'énergie des impulsions est grande. Cette élévation de température induit un échauffement du solvant environnant les NR, ce qui modifie leur réponse optique comme évoqué plus haut. Cet effet apparaît sans seuil en énergie et peut donc expliquer donc l'écart entre T_{cw}^{fs} et T_{cw}^{0} pour $I_0 < 5$ GW cm⁻². Au delà le changement de morphologie des NP est activé quasiment à la même valeur de I_0

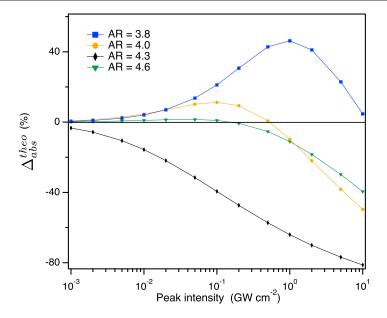


Fig. 2.13 – Variation relative de la section efficace d'absorption effective, Δ_{abs}^{theo} , calculé à une longueur d'onde de 800 nm en fonction de l'intensité crête pour RA = 3,8 (carrés bleus), RA = 4,0 (points oranges), RA = 4,2 (losanges noirs) et RA = 4,6 (triangles verts).

que pour la plus faible fréquence de répétition. Le fond thermique dû à l'effet cumulatif a donc très peu d'influence sur le seuil de fusion partielle; cependant, le changement de morphologie du seuil sondé par la modification de Δ_{abs}^{exp} (Fig. 2.8) est évidemment favorisé par le fait que pour $f_{rep}=5.0$ kHz les AuNR passant à travers le faisceau laser continu subissent deux fois plus d'impulsions laser fs que pour $f_{rep}=2.5$ kHz. On peut alors déduire de ces observations que la diffusion des atomes à la surface des nanoparticules, responsable de la déformation des NR, est produite par chaque impulsion et s'arrête entre les impulsions successives (les AuNR ne restent pas chauds longtemps après chaque impulsion) [92, 100, 101, 103–105]. Le fond thermique cumulatif renforce légèrement cet effet à f_{rep} plus élevée et à intensité forte.

2.3.5 Discussion sur le changement de morphologie au-dessus du seuil

Nous attribuons plutôt le changement mesuré au-dessus du seuil à la fusion partielle des NP qu'à leur agrégation. Afin de confirmer cela, nous avons fait une série d'expériences complémentaires.

a. Spectre d'absorption de la solution statique

Premièrement, nous avons réalisé la même mesure à $f_{rep} = 5,0$ kHz mais sans faire circuler la solution. Les résultats expérimentaux sont présentés sur la Fig. 2.15. Comme démontré par la Fig. 2.8b, le comportement au-dessous du seuil ne dépend pas de f_{rep} . On peut donc comparer les données de la Fig. 2.15 avec celles de la Fig. 2.7b (même gamme d'intensité crête). Les courbes présentées sont similaires (le léger écart de T_{cw}^0 est dû à la petite différence de concentration en NP dans les deux échantillons). Il n'y a pas de changement de morphologie notable induit par le laser fs, car T_{cw}^{fs} se superpose à T_{cw}^0 . Ensuite, nous augmentons l'intensité crête à environ 6,8 GW cm⁻² (donc au-dessus du seuil). On a alors $T_{cw}^{fs} > T_{cw}^0$. Nous retirons ensuite des faisceaux laser la cuvette optique contenant de solution, et mélangeons celle-ci avec un agitateur pour l'homogénéiser (T_{cw}^{fs} après agitation se rapproche de T_{cw}^0). L'agitation est alors stoppée, et la solution est illuminée à nouveau pendant 1 à 2 secondes. Ce protocole est répété jusqu'à ce que la transmittance de

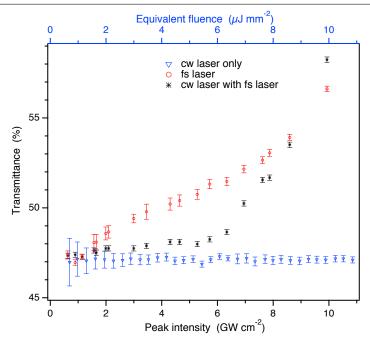


Fig. 2.14 – Même représentation que dans la Fig. 2.7a mais avec une fréquence de répétition $f_{rep} = 5.0 \text{ kHz}.$

la solution statique (après homogénéisation sans illumination fs) ait augmenté d'environ 8% par rapport à T_{cw}^0 .

Trois spectres sont mesurés au cours de cette expérience : (i) avant l'irradiation, (ii) après irradiation au-dessous du seuil (c'est-à-dire après les mesures présentées sur la Fig. 2.15), (iii) après l'irradiation au-dessus du seuil de modification morphologique. Les spectres sont présentés sur la Fig. 2.16. On peut observer qu'après l'irradiation aux intensités crêtes au-dessous du seuil, la bande de LgSPR n'est pas modifiée par rapport à la bande initiale. En revanche, après irradiation de toute la solution au-dessus du seuil, le maximum du mode SPR longitudinal est décalé légèrement vers le bleu par rapport à sa position initiale. De plus, la bande est rétrécie de manière asymétrique, la largeur étant diminuée dans le rouge de la bande autour de 800 nm. Ce résultat confirme l'hypothèse de fusion partielle : les nanobâtonnets avec une LgSPR correspondant à la longueur d'onde du laser à 800 nm sont plus chauffés que les autres et sont donc déformés plus efficacement (diminution du rapport d'aspect des AuNR lors de la fusion partielle). La sous-population de ces NR est alors déplétée. Ceci entraîne à la fois la diminution de l'absorbance à 800 nm et le décalage vers le bleu du pic effectif de LgSPR de la solution globale. De plus, cela exclut toute agrégation significative pour cette intensité crête, ce qui aurait plutôt conduit à un décalage vers le rouge du pic de LgSPR effectif avec un élargissement asymétrique du pic vers le rouge [99, 103].

b. Mesures à différentes concentrations en NP

Une autre expérience a été menée pour confirmer l'absence d'agrégation. L'agrégation devrait être favorisée en augmentant la concentration de NP dans la solution. Par conséquent, dans le cas d'une contribution de l'agrégation de NP au changement détecté au-dessus du seuil, celui-ci devrait varier en changeant la concentration de NP dans la solution. Nous avons alors répété la même expérience que celle décrite sur la Fig. 2.4 avec $f_{rep} = 5,0$ kHz, la concentration de la solution étant réduite d'un facteur deux environ par rapport à celle de la Fig. 2.14.Les données

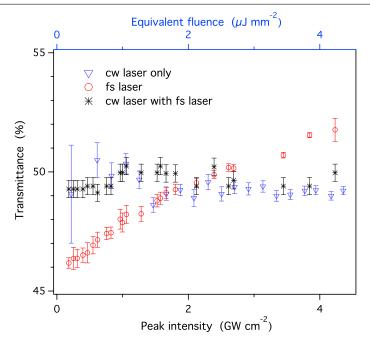


Fig. 2.15 – Mesure des transmittance en fonction de I_0 sur la solution statique, pour de faibles intensités crêtes et avec $f_{rep} = 5.0$ kHz.

expérimentales sont présentées dans la Fig. 2.17. Nous pouvons observer un comportement similaire à celui des résultats reportés dans la Fig. 2.14. Bien entendu, la transmittance globale est plus élevée que sur la Fig. 2.14 car la concentration en metal est plus faible. Nous avons une petite augmentation de T_{cw}^{fs} due à l'échauffement du solvant environnant les NP qui est notable à partir d'environ 3 GW cm⁻². Cette dernière valeur est légèrement plus haute que celle dans la Fig. 2.14 en raison du fait que la densité de NP dans la solution est plus faible. Ceci confirme que l'origine de la faible augmentation de T_{cw}^{fs} au-dessous du seuil est l'effet photothermique cumulatif. La pente de la courbe de T_{cw}^{fs} change notablement à partir de $I_0 \sim 5$ GW cm⁻², qui est la même valeur que celle trouvée dans les expériences précédentes. Afin de révéler la valeur du seuil plus clairement, la variation de Δ_{abs}^{exp} avec l'intensité est présentée sur la Fig. 2.18. Nous pouvons conclure que le seuil ne dépend pas de la concentration de la solution en NP. Nous pouvons donc éliminer l'effet d'agrégation comme origine du changent de morphologie.

En résumé, les différentes expériences réalisées démontrent que le changement de morphologie détecté grâce à la mesure de T_{fs}^{cw} peut être attribué à la fusion partielle des NR plutôt qu'à leur agrégation.

c. Evaluation de l'énergie au seuil de fusion des nanobâtonnets

Le seuil de fusion partielle $I_{0melt}=5~\mathrm{GW~cm^{-2}}$ trouvé dans nos expériences correspond à une énergie absorbée par un AuNR de $\mathcal{E}_{melt}^{part}=I_{0melt}\langle\sigma_{abs}\rangle\tau_p=12,3~\mathrm{fJ}$. Comme dans la Ref. [102], les considérations thermodynamiques basées sur les propriétés de l'or massif sont utilisées pour calculer l'énergie nécessaire pour fondre un AuNR, \mathcal{E}_{melt}^{tot} . Elle est donnée par :

$$\mathcal{E}_{melt}^{tot} = c_{Au} m \Delta T + m \Delta H_{fus}, \qquad (2.10)$$

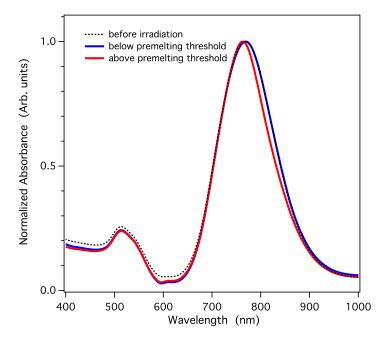


Fig. 2.16 – Spectres d'absorption mesurés pendant l'expérience "statique" à trois instants : avant l'irradiation par laser (pointillé noir), après avoir irradié la solution au-dessous du seuil (bleu), et après avoir irradié la solution au-dessus du seuil (rouge).

où m est la masse du AuNR, ΔT est la différence entre la température ambiante (25 °C) et la température de fusion de l'or (1064,18 °C), et ΔH_{fus} est l'enthalpie de fusion de l'or (63,7 J/g). Ceci nous conduit à une énergie $\mathcal{E}_{melt}^{tot}=21,5$ fJ nécessaire pour une fusion totale d'un AuNR de $50\times12,5$ nm². Cette valeur est du même ordre de grandeur que notre résultat expérimental, bien que légèrement supérieure. Ce n'est pas surprenant dans la mesure où notre expérience permet d'évaluer le seuil de fusion partielle et non totale. En outre, il est connu que lorsque la taille des NP diminue, leur point de fusion diminue par rapport à celui de l'or massif [54]. Link et El-Sayed ont déterminé une valeur de $\mathcal{E}_{melt}^{tot}=65$ fJ pour un AuNR de 44×11 nm² avec RA = 4,1 dans l'eau [102], tandis que l'évaluation thermodynamique classique donne une valeur de 16 fJ. Cependant, comme ils ont utilisé la section efficace d'absorption stationnaire dans l'exploitation de leurs résultats expérimentaux, obtenus avec des impulsions laser de 100 fs accordées à la LgSPR des NR, leur valeur de \mathcal{E}_{melt}^{tot} est certainement surestimée, comme nous l'avons démontré précédemment. Enfin, une densité volumique d'énergie nécessaire pour atteindre le seuil de fusion partielle (déformation des nanobâtonnets) de 2,2 aJ nm³ est déduite de notre expérience.

2.3.6 Réversibilité des expériences au-dessous du seuil

Plusieurs arguments démontrent la réversibilité de nos mesures pour $I_0 < 5 \text{ GW cm}^{-2}$. C'est aussi ce qui est observé expérimentalement, en effet :

1. La circulation de la solution ne rafraîchit pas les nanobâtonnets sous irradiation après chaque impulsion. Chaque portion de solution de NR illuminée reçoit 1000 à 2000 impulsions avant de sortir de la zone d'irradiation. Comme T_{cw}^{fs} , destinée à détecter un possible changement irréversible dans l'expérience, n'est pas modifiée, cette augmentation de l'absorbance (issue de la génération d'une distribution transitoire d'éléctrons chauds) est totalement réversible.

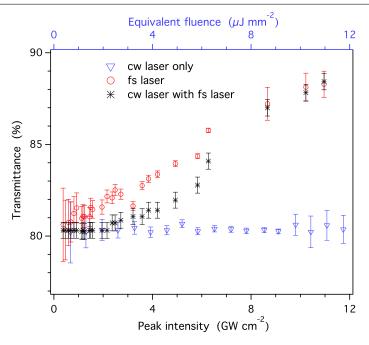


Fig. 2.17 – Même que Fig. 2.14 pour une faible concentration

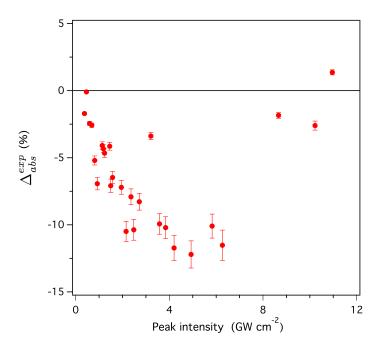


Fig. $2.18 - \Delta_{abs}^{exp}$ en fonction de I_0 déterminée à partir des données expérimentales de la Fig. 2.17.

- 2. L'expérience statique (ni circulation, ni agitation de la solution) (voir Fig. 2.15) montre le même comportement qu'avec circulation de la solution comme discuté dans la section précédente.
- 3. La mesure du spectre d'absorption stationnaire (Fig. 2.16) montre que le pic du mode LgSPR est laissé inchangé après irradiation au-dessous du seuil. Ceci est une autre preuve de la réversibilité des changements ultrarapides induits par les impulsions femtosecondes.

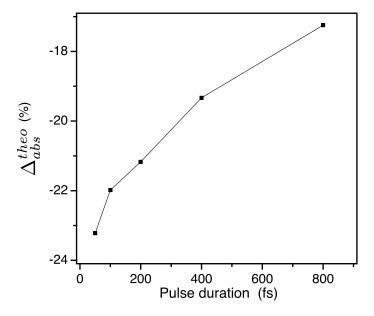


Fig. $2.19 - \Delta_{abs}^{theo}$ calculé pour un AuNR de $50 \times 12,5$ nm² aligné avec la polarisation du champ avec la fluence constante de $200~\mu\mathrm{J}~\mathrm{cm}^{-2}$, en fonction de la durée d'impulsion.

2.3.7 Influence de la durée d'impulsion

Comme discuté dans l'introduction, de nombreux développements récents basés sur la LSPR exploitent les propriétés spécifiques apportées par l'utilisation d'impulsions laser ultracourtes plutôt que de la lumière continue, en particulier pour des applications biomédicales [74] ou photoniques ultrarapides [106, 107]. Par conséquent, tous les effets reposant sur des processus multiphotoniques, tels que la photoluminescence à large bande [86–88,108], la génération de plasma à basse densité [89, 109], la nanocavitation [15,110], ou la production d'espèces réactives de l'oxygène dans l'eau [86,111, 112], nécessite une absorption de lumière courte et intense. La conversion photothermique par les NP plasmoniques bénéficie également de l'excitation par impulsions ultracourtes, car elle fournit un échauffement plus important et plus localisé que l'excitation continue : plus la durée de l'impulsion est courte, plus l'échauffement est concentré [13,65]. Ceci est particulièrement intéressant pour le traitement photothermique de certaines cancers par hyperthermie locale ou la délivrance ciblée de médicaments [74, 109, 113, 114]. Ainsi, cela nous a conduits à étudier l'effet de la durée d'impulsion sur Δ_{abs} . Pour cela, nous fixons la valeur de la fluence de l'impulsion : $I_0\tau_p$ est une constante. Nous choisissons l'énergie de l'impulsion comme équivalente à celle d'une impulsion de 100 fs avec $I_0=2~{\rm GW~cm^{-2}}$. La longueur d'onde du laser est toujours de 800 nm. Δ_{abs} est alors calculée pour un AuNR de $50 \times 12,5$ nm² pour différentes valeurs de τ_p . L'impulsion la plus courte considérée est de 50 fs, durée avec laquelle le modèle est encore valable [89]. La Fig. 2.19 montre que Δ_{abs} est toujours négative et $|\Delta_{abs}|$ augmente lors que la durée d'impulsion diminue. Cette tendance est totalement attendue, puisque si $\tau_p \to \infty$, alors $\langle \sigma_{abs} \rangle \to \sigma_{abs}^0$, soit $\Delta_{abs} \to 0$. Dans la littérature, pour une excitation par impulsions ultracourtes, l'hypothèse habituellement posée pour justifier l'utilisation de la valeur stationnaire de σ_{abs} pour évaluer l'apport d'énergie lumineuse est que l'impulsion est tellement courte que le système peut être considéré comme "gelé", n'ayant pas le temps d'être modifié [9, 13, 15, 91]. Nous démontrons ici que ceci n'est pas exact : plus l'impulsion laser est courte, plus il est nécessaire de tenir compte de l'effet de la distribution des électrons chauds dans les propriétés optiques, sauf évidemment dans le cas où la fluence incidente est très faible.

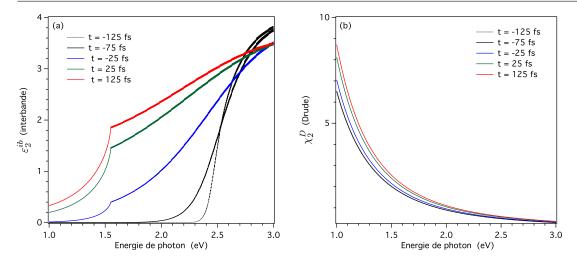


Fig. 2.20 – Evolution de la partie imaginaire de la fonction diélectrique du AuNR à différents instants de l'impulsion, calculée par le TTM à $I_0 = 1$ GW cm⁻² : instant initial t = -125 fs (pointillés noirs), t = -75 fs (noir), t = -25 fs (bleu), t = 25 fs (vert), t = 125 fs (rouge). (a) partie interbande, (b) partie intrabande.

2.3.8 Effet la de nature athermal de la distribution électronique

Très souvent, la dynamique des propriétés de nanostructures plasmoniques est modélisée par une approche "thermal", où la distribution électronique est supposée à l'équilibre thermodynamique interne. C'est le TTM (cf. Chap. 1). Une étude sur la comparaison entre le TTM et le modèle athermal a déjà été réalisée récemment par notre groupe [23]. Dans l'intervalle de temps qui nous intéresse (~ 100 fs), la différence entre les deux approches sur la réponse optique transitoire de AuNR est principalement due à la contribution interbande. Ceci est dû au dépeuplement des états électroniques d'énergie compris entre $E_F - h\nu$ et E_F plus important dans le cas du modèle athermal. Avec le TTM, le dépeuplement est beaucoup plus doux (suivant la distribution Fermi-Dirac). Cet effet induit une augmentation de ε_2^{ib} pour les faibles énergies de photon plus importante dans le cas du modèle athermal que dans celui du TTM dans les premiers instants. A cause de l'augmentation de la température électronique au fil du temps, cette différence sur le dépeuplement des états électroniques devient moins importante; cependant, la convergence des deux approches est endehors de l'intervalle de temps considéré dans ce chapitre. Dans le cas étudié dans la Réf. [89], contrairement à une différence notable sur l'émission d'électrons calculée par les deux modèles, il n'y a pas de différence significative sur l'absorption optique à l'énergie de photon considéré. L'influence de la nature non thermale de la distribution électronique est faible.

Afin d'évaluer l'importance de la distribution électronique non thermale sur les propriétés optiques pendant le passage de l'impulsion, nous avons effectué un calcul par le TTM avec un AuNR de même taille $(12,5 \times 50 \text{ nm}^2)$ excité par une impulsion de 100 fs à $\lambda_{laser} = 800 \text{ nm}$, polarisée le long du grand axe du AuNR. Les parties intrabande et interbande de ε_2 às différents instant pendant l'impulsion sont présentées sur les Figs. 2.20a et 2.20b, respectivement. Nous pouvons voir une augmentation de la composante intrabande avec le temps à cause de l'augmentation des températures électronique et du réseau métallique. Mais cette augmentation est moins importante que celle calculée par le modèle athermal à cause d'une grande différence dans la valeur de la température de réseau [23]. En ce qui concerne le terme interbande, dû à la différence entre les distributions thermale et non thermale, son évolution est très différente de celle présentée sur la

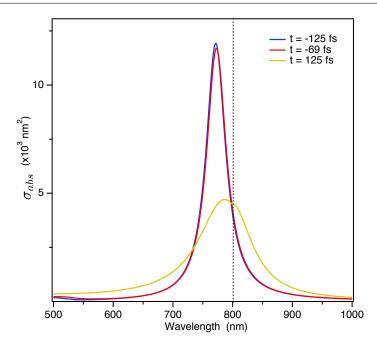


Fig. 2.21 – Spectre de la section efficace d'absorption d'un AuNR de $50 \times 12,5$ nm², excité par une impulsion de 100 fs centrée à t=0, d'intensité crête à $I_0=1$ GW cm², linéairement polarisée le long du grand axe du AuNR, à trois instants : avant l'impulsion, pendant la première moitié de l'impulsion (rouge) et juste après l'impulsion (jaune). La ligne verticale pointillée indique la longueur d'onde du laser.

Fig. 2.10c. Nous avons une augmentation plus faible pour les énergies de photon inférieures à 2 eV, et une diminution plus forte autour de 3 eV après 100 fs (trait bleu). Cette grande différence entre les valeurs de ε_2 pendant l'impulsion elle-même va induire une évolution spectrale très différente, comme on peut l'observer en comparant les Figs 2.21 et 2.11b. Pendant la première moitié de l'impulsion, l'atténuation de plasmon est très faible par rapport à celle de la Fig. 2.11b à cause du faible changement de la distribution électronique aux premiers instants de l'impulsion. A la fin de l'impulsion, cette atténuation calculée par le TTM est légèrement plus faible, mais elle présente un décalage vers le rouge plus important à cause de la grande différence de ε_1 . En résumé, dans intervalle autour du pic de LgSPR, le modèle TTM ne permet pas d'obtenir une estimation correcte sur la section efficace d'absorption effective dans le cas d'une excitation ultracourte.

2.4 Conséquences pour les applications biomédicales

Le cas le plus intéressant pour les applications biomédicales de l'excitation de NP plasmoniques par des impulsions ultracourte est celui où le laser est parfaitement accordé à la LgSPR afin de maximiser l'absorption de l'énergie lumineuse. Les effets les plus importants sont alors obtenues dans les NR dont le grand axe se trouve aligné avec la polarisation du champ. Nous avons montré précédemment que la dépendance de Δ_{abs} en intensité I_0 change beaucoup lorsque λ_{LgSPR} ou/et λ_{laser} change. Dans cette section, nous nous intéresserons uniquement au cas où $\lambda_{laser} = \lambda_{LgSPR}$.

2.4.1 Evaluation de Δ_{abs} dans le cas où $\lambda_{laser} = \lambda_{LaSPR}$

Nous avons vu l'importance de bien évaluer l'absorption de l'impulsion ultracourte. Cependant, cette évaluation nécessite un calcul compliqué et long qui n'est pas facile à mettre en œuvre à chaque

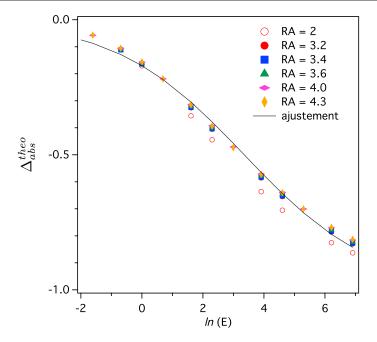


Fig. $2.22 - \Delta_{abs}^{theo}$ calculée pour des AuNR de RA différents excités à leur longueur d'onde de LgSPR avec une impulsion de 100 fs, en fonction de ln(E) où la fluence E est exprimée en μ J cm⁻². Cercles rouges : RA = 2,0, points rouges : RA = 3,2, rectangles bleus : RA = 3,4, triangles verts : RA = 3,6, losanges magentas : RA = 4,0, losanges oranges : RA = 4,3, traits noirs : ajustement par une tangente hyperbolique avec A = 0.792 et B = 0.236.

nouvelle situation. Afin de rendre plus accessibles nos résultats, je me suis penchée sur la possibilité de fournir une solution paramétrique. Pour cela, nous avons fait une étude sur des AuNRs de RA différents en gardant le volume de la particule fixé. Le volume des AuNR choisi est le même que celui de AuNR de taille $50 \times 12,5$ nm². Pour chaque AuNR nous obtenons la valeur de Δ_{abs} en fonction de ln(E), où E est la fluence de l'impulsion en μJ cm². La durée de l'impulsion est 100 fs. Nous avons choisi 6 valeurs de RA différentes (Tab. 2.2) de manière à garder l'énergie de photon inférieure au seuil interbande (2,4 eV). Les valeurs de Δ_{abs}^{theo} en fonction de I_0 pour les valeurs de

RA	2,0	3,2	3,4	3,6	4,0	4,3
λ_{LgSPR} en nm	571	691	709	730	772	800
$h\nu_{LgSPR}$ en eV	2,17	1,79	1,75	1,70	1,61	1,55

Tab. 2.2 – Tableau des valeur du RA des AuNR choisis avec leur λ_{LgSPR} correspondant.

RA choisies sont présentées sur la Fig. 2.22. Nous pouvons voir que l'allure des courbes de Δ_{abs} est quasiment la même pour les valeurs de RA choisies, et dans une moindre mesure pour RA = 2. Nous cherchons une fonction analytique permettant d'approcher au mieux la tendance théorique, par ajustement de ses paramètres. Nous limitons donc l'ajustement à une valeur de $\lambda_{LgSPR} \sim 700$ nm. Il faut bien choisir la fonction d'ajustement, car une fonction possédant une grande nonlinéarité et dépendant de beaucoup de paramètres, par exemple une fonction polynomiale d'ordre élevé, peut provoquer facilement un surapprentissage. La fonction de surapprentissage peut n'avoir aucun sens physique et ne pas converger pour des valeurs de E plus élevées par rapport aux valeur maximale de E utilisée pour l'ajustement. Nous avons donc choisi une fonction d'ajustement qui respecte les tendances de la courbe $\Delta_{abs}(E)$ ainsi conditions aux limites : (i) pour $E \to 0$, $\langle \sigma_{abs} \rangle \to \sigma^0$, i.e. $\Delta_{abs} \to 0$. (ii) pour $E \to \infty$, $\langle \sigma_{abs} \rangle \to 0$, i.e. $\Delta_{abs} \to -1$. Nous avons choisi la fonction tangente

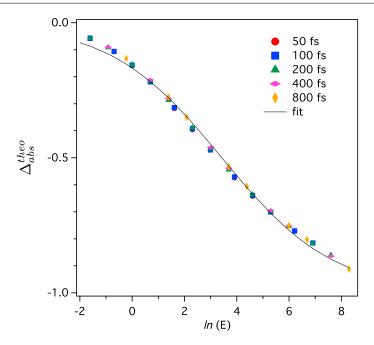


Fig. $2.23 - \Delta_{abs}^{theo}$ calculée avec différentes durées d'impulsion pour un AuNR excité à sa longueur d'onde de LgSPR en fonction de ln(E). Points rouges : 50 fs, rectangles bleus : 100 fs, triangles verts : 200 fs, losanges magentas : 400 fs, losanges oranges : 800 fs, traits noirs : ajustement par une tangente hyperboliqueavec A = 0.802 et B = 0.234.

hyperbolique sous la forme $\frac{1}{2}tanh(A-Bx)-\frac{1}{2}$, où A et B sont les deux paramètres d'ajustement. Nous pouvons voir que cette fonction s'ajuste globalement bien aux données de simulation (Fig. 2.22, trait noir), surtout pour les valeurs de E élevées, auxquelles l'écart aux valeurs stationnaires de l'absorption est fort et qui nécessitent donc une évaluation précise de Δ_{abs} . Pour cette courbe ajustée, nous avons (A, B)=(0.792, 0.236).

Nous avons vu dans la section précédente que la durée d'impulsion peut aussi influencer l'atténuation du plasmon. Nous étudions ici dans le cas idéal de l'accord parfait laser-NR (longueur d'onde et l'orientation) l'influence de la durée impulsion sur l'allure de la courbe de Δ_{abs} en fonction de ln(E). A cause du temps de calcul, nous avons choisi une seule taille de AuNR ($50 \times 12,5$ nm²), et nous avons fait varier la durée d'impulsion de 50 fs à 800 fs. Les résultats sont présentés sur la Fig. 2.23. A cause de la forte atténuation du plasmon à λ_{LgSPR} , l'influence de la durée d'impulsion sur la valeur de Δ_{abs} pour une fluence fixe n'est pas significative. L'allure de la courbe de Δ_{abs} en fonction de ln(E) est quasiment le même pour toute les durées d'impulsion choisit. Nous avons donc utilisé la même fonction d'ajustement qui nous donne des valeurs de (A, B) = (0,802, 0,234).

2.4.2 Application à la conversion photothermique

La quantité clé qui nous intéresse pour les applications de la conversion photothermique à l'échelle nanométrique est l'élévation de température atteinte par les AuNR et leur environnement. Nous pouvons estimer l'élévation de température maximale atteinte par les AuNR avec une seule impulsion en utilisant $\langle \sigma_{abs} \rangle$. Pour cela, nous supposons que toute l'énergie lumineuse absorbée par les AuNR est instantanément convertie en chaleur. L'élévation de température maximale, ΔT_{NP} ,

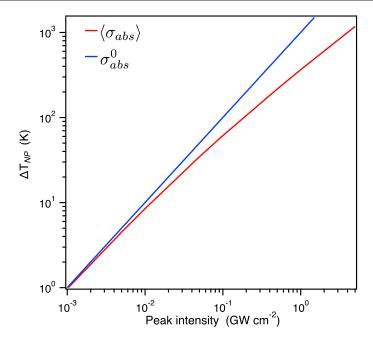


Fig. 2.24 – Elévation de température maximale atteinte par un AuNR ($50 \times 12,5 \text{ nm}^2$) exicté par une impulsion laser de 100 fs à $\lambda_{laser} = 800 \text{ nm}$ en fonction de l'intensité crête, calculée en tenant compte de l'effet des électrons chauds (rouge), ou avec la valeur stationnaire de σ_{abs} (bleu), présentés en double l'échelle logarithmique.

obtenue à la fin de l'impulsion, peut être alors calculée comme :

$$\Delta T_{NP} = \frac{I_0 \ \tau_p \ \sigma_{abs}}{V_{NP} \ \rho_{Au} c_{Au}} \tag{2.11}$$

où ρ_{Au} est la masse volumique de l'or $(\rho_{Au}=19.3\times10^3~{\rm kg~m^{-3}})$ et c_{Au} est la chaleur spécifique de l'or $(c_{Au}=129 \text{ J kg}^{-1} \text{ K}^{-1})$. ΔT_{NP} représente la limite supérieure de l'élévation de température réelle de la NP puisque nous ne considérons pas le transfert thermique vers le milieu environnant. Dans la Fig. 2.24, nous comparons sur une échelle logarithmique l'élévation de température d'un AuNR dans l'eau ayant un RA = 4.3 (permettant un accord entre la longueur d'onde de laser et la mode plasmon longitudinal, $\lambda_{laser} = \lambda_{LqSPR}$), calculé avec $\langle \sigma_{abs} \rangle$ (rouge) ou σ_{abs}^0 (bleu). En raison du fort amortissement du plasmon pendant le passage de l'impulsion, on peut observer que la température atteinte par la NP à une fluence de laser élevée est plus basse que celle évaluée avec seulement ses propriétés optiques stationnaires. Dans notre exemple de la Fig. 2.24, l'écart est d'environ -64% à $I_0=1~{\rm GW~cm^{-2}}$: l'utilisation simple de σ_{abs}^0 prédit une élévation de température de 1002 K, tandis qu'en tenant compte de la distribution des électrons chauds via l'utilisation de $\langle \sigma_{abs} \rangle$ nous n'obtenons que 365 K seulement. Cela pourrait expliquer, par exemple, que la méthode d'étalonnage utilisée par H. Petrova et ses collègues dans la Ref. [92], basée sur l'évaluation de T_{NP} à partir de la période de la vibration mécanique des NP induits par impulsions laser et mesurée par des expériences d'absorption transitoire pompe-sonde, ne fonctionne plus au-dessus d'une certaine fluence.

Conclusion

Nous avons étudié à la fois expérimentalement et théoriquement l'influence de la distribution électronique non thermale des électrons générée par une impulsion laser ultracourte sur la section efficace d'absorption des nanoparticules plasmoniques. Nous avons démontré avec une simple expérience optique que la section efficace d'absorption de AuNR évolue au cours de l'impulsion d'excitation. La variation de transmittance d'une solution colloïdale de AuNR peut être positive ou négative selon l'intensité crête. Le seuil de fusion partielle mesuré expérimentalement est atteint pour une intensité crête de 5 GW cm⁻², qui correspond à une énergie moyenne absorbée de 12,3 f J par AuNR. Nous avons simulé la réponse optique d'un AuNR de $50\times12,5~\mathrm{nm^2}$ (RA = 4) excité par une impulsion laser de 100 fs à 800 nm polarisée linéairement le long du grand axe du AuNR. La variation relative de la section efficace d'absorption effective a été calculée et comparée avec les résultats expérimentaux, montrant un bon accord. Nous avons expliqué comment l'orientation et la distribution de forme des NR dans la solution peuvent modifier la réponse de l'échantillon réel par rapport au cas d'un NR unique avec une orientation fixe. En outre, la simulation nous a aidé à expliquer le signe de Δ_{abs} , qui dépend de l'intensité crête de l'impulsion, de la longueur d'onde et de la durée d'impulsion, ainsi que du RA des NR. En effet, en raison de l'atténuation du plasmon, la variation instantanée de σ_{abs} au cours du passage de l'impulsion à une longueur d'onde d'excitation donnée peut être soit positive, soit négative, voire les deux successivement, ce qui influe sur la valeur et le signe de Δ_{abs} . En étudiant l'influence de la durée de l'impulsion à une énergie d'impulsion fixe, nous avons démontré avec les NRs les plus représentés dans la solution que plus la durée de l'impulsion est courte, plus la variation relative de la section efficace d'absorption est grande. Cela signifie que, lors de l'utilisation d'impulsions laser subpicosecondes dans le but de générer et exploiter des phénomènes à partir d'une nanostructure plasmonique, évaluer l'énergie absorbée réellement nécessite de considérer la variation ultrarapide de ses propriétés optiques au cours du passage de l'impulsion. Au-delà, en raison de la nature non thermale de la distribution des électrons chauds dans cette plage de temps, le problème ne peut pas être résolu par une approche thermal (modèle à deux températures). Enfin, nous avons vu que la courbe de Δ_{abs} en fonction de ln(E) (où E est la fluence de l'impulsion en μJ cm⁻²) dans le cas où $\lambda_{laser} = \lambda_{LgSPR}$ peut être décrite par une fonction hyperbolique sous la forme $\frac{1}{2}tanh(A-Bx)-\frac{1}{2}$ avec (A, B)=(0.80, 0.23)pour les NR de $\lambda_{LqSPR} \geq 700$ nm et pour une durée d'impulsion variant entre 50 fs et 800 fs. Nous avons aussi appliqué la valeur de la section efficace d'absorption effective pour évaluer l'élévation de température maximale qui pourrait être atteinte par des AuNR. Pour une longueur d'onde d'excitation correspondant au mode de plasmon longitudinal, l'échauffement réel est inférieur à celui évalué en utilisant la valeur de σ_{abs} stationnaire.

Chapitre 3

Nanohybrides pour de nouvelles thérapies anti-cancéreuses

α			
	mm	21	ro
\mathbf{v}		ıaı	10

3.1	Les	polymères thermosensibles et les greffages associés	66
	3.1.1	Nanohybrides de Jeffamine modifiée	67
	3.1.2	Nanohybrides de PVCL	71
3.2	Cara	actérisation des nanohydrides	72
	3.2.1	Transtion de phase des nanohybrides	73
	3.2.2	Cytotoxicité des nanohybrides	78
3.3	Exp	ériences in vitro avec nanohybrides de PVCL	88
	3.3.1	Dispositif expérimental pour l'irradiation	89
	3.3.2	Protocole de test de viabilité cellulaire	93
	3.3.3	Résultats	96
3.4	Exp	ériences in vivo avec nanohybrides de PVCL	106
	3.4.1	Etude de la transmittance du tissu tumoral avec le laser c w $\ \ldots \ \ldots \ \ldots$	106
	3.4.2	Expérience $in\ vivo$: méthodes	109
	3.4.3	Résultats	111
3.5	Trai	tement du cancer du sein surexprimant HER2 par des	
	nand	ocoquilles sous illumination laser	116
	3.5.1	Cytotoxicité	117
	3.5.2	Effet photothermique	118

Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons étudié l'absorption de lumière par des nanoparticules plasmonique dans le cas spécifique où la lumière est délivrée sous forme d'impulsion laser ultracourt. Nous avons vu que l'énergie absorbée par les nanoparticules induit une élévation de leur température. Cet excès d'énergie thermique est ensuite relargué vers le milieu environnant à travers l'interface, ce qui se traduit par l'échauffement du milieu hôte. Dans ce chapitre nous allons présenter le travail que j'ai effectué dans le cadre d'un projet ANR (projet Nan'Onsen), sur une méthode de thérapie de contre le cancer basée sur cet effet photothermique localisé autour

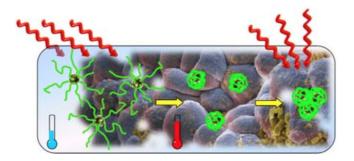


Fig. 3.1 – Schéma de principe de la méthode thérapeutique proposée.

de nanoparticules plasmoniques. Les nano-objets utilisés sont des nanobâtonnets greffés par des polymères thermosensibles. Le principe de cette méthode thérapeutique est présenté sur la Fig. 3.1. Les NP plasmoniques illuminées à la SPR peuvent convertir l'énergie lumineuse en chaleur. Cet échauffement local peut induire le changement de conformation des polymères thermosensibles greffés à la surface des NP: initialement hydrophiles, qui deviennent hydrophobes. Ce changement de phase est dû aux liaisons hydrogène formées entre les chaînes de polymères et les molécules d'eau environnantes. Elles maintiennent les polymères dépliés en phase hydrophile. Lorsque la température augmente, ces liaisons sont rompues par l'agitation thermique des atomes, ce qui induit un effondrement des polymères : en phase libre dans l'eau, les polymères se regroupent alors sous forme de pelotes, et greffés sur les AuNP, ils se rétractent induisant une diminution de l'épaisseur de polymère et donc un changement d'indice optique au voisinage des AuNP. Ceci augmente l'affinité des nanohybrides pour les membranes cellulaires, ce qui favorise donc l'adhésion cellulaire des nanohybrides. Une seconde illumination permet la destruction des cellules par hyperthermie localisée. Les nanoparticules métalliques associées aux polymères thermosensibles ont attiré l'attention des chercheurs de différents domaines, principalement grâce à leurs applications biomédicales potentielles [63,115-118]. Dans ce chapitre, nous allons présenter l'ensemble du travail effectué avec tous nos collaborateurs de ce projet. Le travail sur la synthèse de nanohybrides et sa caractérisation a été effectué avec le post-doctorant R. K. Dani et le chercheur N. Sanson à l'ESPCI (Paris). Les études de cytotoxcité ont été effectuées par la post-doctorant C. Tisseyre et les chercheuses E. Brun et C. Sicard au LCP à l'Université Paris-Sud (Orsay). Pour étudier l'aspect thérapeutique des nanohybrides, nous avons réalisé des expériences d'illumination in vitro et in vivo dans notre laboratoire avec, respectivement, ces collègues du LCP, et avec nos collaborateurs de l'hôpital Saint-Louis: T. Nunes (doctorant), G. Gapihan (ingénieur), et G. Bousquet (oncologue).

3.1 Les polymères thermosensibles et les greffages associés

Afin d'obtenir un ciblage contrôlé avec illumination par laser sur la zone de traitement souhaitée, nous avons choisi de greffer des polymères thermosensibles sur la surface des NP d'or. Le polymère thermosensible le plus utilsé est le pNIPAM, cependant, sa température de transition est très inférieure à la température corporelle humaine (LCST ~ 32 °C, voir chap. 1), et elle ne dépend pas de la concentration [119]. Pour faciliter le contrôle de la température de transition des polymères greffés (température de transition légèrement supérieure à 37 °C), nous avons choisi deux types de polymère que nous avons appelés Jeffamine et PVCL (polyvinylcaprolactame). La méthode de synthèse de NR est la même que celle mentionnée dans le chapitre précédent (§ 2.1.1).

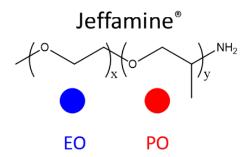


Fig. 3.2 – Monomère de monoamine Jeffamine : oxyde d'étylène (EO, motif de répétition au-dessus du point bleu) et oxyde de propylène (PO, motif de répétition au-dessus du point rouge).

Copolymères statistiques EO-st-PO fonctionnalisés par groupement amine				
	M600	M1000		
Rapport EO/PO	1/9	19/3		
	00000000	000000000000000000000000000000000000000		
		000000000000000000000000000000000000000		
M _n (g/mol)	600	1000		

Fig. 3.3 – Schéma de M600 et M1000 avec leurs températures de transition associées. D'après [120].

3.1.1 Nanohybrides de Jeffamine modifiée

Jeffamine modifiée

Nous avons appelé cette classe de polymères thermosensibles "Jeffamine" pour faire court. En réalité, les polytheramines Jeffamine sont des polymères qui contiennent des groupements d'amine primaire attachés au bout d'un squelette de polyéther. Le squelette de polyéther est normalement basé soit sur l'oxyde de propylène (PO), soit sur l'oxyde d'éthylène (EO) ou sur un mélange PO/EO. Les monomères sont représentés sur la Fig. 3.2. La famille des polyétheramines Jeffamine est composée de monoamines, diamines et triamines basées sur cette structure de base. Ici, nous n'utiliserons que la monoamine Jeffamine (série M). Les monoamines Jeffamines sont des copolymères statistiques de rapports molaires EO/PO différents. La température de transition change lors d'un changement du rapport EO/PO. Nous allons utiliser deux monoamines Jeffamines, notées M600 et M1000, qui ont un rapport EO/PO égal à 1/9 et 19/3 et une masse molaire de 600 g/mol et 1000 g/mol, respectivement. La Jeffamine M600 est une molécule très proche du polypropylène glycol (PPG). Quant à la Jeffamine M1000, elle est proche du polyéthylène glycol (PEG). M1000 est plus hydrophile que M600. Elles sont toutes les deux biocompatibles. La température de transition (LCST) de M600 est d'environ 28 °C. En revanche, M1000 a une température de transition supérieure à 80 °C, elle est donc soluble dans l'eau à température ambiante [120]. Un schéma des monomères et des deux monoamines Jeffamines est représenté sur la Fig. 3.3. Nous pouvons voir clairement qu'il ne serait pas possible d'utiliser un seul polymère (M600 ou M1000) pour des applications biomédicales, car M600 possède une température de transition trop basse et M1000 possède une température de transition trop haute. Nous allons donc utiliser un mélange de M600 et M1000 pour ajuster la température de transition dans une plage de $20~^{\circ}$ C à 50 °C. Dans un premier temps, nous allons déterminer la LCST de tels mélanges en solution. Même si la température de transition du polymère une fois greffé sur les NP pourra être différente de la LCST du même polymère en solution (sans NP), ces résultats nous serviront de base pour le choix du polymère à greffer. Les études et la synthèse des polymères thermosensibles ont été effectuées par R. K. Dani et N. Sanson à l'ESPCI. Ils ont choisi tout d'abord trois rapports en masse entre M600 et M1000 (M600/M1000) de 6/1, 3/1, 1/1 pour étudier leur température de transition associée. Avant de montrer les résultats, nous pouvons déjà prévoir que la température de transition du mélange des polymères diminue lorsque le rapport ${
m M600/M1000}$ augmente. Ils ont préparé trois solutions aqueuses de différents rapports M600/M1000. La température de la solution est régulée par un contrôleur de température à effet Peltier. Ils ont étudié l'évolution de spectre de la solution de polymère dans un intervalle de température de 20 °C à 50 °C avec un incrément de 1 °C. La solution est agitée pendant tout le cycle de mesure, et est laissée en thermostat pendant 5 min à chaque température. Un cycle complet contient une phase d'échauffement et une phase de refroidissement. Pour déterminer la température de transition du mélange, ils ont choisi de tracer la transmittance de la solution de polymère à 800 nm en fonction de la température. En effet, la formation de pelotes de polymère en solution au-delà de sa LCST induit une augmentation de la diffusion de la lumière qui se traduit par une diminution de la transmittance optique. Ce choix de longueur d'onde est dicté par les expériences qui seront réalisées par la suite : c'est la longueur d'onde de notre laser et du mode LgSPR de nos AuNR. Les résultats expérimentaux sont présentés sur la Fig. 3.4.

Commençons par la solution de mélange de rapport 6/1 (3.4a). Nous pouvons voir que le changement hydrophile/hydrophobe des polymères est réversible. Au début de l'échauffement et à la fin du refroidissement, les transmittances de la solution sont très proches, de 90% et 85% respectivement. La réponse du polymère à la même température est légèrement différente entre l'échauffement et le refroidissement. Cette hystérèse est due aux liaisons hydrogène interchaines formées (liaisons hydrogène établies entre des atomes d'oxygène et d'hydrogène des chaînes de polymères voisines) au cours de l'échauffement, et qui persistent lors du refroidissement [121]. Pour extraire la température de transition du polymère, nous avons calculé la dérivée de la transmittance par rapport à la température. Les courbes de la dérivée sont présentées sur la Fig. 3.4b. Les températures correspondant aux minima observés sont les températures de transition pour les deux phases de mesure. Nous pouvons voir que les deux températures sont très proches (34°C lors de l'échauffement, 33°C lors du refroidissement). La différence de la réponse du polymère en température est montrée plus clairement sur la Fig. 3.4b.

Les mêmes mesures sont faites pour les mélanges de polymère de rapport 3/1 et 1/1 (Fig. 3.4c et d, respectivement). Nous pouvons voir que bien que les températures de transition sont différentes que celle obtenue pour le rapport 6/1, la réponse en température est similaire. Pour le mélange de rapport 3/1, en calculant la dérivée de la transmittance, nous déduisons une température de transition de 36°C, légèrement au-dessus de celle du rapport 6/1. En ce qui concerne le mélange de 1/1, nous ne pouvons mesurer que le "palier" de basse température (inférieure à la température de transition), mais pas celui de haute température. Les intervalles de transmittance correspondants à la plage de température sont aussi plus petits par rapport à ceux des Figs. 3.4a et c. La température de transition est alors obtenue au minimum de la dérivée de la transmittance dans la phase d'échauffement, et elle est de 41°C. Nous pouvons nous attendre à ce que la température de transition du polymère une fois greffé sur les AuNR soit peu éloignée de cette valeur [122]. Par conséquent, le rapport M600/M1000 adapté pour les applications biomédicales de nos nanohybrides devrait se situer entre 3/1 et 1/1.

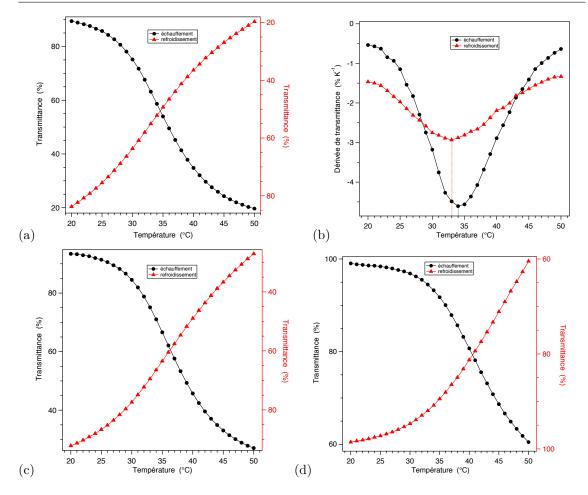


Fig. 3.4 – Variation de transmittance des solutions de mélange M600/M1000 en fonction de la température, mesurée à $\lambda=800$ nm, sur un cycle complet. Points noirs : phase d'échauffement, triangles rouges : phase de refroidissement. (a) Transmittance en fonction de la température pour M600/M1000 = 6/1. (b) Dérivée de la transmittance de (a); la ligne verticale pointillée noire désigne la température de transition mesurée avec les données de la phase d'échauffement, celle en pointillés rouges désigne la température de transition mesurée avec les données de la phase de refroidissement. (c) et (d) : mêmes mesures que pour (a) M600/M1000 égal à 3/1 et 1/1, respectivement.

Greffage de Jeffamine à la surface des nanoparticules d'or

Dans toute la suite, appelerons les mélanges de polymères M600 et M1000 "Jeffamine" en indiquant le rapport M600/M1000 associé pour simplifier l'écriture. Pour greffer des polymères sur la surface des AuNP, il faut fonctionnaliser les polymères avec un groupement thiol. La méthode de fonctionnalisation est basée sur celle de la Réf. [120]. Dans un premier temps, les polymères Jeffamines (M600 et M1000) sont couplés avec l'acide lipoïque qui possède un cycle dithiolane. Ce cycle dithiolane est ensuite ouvert en ajoutant un réducteur NaBH₄. Les polymères Jeffamines modifiés par l'acide dihydrolipoïque, notés DHLA-Jeffamine, possèdent un groupe d'ancrage qui permet d'avoir une grande stabilité du ligand sur la surface de l'or par rapport au groupement monothiol [123]. Le schéma de fonctionnalisation est représenté sur la Fig. 3.5. Le principe d'obtention de nanohybrides de différentes températures de transition, tel que décrit dans la Réf. [120], est représentée sur la Fig. 3.6. Une solution de mélange de polymères avec un rapport en masse choisi est préparée. La solution est ensuite mélangée avec la solution de AuNR. Comme

Fig. 3.5 – Schéma de fonctionnalisation de la Jeffamine avec l'acide lipoïque. D'après [120]

DHLA-M600 et DHLA-M1000 sont peu différents, la probabilité de greffage pour chaque polymère dépend donc la quantité introduite initialement dans la solution (Fig. 3.6a). L'étude reportée dans la Réf. [120] sur les nanosphères d'or (AuNS) greffées par DHLA-Jeffamine montre un changement de température de transition des nanohybrides selon le rapport DHLA-M600/ DHLA-M1000 (Fig. 3.6b) et la réversibilité de ce changement de phase des nanohybrides dans une solution aqueuse avec 10 mM de KCl. Notons que la présence de KCl est nécessaire pour obtenir l'agrégation des nanohybrides. Une augmentation de force ionique dans la solution (augmentation de quantité de sel) réduit la longueur de Debye qui est l'échelle de longueur sur laquelle les contre ions écrantent les charges de surface du AuNS [124]. En ajoutant du sel (en quantité suffisante) la longueur de Debye diminue jusqu'à une valeur de l'ordre du nanomètre qui est proche de la longueur de la chaîne de polymère, alors que dans l'eau pure, la longueur de Debye est $\sim 1\mu$ m. Ceci explique l'absence d'agrégation des nanohybrides dans l'eau non saline.

Le protocole de greffage de Jeffamines est basé sur la Réf. [125] avec quelques modifications. Brièvement, 3 ml de solution de AuNR concentrée sont mélangés avec 12 ml de solution de Jeffamine dans le tétrahydrofurane (THF). La solution de Jeffamine est préparée en respectant le rapport en masse M600/M1000, et la quantité totale de polymère est égale à un équivalent d'or contenu dans 3 ml de solution concentrée. La quantité de l'or est calculée à partir de la quantité de sel d'or mise au départ pour la synthèse des AuNR. Comme le rendement de la synthèse n'est pas de 100%, et le nombre d'atomes de surface accueillant les polymères est très inférieur au nombre d'atomes contenus dans un AuNR, la quantité de polymère introduite pour le greffage est largement en excès. La solution de AuNR avec polymère est laissée sous agitation pendant une nuit. Ensuite, une extraction de phase organique est effectuée en ajoutant dans une ampoule à décanter la solution, 3 ml de chloroforme et à peu près 10 ml de solution de NaCl à 0.1 M pour avoir une séparation de phase correcte. Cette extraction permet d'enlever une partie du CTAB dans la solution aqueuse de AuNR. 2 ml de solution dans THF avec la même quantité de polymère que dans le premier greffage sont ajoutés dans la phase organique récupérée. La solution est laissée sous agitation pendant une nuit. Enfin, la solution est passée à l'évaporateur rotatif pour enlever tout le solvant organique. Les AuNR sont dispersés dans 3 ml de THF, puis lavés trois fois (10 min à 8000 rpm, deux fois 10 min à

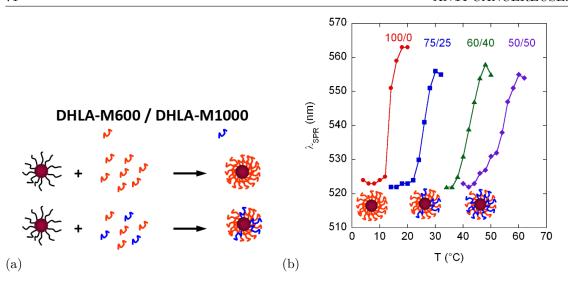


Fig. 3.6 – (a) Principe de l'obtention de nanohybrides de différentes températures de transiton. (b) La variation de la longueur d'onde du plasmon en fonction de la température pour des AuNS greffées par des Jeffamines de différents rapports. D'après [120].

$$H_3C$$
 CH_2
 CH_3
 CH_3
 CH_3
 CH_3

Fig. 3.7 – Schéma de la moléculaire de PVCL.

600 rpm) avec du THF pour éliminer le polymère en excès. Les AuNR sont sechés doucement sous le flux d'azote. Avant leur utilisation, les nanohybrides séchés seront dispersés dans 3 ml d'eau.

3.1.2 Nanohybrides de PVCL

PVCL

Un autre polymère thermosensible, le poly(vinyl N-caprolactame) (PVCL), est aussi utilisé pour être combiné avec des AuNR à des fins d'application thérapeutique. La molécule de PVCL est représentée sur la Fig. 3.7. Ce polymère est très fréquemment étudié en raison de sa thermosensibilité et sa biocompatibilité. En effet, l'hydrolyse du groupement amide du PVCL ne produit pas de petits composés amides qui peuvent être toxiques; le PVCL convient donc pour les applications biomédicales [126]. La température de transition du PVCL est modulée par la masse molaire de polymère : elle décroît lorsque la masse molaire augmente [127]. Des PVCL de trois masses molaires différentes sont synthétisés. Les masses molaires moyennes des polymères sont mesurées par la technique de chromatographie d'exclusion stérique (SEC, pour size exclusion chromatography en anglais) et sont présentées dans le tableau 3.1. Pour obtenir la température de transition, les spectres de transmission optique de la solution de PVCL sont mesurés le long du cycle d'échauffement et de refroidissement. L'intervalle de température est le même que celui utilisé pour la Jeffamine, de 20 °C à 50 °C. La variation de transmittance des solutions à 800 nm

Nom	PVCL-1	PVCL-2	PVCL-3
M_w (g/mol)	14800	24600	32000

Tab. 3.1 – Tableau de masse molaire moyenne en masse (M_w) de PVCL.

avec la température est présentée sur la Fig. 3.8. Comme nous pouvons le voir, la transition de phase du PVCL est beaucoup plus abrupte que celle de la Jeffamine. La température de transition décroît légèrement avec l'augmentation de la masse molaire du polymère : de PVCL-1 à PVCL-3 la température varie de 43 °C à 40 °C. Pour les trois masses molaires choisies, les températures de transition sont très proches, et toutes légèrement supérieures à 37 °C, ce qui est bien adapté aux applications biomédicales. Par conséquent, le greffage va s'effectuer avec cette gamme de masse molaire de PVCL.

Greffage de PVCL sur les AuNR

Comme pour la Jeffamine, le greffage du PVCL à la surface des AuNP est réalisé par ancrage d'un thiol. Afin d'obtenir la fonction thiol sur la chaîne de PVCL, il faut fendre le groupement de dithocarbonate en groupement thiol avec NaBH₄. 80 mg de PVCL sont dissous dans 10 ml d'eau, puis 5 équivalents de NaBH₄ sont ajoutés dans la solution. A cause de la faible quantité de NaBH₄, il est préalablement dissous dans l'eau à 0 °C pour pouvoir ensuite en prélever la quantité nécessaire. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux heures à température ambiante. La solution est ensuite centrifugée trois fois à 10000 rpm pendant 45 min avec un filtre permettant d'enlever les chaînes de masse molaire inférieure à 10000 g/ mol (Vivaspin cutoff 10000). Enfin, nous récupérons 10 ml de solution de PVCL thiolé prête à greffer sur la surface des AuNR. Un schéma de fonctionnalisation du PVCL est représenté sur la Fig. 3.9. Le protocole de greffage du PVCL est plus simple que celui de la Jeffamine. Le greffage de PVCL est réalisé dans une solution aqueuse. 2 ml de solution de AuNR concentrée sont mélangés avec 2 ml de solution de PVCL thiolé. Le mélange est laissé sous agitation pendant une nuit à 0 °C. Après le premier greffage, la solution est centrifugée à 8500 rpm pendant 35 min. On enlève le surnageant, et 2 ml de solution de PVCL sont ajoutés pour disperser les AuNR. Cette centrifugation permet d'enlever une partie du polymère en excès au cours de premier greffage. La solution est laissée sous agitation pendant une nuit à 0 °C. Enfin, après le double greffage, la solution est centrifugée (aux mêmes conditions que celles après le premier greffage) puis redispersée dans 2 ml d'eau. Les AuNR greffés par PVCL seront notés AuNR@PVCL par la suite.

3.2 Caractérisation des nanohydrides

Après le greffage des polymères, les spectres d'absorption des nanohybrides en solution sont mesurés. Les résultats obtenus avant et après greffage de PVCL et de Jeffamine 1/1 sont présentés sur la Fig. 3.10. Notons qu'ici les spectres sont réalisés avec des lots différents. Les LgSPR sont donc légèrement différentes pour les trois spectres. La synthèse de AuNR est bien maîtrisée : la LgSPR de chaque lot se situe toujours entre 750 nm et 800 nm (accordé avec longueurs d'onde des lasers), et la largeur du pic de LgSPR de la solution (qui dépend de la distribution de taille des AuNR) est toujours autour de 140 à 150 nm. Comparons d'abord le spectre avant greffage et celui de AuNR@Jeffamine 1/1 (rouge et noir respectivement sur la Fig. 3.10). Nous pouvons voir la disparition du pic autour de 300 nm (encadré en vert). Ce pic est dû aux molécules de CTAB dans la solution. Comme le protocole de greffage de Jeffamine et de PVCL contient des

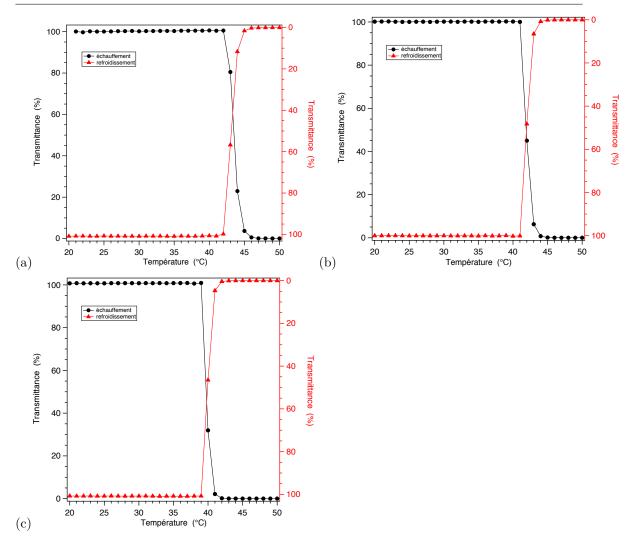


Fig. 3.8 – Transmittance optique des solutions de PVCL mesurée à la longueur d'onde de 800 nm en fonction de la température sur cycle complet. (a) PVCL-1. (b) PVCL-2. (c) PVCL-3.

étapes de purification, nous pouvons voir qu'une grande quantité de CTAB est éliminée. Les AuNR sont maintenant stabilisés par les polymères greffés sur leur surface. Nous pouvons constater un élargissement du pic de LgSPR après le greffage de PVCL (courbe bleu). En fait, cet élargissement a aussi eu lieu après le greffage de Jeffamine, mais cet effet est éliminé grâce aux étapes de purification avec le THF, qui est spécifique de la synthèse avec Jeffamine. A chaque étape de purification nous avons perdu une partie des AuNR dans le surnageant, ce qui fait rétrécir le pic de LgSPR ¹. Comme la solution n'évolue quasiment pas lorsqu'elle est conservée au froid, nous considérons que cet élargissement du pic est acceptable pour les expériences ultérieures.

3.2.1 Transtion de phase des nanohybrides

Lorsque les nanohybrides sont chauffés, les polymères thermosensibles peuvent changer de conformation si leur température de transition est atteinte. Ceci peut induire une augmentation d'indice au voisinage des AuNR, conduisant à un décalage du plasmon vers le rouge, comme nous l'avons vu dans le cas de sphères [120]. Après l'effondrement des polymères à la surface des AuNR,

^{1.} Plus la masse est importante, plus les AuNR tombent vite. La forme des NP jouent aussi sur la vitesse de sédimentation. Pour les AuNR de la même masse, les AuNR plus larges tombent plus vite.

$$H_3C$$
 CH_2
 CH_3
 CH_3
 CH_3
 CH_3
 CH_3
 CH_3
 CH_4
 CH_3
 CH_3

Fig. 3.9 – Schéma de fonctionnalisation du PVCL.

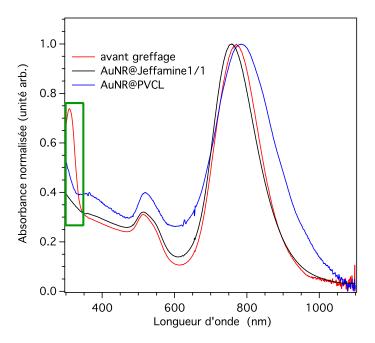


Fig. 3.10 – Spectres d'absorption optique avant et après le greffage de Jeffamine et de PVCL. Rouge : avant greffage. Noir : AuNR@Jeffamine 1/1. Bleu : AuNR@PVCL. Le cadre vert désigne le pic à 300 nm dû à la présence en grande quantité de CTAB dans l'eau.

les nanohybrides hydrophobes peuvent aussi s'agréger entre eux. Ceci peut induire un élargissement asymétrique du pic de LgSPR et une diminution du rapport LgSPR/TrSPR [99]. Ces changements peuvent être mesurés par la technique de spectrophotométrie.

Pour étudier la transition de phase des nanohybrides, l'évolution des spectres des solutions de nanohybrides est mesurée en fonction de la température en utilisant deux types de source de chauffage : une source thermique classique, et le laser via la conversion photothermique des NP. Selon les sources, nous allons appeler le changement de phase dénaturation thermique et dénaturation par laser, respectivement. La première mesure nous permet de déterminer la réponse des nanohybrides au cours d'un échauffement global de la solution. La deuxième mesure permet d'avoir la réponse des nanohyrbides à l'effet photothermique, qui inclut à la fois leur échauffement local par conversion interne et l'échauffement global de la solution.

a. Dénaturation thermique

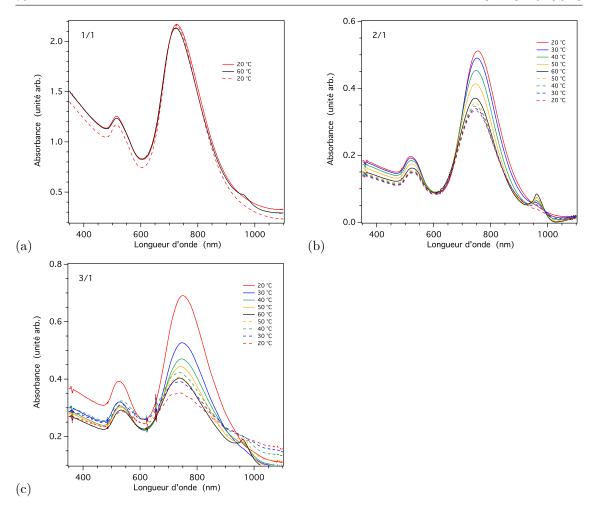


Fig. 3.11 – Evolution du spectre d'absorption des solutions dans une cuvette en quartz avec la température de AuNR@Jeffamine de différents rapports M600/M1000. Le chauffage est réalisé par un thermostat de la solution globale. (a) 1/1. (b) 2/1. (c) 3/1. Traits continus : phase d'échauffement. Traits pointillés : phase de refroidissement.

Les AuNR@Jeffamine sont synthétisés avec trois rapports M600/M1000 différents : 1/1, 2/1 et 3/1, avec une température de transition correspondante décroissante. Pour chaque solution de AuNR@Jeffamine, les spectres sont mesurés entre 20 °C et 60 °C avec un incrément de 2 °C. Le temps de stablisation est de 3 min pour un cycle complet. D'après les résultats de la Fig. 3.4, dans cette gamme de température la transition de phase des polymères devrait avoir lieu pour les rapports de mélange étudiés ici après greffage. Les spectres à différentes températures sont présentés sur la Fig. 3.11. Afin de bien visualiser l'évolution du spectre avec la température, les résultats sont présentés avec un incrément de température de 10 °C pour les rapports 2/1 et 3/1 (Fig. 3.11(b) et (c)).

Pour le rapport 1/1, les spectres initial, final et à 60 °C sont reportés (Fig. 3.11(a)). Nous pouvons voir que le spectre ne change quasiment pas avec la température pour la solution de AuNR@Jeffamine 1/1. Nous avons une légère diminution de la bande de LgSPR et un très faible décalage vers le bleu qui sont dus à la diminution de l'indice de l'eau lors de l'échauffement. Un calcul montre que le décalage est de ~ 3 nm entre 20 °C et 60 °C. Ce changement de profil spectral de la LgSPR est réversible. Le pic qui apparaît à haute température à 950 nm correspond aussi à l'échauffement de l'eau [128].

Pour la solution de AuNR@Jeffamine 2/1, nous avons une évolution de spectre beaucoup plus importante (Fig. 3.11(b)). Pendant l'échauffement, nous avons une diminution très forte des deux bandes de SPR. La bande de LgSPR est légèrement décalée vers le bleu. Cette diminution d'absorbance n'est clairement pas due uniquement au faible changement d'indice de l'eau. Ceci peut être confirmé par l'évolution de spectre pendant le refroidissement da la solution : la même tendance (blue-shift) est observée. Le changement de spectre induit par le changement de température n'est pas réversible; l'effet dû au solvant est complètement négligeable ici. Le pic de LgSPR n'est pas du tout élargi sur un cycle complet, ce qui nous indique qu'il n'y a pas d'agrégation, ni en suspension dans la solution ni sur les parois de la cuvette optique. Cependant, la diminution de l'intensité des bandes de SPR observée peut correspondre à une agrégation des AuNR@Jeffamine qui précipitent très vite au fond de la cuvette.

En ce qui concerne la solution de AuNR@Jeffamine 3/1, nous observons le même changement de spectre que pour le rapport 2/1 pour les 10 premiers degrés d'élévation de température. L'amplitude du pic continue à diminuer pendant le reste de la phase d'échauffement en s'accompagnant de l'apparition d'une queue d'absorption vers 1000 nm. Lors du refroidissement, les pics de SPR augmentent puis rediminuent, la queue d'absorption vers 1000 nm augmentant toujours. Lors du retour à 20 °C, nous avons un spectre typique de l'agrégation d'une partie des AuNR (rapport LgSPR/TrSPR diminué, élargissement asymétrique de la bande de LgSPR vers le rouge) [99]. Nous avons constaté un dépôt des AuNR sur les parois et au fond de la cuvette optique lorsque l'expérience est terminée. Nous ne pouvons pas connaître le moment exact où ce dépôt commence, et il peut conduire à une mauvaise interprétation des spectres mesurés. Pour cette raison, nous avons reproduit les même mesures mais cette fois-ci avec des cuvettes optiques en plastique, avec lesquelles aucun dépôt n'a été observé après les expériences de dénaturation thermique. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.12. Contrairement aux résultats de la Fig. 3.11, il n'y a pas de différence notable entre les spectres à différentes températures, et ce pour les trois rapports de mélange de polymères. La petite augmentation d'absorption dans l'UV est sans doute due à l'évaporation d'une partie de l'eau après un cycle, augmentant légèrement la concentration en NP de la solution. Nous pouvons néanmoins observer un effet thermique sur les propriétés optiques de la solution. La diminution et le léger décalage vers le bleu du pic LgSPR sont dus à la diminution de l'indice de l'eau qui est réversible et à une très légère déformation des AuNR, qui est quant à elle irréversible [92]. Cet effet irréversible est identifiable lors du retour à 20 °C : nous avons un léger décalage de la LgSPR vers le bleu par rapport au spectre initial. Cependant, aucune signature d'agrégation n'est observée sur les spectres de la Fig. 3.12. Nous pouvons donc en déduire que l'évolution des spectres sur la Fig. 3.11 est très probablement causée par le dépôt des AuNR@Jeffamine sur les parois de la cuvette lors de l'échauffement. Il faut aussi noter que les résultats de la Fig. 3.12 ne permettent pas de déduire que la transition de phase n'a pas eu lieu. En effet, les chaînes de polymères greffées sur les AuNR ont une longueur typiquement de 5 nm. Le changement de conformation du polymère n'induit donc pas un grand changement d'indice effectif ressenti par les NP, à cause de cette petite longueur. La diminution de l'indice de l'eau est un effet prédominant. C'est la raison pour laquelle nous n'observons pas le décalage vers le rouge du pic de LgSPR.

En conclusion, avec les expériences de dénaturation thermique, nous ne pouvons pas mesurer la transition de phase des nanohybrides, car cette mesure dépend beaucoup de l'affinité des nanohybrides avec les parois de la cuvette. Cette mesure ne peut pas refléter le comportement de nanohybrides en contact avec un environnement cellulaire. Pour faire une étude plus propre, il faudrait travailler en microscopie.

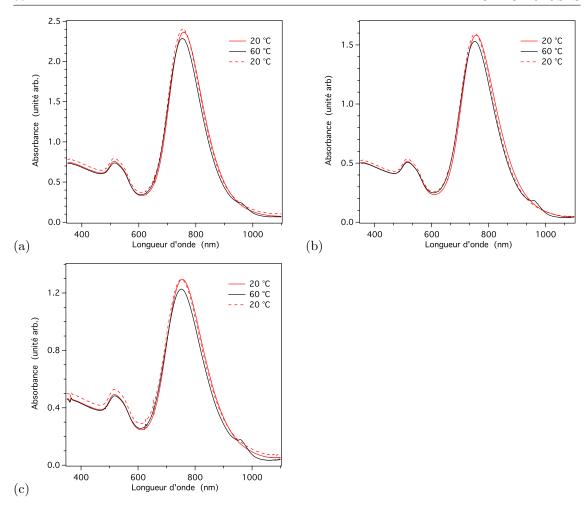


Fig. 3.12 – Evolution du spectre d'absorption des solutions dans une cuvette en plastique avec la température. (a) AuNR@Jeffamine 1/1. (b) AuNR@Jeffamine 2/1. (c) AuNR@Jeffamine 3/1. Traits continus : cycle d'échauffement. Traits pointillés : cycle de refroidissement.

b. Dénaturation par laser

Une série de mesures de dénaturation par laser est effectuée avec les mêmes solutions de AuNR@Jeffamine dans des cuvettes en plastique. Un schéma du montage est présenté sur la Fig. 3.13. Nous utilisons le laser cw à 808 nm. Le spectromètre d'Agilent Cary 5000 permet d'avoir un couplage par fibres optiques pour le signal d'entrée (lumière blanche) et le signal de sortie (lumière transmise). La température en régime stationnaire est supérieure à 50 °C dans la solution en dehors de la zone irradiée par le faisceau. Chaque mesure de dénaturation dure 30 min, qui est un temps largement suffisant pour atteindre le plateau de température. Nous présentons les résultats sur la Fig. 3.14. Nous obtenons la même évolution de spectre que celle présentée sur la Fig. 3.12. Ceci montre que dans la même gamme d'élévation de température, l'illumination avec laser n'induit pas d'agrégation des nanohybrides. En conclusion, la mesure de dénaturation, qu'elle soit thermique ou par laser, par suivi du spectre d'absorption optique, ne permet pas de détecter la transition de phase des nanohybrides en solution. Le greffage de polymère Jeffamine est prouvé par l'agrégation irréversible des nanohybrides sur les parois de la cuvette (sans greffage, il n'y a pas d'agrégation, ni dans la solution, ni sur les parois). Cependant, on souhaite obtenir une agrégation réversible des nanohybrides dans la solution. Cette agrégation n'a pas lieu lorsqu'on élimine l'effet des parois. Nous n'avons pas observé d'agrégation comme dans le cas de nanosphères [120] avec nos

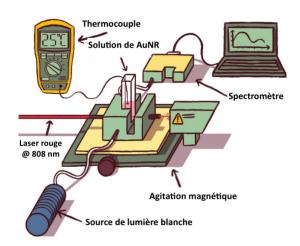


Fig. 3.13 – Schéma de montage de dénaturation avec laser. Illustration : H Chochois.

AuNR@Jeffamine. La longueur de la chaîne est la même dans les deux cas. En effet, l'agrégation dans le cas de sphères est favorisée par la présence de sel dans la solution, comme nous l'avons évoqué plus haut. Cependant, dans notre cas présent la présence de sel peut très vite déstabiliser la solution de AuNR (ce qui sera démontré par la suite par le lavage avec le milieu de culture), ce qui nous limite pour effectuer des mesures en présence de sel. La méthode de synthèse de AuNP est très différente entre les AuNS et les AuNR, qui sont stabilisés par des surfactants différents. Le protocole de greffage est également différent [125]. La densité de polymère greffé n'est donc pas forcément la même. Celle-ci est un facteur très important pour obtenir une transition de phase notable et une solution de AuNR@Jeffamine stable.

3.2.2 Cytotoxicité des nanohybrides

Dans cette section, nous allons présenter le travail d'évaluation de la cytotoxicité des nanohybrides effectué par C. Tisseyre, E. Brun et C. Sicard au LCP à l'Université Paris-Sud. Pour s'assurer que les nanohybrides sont appropriés pour des applications biomédicales, il faut en effet tester au préalable leur cytotoxicité. La lignée cellulaire choisie pour cette étude est MDA-MB-231 qui est une lignée cellulaire largement utilisée pour conduire les développements de médicaments ou des agents potentiellement actifs pour le traitement du cancer du sein triple négatif². Nous emploierons cette lignée cellulaire pour tous les tests de cytotoxicité et tous les tests in vitro dans la section suivante s'il n'y pas de précision particulière sur les cellules. Par ailleurs, lorsque nous parlerons du milieu de culture, ceci désignera le Dulbecco's Modified Eagl's Medium (DMEM), et le milieu complet désignera le mélange de DMEM+10% de sérum de veau.

Méthodes utilisées

a. Test MTT

Pour évaluer la cytotoxicité des solutions de nanohybrides, la méthode que nous avons utilisée est le test MTT, qui est un test calorimétrique utilisant la réduction d'un sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) pour mesurer l'activité métabolique cellulaire comme indicateur de la viabilité cellulaire. Des cellules viables contiennent

^{2.} Les cancers triple négatifs sont ainsi nommés car ils n'expriment ni les récepteurs aux œstrogènes, ni les récepteurs à la progestérone, ni le récepteur HER2.

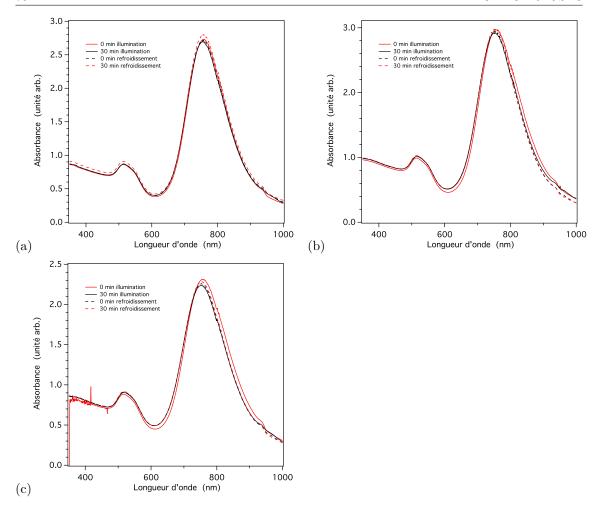


Fig. 3.14 – Evolution du spectre d'absorption pendant un cycle de dénaturation par laser. (a) AuNR@Jeffamine 1/1. (b) AuNR@Jeffamine 2/1. (c) AuNR@Jeffamine 3/1. Traits continus : échauffement par effet photothermique. Traits pointillés : phase de refroidissement (sans laser).

des enzymes oxydoréductases qui réduisent le réactif MTT en formazan, un produit cristallin insoluble de couleur violet foncé. Les cristaux de formazan sont ensuite dissous en utilisant une solution de solubilisation et l'absorbance est mesurée à 570 nm en utilisant un lecteur de plaques. Plus la solution est sombre, plus le nombre de cellules viables et métaboliquement actives est élevé.

En parallèle des les mesures sur les échantillons, il faut toujours réaliser un contrôle négative (cellules non traitées) et un blanc (puits contenant le milieu seul). En ce qui concerne l'interprétation des résultats, la lecture de l'absorbance du blanc doit être soustraite de celle de tous les échantillons. Les lectures d'absorbance des échantillons doivent ensuite être divisées par celles du contrôle et multipliées par 100 pour donner un pourcentage de viabilité (Eq. (3.1)).

$$\% cellules \ viables = \frac{A_{\acute{e}chantillon} - A_{blanc}}{A_{contr\^{o}le} - A_{blanc}} \times 100 \tag{3.1}$$

L'avantage principal du test MTT est que c'est une méthode très rapide à mettre en œuvre, et nous pouvons effectuer ce test avec un nombre de conditions important. Cependant, la solution de nanohybrides absorbe aussi à 570 nm à cause de la TrSPR de AuNR. Pour être sûrs que l'absorption des nanohydrides à 570 nm n'induit pas d'artéfact dans la détermination de la cytotoxicité, nous

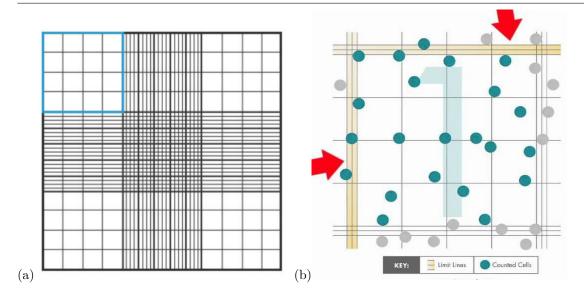


Fig. 3.15 – Schéma d'un hématimètre. (a) Lignes de quadrillage. (b)Chambre de comptage. Les lignes triples en jaune indiquées par avec les flèches rouges sont des zones dans lesquelles les cellules en intersection doivent aussi être comptées.

avons validé le test MTT avec le comptage cellulaire simple par bleu de trypan, qui est en revanche une méthode précise mais très lente.

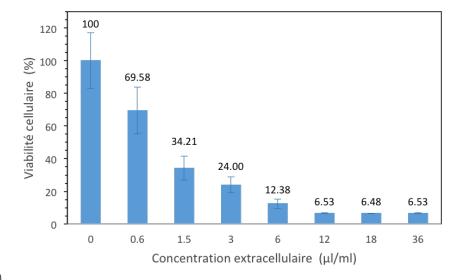
b. Test au bleu de trypan

Le bleu de trypan est un colorant qui colore sélectivement les cellules mortes. Le comptage des cellules vivantes et des cellules mortes est réalisé avec un hématimètre au microscope. Un hématimètre se présente sous la forme d'une lame quadrillée possédant des chambres de numérotation avec un volume connu. Un schéma des lignes de quadrillage et de la chambre de comptage est montré sur la Fig. 3.15. Une chambre de comptage consiste en un ensemble de 16 carrés (Fig. 3.15a). Le comptage cellulaire se fait dans les quatre chambres de comptage. Chaque chambre est limitée par les trois lignes aux bords du grand carré (Fig. 3.15b). Seules les cellules entièrement à l'intérieur du grand carré et celles qui touchent les lignes de limite en jaune (Fig. 3.15b partie jaune, indiquée par les flèches) seront comptées. Les cellules vivantes apparaissent de couleur claire, et les cellules mortes apparaissent bleues. La viabilité est donc déduite du rapport du nombre de cellules vivantes au nombre total de cellules.

La méthode de comptage cellulaire avec bleu de trypan n'est pas adaptée pour une faible viabilité. Nous avons donc utilisé cette méthode uniquement pour évaluer la viabilité en présence d'une faible concentration de nanohybrides.

c. Echantillons testés

Pour les deux méthodes, la croissance des cellules est réalisée dans des plaques à 96 puits, puis elles sont incubées pendant 24h avec des solutions de nanohybrides de différentes concentrations. Les facteurs de dilution choisis sont de 1000, 500, 100, 50, 30, 20 et 10. Typiquement, la gamme de concentration est de 0 à 30 μ g/ml. Chaque puits contient 90 μ l de milieu de culture avec 10 μ l de solution. Les contrôles négatif (100% de cellules vivantes) et positif (100% de cellules mortes) sont faits avec 10 μ l de H₂O et de 10 mM de H₂O₂, respectivement. Nous avons aussi évalué la cytotoxicité du surnageant. La solution de nanohyrides est centrifugée à 2300 G pendant 15 min,



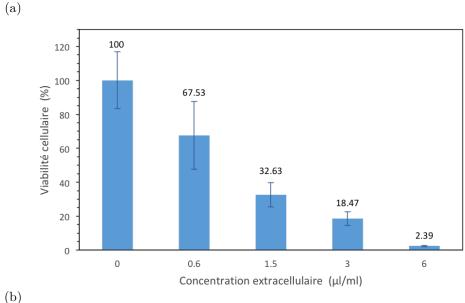


Fig. 3.16 – Viabilité cellulaire à différentes concentrations de AuNR@Jeffamine. (a) Résultats du test MTT. (b) Résultats du comptage cellulaire simple avec bleu trypan.

puis $10~\mu l$ de surnageant sont prélevés et déposés dans les puits associés. Le nombre de réplicats pour les contrôles et pour chacune des différentes conditions est de 6.

d. Comparaison des deux méthodess

La validation du test MTT est réalisée avec les AuNR@Jeffamine. Comme l'artéfact est dû uniquement à la TrSPR des AuNR, et que la TrSPR varie très peut d'un lot à l'autre, nous pouvons valider le test MTT avec un seul type de nanohybrides. Les résultats de cytotoxicité du test MTT et du comptage cellulaire simple sont présentés sur les Figs. 3.16(a) et (b), respectivement.

Comme le comptage cellulaire est très délicat pour des conditions de faible viabilité, la concentration a été limitée à un maximum de 6 μ g/ml, correspondant une viabilité cellulaire de 2,39%. En comparant les résultats obtenues par les deux différentes méthodes, on observe des viabilités similaires jusqu'à une concentration de 3 μ g/ml. Au-delà, la méthode MTT montre une surestimation de la viabilité cellulaire par rapport à la méthode de comptage cellulaire. Cependant,

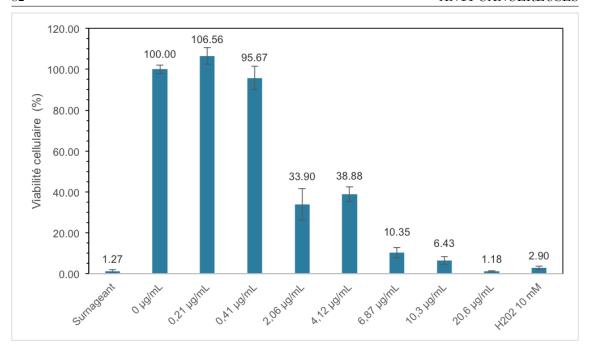


Fig. 3.17 – Viabilité cellulaire en présence de solutions de AuNR@Jeffamine de différentes concentrations. La viabilité en présence du surnageant est également reportée, ainsi qu'avec l'eau oxygénée (contrôle positif).

nous cherchons des conditions permettant une viabilité importante (> 50%) pour pouvoir procéder aux expériences in vitro et in vivo. Dans ce cas, pour la gamme de viabilité qui nous intéresse, le test MTT montre des résultats cohérents avec ceux du comptage cellulaire avec le bleu trypan. Le test MTT est donc validé pour évaluer la cytotoxicité de nanohybrides.

Résultats

a. AuNR@Jeffamine

La cytotoxicité des AuNR@Jeffamine est étudiée avec un rapport de Jeffamine M600/M1000 fixe. Ce rapport est a peu d'influence sur la cytotoxicité, car le greffage est toujours fait avec le même mélange. Le résultat des mesures est présenté sur la Fig. 3.17. Remarquons tout d'abord que des valeurs de viabilité légèrement supérieures à 100% peuvent être trouvées. Ceci provient de la statistique de comptage où l'on compare chaque échantillon à un échantillon de contrôle pour lequel la viabilité est normalisée à la valeur 100%. Nous pouvons voir que lors de l'augmentation de la concentration en AuNR@Jeffamine, la cytotoxicité augmente très rapidement. Pour une faible concentration en AuNR@Jeffamine, $\sim 10~\mu \mathrm{g/ml}$, la viabilité cellulaire tombe déjà à 6,4%. La solution n'est donc pas du tout suffisamment biocompatible pour envisager effectuer d'autres tests pré-cliniques. Ce test de cytotoxicité est réalisé plusieurs fois avec la même solution séparée dans différents flacons pour avoir un bonne statistique, et aussi refait avec un autre lot de synthèse. Les résultats de toxcité sont similaires. On a toujours une grande mortalité cellulaire à partir d'une concentration de quelque μ g/ml. Cependant, cette forte toxicité n'est pas due uniquement aux AuNR@Jeffamine dans la solution. Si on teste le surnageant récupéré après centrifugation et contenant très peu de AuNR@Jeffamine, nous pouvons voir que sa toxicité est extrêmement élevée. Le surnageant induit quasiment 100% de mortalité cellulaire. Le surnageant contient principalement des polymères en excès pour le greffage et du CTAB résiduel issu de la synthèse des AuNR. Le

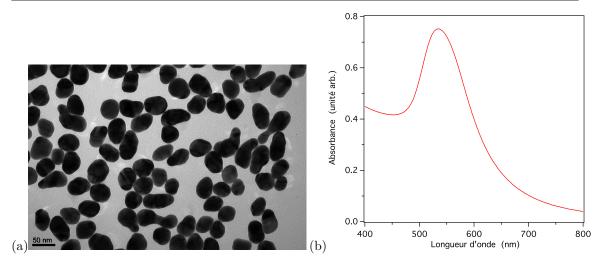


Fig. 3.18 – (a) Image MET de AuNP@HSA. (b) Spectre d'absorption de la solution de AuNP@HSA.

CTAB génère une grande cytotoxicité comme cela a déjà été montré (voir la Réf. [16] par exemple). Une étude plus approfondie montre que la cytotoxicité du CTAB est due à la structure en bicouche stabilisant les AuNR dans une solution aqueuse plutôt qu'à la charge surfacique de la bicouche due aux ions ammonium quaternaires [129].

A cause de la méthode de préparation de la solution testée, plus la concentration de la solution est importante, plus la quantité de surnageant dans la solution est importante. Comme le surnageant est très toxique, il apparaît que nous avons une augmentation de toxicité avec la quantité de d'or dans la solution. Afin de confirmer cette hypothèse, deux tests peuvent être pratiqués : (i) évaluer la cytotoxicité de AuNP enrobées d'albumine de sérum humain (AuNP@HSA). Les AuNP sont alors stabilisées de manière biocompatible. Ceci peut éliminer l'effet toxique du ligand et du surnageant, donc seule la cytotoxicité de l'or est mesurée dans ce cas ; (ii) évaluer la cytotoxité de la solution après lavage. En effet, en procédant au lavage de la solution, nous pouvons remplacer une partie du surnageant par de l'eau, ce qui diminue la toxicité du surnageant, et de la solution en test.

b. Comparaison avec les AuNP@HSA

Commençons par l'évaluation de la toxicité des AuNP@HSA (AuNP enrobées d'albumine de sérum humain). Les AuNP@HSA sont préparées par nos collaborateurs du LCP à Orsay. Ici, les nanoparticules sont de forme grossièrement sphérique. Il a été montré que dans la gamme de taille de 5 à 100 nm, l'or n'est pas toxique quelle que soit la forme de la particule [69–71]. Une image de AuNP@HSA en MET est présentée sur la Fig. 3.18(a). L'analyse statistique de la morphologie est effectuée avec 400 particules. Les AuNP@HSA ont un diamètre moyen de 37.8 ± 12.0 nm. Le spectre d'absorption de AuNP@HSA en solution est présenté sur la Fig. 3.18(b). La SPR des AuNP@HSA est située à 535 nm.

Nous avons effectué le test MTT sur la solution de AuNP@HSA avec une concentration maximale de 55 μ g/ml. Le nombre de réplicats est de 6. Le résultat est présenté sur la Fig. 3.19. Nous pouvons voir que malgré la marge d'erreur importante due à la statistique de comptage, la solution a clairement une très faible toxicité pour toute la gamme de concentration testée, puisque la viabilité cellulaire est quasiment de 100%. Cela nous montre que les AuNP stablisées avec des ligands et un solvant biocompatibles n'induisent pas de cytotoxicité. Il y n'a pas de

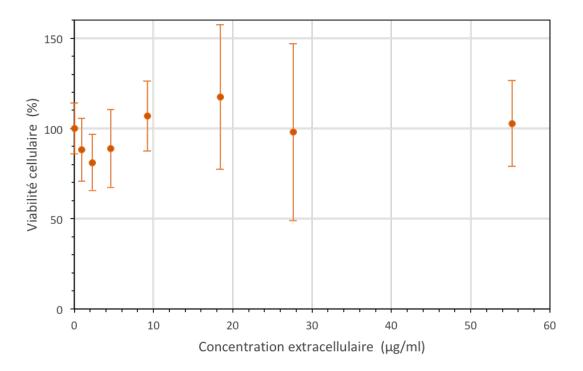


Fig. 3.19 – Cytotoxicité de solutions de AuNP@HSA en fonction de leur concentration en nanoparticules.

toxicité due à l'or. Ce résultat est cohérent avec le travail effectué par le groupe de Michael D. Wyatt [16]. Il démontre une cytotoxicité quasiment nulle pour des AuNS stablisées par citrate et biotine. Le groupe de C. Chen report également une cytotoxicité très faible avec des AuNR ayant environ la même taille que les nôtres, stablisés par des molécules de polyélectrolyte positivement chargées [129]. Tous ces résultats montrent que la grande cytotoxicité des AuNR@Jeffamine en solution est due, soit au ligand, soit au surnageant.

c. Cytotoxicité après lavage

Nous allons maintenant étudier la solution après un lavage. Le protocole de lavage consiste à centrifuger la solution à 2300 G pendant 15 min, puis à disperser le culot dans le même volume d'eau. Les résultats de cytotoxicité sont présentés sur la Fig. 3.20. Nous pouvons voir que la toxicité de la solution est nettement diminuée après lavage. Nous obtenons une mort cellulaire de 50% pour une concentration de 26,6 μ g/ml. Pour rappel, avec la solution avant lavage à une concentration légèrement plus faible, nous avions déjà une mort totale des cellules (cf. Fig. 3.17). En ce qui concerne le surnageant, sa toxicité est aussi énormément diminuée. En comparant maintenant la toxicité de la solution à une concentration de 26,6 μ g/ml et celle du surnageant, nous pouvons déduire que les AuNR@Jeffamine présentent une certaine cytotoxicité.

Cependant, malgré la nette amélioration qu'apporte l'étape de lavage, le problème des solutions de AuNR@Jeffamine est qu'elles sont déstabilisées et évoluent ensuite très rapidement dans le temps après ce lavage. Un spectre de la solution après un lavage est présenté sur la Fig. 3.21. Nous pouvons clairement observer un élargissement du pic de LgSPR de la solution. La largeur du pic est d'environ 250 nm, ce qui veut dire que les AuNR@Jeffamine commencent à s'agréger; la solution ne peut plus être considérée comme stable. Cette déstabilisation peut être due à la grande quantité

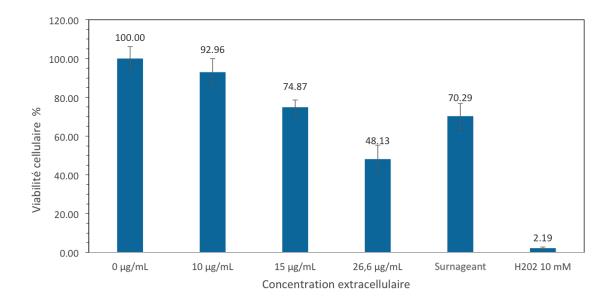


Fig. 3.20 – Viabilité celluliare en présence de la solution de AuNR@Jeffamine après un lavage en fonction de la concentration en NP, ainsi que celle avec son surnageant et de l'eau oxygénée (contrôle positif).

de CTAB retirée par le lavage ³, ce qui se traduit également par la diminution de la cytotoxicité du surnageant (Fig. 3.20). L'étude de la stabilité de la solution de AuNR@Jeffamine ayant subit de lavage nécessiterait une investigation plus approfondie.

d. AuNR@PVCL

Les même tests de cytotoxicité sont également pratiqués avec les solutions de AuNR@PVCL. Les résultats présentés sur la Fig. 3.22. La cytotoxicité de la solution de AuNR@PVCL est aussi toxique que la solution de AuNR@Jeffamine (Fig. 3.17). Pour diminuer la cytotoxicité de la solution de AuNR@PVCL, nous avons effectué le même lavage que celui précédemment décrit. Le spectre d'absorption est mesuré avant et après le lavage. Les spectres sont reportés sur la Fig. 3.23. Bien que le spectrophotomètre utilisé au LCP soit limité à 900 nm, nous pouvons bien distinguer la bande de LgSPR des AuNR. Avant lavage, la largeur du pic est de 120 nm, et elle augmente à 160 nm après un lavage. Le pic est légèrement asymétrique à cause de la présence d'une faible agrégation des AuNR. La solution est un peu déstabilisée par le lavage avec l'eau. Comme cette largeur reste encore correcte, nous avons effectué un test MTT avec cette solution après lavage. Le résultat est présenté sur la Fig. 3.24. Le lavage réduit aussi la cytotoxicité de la solution de AuNR@PVCL. Pour une concentration $10~\mu g/ml$, nous avons une viabilité cellulaire de 64%, qui est à la limite minimale pour effectuer des tests d'irradiation in vitro et in vivo.

e. Lavage des solutions avec du milieu de culture

Nous avons vu que les deux types de nanohybrides nécessitent des lavages supplémentaires (i.e. au-delà d'un lavage) afin de diminuer la cytotoxicité principalement due au CTAB, pour réaliser des études in vitro et in vivo plus approfondies. Nous avons en effet observé précédemment que

^{3.} Pour rappel, le CTAB qui permet la croissance des nanobâtonnets lors de la synthèse joue aussi le rôle de stabilisant dans la solution (cf. Chap. 1).

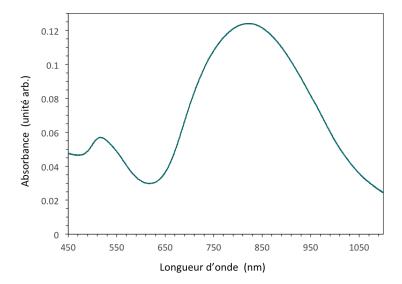


Fig. 3.21 – Spectre d'absorption optique de la solution de AuNR@Jeffamine après un lavage avec de l'eau.

le lavage peut diminuer largement la toxicité de la solution grâce à la diminution de quantité de CTAB dans le surnageant (Fig. 3.20). Malgré les polymères greffés sur la surface des AuNR, le CTAB a quand même un rôle important sur la stabilisation des solutions de AuNR. Par conséquent, les solutions de AuNR@Jeffamine et de AuNR@PVCL se déstabilisent après lavage avec de l'eau (Figs. 3.21 et 3.23). Afin d'essayer de palier ce problème, et dans la perspective des expériences d'irradiation, nous avons choisi de laver les nanohybrides avec le milieu de culture en présence de sérum (milieu complet) qui contient des protéines. En lavant les nanohybrides avec le milieu complet, ces molécules peuvent prendre lu relais de CTAB pour ensuite stabiliser les nanohybrides en solution.

Le protocole d' ${\bf un}$ lavage est le suivant :

- La solution de nanohybrides non lavés est centrifugée à 8000 rpm pendant 10 min à 10 °C (température inférieure à la température de transition du polymère).
- Le culot est récupéré. Après la première centrifugation, le surnageant reste souvent coloré. On le récupère, puis on recommence l'étape précédente. Le culot (de centrifugation de surnageant) est ensuite récupéré.
- La deuxième étape est répétée trois fois pour faire tomber tous les nanohybrides de la solution initiale. Les culots de toutes les centrifugations sont rassemblés et dispersés dans le même volume de milieu.

La quantité de nanohydrides diminue même si nous essayons de récupérer le maximum de nanohybrides possible. Il faut donc trouver un compromis entre la quantité de nanohybrides et la quantité de CTAB resté en solution, donc la toxicité. Ici, nous avons choisi de laver la solution trois fois pour avoir une cytoxicité acceptable. Notons que puisqu'après le lavage les nanohybrides sont "entourés" par les protéines, cela peut augmenter la difficulté d'accrocher les nanohybrides sur les membranes cellulaires après la transition de phase. Pour réduire ce risque à la fin du troisième lavage, les culots sont dispersés dans le milieu de culture sans sérum, alors que pour les deux premiers lavages, ils sont dispersés dans le milieu complet.

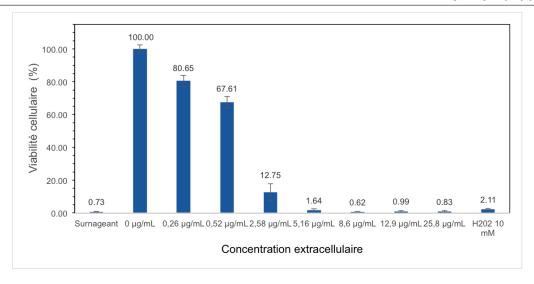


Fig. 3.22 – Viabilité cellulaire à différente concentration de AuNR@PVCL.

Nous avons donc effectué trois lavages pour les deux types de nanohybrides. Les spectres avant et après chaque lavage de AuNR@PVCL sont présentés sur la Fig. 3.25. La déstabilisation provoque souvent une agrégation des AuNR. Cela se manifeste par un élargissement du pic LgSPR, notamment par l'apparition d'une "queue" vers le proche infrarouge comme nous l'avons déjà rencontrée [99]. Sur la Fig. 3.25, nous pouvons voir qu'il n'y a quasiment pas d'élargissement du pic LgSPR ni de queue vers le proche infrarouge. La solution de AuNR@PVCL supporte bien les lavages et reste stable. Nous avons un léger déplacement de la LgSPR vers le rouge dû au passage de l'eau au milieu de culture complet (principalement dû au sérum) comme milieu hôte des NP. Nous pouvons aussi voir que la différence relative entre les pics de TrSPR et de LgSPR changement au cours des lavages. Ceci est dû à la perte des AuNR que nous ne pouvons pas récupérer dans le surnageant. Nous perdons donc une partie des particules de plus faible masse, principalement des sphères et des bâtonnets de petit RA.

Nous avons effectué le même lavage avec les AuNR@Jeffamine. Les AuNR@Jeffamine après centrifugation sont conservées dans un bain de glace pour éviter l'agrégation. Les spectres avant lavage (après la purification avec le THF), après trois lavages avec le milieu de culture, et deux jours après ces lavages sont présentés sur la Fig. 3.26. Malgré toutes les précautions prises tout au long du protocole de lavage, nous observons tout de suite après une queue qui apparaît vers le proche IR. Le décalage du LgSPR vers le bleu après le lavage est dû au changement de solvant. Le spectre avant lavage a été effectué dans le THF. La solution évolue très rapidement dans le temps, deux jours après le lavage le pic de LgSPR est devenu très large, la largeur à mi-hauteur atteint ~ 250 nm. La solution n'est pas utilisable pour les études cellulaires ultérieures.

En effet, les études avec les cellules requièrent une cytotoxité inférieure à 50% à la concentration choisie. Une plus grande concentration est nécessaire pour avoir un effet photothermique suffisamment important comme nous allons le montrer dans la section suivante. Le lavage des nanohybrides est donc obligatoire dans notre cas. Or le lavage avec de l'eau induit une déstabilisation de la solution. La méthode alternative consiste à laver les nanohybrides avec le milieu de culture complet qui peut stabiliser les nanohybrides à la place du CTAB. Pour assurer la stabilité des solutions après le lavage, les études suivantes ne seront effectuées qu'avec les AuNR@PVCL.

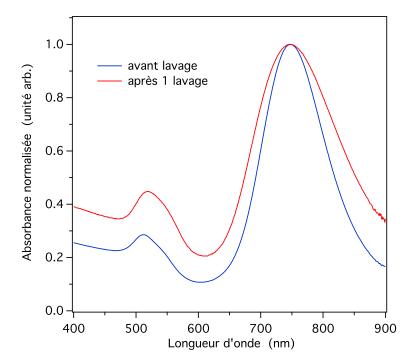


Fig. 3.23 – Spectre d'absorption de la solution de AuNR@PVCL avant et après 1 lavage à l'eau. Les spectres sont normalisés au maximum de la LgSPR pour comparaison.

3.3 Expériences in vitro avec nanohybrides de PVCL

Comme nous l'avons vu précédemment, la dénaturation thermique ou par le laser ne permet pas de déterminer la température de transition des nanohybrides. En revanche, une étude similaire a été menée par le groupe de N. Felidj sur des AuNR fabriqués par lithographie électronique sur un substrat et sur lesquels du pNIPAM est greffé [122]. Ils mesurent le déplacement de la bande LgSPR vers rouge en fonction de la température. Ce "red-shift" dû à l'augmentation de l'indice de réfraction au voisinages de AuNR lors de l'effondrement du polymère, donne une information sur la phase du pNIPAM. Ces chercheurs démontrent une transition de phase des nanohybrides autour de 33 °C et 35 °C, respectivement, pour deux longueurs de chaîne de polymère sec sur la surface : 25 nm et 8 nm. Ces deux températures de transition sont proches de la LCST du pNIPAM (~ 32 °C).

Nous devons noter que plus la chaîne de polymère est courte plus l'incertitude sur la valeur mesurée de la température de transition est élevée. En effet, plus la chaîne est courte, plus le contraste sur l'indice de réfraction effective de la couche de polymère à basse et à haute température est faible. De plus, la faible longueur de chaîne rend la SPR des NP plus sensible à la variation d'indice de l'eau lorsque la température varie. De ce fait, on ne peut pas simplement déduire du résultat expérimental ci-dessus que l'écart entre la LCST et la température de transition des nanohybrides augmente losrque la longueur de chaîne diminue. D'autres études portant sur des AuNS greffées par différents polymères thermosensibles en solution montrent aussi une température de transition très proche de la LCST du polymère [116, 130]. Une étude sur les AuNS@PVCL montre que la température de transition de ce nanohybride est légèrement inférieure à la LCST du PVCL de masse molaire correspondante [131]. Dans cette section, nous allons pourvoir estimer la conformation des nanohybrides en comparant simplement la température globale atteinte par la

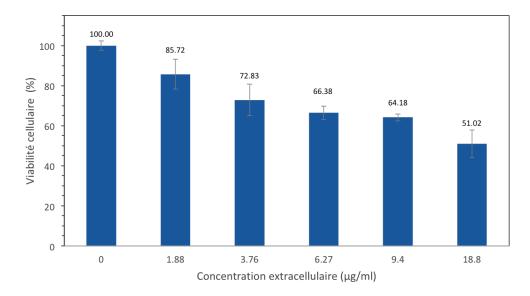


Fig. 3.24 – Viabilité cellulaire à différentes concentrations de AuNR@PVCL après un lavage.

solution lors des expériences avec la LCST du PVCL, qui est de 41 °C. En l'absence de précision, les nanohybrides AuNR@PVCL utilisés sont les mêmes que ceux de la Fig. 3.25.

3.3.1 Dispositif expérimental pour l'irradiation

a. Préparation des plaques

Un schéma simplifié du dispositif est présenté sur la Fig. 3.27. Deux lasers sont utilisés pendant cette série d'expériences pour comparaison : un laser femtoseconde délivrant des impulsions de 100 fs à 800 nm avec une fréquence de répétition de 5 kHz, et un laser continue (cw) à 808 nm délivrant une puissance maximale de 1200 mW. Les deux lasers nous permettent de comparer leur efficacité respective sur la destruction des cellules cancéreuses par hyperthermie. Les cellules prêtes à irradier sont dispersées dans des plaques à 48 puits. Nous avons choisi d'utiliser ici des plaques à 48 puits 4 pour avoir un nombre de cellules important dans chacun, qui peut en conséquence être considéré comme un réplicat. Le diamètre de puits, d_p , est de 1 cm. Afin d'irradier chaque puits de manière homogène (pour que les cellules au fond du puits reçoivent toutes quasiment la même énergie lumineuse), le faisceau laser est élargi avec un système afocal. Le diamètre du faisceau du laser cw, d_{cw} , est de 12,7 mm, et le diamètre du faisceau du laser fs, d_{fs} , est de 9,7 nm. Le diamètre du faisceau est mesuré avec un "beam-profiler" équipé d'une caméra CCD (BC106N-VIS Thorlabs). La plaque est préparée et irradiée comme indiqué sur la Fig. 3.27. Les cellules sont implantées dans un puits sur deux de manière à garder une distance suffisante avec le puits rempli voisin. En effet, le faisceau laser déborde un peu du puits; ce remplissage nous permet donc d'avoir une illumination indépendante pour chaque puits. Les puits contenant des cellules sont remplis par une solution de AuNR@PVCL, de concentration choisie, dans le milieu de culture. Les puits vides sont remplis par du PBS (Phosphate buffered saline en anglais) pour éviter l'effet de bord induisant une déshydratation des cellules. Toutes les solutions de remplissage sont préalablement chauffées à 37 °C. La plaque prête à irradier est ensuite placée sur un support fixé sur un système de rails. La plaque est alors mobile dans le plan d'irradiation. Le support est muni d'un thermostat. La réponse temporelle de ce thermostat est relativement longue. La variation de température par

^{4.} Les puits des plaques à 48 puits sont plus grands que ceux des plaques de 96 puits.

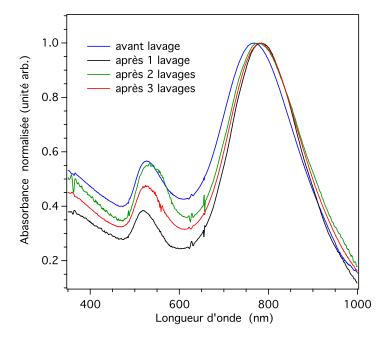


Fig. 3.25 – Spectres d'absorption d'une solution de AuNR@PVCL au cours des lavages successifs. Bleu : avant le lavage. Noir : après le premier lavage. Vert : après le deuxième lavage. Rouge : après le troisième lavage. Les spectres d'absorption sont normalisés au maximum de la LgSPR.

rapport à la consigne est de l'ordre de 1 à 2 °C. La température réelle dans les puits est mesurée par thermocouple dans l'un des puits remplis de PBS.

b. Réglage des paramètres d'irradiation laser

Pour étudier quantitativement l'efficacité de destruction cellulaire induite par les deux différents types de laser, il faut établir précisément leur puissance incidente à l'intérieur des puits. Normalement, si les deux faisceaux avaient le même profil, il faudrait juste s'assurer que leurs puissances et leur taille sont identiques. Cependant, dans les faits les deux faisceaux ont des profils assez différents. Ces profils mesurés avec l'analyseur de faisceau sont présentés sur la Fig. 3.28. Pour le laser cw, le profil du faisceau selon x et y est plutôt une fonction porte. Quand au laser fs, son profil est une fonction gaussienne. Maintenant, nous allons calculer l'intensité moyenne dans le puits, $\langle I \rangle$, en prenant en compte les différents profils des faisceaux. Comme le laser cw a un profil de fonction porte, nous pouvons considérer que l'intensité est homogène sur toute la zone illuminée. Dans notre cas, $d_{cw} > d_p$, $\langle I \rangle = 4P_{cw}/\pi d_{cw}^2$, où P_{cw} est la puissance incidente du laser cw. Pour le laser fs, nous avons :

$$P_{fs} = I_{00} \left(\int_{-\infty}^{+\infty} e^{-\frac{x^2}{2\sigma_x^2}} dx \right)^2 = 2\pi I_{00} \sigma_x^2$$
 (3.2)

où P_{fs} est la puissance du laser fs, I_{00} est l'intensité au point (0,0), σ_x est l'écart-type de la fonction gaussienne. Pour un faisceau rond, on a $\sigma_x = \sigma_y = \sigma = d_{fs}/2\sqrt{2ln2}$. P_{fs} est la puissance moyenne mesurée avec le puissance-mètre. Avec l'Eq. 3.2, nous pouvons donc déduire la valeur de I_{00} . La

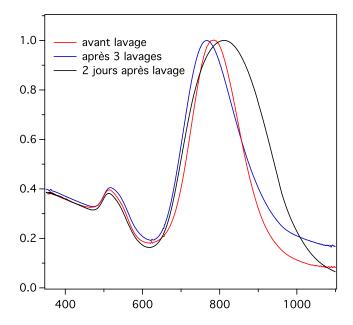


Fig. 3.26 – Spectres des AuNR@Jeffamine avant et après lavage avec le milieu de culture.

puissance incidente à l'intérieur du puits, P_{puits} , est donc :

$$P_{puits} = \frac{P_{fs}}{2\pi\sigma^2} \left(\int_{-\frac{d_p}{c^2}}^{\frac{d_p}{2}} e^{-\frac{x^2}{2\sigma_x^2}} dx \right)^2.$$
 (3.3)

Pour le laser fs, $\langle I \rangle = 4P_{puits}/\pi d_p^2$. En choisissant $d_{fs} = 9.7$ mm et $d_{cw} = 12.7$ mm, pour $P_{fs} = P_{cw} = P$, $\langle I \rangle$ est la même pour les deux lasers. Nous allons utiliser une puissance typiquement de $P \sim 500$ mW, ce qui correspond à une valeur de $\langle I \rangle \sim 4000$ W m⁻². L'intensité crête du laser fs est ~ 0.8 GW cm⁻². Nous sommes donc dans la gamme d'intensité crête à la fois très inférieure au fusion partielle et pour laquelle Δ_{abs} est quasiment nulle (cf. Chap. 2). Par conséquent, l'énergie injectée dans le puits est la même pour les deux lasers. Si nous nous intéressons aux grandeurs macroscopiques, par exemple l'augmentation de température globale dans le puits, leur valeur sera la même à puissance moyenne égale pour les deux lasers.

c. Mesure de l'effet photothermique macroscopique

Nous avons donc effectué une mesure de l'élévation de température à différents instants sous irradiation laser. Cette mesure est faite avec une concentration en AuNR@PVCL de $10~\mu g/ml$. La puissance des lasers est de 500~mW. La solution est préparée avec le milieu de culture sans sérum, avec un volume total de $500~\mu l$. Nous avons utilisé le même montage que celui représenté sur la Fig. 3.27. La température est mesurée avec un thermocouple. A cause de la configuration du montage, le thermocouple est forcément sous le faisceau laser. L'aiguille du thermocouple, qui est en acier inoxydable, absorbe fortement la lumière du proche infrarouge, ce qui peut induire un artéfact sur la mesure. Pour éviter cet artéfact, nous avons effectué une mesure de référence avec $500~\mu l$ de milieu de culture seul. Nous avons mesuré l'élévation de température sans AuNR : la seule source qui chauffe le milieu est donc le thermocouple. En soustrayant ces mesures de référence, nous avons donc l'élévation de température uniquement due aux AuNR. Le point délicat dans cette expérience

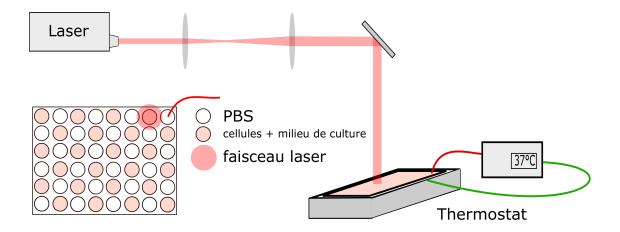


Fig. 3.27 – Schéma du dispositif pour l'expérience d'irradiation.

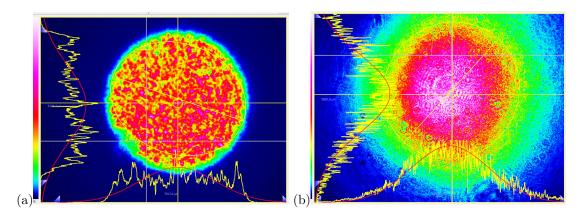


Fig. 3.28 – Profil transverse des faisceaux lasers. (a) Laser cw, (b) laser fs. Le champ de vue est de $6.6 \times 8.8 \text{ mm}^2$.

est qu'il faut que le thermocouple soit toujours placé au même endroit par rapport au faisceau laser, car l'intensité du faisceau varie dans le plan xy. Pour éviter ce problème, le thermocouple est solidement fixé grâce à un support pratiqué dans le puits à côté de celui où est réalisé la mesure. Pour ne pas bouger le thermocouple entre la mesure de référence et la mesure avec AuNR, nous avons d'abord effectué la mesure de référence, puis, nous avons délicatement enlevé le milieu de culture dans le puits avec une pipette à piston. Ensuite, nous avons effectué la mesure en présence des AuNR. L'ordre de mesure (d'abord la référence, ensuite avec les AuNR) est toujours respecté pour éviter l'artéfact dû aux AuNR résiduels. Les mesures d'élévation de température sont faites avec les deux types de laser. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.29. Nous pouvons voir que les courbes pour lasers fs et cw se superposent bien. En ajustant les données expérimentales par une fonction de la forme de $T(t) = A(1 - e^{-\frac{t}{B}})$ [132], nous pouvons obtenir la température stationnaire atteinte par la solution, désignée par A, et le temps caractéristique d'échauffement macroscopique de la solution désigné par B. Les valeurs de (A,B) pour le laser cw et pour le laser fs sont (5,1 K,281 s) et (5.1 K, 266 s), respectivement. La température finale, $A \sim 5$ °C, est bien identique pour les deux lasers. Le temps caractéristique d'échauffement est de $\sim 4,5$ min. Notons que le milieu de culture peut également contribuer à l'échauffement de la solution s'il absorbe le rayonnement à 800 nm. Pour évaluer cela, nous avons effectué des mesures à t=0 et à t=25 min avec le milieu sans AuNR@PVCL et avec AuNR@PVCL, en utilisant les deux types de laser. Les résultats

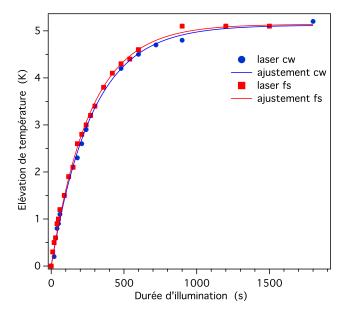


Fig. 3.29 – Elévation de température de la solution AuNR@PVCL à 10 μ g/ml irradiée par laser avec P=500 mW mesurée à différents instants. Points bleus : laser cw; trait rouge : ajustement des données pour le laser cw; carrés rouges : laser fs; trait bleu : ajustement des données pour le laser fs.

sont présentés dans le tableau suivant (3.2). Ils sont cohérents avec ceux reportés sur la Fig. 3.29.

Laser	NR concentration ($\mu g/ml$)	T(t=0) (°C)	$T(t = 25') \ (^{\circ}C)$	ΔT (°C)
fs	10	20,5	26,9	6,4
fs	0	20,4	21,3	0,9
cw	10	21,3	27,6	6,3
cw	0	20,5	21,4	0,9

Tab. 3.2 – Tableau donnant l'élévation de température à l'instant initial et après 25 min d'irradiation par laser fs et par laser cw.

L'élévation de température totale de la solution est de 6 °C, auxquels le milieu contribue pour 1 °C. Comme la plaque est thermalisée à 37 °C, la solution à 10 μ g/ml peut atteindre une température de 43 °C après 10 min d'irradiation. Cette température est légèrement supérieure à la LCST du PVCL greffé.

3.3.2 Protocole de test de viabilité cellulaire

La culture cellulaire est effectuée par les collègues du LCP sur la plateforme de B. David au laboratoire MSSMat à CentraleSupélec.

Un schéma simplifié du protocole de test de viabilité cellulaire est présenté sur la Fig. 3.30. Les cellules sont décongelées en enlevant de manière rapide l'agent cryoprotecteur Diméthylsulfoxyde qui est très toxique. Les cellules sont dispersées dans le milieu complet et mises dans un flacon de culture cellulaire. Le milieu est changé après 24h. Après chaque décongélation, nous avons effectué un ou deux passage ⁵ des cellules pour effacer l'effet de la congélation sur les cellules. La culture cellulaire est réalisée dans des conditions standard. Lorsque les cellules sont à 80%

^{5.} Technique permettant d'obtenir un grand nombre de cellules à partir de quelques cellules initiales.

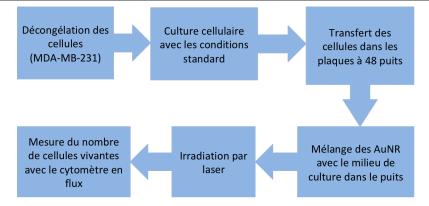


Fig. 3.30 – Schéma du protocole de test de viabilité.

de confluence ⁶, elles sont décollés du flacon avec de la trypsine, puis l'effet de la trypsine est stoppé en ajoutant du milieu de culture. Après centrifugation, les cellules sont dispersées dans le milieu complet. Nous mettons ensuite 500 μ l du milieu contenant les cellules dans chaque puits. Avant la mise en plaque des cellules, il faut bien secouer le milieu pour avoir une concentration cellulaire homogène dans chaque puits. Les plaques sont laissées dans l'incubateur pendant une nuit (la veille de l'irradiation). Le jour des expériences d'irradiation, le milieu complet est retiré des puits et les cellules sont ensuite rincées avec du PBS. Du milieu sans sérum est ajouté dans les puits pour les contrôles, et du milieu sans sérum avec des AuNR@PVCL est mis dans les puits pour les études dans les différents conditions envisagées. Les plaques sont ensuite placées sur le support d'irradiation et thermalisées à 37 °C. Une fois la température dans les puits stabilisée à 37 °C, nous commençons l'irradiation des cellules avec le laser. Lorsque toutes les cellules dans la plaque ont été irradiées, le milieu (contenant les AuNR@PVCL ou non) est enlevé. Les cellules sont ensuite rincées avec du PBS. Le même volume de milieu complet est remis dans chaque puits, et la plaque est ensuite placée dans l'incubateur. Les cellules vivantes sont comptées à l'aide d'un cytomètre en flux (Merck Guava EasyCyte) au laboratoire LGPM (CentraleSupélec). Le principe du cytométrie en flux sera détaillé plus loin. Avant de commencer ces mesures, nous enlevons le milieu complet dans les puits, et rinçons les cellules avec le PBS. 200 μ l de trypsine esont mis dans chaque puits en incubation pendant 2 min pour décoller les cellules au fond. Pour arrêter l'effet de la trypsine, 300 μ l de milieu complet sont ajouté dans chaque puits. Les cellules sont ensuite transférées dans un tube Eppendorf. Les cellules sont alors récupérées par centrifugation (3 min à 3000 rpm) puis dispersées dans $500 \mu \text{l}$ de PBS froid. Tous les tubes prêts à passer au cytomètre en flux sont disposés sur de la glace pour conservation au froid.

La cytométrie en flux est une technique de comptage et de caractérisation des particules, molécules ou cellules en les faisant passer dans le faisceau d'un laser à grande vitesse. Le schéma du principe simplifié d'un cytomètre en flux est présenté sur la Fig. 3.31. Les cellules sont prélevées par un capillaire passant sous le faisceau d'un laser (à longueur d'onde de 488 nm dans notre cas). Elles génèrent un signal et des signaux de fluorescence à différentes longueurs d'onde si les cellules sont chargées par des marqueurs. On enregistre les signaux de diffusion vers l'avant et à 90°. Selon la taille, la granularité ou la complexité interne des cellules, la lumière n'est pas diffusée de la même manière [133]. Par conséquent, avec les deux signaux de lumière diffusée, nous pouvons obtenir une information relative sur les cellules. Comme nous avons un seul type de cellules et que les cellules vivantes et les cellules mortes ont une morphologie différente, nous pouvons faire un tri des

^{6.} Taux de couverture du support par les cellules.

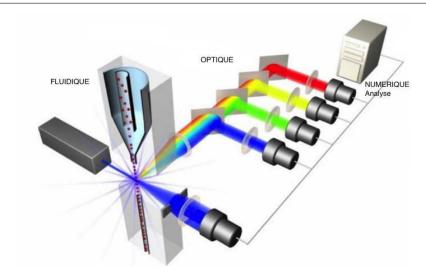


Fig. 3.31 – Principe simplifié d'un cytomètre en flux. D'après [133].

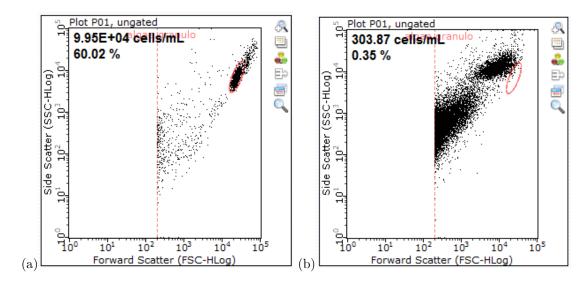


Fig. 3.32 – Signal de la lumière diffusée vers l'avant (x) et perpendiculairement au faisceau laser incident (y) mesuré en cytométrie en flux. (a) Contrôle. (b) Cellules mortes majoritaires. L'ellipse rouge désigne la zone où le signal provient de cellules vivantes.

cellules vivantes grâce à la lumière diffusée dans les deux directions (0° et 90°). Sur le logiciel, nous pouvons définir la fenêtre, dans l'espace des intensité de diffusion vers l'avant et perpendiculaire, qui permet d'évaluer la population de cellules qui nous intéressent. Nous présentons sur la Fig. 3.32 un exemple de contrôle (qui représente 100% de cellules vivantes) et celui d'un échantillon contenant majoritairement des cellules mortes. L'ellipse en rouge représente la fenêtre qui identifie les cellules vivantes. Sur la Fig. 3.32(a), nous pouvons voir que le nuage de points le plus intense se trouve dans cette fenêtre. En revanche, lorsque l'échantillon contient majoritairement des cellules mortes, les nuages de points sont complètement en dehors de la fenêtre (Fig. 3.32(b)). Le chiffre en haut à gauche de ces figures donne la population dans la fenêtre; dans notre cas, c'est la concentration des cellules vivantes. Tous les points dans les figures désignent l'ensemble des évènements détecté pendant la mesure. Pour avoir une statistique correcte, nous avons fixé un nombre d'évènements de 1500 pour chaque mesure. Cela nous donne un temps de mesure de l'ordre de 1 min. Si la durée de mesure est trop longue, les cellules peuvent se sédimenter, et l'estimation de la concentration

des cellules vivantes n'est alors plus correcte. Par conséquent, lorsque la concentration cellulaire est trop faible pour détecter 1500 évènements au total, nous arrêtons volontairement la mesure au bout d'une minute.

Il nous reste encore quelques paramètres à définir pour le protocole d'irradiation. Intéressons-nous d'abord à la durée d'irradiation pour obtenir une destruction cellulaire significative. Nous allons définir la durée d'irradiation avec le laser fs, car au-delà de l'échauffement global de la solution, les impulsions ultracourtes peuvent générer un effet local beaucoup plus important qu'avec le laser cw. Nous avons vu précédemment dans le \S 2.4.2 que la température des AuNR peut atteindre $\sim 200\,^{\circ}$ C à $I_0 \sim 0.8$ GW cm⁻². Mais il faut aussi noter que la température maximale atteinte au voisinages de AuNR décroit comme une exponentielle étendue avec la distance du AuNR (voir chap. 1) [13]. Cet effet de "point chaud" sera donc significatif lorsque les AuNR@PVCL seront en contact avec les cellules. De plus, avec les impulsions laser fs nous pouvons produire facilement des phénomènes d'origine multiphotonique qui ensuite induisent la mort cellulaire. Par exemple, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS en Anglais) [86] et la génération d'un effet de cavitation [15] qui provoquent un stress oxydant et mécanique sur les cellules environnantes, respectivement, peuvent conduire à des dommages cellulaires voire à la destruction des cellules [14, 134].

3.3.3 Résultats

a. Viabilité cellulaire à 24h post-illumination avec 10 μ g/ml de AuNR@PVCL

Pour commencer, nous avons choisi une série de durées d'illumination de 0 s, 10 s, 30 s, 1 min et 3 min. La concentration en AuNR@PVCL est de $10 \mu g/ml$. La puissance du laser est égale à 500 mW. D'après la Fig. 3.29, la température de la solution est augmentée d'environ 2 °C pour une durée d'illumination de 3 min. La température globale atteinte reste donc inférieure à 40 °C à partir de laquelle on pourrait induire des dommages voire la mort cellulaire [135, 136]. Nous tentons donc de détecter, après une illumination de 3 min maximum, un effet local sur la destruction des cellules. Le nombre de cellules vivantes est mesuré 24h après illumination. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.33. Le nombre de cellules vivantes est globalement le même pour les contrôles et les échantillons avec nanohybrides, quelle que soit la durée d'irradiation et les conditions testées. Les cellules irradiées vivent aussi bien que les autres. Dans ces conditions expérimentales, l'effet de cytotoxicité des AuNR@PVCL propres est quasiment nul. Lepock a ainsi réalisé une étude de l'effet cellulaire de l'hyperthermie entre 41,5 °C et 45,5 °C; il montre que la survie cellulaire décroît exponentiellement avec l'augmentation de la durée d'échauffement [136]. Le groupe de El-Sayed a quant à lui estimé une température minimale de destruction cellulaire de 70-80 °C à la fois pour des cellules cancéreuses et des cellules saines, avec une durée d'illumination de 4 min par un laser continu [137]. Le groupe de Lin a également démontré une destruction de cellules par quelques impulsions lasers [138]. Il faut noter que ces deux groupes ont effectué les expériences après incubation, c'est-à-dire après l'internalisation dans les cellules d'une grande partie des AuNP. Le groupe de Lin a utilisé des impulsions de 20 ns. La fluence de ces impulsions est 2000 fois plus importante que la nôtre mais l'intensité crête est 100 fois plus faible. La comparaison entre les résultats des deux groupes et le nôtre démontre l'importance de l'internalisation des AuNP et leur nombre. De plus, la température de destruction dépend très fortement de la durée pendant laquelle cette température est maintenue, ce qui est cohérent avec les résultats de Lepock.

b. Viabilité cellulaire à 48h post-illumination

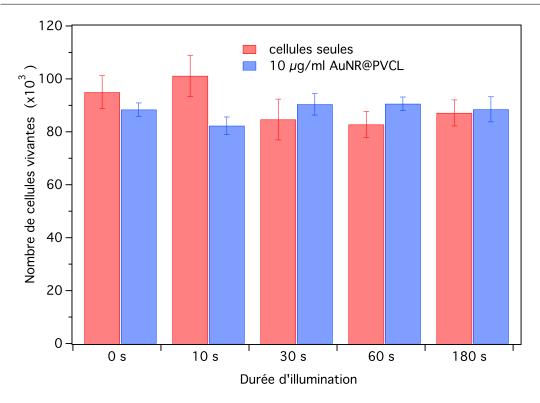


Fig. 3.33 – Nombre de cellules vivantes à 24h post-illumination en fonction de la durée d'illumination par le laser fs.

Pour les expériences suivantes, nous allons utiliser deux concentrations différentes : $10~\mu g/ml$ et $30~\mu g/ml$. Ce choix nous permet, d'une part, de comparer les effets à différentes concentrations, et d'autre part d'espérer induire un effet aux courtes durées d'illumination grâce à une plus grande concentration. Nous modifions par ailleurs le temps post-illumination de 24h à 48h pour que les cellules puissent avoir le temps de réagir à l'effet généré par l'illumination. Avant de commencer, nous mesurerons la cytotoxicité selon le protocole d'illumination, c'est-à-dire que les cellules sont préparées dans les plaques à 48h tout comme mentionné dans la section § 3.3.2. Les cellules sont incubées pendant 1h30 avec la solution de AuNR@PVCL diluée avec du milieu sans sérum. Enfin, les cellules vivantes sont comptées avec le cytomètre en flux après 48h. Le temps d'incubation correspond ici à la durée d'illumination maximale d'une plaque. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.34. Les AuNR@PVCL n'induisent pas de mort cellulaire dans ces conditions expérimentales. La cytotoxicité est ensuite réévaluée pour toute les expériences ultérieures. Cette cytotoxicité nulle est bien reproductible. Le calcul de viabilité est à chaque fois réalisé en se référant au contrôle de chaque expérience pour ne révéler que les effets du laser.

Nous fixons cette fois-ci les durées d'illumination à 0 min, 1 min, 3 min et 10 min. Cette gamme de durée nous permet ainsi de couvrir les régimes où nous pensons pouvoir induire un effet pour une faible et une forte concentration. La puissance du laser fs reste la même. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.35. La Fig. 3.35(a) montre le nombre de cellules vivantes dans le cas de cellules seules dans le milieu. Le contrôle à 0 min d'illumination est réalisé avec deux conditions différentes : (i) 0 min incub. désigne les cellules toujours gardées dans l'incubateur, (ii) 0 min désigne les cellules non illuminées, mais qui ont été sorties de l'incubateur et transportées dans la salle d'illumination. Ces cellules ont subi les mêmes changements d'environnement que les cellules illuminées. Nous pouvons constater clairement que ce changement d'environnement induit une mort cellulaire non

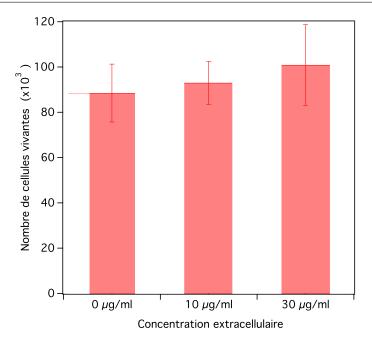


Fig. 3.34 – Population de cellules vivantes après 1h30 d'incubation avec les solutions de AuNR@PVCL à 0 μ g/ml, 10 μ g/ml et 30 μ g/ml .

négligeable. Pourtant, ce n'est bien sûr pas l'effet que nous voulons exploiter dans ce travail. Pour éviter cet effet qui affecte l'évaluation de la destruction cellulaire purement due au laser, nous mettons les contrôles dans les mêmes plaques que les cellules illuminées. Toutes les plaques sont illuminées pendant la même durée. Si nous comparons les cellules illuminées pendant différentes durées avec le vrai contrôle, nous pouvons voir que l'illumination par le laser seul n'induit pas de mort cellulaire.

La Fig. 3.35(b) présente le nombre de cellules vivantes en présence des AuNR@PVCL. Si nous comparons la viabilité cellulaire à différentes durées d'illumination, nous pouvons voir que la morte cellulaire augmente avec la durée d'illumination. En comparant ce résultat avec celui de la Fig. 3.33 (mesure à 24h post-illumination) qui montre 100% de viabilité cellulaire pour toutes les durées d'illumination inférieures à 3 min, nous pouvons constater qu'à 1 min d'illumination, la mort cellulaire induite par le laser n'est pas notable. Pendant cette durée courte, l'internalisation intracellulaire des AuNR@PVCL n'a quasiment pas pu avoir lieu. La dynamique de l'internalisation dépend de la taille et de la forme des AuNP, et un mécanisme d'adsorption non spécifique de sérum sur la surface des AuNP assistant leur internalisation dans les cellules a été proposé [139]. Il montre un temps d'internalisation des AuNP de l'ordre de plusieurs heures. Comme nous avons stabilisé les AuNR@PVCL par du sérum pendant le lavage, malgré le greffage de polymère, le temps d'internalisation n'est pas très différent de celui reporté dans cette référence. Les polymères greffés sur la surface des AuNR sont en régime de haute température pendant très peu de temps, car la température globale de la solution ne s'approche pas suffisamment de la LCST du polymère pour qu'ils puissent rester dans leur conformation hydrophobe pendant le délai entre deux impulsions. A partir de 3 min d'illumination, nous commençons à distinguer une différence entre la Fig. 3.33 et la Fig. 3.35. Pour rappel, le seule paramètre modifié est le temps post-illumination (Fig. 3.33: 24h, Fig. 3.35 : 48h). Après 48h, la variation de viabilité est plus marquée qu'après 24h. Nous avons donc définitivement de compter les cellules vivantes 48h après illumination pour toutes les expériences suivantes.

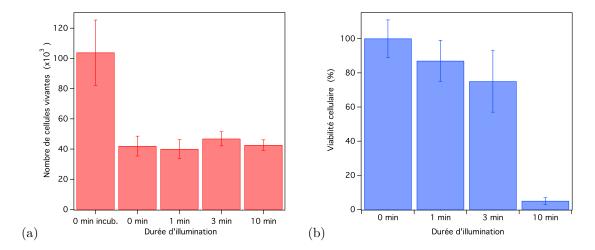


Fig. 3.35 – Viabilité cellulaire à 48h post-illumination en fonciton de la durée d'illumination par laser fs. (a) Cellules seules (b) AuNR@PVCL à $10~\mu g/ml$.

c. Viabilité cellulaire à plus haute concentration en AuNR@PVCL

La même expérience d'illumination avec le laser fs est effectuée pour une concentration de 30 μ g/ml. La viablité cellulaire est reportée sur la Fig. 3.36. Nous constatons une viabilité cellulaire plus faible que celle de la Fig. 3.35 pour la même durée d'illumination. A 1 min d'illumination, nous n'avons toujours pas de mort cellulaire notable malgré l'augmentation de la température globale. A 3 min et 10 min, l'effet d'illumination par le laser est renforcé par une élévation de température plus forte dans toute la solution.

d. Irradiation par le laser continu

Afin de comparer l'efficacité des deux lasers sur la destruction cellulaire, nous avons effectué une expérience préliminaire avec le laser cw à la même puissance de sortie. La durée d'illumination est de 10 min, la concentration de la solution est de 0, 10 et 30 μ g/ml. Le résultat est reporté sur la Fig. 3.37. La viabilité déterminée à 0 μ g/ml, supérieure à 100%, paraît étonnante. En effet, cette valeur est calculée en faisant le rapport entre les nombres de cellules vivantes après 10 min d'illumination et sans illumination. Le nombre de cellules vivantes après illumination est légèrement supérieur à celui sans illumination. Ceci démontre juste que l'illumination avec le laser cw en l'absence de nanoparticules n'induit pas de mort cellulaire.

e. Discussion

Nous reportons dans le même graphe les résultats de viabilité cellulaire après illumination par les deux lasers sous différentes conditions expérimentales pour visualiser plus facilement les tendances et pour faciliter la comparaison entre les effets des deux lasers. Ce graphe est présenté sur la Fig. 3.38. L'effet de la concentration apparaît très clairement avec le laser fs pour une durée d'illumination supérieure ou égale à 3 min. A la même concentration en AuNR@PVCL et pour une durée d'illumination de 10 min, le laser fs induit une mort cellulaire plus importante que le laser cw. Pour rappel, nous avions montré (Fig. 3.29) que l'échauffement global de la solution induit par les deux lasers est le même. Nous pouvons estimer l'élévation de température à une concentration de 30 μ g/ml avec la Fig. 3.29. Cela nous donne une élévation de 5,6 °C et 10,3 °C pour une durée d'illumination de 3 min et 10 min, respectivement. Dans le cas d'une illumination de 3 min,

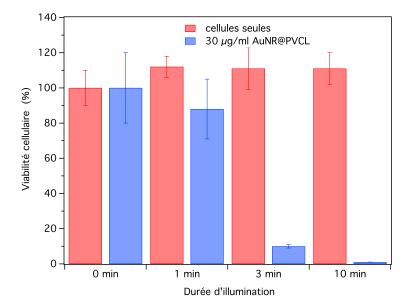


Fig. 3.36 – Viabilité cellulaire en fonction de la durée d'illumination avec le laser fs pour les cellules seules dans le milieu, et des cellules en présence de 30 μ g/ml de AuNR@PVCL. La mesure est effectuée à 48h post-illumination.

pour les deux concentrations, la température globale atteinte par la solution est de $\sim 40^{\circ}\mathrm{C}$ et $\sim 43^{\circ}\mathrm{C}$ pour 10 $\mu\mathrm{g/ml}$ et 30 $\mu\mathrm{g/ml}$, respectivement. Nous pouvons comparer ces données avec les résultats de Lepock [136] présentés sur la Fig. 3.39. Les courbes à différentes températures peuvent être décrites par une loi exponentielle en $\exp(-kt)$, où k est le taux d'inactivation et t est le temps d'échauffement. Si nous regardons la courbe à 41,5 °C, k=0,01 min $^{-1}$, ce qui donne une viabilité cellulaire de 97% après 3 min d'échauffement. Quant à la courbe à 45 °C, k=0,03 et la viabilité cellulaire après 3 min d'échauffement est de 91%. Si nous comparons nos résultats avec ces valeurs extraites des données de Lepock, nous avons des viabilités clairement inférieures à aux leurs, malgré que dans notre cas la température atteinte au bout de 3 min représente la valeur maximale sur la durée de l'illumination (Fig. 3.29). La même comparaison peut être aussi faite pour 10 min d'illumination à 10 $\mu\mathrm{g/ml}$: la viabilité d'après Lepock est de 49,7%, alors que la nôtre est de 5% pour le laser fs et 34 % pour le laser cw. Ceci montre que l'effet photothermique des nanoparticules plasmoniques sur la mort cellulaire est beaucoup plus efficace que l'effet par échauffement thermique. Ceci est cohérent avec le résultats de la Réf. [137].

Intéressons-nous maintenant à l'efficacité des deux lasers sur la mort cellulaire. Si la seule cause de cette dernière était l'échauffement global de la solution, la viabilité cellulaire serait la même à la même concentration de AuNR@PVCL. Nos résultats montrent que l'ensemble des effets spécifiques qui peuvent être générés par les impulsions laser fs a un rôle important, comme la production de ROS, la génération de cavitation, l'effet d'hyperthermie très localisée plus importante. Une remarque importante sur le travail de Lepock est qu'il propose de décrire le taux d'inactivation grâce à la distribution de Boltzmann avec un paramètre noté S_c , défini comme l'énergie critique d'inactivation. Le taux d'inactivation en fonction de température se met sous la forme suivante :

$$k(T) = exp(-\frac{S_c}{RT}) \tag{3.4}$$

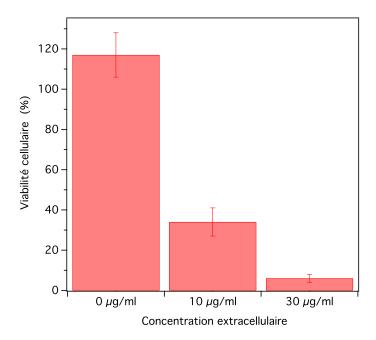


Fig. 3.37 – Viabilité cellulaire 48h après illumination par le laser cw pendant 10 min pour les cellules seules et des cellules en présence de 10 et 30 μ g/ml de AuNR@PVCL

où R est la constante universelle des gaz parfaits. L'effet des paramètres (k, T, t, viabilité) est très complexe. Ceci rendra délicat le choix de conditions d'illumination pour une étude plus fine que nous allons décrire dans la série d'expériences suivante.

f. Rôle du polymère thermosensible

Pour confirmer cet effet du laser et étudier le rôle du polymère thermosensible, nous répétons les mêmes expériences d'irradiation non seulement avec AuNR@PVCL, mais aussi avec des nanohybrides AuNR@PEG. En effet, le PEG (polyéthylène glycol) est connue pour son hydrophilie et sa biocompatibilité [140]; il n'a donc pas d'affinité avec les membranes cellulaires. Si les AuNR@PVCL atteignent leur température de transition et ensuite adhèrent aux membranes cellulaires par interaction hydrophobe, voire induisent une internalisation plus rapide dans les cellules, ils peuvent très probablement conduire à une mort cellulaire plus importante que les AuNR@PEG. Il faut néanmoins noter que cette expérience reste préliminaire, la viabilité cellulaire étant sensible à un très grand nombre de paramètres qu'il est impossible de contrôler individuellement. Cette grandeur macroscopique donne donc très difficilement accès à l'influence d'un effet microscopique qui peut être très faible et noyé parmi tous les autres effets.

En observant la Fig. 3.38, nous pouvons estimer intuitivement la condition correspondant à une meilleure sensibilité sur la viabilité cellulaire dans notre gamme de paramètres expérimentaux : $30~\mu \rm g/ml$ à 2 min d'illumination, ou encore de $20~\mu \rm g/ml$ à 3 min d'illumination (plus grande pente). Nous avons ensuite effectué le greffage de PVCL sur une partie, et sur l'autre le greffage de PEG (type 5000, thiolé) qui est très bien maîtrisé [141]. Les AuNR après greffage sont tous lavés avec le même protocole de lavage décrit dans la section § 3.2.2e. Les spectres d'absorption de AuNR@PVCL et AuNR@PEG après trois lavages sont présentés sur la Fig. 3.40. Nous pouvons voir qu'après le greffage de PVCL et de PEG, les bandes de LgSPR sont légèrement décalées en longueur d'onde, ce qui conduit à des absorbances différentes à la longueur d'onde d'illumination.

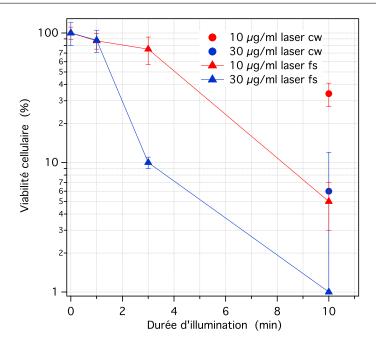


Fig. 3.38 – Bilan de viabilité cellulaire 48h après illumination par les deux laser à différentes conditions expérimentales. Points : laser cw, triangles : laser fs. Rouge : $10 \mu g/ml$, bleu : $30 \mu g/ml$.

Ceci induit une différence d'élévation de température qui est négligeable devant l'incertitude du thermostat ($\sim 2^{\circ}$ C) comme nous allons le voir plus tard.

Nous avons choisi cette fois-ci de fixer la durée d'illumination à 3 min. La puissance de sortie des deux lasers est encore de 500 mW. Les concentrations en AuNR@PVCL sont de 10, 20 et 30 $\mu g/ml$. La concentration en AuNR@PEG utilisée est de 30 $\mu g/ml$. Les résultats des expériences d'illumination par le laser fs et le laser cw sont présentés sur la Fig. 3.41. Aucune des conditions d'illumination étudiées ne montre d'effet sur la viabilité cellulaire. Par rapport aux expériences précédentes, deux choses ont cependant changé : le lot de AuNR et la température de la plaque au moment de l'illumination. En effet, pour cette expérience les plaques ne sont pas thermalisées à 37 °C avant illumination comme c'était le cas pour la Fig. 3.38. La température dans les puits n'est ici que de 25 °C juste avant illumination du premier puits de la plaque. Nous pouvons donc en déduire que la viabilité cellulaire est très sensible à la température globale. Cela nous amène, d'une part, à mesurer à partir de maintenant la température globale atteinte dans le puits pour définir plus rigoureusement les conditions d'illumination, et d'autre part à thermaliser les puits à 37 °C avant irradiation. En outre, les effets supplémentaires générés dans nos conditions expérimentales par le laser fs, évoqués dans le § 3.3.3e, ne suffisent visiblement pas à induire une mort cellulaire notable s'ils ne sont pas associés au phénomène d'hyperthermie qui fragilise probablement les cellules.

Pour cela, nous préparons à nouveau des solutions de AuNR@PVCL et de AuNR@PEG à 30 μ g/ml après trois lavages avec le milieu de culture afin d'en mesurer l'élévation de température. Les solutions avant lavage sont les mêmes que celles de l'expérience précédente. Les spectres de AuNR@PVCL et de AuNR@PEG après lavage sont présentés sur la Fig. 3.42. Le bruit sur les spectres est dû à la lampe du spectromètre. Les spectres sont légèrement élargis par rapport à ceux de la Fig. 3.40. Nous pouvons voir que le rapport des amplitudes du pic de LgSPR et de celui de TrSPR est différent d'une solution à l'autre. Ceci est dû à la différente distribution des forme de AuNR en solution après le lavage. A la même concentration massique en or, la distribution

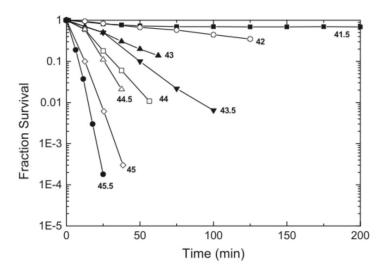


Fig. 3.39 – Résultats de Lepock, extraits de dans la Réf. [136] : viabilité cellulaire en fonction de la durée d'échauffement par voie thermique classique.

de forme influence l'absorption globale d'énergie lumineuse à 800 nm par la solution. Il est très difficile d'obtenir la même distribution après lavage à chaque fois, car le protocole de lavage n'est pas suffisamment standardisé pour cela. C'est aussi la raison pour laquelle nous mesurons l'élévation de température sous illumination laser pour valider les conditions d'illumination.

La durée d'illumination maximale est de 5 min. Nous augmentons la puissance du laser à 630 mW pour avoir une élévation de température plus conséquente aux temps courts. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.43. Les courbes pour AuNR@PEG et AuNR@PVCL se superposent bien. Pour une durée d'illumination inférieure ou égale à 3 min, l'élévation de température est presque la même. A 5 min, nous avons une différence de 1,2 °C entre AuNR@PEG et AuNR@PVCL. Cette différence est inférieure à l'incertitude sur la consigne du thermostat qui est de 2 °C. A 1,5 min, nous avons une élévation de température d'environ 7,5°C qui est la même que celle après 3 min d'illumination à 500 mW pour l'expérience dont les résultats sont reportés sur la Fig. 3.38. Après 3 min et 5 min d'illumination, l'élévation de température atteinte est de 12 °C et 16 °C, respectivement. Les résultats de viabilité cellulaire sont présentés sur la Fig. 3.44. La viabilité 48h après illumination par laser en présence des AuNR@PVCL suit quasiment la même tendance en fonction de la durée que celle observée sur la Fig. 3.38. L'effet lié à l'augmentation de température globale entre ces deux expériences n'est très probablement pas détectable avec notre expérience. En effet, les barres d'erreur sont très grandes pour les faibles durées d'illumination, avec lesquelles justement la différence sur la viabilité cellulaire peut être importante. Pour les durées plus longues, la viabilité étant faible, sa variation forcément petite, ce qui impose sa mesure très précise. Cela peut être la raison pour laquelle nous ne voyons plus la différence entre AuNR@PVCL illuminé par le laser fs et par le laser cw à 5 min. Pour la même raison, la comparaison entre AuNR@PEG et AuNR@PVCL reste non concluante.

En plus de la précision de mesure de la viabilité cellulaire, nous avons aussi rencontré un problème de répétabilité de l'expérience au cours du temps, qui est très probablement attribuable au vieillissement des solutions. A titre d'exemple, nous présentons sur la Fig. 3.45 la viabilité cellulaire pour une condition d'illumination choisie (30 μ g/ml, 3 min, laser fs), et ce dans le cas

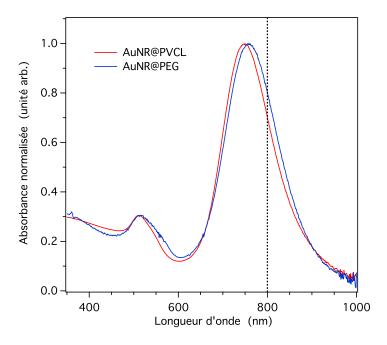
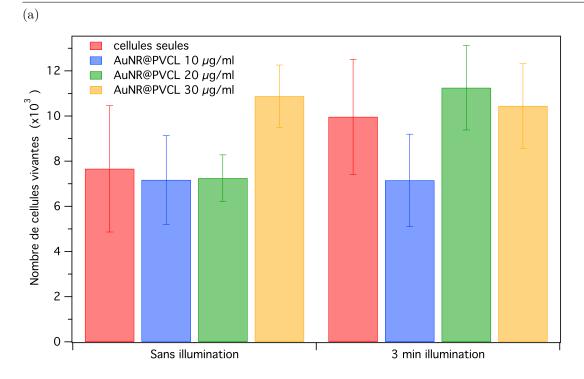


Fig. 3.40 – Spectres d'absorption de AuNR@PVCL et de AuNR@PEG après trois lavages. La droite verticale en pointillés désigne la longueur d'onde du laser.

de quatre échantillons distincts. Les solutions AuNR@PVCL1 et AuNR@PEG1 sont les mêmes que dans l'expérience précédente (AuNR@PVCL0 et AuNR@PEG0) mais utilisées 2 semaines plus tard. La solution désigné par AuNR@PEG2 représente la même solution que AuNR@PEG1 mais utilisée encore 2 semaines plus tard (donc 1 mois après le lavage initial). Nous pouvons noter une perte totale de l'efficacité des nanohybrides AuNR@PVCL pour induir la mort cellulaire deux semaines après le lavage. Une diminution de l'efficacité au cours du temps est aussi observée pour AuNR@PEG. L'élévation de température est évaluée après cette perte d'efficacité des AuNR@PVCL. Le résultat est présenté sur la Fig. 3.46. Nous avons un plus faible échauffement (+9 °C) à 3 min qu'avec la solution fraichement préparée (+12 °C, Fig. 3.43). Cependant, il reste supérieur à celui obtenu dans une solution de concentration 30 μ g/ml illuminée pendant 3 min par le laser fs avec une puissance moyenne de 500 mW (Fig. 3.38), qui est de 5.6 °C, et où nous avions mesuré une mort cellulaire importante. Les images de AuNR@PEG2, AuNR@PVCL1 et AuNR@PVCL2 sont présentées sur la Fig. 3.47. Sur les trois images, nous pouvons voir qu'une partie des nanohybrides est agglomérée, certainement avec des protéines du sérum n'ayant pas été éliminées par le lavage. Les AuNR@PEG sont moins "fixés" par les protéines du sérum que les AuNR@PVCL (Figs. 3.47(a) et (b)). Cette fixation par les protéines du sérum évolue dans le temps (Figs. 3.47(b) et (c)) Une hypothèse plausible est donc que le vieillissement correspond à la fixation de la plupart des AuNR@PVCL par les protéines du sérum (Fig. 3.47(b)); ceci pourrait expliquer pourquoi nous continuons à générer une élévation de température globale de la solution par illumination laser mais avec une efficacité nulle sur la destruction cellulaire. Ces résultats nous permettent de montrer que les effets microscopiques sont aussi importants que les effet macroscopiques. En effet, nous savons que l'élévation de température générée par effet photothermique n'est pas uniforme à petite échelle. La destruction cellulaire est donc certainement induite pour ces illuminations courtes par la proximité des cellules avec les points chauds que sont les NP. Cette proximité est rendue impossible par l'agglomération de ces dernières avec les protéines due au vieillissement des solutions. Au-delà, le piégeage de la plupart des NP dans ces



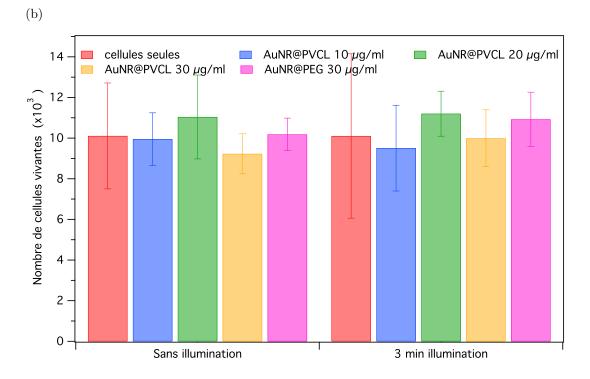


Fig. 3.41 – Nombre de cellules vivantes mesuré en fonction de la concentration en nanohrybrides avec une durée d'illumination de 3 min. (a) Laser fs. (b) Laser cw.

agglomérats supprime quasiment toute possibilité d'internalisation des NP dans les cellules, ce qui réduit certainement leur efficacité. A titre d'illustration, nous présentons sur la Fig. 3.48 la cartographie de la température calculée dans un échantillon virtuel de 100 AuNR dans l'eau sous irradiation continue. Nous pouvons voir que l'échauffement n'est pas homogène à petite échelle.

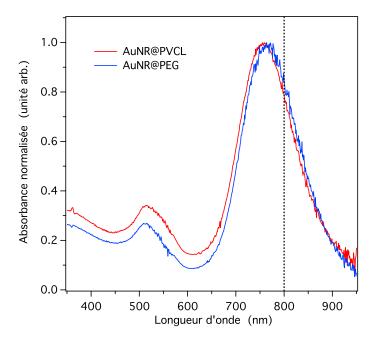


Fig. 3.42 – Spectres d'absorption des solutions de AuNR@PVCL (rouge) et de AuNR@PEG (bleu) après trois lavages. La droite verticale en pointillés désigne la longueur d'onde du laser. Les spectres d'absorption sont normalisés au maximum de la LgSPR.

Comme nous l'avons vu, l'expérience d'irradiation n'est pas une méthode adaptée pour étudier un effet précis mais plutôt une méthode pour une étude de l'ensemble des effets. Avec la faible répétabilité des mesures, les résultats présentés dans cette section restent non concluants. Pour avoir des résultats plus convaincants, il faudrait mettre en œuvre des investigations beaucoup plus poussées sur la caractérisation du greffage du polymère à la surface des NP, la transition des phase de AuNR@PVCL, l'accrochage des AuNR@PVCL sur le membrane cellulaire, etc.

3.4 Expériences in vivo avec nanohybrides de PVCL

En parallèle de l'expérience d'illumination in vitro, une série d'expériences in vivo a également été menée pour étudier la biodistribution des AuNR@PVCL dans différents organes ainsi que le recrutement post-illumination des AuNR@PVCL au niveau d'une tumeur. Cette série d'expériences a été réalisée pendant la même période que les expériences d'illumination in vitro. Les AuNR@PVCL proviennent de la même synthèse que les dernières expériences in vitro. Dans cette section, toutes les études sont faites avec des fragments de tumeur de cancer du sein triple négatif humain.

3.4.1 Etude de la transmittance du tissu tumoral avec le laser cw

Afin d'estimer la pénétration de l'énergie lumineuse en fonction de la profondeur du tissu tumoral et par la suite définir le protocole optique d'illumination, une expérience a été réalisée par Simona Laza de notre laboratoire et Philippe Ratajczak, chercheur à l'hôpital Saint-Louis. Ce dernier nous fournit le tissu tumoral, le découpe en tranche, et identifie la nécrose qui se présente éventuellement dans la tumeur. Celle-ci provient de la tumorothèque de l'Institut Universitaire d'Hématologie et la technique mise en œuvre est celle de la xenogreffe. Un fragment de tumeur est greffé sur une souris NMRI (Naval Medical Research Institute) "nude" c'est-à-dire, qui présente un

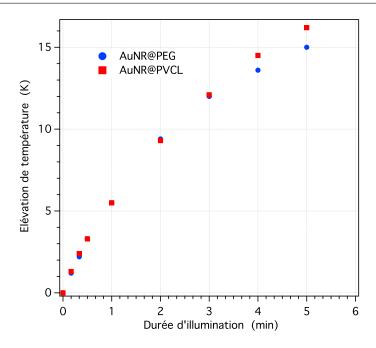


Fig. 3.43 – Elévation de température en fonction de la durée d'illumination par le laser f
s pour les solutions de AuNR@PVCL et AuNR@PEG à 30 μ g/ml. La puis
sance moyenne du laser est de 630 mW.

déficit immunitaire. Cette déficience se traduit par une absence de lymphocytes T; les lymphocytes B restent fonctionnels. Ces souris sont très utilsées pour la recherche sur modèle animal. La tumeur croît chez la souris jusqu'à atteindre un volume d'environ 1 cm³. La souris est ensuite euthanasiée, et l'ensemble de la tumeur avec la peau est récupéré pour les études ultérieures. L'épaisseur de la tumeur entière, mesurée avec un pied à coulisse digital, est de 1,15 cm. Un schéma en coupe de tumeur est représenté sur la Fig. 3.49(a). On définit différentes zones dans son épaisseur. Les zones 2 et 3 réunies désignent une partie de la tumeur pouvant présenter une nécrose hémorragique spontanée. L'échantillon est obtenu en coupant une tranche dans la tumeur. Il est placé sur une lamelle en verre de 150 μ m pour la mesure de transmittance. Une partie du tissu tumoral est en contact avec la lamelle. La source laser est placée de sorte que la lumière pénètre de la peau vers la tumeur. Une photographie du montage est présentée sur la Fig. 3.50. Le laser cw à 808 nm est utilisé pour l'illumination. Nous choisissons trois puissances laser incidentes différentes: 1,74, 1,20 et 0,56 W. La puissance transmise est mesurée avec le puissance-mètre sur lequel est posée la lamelle avec l'échantillon. La valeur moyenne de la transmittance est évaluée à partir des mesures avec les trois puissances distinctes. Nous commençons par la mesure de transmittance moyenne de la lamelle seule qui est de 94,2%. Nous divisons ensuite la valeur obtenue pour l'ensemble lamelle + échantillon pour obtenir la transmittance du tissu étudié. Une fois la transmittance déterminée, l'échantillon est découpé parallèlement à la lamelle de manière à ôter une zone de tissu. Nous mesurons alors les transmittances de la partie tumorale découpée et de son complément, noté par l'exposant ^C. Par exemple, le premier couple étudié est la zone 4 et son complément qui est constitué des zones 1, 2, 3 et de la peau, noté $(4,4^C)$. Pour les zones 2 et 3 qui présentent une nécrose dans le tissu, nous mesurons à la fois la transmittance au dessus de la nécrose et de la partie vivante. Les résultats sont présentés dans le Tab. 3.3 : Nous pouvons noter premièrement que la peau, épaisseur de 1,3 mm, ne transmet que moins de la moitié de l'énergie lumineuse. Les pertes lors de la propagation sont dues à la fois à la diffusion et à l'absorption de l'énergie lumineuse. En

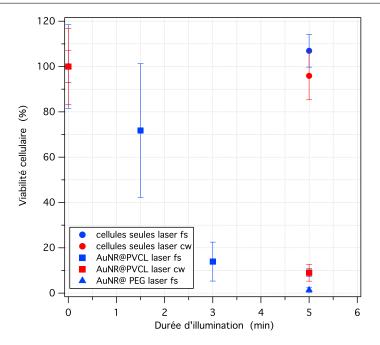


Fig. 3.44 – Viabilité cellulaire en fonction de la durée d'illumination. Bleu : laser fs. Rouge : laser cw. Points : cellules seules. Carrés : AuNR@PVCL. Triangles : AuNR@PEG.

Nom de la partie	Épaisseur (cm)	Transmittance (%)
\emptyset^C	1,15	2,79
4	0,25	16,91
4^C	0,80	4,15
3	0,23	Nec: 14,18
		Viv : 17,27
$(3\bigcup 4)^C$	0,57	8,72
2	0,17	Nec: 27,50
		Viv: 31,11
(1∪ peau)	0,4	15,52
1	0,27	18,78
peau	0,13	45,12

Tab. 3.3 – Transmittance des différentes parties de l'échantillon tumoral mesurée avec le laser continu à 808 nm. \emptyset^C désigne l'ensemble des tissus, \bigcup désigne l'union des parties. "Nec" et "Viv" indiquent les parties nécrosée et vivant, respectivement.

regardant les lignes colorées en rose pâle sur le Tab. 3.3, on constate que la transmittance diminue fortement lorsqu'on pénètre en profondeur dans les tissus, bien que nous soyons à une longueur d'onde a priori favorable [4]. La transmittance des nécroses est légèrement supérieure à celle des parties vivantes correspondantes. Cette différence reste négligeable dans le cas où l'ensemble de la tumeur est considéré. La transmittance du tissu tumoral est beaucoup plus faible que celle de la peau de même épaisseur. On peut remarquer également que la transmittance d'un ensemble de deux zones ne correspond pas au produit des transmittances des deux zones indépendantes. Ceci est dû à l'introduction d'interfaces avec l'air lors de la découpe de tissu entre chaque mesure. Un schéma résumant l'évolution de la transmittance optique avec la profondeur dans la tumeur est

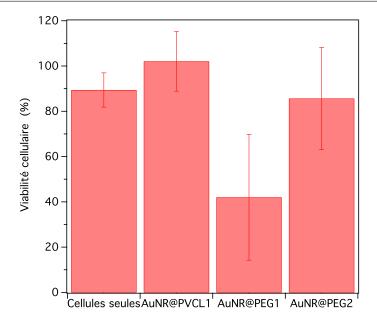


Fig. 3.45 – Viabilité cellulaire extraite pour des cellules, seules et des cellules en présence de 3 solutions de nanohybrides de concentration 30 μ g/ml, 48h après 3 min d'illumination par le laser fs.

présenté sur la Fig. 3.51. Afin d'avoir une perte minimum d'énergie lumineuse incidente dans la prochaine série d'expériences, nous avons choisi d'illuminer la tumeur en y pratiquant une incison cutanée superficielle permettant de s'affranchir de la barrière de la peau au niveau de la zone d'irradiation.

En conclusion, ces résultats nous permettant à l'avenir d'évaluer la quantité d'énergie lumineuse reçue par les nanoparticules selon leur position dans l'épaisseur des tissus tumoraux.

3.4.2 Expérience in vivo : méthodes

L'objectif de ces expériences est triple : (i) étudier la biodistribution des NP dans l'organisme, (ii) étudier le recrutement des AuNR@PVCL par la tumeur, induit par illumination par laser fs, et (iii) déterminer l'effet photothermique sur la tumeur irradiée. Pour cela, deux fragments de tumeur de cancer du sein triple négatif humain sont xénogreffés sur les deux épaules d'une souris "nude". L'une des tumeurs servira de contrôle. Lorsque les tumeurs se sont développées jusqu'à environ 1 cm de diamètre, la souris est amenée au laboratoire pour illumination 7 . Elle reçoit une injection intraveineuse de 2.5×10^{12} particules dans un volume de $100~\mu$ l, soit une quantité d'or de $285~\mu$ g. Ceci correspond à une dose de $9.5~\mu$ g/g (μ g en or par gramme d'animal), qui est dans la gamme de doses la plus couramment étudiée $(0.1-10~\mu$ g/g) [142]. La souris est ensuite anesthésiée avec $300~\mu$ l de kétamine/xylazine en intrapéritonéal. Elle est placée sur un tapis chauffant pour limiter les risque d'hypothermie. Une incision cutanée est réalisée au niveau de la tumeur gauche pour pouvoir l'externaliser en vue de l'illumination. Le temps passé entre l'injection et l'illumination est d'environ $25~\min$. C'est le temps nécessaire pour la préparation de la souris. Nous effectuons cette préparation dans un temps très court après l'injection pour avoir un maximum de AuNR@PVCL

^{7.} La manipulation des animaux est réalisée uniquement par nos partenaires de l'unité INSERM UMR_S1165, qui ont tous les diplômes en expérimentation animale requis. Le projet a reçu l'agrément du comité d'éthique de l'Université Paris Diderot.

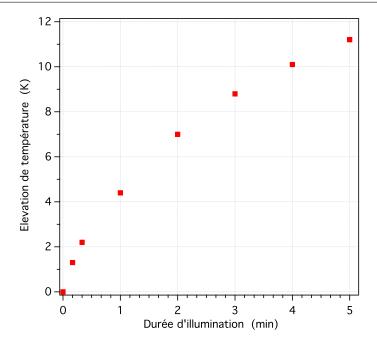


Fig. 3.46 – Elévation de température en fonction de la durée d'illumination par le laser fs à la puissance moyenne de 630 mW pour la solution de AuNR@PVCL de concentration 30 μ g/ml.

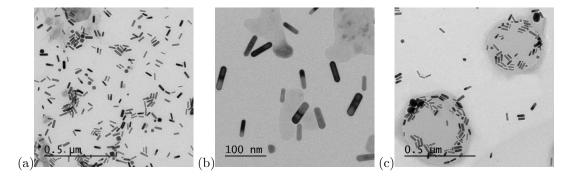


Fig. 3.47 – Image de MET des nanohybrides. (a) AuNR@PEG2 (b) AuNR@PVCL1 (c) AuNR@PVCL2.

en circulation vasculaire, qui pourrait être éventuellement recrutés grâce à l'illumination par laser de la tumeur. Une étude de Niidome, utilisant des nanohybrides AuNR@PEG, montre que 54% des AuNR@PEG administrés sont encore présents dans le sang 30 min après l'injection en intraveineuse chez les souris [143]. De plus, Kogan *et al.* ont constaté que la quantité de AuNR dans le sang diminue très peu entre 5 min et 1h après l'injection [18].

La tumeur externalisée est ensuite illuminée pendant 15 min avec le même montage que celui présenté sur la Fig. 3.27. Une photographie de l'expérience d'irradiation est présentée sur la Fig. 3.52. Les yeux de la souris sont protégés par un cache noir, et hydratés avec du sérum physiologique régulièrement. A la fin de l'illumination, la tumeur est repositionnée dans l'animal et la plaie est suturée par des points. L'animal est replacé dans sa boîte de transport sous lampe chauffante jusqu'à son réveil. Il est transporté jusqu'au laboratoire de nos partenaires à l'hôpital Saint-Louis. Il est alors euthanasié et disséqué 4h après l'illumination. Ce temps correspond au temps de transport de notre laboratoire à l'hôpital. Nous avons intérêt à ce que ce temps soit le plus court possible pour maximiser l'effet de recrutement des AuNR@PVCL dû à l'illumination, car ce recrutement

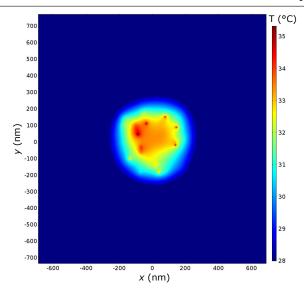


Fig. 3.48 – Cartographie de la température dans le plan x0y d'un échantillon virtuel de 100 AuNR de taille de 12.5×50 nm² orientés aléatoirement dans l'eau (cube de volume total $2 \times 2 \times 2$ μ m³) et irradiés par un laser continu à $\lambda_{laser} = 772$ nm. La figure montre le volume centrale de $400 \times 400 \times 400$ nm³ dans lequel se trouvent les AuNR. Simulation réalisée en résolvant les équations (1.45) (Chap. 1) en fixant la température aux bords du volume total à 20 °C avec une intensité égale à 4 kW cm⁻². Tous les NR reçoivent la même énergie.

est potentiellement réversible. L'ensemble des organes est récupéré selon les protocoles en vigueur au laboratoire "Cancer et transplantation" (UMR_S1165). Les échantillons sont alors soit inclus en paraffine (pour la microscopie en champ sombre), soit congelés à -80 °C, soit préparés pour la microscopie électronique. Par ailleurs, le sang, une partie des tumeurs et des principaux organes sont pesés et congelés à -80 °C pour d'éventuelles analyses en spectrométrie de masse. La tumeur illuminée (gauche) est identifiée par de la pâte à tatouer du côté irradié par le laser. Elle est ensuite coupée de façon transversale de manière à avoir sur un même plan de coupe une partie supérieure et une partie plus profonde (Fig. 3.53).

3.4.3 Résultats

Les organes en coupe sont colorées par l'hématoxyline éosine safran (HES) ⁸. Une autre série de coupes est également préparée pour la microscopie en champ sombre. Une analyse quantitative sur la biodistribution des AuNR dans les organes est effectuée avec la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS). L'ICP-MS une technique qui permet de détecter et quantifier les métaux ou plusieurs non-métaux présents à des concentrations très faibles dans un échantillon en ionisant ce dernier avec une torche à plasma. Les ions du plasma résultant sont extraits vers

^{8. «}La coloration HES est une coloration trichromatique. L'hématoxyline est un colorant cationique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement (anioniques ou acides). Il colore notamment les noyaux en bleu/violet, en se fixant sur les acides nucléiques. L'éosine est un colorant anionique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement (cationiques ou basiques). Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose ou rouge selon leur acidophilie. Le safran colore en jaune les fibres de collagènes des tissus conjonctifs. Étant une grosse molécule, il pénètre très peu dans les structures plus denses. La coloration HES est la coloration la plus couramment utilisée en histologie. C'est une coloration topographique qui permet une vue d'ensemble de la morphologie et de la structure cellulaire d'un tissu. Elle est très utilisée par les pathologistes pour faire du diagnostic médical sur des biopsies dans le cadre d'études en oncologie par exemple.» D'après la Réf. [145].

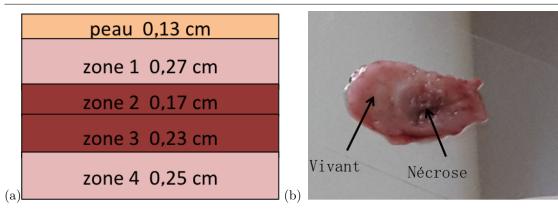


Fig. 3.49 – (a) Schéma en coupe d'une tumeur avec les différentes zones étudiées et leur épaisseur. (b) Image des zones 2 et 3 présentant une nécrose hémorragique spontanée dans le tissu tumoral.

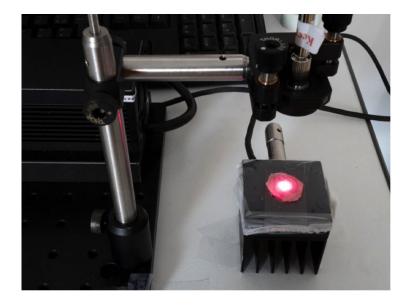


Fig. 3.50 – Image du montage optique utilisé pour la mesure de la transmittance des tissus tumoraux.

le spectromètre de masse et séparés en fonction de leur rapport masse sur charge. Le détecteur reçoit un signal proportionnel à la concentration en ions. Dans notre cas, cette technique permet de quantifier la concentration en or dans les tissus. Pour comparaison, les analyses sont aussi effectuées avec une souris dans la circulation de laquelle est injectée la même quantité de AuNR@PVCL, euthanasiée et disséquée 72h après injection. Les résultats sont présentés sur la Fig. 3.54. Nous pouvons constater que les AuNR@PVCL s'accumulent principalement dans le foie et la rate. La quantité en d'or dans les deux organes augmente avec le temps post-injection. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec des AuNR@PEG [143,146]. Les photos colorées en microscopie en champ clair ne révèlent aucune lésion viscérale pour les organes étudiés. Un complément visuel à la biodistribution obtenue par ICP-MS est apporté par les images de microscopie en champ sombre. La topographie de l'accumulation des AuNR@PVCL est déterminée grâce à la lumière diffusée par les AuNR. On retrouve les NP dans les cellules du foie et de la rate ainsi que dans la lumière des vaisseaux de ces tissus. En ce qui concerne les autres organes, il n'y a pas ou peu d'accumulation, qui n'est éventuellement observée que dans la lumière des vaisseaux.

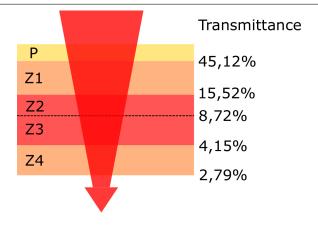


Fig. 3.51 – Transmittance optique cumulée en fonction de la profondeur dans la tumeur.



Fig. 3.52 – Photographie de l'expérience d'illumination laser d'une tumeur xénogreffée sur une souris. Cette dernière est anesthésiée et repose sur un tapis chauffant. Le faisceau laser provient du haut. On peut voir à gauche la caméra thermique infrarouge.

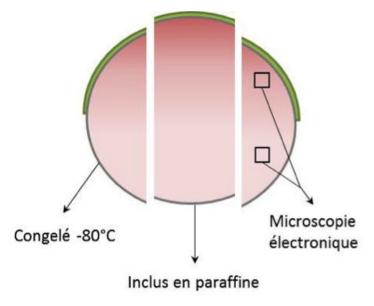
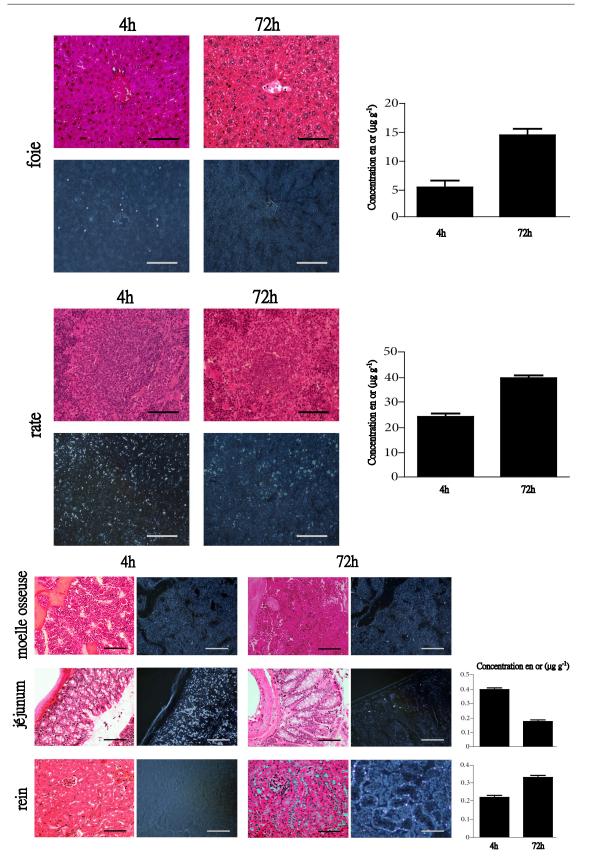


Fig. 3.53 – Schéma de récupération de différentes parties de la tumeur illuminée. D'après [144].



 $Fig. \ 3.54 - Images \ de \ coupes \ histologiques \ colorées \ par \ HES \ en \ microscopie \ en \ champ \ clair \ et \ en \ champ \ sombre, \ avec \ la \ biodistribution \ en \ or \ associée \ mesurée \ par \ ICP-MS.$

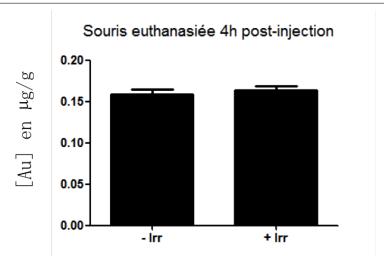


Fig. 3.55 – Quantité d'or dans les tumeurs sans (à gauche) et avec (à droite) illumination, mesurée 4h après l'injection des nanohybrides.

L'analyse du recrutement des AuNR@PVCL au niveau de la tumeur avec et sans illumination est effectuée par ICP-MS. Le résultat est présenté sur la Fig. 3.55. Il n'y a pas d'effet notable de l'illumination sur le recrutement de AuNR@PVCL par la tumeur. Ceci peut être dû au temps trop long entre la fin de l'illumination et l'euthanasie. En effet, un délai trop long peut annuler le recrutement des NP qui est a priori réversible. Dans les travaux reportés dans la Réf. [115], ce problème potentiel est supprimé par un délai très court entre les deux étapes. En outre, la pharmacocinétique des nanohybrides dépend fortement de la nature du polymère greffé [18,74,115]. Il est donc possible que la majorité des AuNR@PVCL dans la circulation sanguine générale de l'animal soient éliminés vers le foie et la rate avant même le début de l'irradiation. Nou pouvons d'ailleurs remarquer que la quantité de AuNR@PVCL accumulée dans la tumeur est très faible comparée à celle dans les autres organes, en particulier le foie et la rate. Selon la fonctionnalisation de surface et la taille des AuNP, la biodistribution à un temps donnée post-illumination peut être différente [17,143]. La pénétration des nanoparticules dans la tumeur dépend aussi fortement de la taille, la forme et la charge de surface des particules utilisées [147-151]. Enfin, l'absence de recrutement dans la tumeur peut aussi être imputé au vieillissement des solutions décrit plus haut. La formation d'agglomérats avec les protéines du sérum empêche certainement le franchissement de la paroi endothéliale par les NP dans la tumeur (inhibition de l'effet EPR, cf. chap. 1). Malheureusement, l'observation des effets vieillissement par MET (Fig. 3.47) a été réalisée après ces expériences d'irradiation in vivo. Il est donc clairement nécessaire d'optimiser l'accumulation de nanohybrides sur la tumeur pour améliorer le recrutement photo-induit. Ceci nous amène à proposer pour des expériences futures une modification du protocole : réduire le délai entre injection et illumination, et remplacer l'injection intraveineuse par une injection intratumorale. De plus, ce résultat semble cohérent avec les résultats de spectroscopie (mesure de la transition de phase des nanohybrides) et ceux des expériences in vitro. L'absence de ciblage significatif peut être simplement due à la faible quantité et/ou à la petite longueur des chaînes de polymère greffées, à cause desquelles nous n'avons pas une transition de phase des nanohybrides notable. Ceci a déjà été démontré dans d'autres études sur la Jeffamine et le pNIPAM [63, 152]. La densité de greffage peut aussi avoir une influence sur la stabilité de la solution lors de l'élimination du CTAB. Ceci peut expliquer le vieillissement de la solution dans le milieu de culture (nanohybrides agglomérés

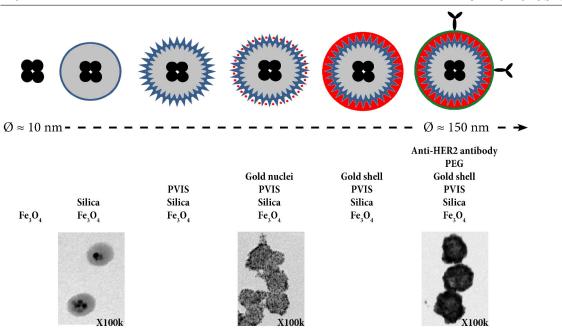


Fig. 3.56 – Schéma des étapes de synthèse des Anti-HER2 AuNP avec images de MET correspondantes. D'après [153].

avec des protéines du sérum à cause de la faible densité de greffage que nous avons discuté plus haut).

Enfin, l'analyse des images en microscopie des tumeurs (non présentées ici) montre une vaste plage de nécroses hémorragiques spontanées et des agrégats de NP sur ces plages de nécrose. Pourtant, cette nécrose ne peut pas être attribuée à l'effet photothermique : ce dernier induit une nécrose tissulaire différée, alors que dans notre expérience le délai entre l'illumination et l'euthanasie est trop court pour l'observer. Pour pouvoir observer une nécrose induite par photothermie, il faudrait séparer les expériences pour l'étude du recrutement des NP de celles pour l'analyse des dommages de l'irradiation.

3.5 Traitement du cancer du sein surexprimant HER2 par des nanocoquilles sous illumination laser

Dans le cadre de notre collaboration avec des médecins de l'hôpital Saint-Louis, nous avons aussi effectué une série d'expériences d'illumination in vitro et in vivo avec un autre type de nanoparticules plasmoniques. Les lignées cellulaires utilisées sont MDA-MB-231 et BT474-R, correspondant respectivement aux cellules de cancer du sein triple négatif et du cancer du sein surexprimant l'antigène HER2 résistant au trastuzumab ⁹. Les nanohybrides étudiés sont des nanocoquilles d'or fonctionnalisées avec un anticorps anti-HER2 (anti-HER2 AuNP, pour "gold nanoparticles"). Le ciblage des cellules tumorales est donc basé sur la vectorisation moléculaire. Les anti-HER2 AuNP sont préparées par T. Nunes, doctorant au laboratoire Cancer et transplantation UMR_S1165 de l'hôpital Saint-Louis, et T. Pons, chercheur à l'ESPCI. Un schéma de la synthèse des anti-HER2 AuNP est présenté sur la Fig. 3.56. Les AuNP possèdent un cœur en Fe₃O₄/SiO₂

^{9.} Le Trastuzumab est un médicament pour traiter le cancer du sein surexprimant l'antigène HER2, mais ici la lignée cancéreuse utilisée est résistante au traitement.

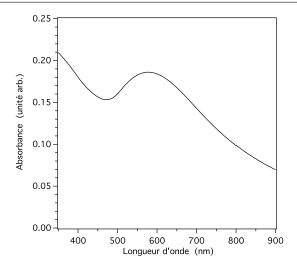


Fig. 3.57 – Spectre d'absorption d'une solution de anti-HER2 AuNP.

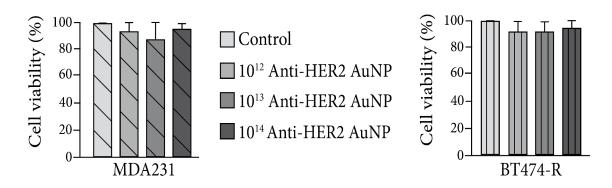


Fig. 3.58 – Viabilité cellulaire de cellules BT474-R et MDA-MB-231 incubées avec différentes doses de nanocoquilles anti-HER2 AuNP. D'après [153].

permettant d'avoir un signal en imagerie par résonance magnétique (IRM) afin d'obtenir des informations sur la biodistribution des AuNP sans tuer l'animal. Cet aspect ne sera pas discuté dans cette thèse. Ce cœur est ensuite fonctionnalisé avec le poly-(vinylimidazole-co-silane) (PVIS) pour piéger des petits noyaux d'or sur la surface de silice. L'or peut alors croître à partir de ces noyaux d'or liés à la surface pour produire une coquille d'or continue autour des particules initiales. Enfin, les coquilles sont greffées tout d'abord par du PEG, puis conjuguées par les anticorps polyclonaux anti-HER2 humanisés de lapin. Le spectre d'absorption d'une solution de anti-HER2 AuNP dans PBS est présenté sur la Fig. 3.57. Ces AuNP hybrides de type cœur-coquille possèdent une bande d'absorption très large entre les domaines visible et proche IR.

3.5.1 Cytotoxicité

Pour évaluer la cytotoxicité des nanoparticules, le test MTT est effectué avec les deux lignées cellulaires, BT474-R et MDA-MB-231. Les cellules sont incubées pendant 24h avec un nombre de nanocoquilles croissant dans le puits $(10^{12}, 10^{13} \text{ et } 10^{14} \text{ nanocoquilles})$. Le nombre de réplicats est de 3. Les cellules sans traitement sont utilisées comme contrôle positif, et le milieu contenant des nanocoquilles sans cellules est utilisé comme contrôle négatif. La viabilité cellulaire en présence de nanocoquilles pour les deux lignées cellulaires est reportée sur la Fig. 3.58. Ces résultats montrent

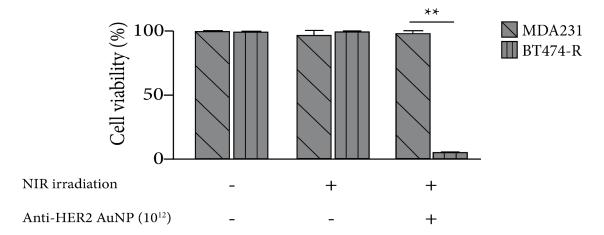


Fig. 3.59 – Viabilité cellulaire de cellules BT474R et MDA-MB-231 incubées avec anti-HER2 AuNP ou solution véhicule (NaCl à 0.9%) après illumination par laser fs (** p < 0.01). D'après [153].

clairement que les nanocoquilles seules n'induisent pas de mort cellulaire pour les deux lignées testées.

3.5.2 Effet photothermique

Une série d'expériences d'illumination par laser est effectuée en utilisant les cellules BT474-R et MDA-MB-231 avec un protocole différent sur la préparation des plaques à illuminer. Les nanocoquilles sont vectorisées par l'anticorps pour les cellules BT474-R mais pas pour MDA-MB-231. L'illumination par laser n'induit ic que l'effet photothermique (voire d'autres effets délétère directement originaires de l'or), alors que dans le cas des AuNR@PVCL, l'illumination était aussi censée favoriser le ciblage cellulaire. Donc, au lieu d'illuminer les cellules sans incubation, les cellules sont maintenant incubées avec 10¹² nanocoquilles pendant 2h. Afin d'obtenir des informations sur l'effet du ciblage vectorisé, les cellules sont lavées après incubation ce qui permet d'éliminer les NP encore en suspension dans le milieu. Les plaques sont ensuite illuminées par le laser fs avec le même protocole que celui décrit dans la section précédente avec une puissance de 650 mW pendant 5 min. La viabilité cellulaire est ensuite déterminée par le comptage cellulaire. Le résultat est présenté sur la Fig. 3.59. Comme nous l'avons vu dans la section précédente, en l'absence de nanoparticule, l'illumination par laser fs n'induit pas de mort cellulaire. Une forte destruction de cellules a lieu dans le cas de BT474-R après incubation en présence de NP et illumination. Ceci montre que les nanocoquilles vectorisées se sont fixées sur les cellules pendant l'incubation avant irradiation. Les cellules sont détruites par l'effet photothermique des nanocoquilles. En revanche, la viabilité cellulaire de MDA-MB-231 est de 100% après illumination. En effet, les cellules MDA-MB-231 ne sur-expriment pas le récepteur HER2, et les nanocoquilles ne peuvent pas donc se fixer sur les cellules. Elles sont ensuite retirées lors du lavage après incubation. Par conséquent, il n'y aucun effet de l'illumination pour les cellules MDA-MB-231.

Pour étudier l'effet thérapeutique, cinq souris xénogreffées sont préparées. Sur chaque souris sont greffés deux fragments de tumeur du cancer de sein surexprimant HER2 résistant au trastuzumab, sur les deux épaules. La tumeur gauche est illuminée à chaque traitement, tandis que la tumeur droite est utilisée comme contrôle. Chaque souris reçoit une injection intraveineuse de 200 μ l de solution contenant 5×10^{12} nanocoquilles par semaine, 72h avant l'illumination. Les souris sont

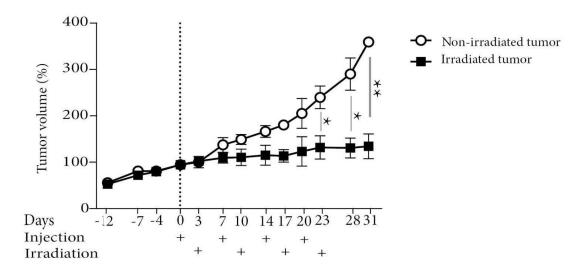


Fig. 3.60 – Évolution de tumeur avec et sans illumination (* p < 0.05, ** p < 0.01). D'après [153].

anesthésiées juste avant l'illumination. Celle-ci dure 30 min. Le volume des tumeurs est mesuré deux fois par semaine aux jours d'injection et d'illumination avec un pied à coulisse digital. Le traitement est répété pendant quatre semaines. L'évolution du volume de tumeur en fontion du nombre de jours est présentée sur la Fig. 3.60. Après un mois de traitement, nous observons une inhibition de la croissance des tumeurs. Le volume des tumeurs non traitées est trois fois plus important que celui des tumeur traitées. L'effet thérapeutique est donc très clairement démontré. Ces résultats encourageants, obtenus grâce à une vectorisation moléculaire des NP, nous incitent à améliorer les nanohybrides avec polymère thermosensible afin de rendre leur transition de phase suffisamment franche pour induire un ciblage cellulaire efficace.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté le travail effectué en collaboration avec différents laboratoires. Les nanohybrides utilisés sont des AuNR@Jeffamine et AuNR@PVCL. La température de transition de la Jeffamine est ajustée en changeant la rapport en masse M600/M1000. Celle du PVCL est ajusté via la masse molaire moyenne du polymère. Dans le but d'une application biomédicale, la température de transition devrait être choisie autour de 40 °C. Le rapport M600/M1000 correspondant à cette gamme de température se situe entre 3/1 et 1/1. Pour PVCL, la gamme de masse molaire moyenne adaptée est de 20000 à 30000 g/mol. Pour déterminer la température de transition des nanohybrides, nous avons étudié des AuNR@Jeffamine avec des rapports de 1/1, 2/1 et 3/1. L'évolution du spectre d'absorption en fonction de la température a été mesurée pour les trois rapports de Jeffamine en utilisant d'abord une source thermique classique. Un changement de spectre irréversible a été observé pour les rapports 2/1 et 3/1. Ceci prouve que le greffage a bien eu lieu, car en l'absence de polymère le changement de spectre n'est pas observé. Cependant, cet effet irréversible est dû au collage des nanohybrides sur les parois et pas à une aggrégation dans la solution. En modifiant les conditions pour éviter ce dépôt de AuNR, nous avons observé un effet partiellement réversible sur le spectre d'absorption. La contribution de l'échauffement de l'eau est réversible, mais celle de la fusion partielle des AuNRs due à la diffusion d'atomes à la surface est irréversible. Ces mesures spectroscopiques ne révèlent pas de décalage de la LgSPR vers le rouge en raison de la petite longueur de chaine et/ou de la faible densité de polymère greffé sur les AuNR, qui ne permet pas d'induire un changement d'indice significatif. L'effet prédominant est le changement d'indice de l'eau lors de l'augmentation de température. Les mêmes résultats ont été observés en utilisant le laser cw.

La cytotoxcité a ensuite été mesurée pour les AuNR@Jeffamine et les AuNR@PVCL avec le test MTT. Les solutions des deux nanohybrides sont très cytotoxiques à cause de la grande quantité de CTAB qu'elles contiennent. En pratiquant un lavage, nous pouvons diminuer cette cytotoxicité. Cependant le lavage avec de l'eau induit une déstabilisation des solutions pour les deux types de nanohybrides. C'est pour cela qu'un protocole de lavage avec le milieu de culture complet a été mise en place. Les AuNR@PVCL restent alors stables après trois lavages, contrairement aux AuNR@Jeffamine.

Les études in vitro et in vivo ont été réaliséses avec les AuNR@PVCL après lavage. Nous avons vérifié qu'à l'intensité incidente moyenne identique, et pour la même concentration de nanohyrbrides, l'élévation de température globale est la même avec le laser fs et le laser cw. En comparant les résultats de nos expériences d'illumination avec le travaille de Lepock [136], nous avons mis en évidence une meilleure efficacité avec un laser qu'avec une source thermique classique pour la destruction cellulaire. Ceci peut être attribué à l'inhomogénéité de l'échauffement dans le cas de l'irradiation laser : même si l'élévation de la température globale de l'échantillon est la même, la conversion photothermique avec laser induit des points chauds centrés sur les NP, donc proche des cellules. En outre, à la même concentration de nanohybrides, la même durée d'illumination et la même intensité incidente pour les deux types de lasers, nous avons une meilleure efficacité avec le laser fs qu'avec le laser cw. Ceci peut être expliqué par une élévation de température plus importante dans les AuNR et dans leur proche voisinage (la topographie de l'échauffement dépendant de la durée d'illumination, avec une forte localisation autour des NP dans le cas d'impulsions ultracourtes). De plus, d'autres phénomènes générés par de telles impulsions peuvent être impliqués également dans l'accroissement de la mort cellulaire : cavitation et production de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). Ces résulats nécessiterait des expériences supplémentaires pour être affinés.

Afin de révéler le possible rôle du polymère thermosensible dans la mort cellulaire, nous avons réalisé des expériences avec des nanohybrides AuNR@PEG et AuNR@PVCL. S'il n'y pas de différence observée sur la cytotoxicté, nous ne notons pas non plus de meilleure efficacité en destruction cellulaire par l'effet photothermique avec les nanohybrides thermosensibles. Pire, nous observons une perte de l'efficacité des AuNR@PVCL au cours du temps après le lavage. Ceci peut être dû au vieillissement de la solution par agglomération des AuNP@PVCL avec les protéines du sérum.

Nous avons aussi effectué des expériences avec des souris greffée par des tumeurs de cancer du sein triple négatif. Les analyses sur les coupes des organes montrent une accumulation préférentielle des nanohybrides dans le foie et la rate. Les études préliminaires sur le recrutement des AuNR@PVCL ne révèlent pas de différence sur la quantité de AuNR dans les tumeurs illuminées et les tumeurs non illuminées. Ce résultat semble prouver que la transition de phase n'est pas suffisamment marquée pour induire une hydrophobie efficace pour le ciblage, confirmant les résultats de l'étude in vitro. Cependant, il n'est pas exclu que notre protocole pour l'étude du recrutement soit également en cause : en raison de la réversibilité de la transition, le temps de transport trop long entre notre laboratoire et l'hôpital Saint-Louis peut conduire à la disparition du

ciblage avant l'analyse. Ce protocole est encore à améliorer. Enfin, un autre type de nanohybride a aussi été utilisé en vue d'un traitement thérapeutique du cancer de sein surexprimant HER2 résistant au trastuzumab. Les nanohybrides utilisés sont des nanocoquilles avec un cœur en Fe_3O_4 et silice. Des grains d'or sont déposés autour de ce cœur grâce au greffage de PVIS à sa surface. Une couche d'or est ensuite formée par la croissance des grains d'or. Les nanocoquilles sont ensuite vectorisées avec l'anticorps Anti-HER2. Les tests MTT révèlent l'absence de toxicité des nanocoquilles et une destruction cellulaire remarquable avec l'illumination par laser fs. L'étude in vivo avec des traitement répétés démontre une inhibition efficace de la croissance de la tumeur.

Nos études spectroscopiques sur l'agrégation en solution et les expériences in vitro et in vivo sur le ciblage cellulaire ne révèlent aucun effet notable lié à la transition de phase des AuNR@PVCL. Ceci nous amène à réfléchir à la qualité du greffage. Cette absence d'effet des polymères thermosensibles est très probablement due à la faible densité de greffage. La déstabilisation des solutions après un lavage à l'eau et l'agglomération des nanohybrides avec les protéines du sérum, plus rapide qu'avec les AuNR@PEG (tous ces polymères étant hydrophiles à froid), sont cohérentes avec cette hypothèse. Nous devrons caractériser la densité de greffage des AuNR@PVCL et des AuNR@PEG pour confirmer ce lien avec la déstabilisation de la solution. Ceci est un travail en amont important pour comprendre et éviter le vieillissement de la solution qui peut avoir une forte influence sur les études in vitro et in vivo. Sans incision cutanée, nous pouvons effectuer des irradiation plus longues (15 min avec incision, 30 min sans incision) qui permettraient d'augmenter la probabilité d'internalisation des nanohybrides dans les cellules tumorales induite par l'effet photothermique. Ainsi, les nanohybrides seraient certainement plus difficiles à éliminer après illumination. En comparant avec le protocole utilisé pour le traitement de tumeurs avec les nanocoquilles, il serait également intéressant d'essayer un traitement répété avec nos nanohybrides. Avec un traitement répété, nous pouvons augmenter la quantité d'accumulation de nanohybrides internalisés afin d'obtenir une différence suffisante entre tumeur irradiée et tumeur non irradiée. Avec cette possible amélioration de la quantité de nanohyrbides dans la tumeur, l'effet de traitement par photothermie pourra également devenir plus notable.

Chapitre 4

Photoluminescence des nanoparticules d'or : étude bibliographique et modélisation

Sommaire

4.1 Rev	rue des études sur la photoluminescence de nano-objets	
plasmoniques		
4.1.1	Photoluminescence à 1 photon	
4.1.2	Synthèse des résultats sur la 1PPL	
4.1.3	Photoluminescence multiphotonique	
4.1.4	Absorption multiphotonique séquentielle	
4.1.5	Diffusion inélastique de la lumière	
4.1.6	Rayonnement thermique	
4.1.7	Synthèse des résultats sur la MPPL	
4.2 Un modèle en régime de haute intensité d'excitation 138		
4.3 Résultat de simulation numérique		
4.3.1	Spectre de photoluminescence d'un AuNR	
4.3.2	Étude de l'ordre de non-linéarité $\dots \dots \dots$	

Introduction

Nous avons présenté dans le chapitre précédent une application des AuNP basée sur l'effet photothermique. Dans ce chapitre, nous nous intéressons à un autre phénomène intéressant généré par laser dans des NP plasmoniques, la photoluminescence. Le travail reporté dans ce chapitre est un premier pas pour étudier ce phénomène dont l'orgine précise est encore controversée dans la communauté de la plasmonique. Pour simplifier le langage, dans la suite de ce chapitre nous appellerons photoluminescence à 1 photon (1PPL, pour 1-photon photoluminescence) le phénomène réalisé lorsque l'énergie des photons émis est inférieure à celle des photons excitateurs, et photoluminescence multiphotonique (MPPL) pour lorsque l'énergie des photons émis est supérieure à celle des photons excitateurs. En 1969, Mooradian observa la photoluminescence de l'or, du

cuivre et de leurs alliages sur des échantillons massifs [154]. Il expliqua cette émission de lumière large bande par la recombinaison radiative des électrons de la bande de conduction sp proche du niveau de Fermi et des trous créés dans la bande d. Plus tard, la MPPL fut observée comme un fond large bande de la génération de second harmonique sur l'argent massif rugueux [155]. L'effet d'exaltation par la surface rugueuse attira l'attention de Boyd et al. qui étudièrent les spectres de 1PPL et de MPPL obtenus avec des métaux nobles présentant soit une surface lisse, soit une surface rugueuse [156]. La 1PPL d'un film lisse fut expliquée par le mécanisme proposé ci-dessus [154]. Selon la longueur d'onde d'excitation, certaines signatures spectrales de 1PPL d'un film rugueux furent attribuées à l'effet de la résonance de plasmon localisé. Contrairement à la surface rugueuse, la MPPL n'est pas détectée avec la surface lisse. Les chercheurs supposèrent que la MPPL est émise principalement par les rugosités possédant une résonance de plasmon localisé accordée à l'énergie des photons en excitation. En outre, cette émission est ensuite exaltée par la SPR de ces rugosité. La PL fut plus tard observée avec des agrégats métalliques [157], puis avec des AuNR [19].

Depuis ces vingt dernières années, beaucoup d'études sur la PL des nano-objets plasmoniques ont été menées. Il y a une grande hétérogénéité des résultats non seulement en terme de spectre d'émission mais aussi concernant la durée de vie de la photoluminescence, qui varie de moins de 50 fs à la ns [20,158]. Cependant, la plupart des résultats montrent une durée de vie de l'ordre de la ps, qui est liée à la dynamique de thermalisation des électrons chauds [21,88,159–162]. Un ordre de non-linéarité de PL de 2 à 4 est observé expérimentalement [86, 159–161, 163–165]. Cet ordre de nonlinéarité est souvent expliqué par le mécanisme d'absorption multiphotonique [159–161]. Récemment, des études ont mis en évidence un ordre de non-linéarité non entier pour la MPPL [87,162,166]. Huang et al. ont expliqué cette non-linéarité de MPPL par la diffusion inélastique de la lumière par des paires électron-trou [162], alors que Haug et al. ont proposé un mécanisme de rayonnement thermique des électrons chauds de type "corps noir" [87]. Quelle que soit l'origine du phénomène, il est certain que la dynamique des électrons chauds joue un rôle important dans la photoluminescence. En particulier, la nature athermale de la distribution électronique peut avoir une influence notable sur les caractéristiques de la PL, au même titre que sur celles de la section efficace d'absorption comme démontré dans le chapitre 2 de cette thèse. Dans ce chapitre, nous allons tout d'abord présenter un travail de bibliographie sur la photoluminescence. Nous verrons que les mécanismes invoqués pour interpréter les résultats obtenus par diverses équipes dépendant de manière complexe des paramètres expérimentaux. Ensuite, nous proposons un modèle prenant en compte la nature athermale de la distribution des électrons chauds pour étudier la nonlinéarité du spectre d'émission. Enfin, nous présentons quelques résultats préliminaires de simulation basée sur ce modèle.

4.1 Revue des études sur la photoluminescence de nanoobjets plasmoniques

Les spectres de photoluminescence obtenus par différents groupes sont très difficiles à comparer en raison des différences entre les échantillons étudiés (différentes λ_{SPR}) et des différentes caractéristiques des lasers utilisés : longueur d'onde d'excitation (λ_{laser}), durée et énergie des impulsions. Selon l'intervalle entre λ_{SPR} et λ_{laser} , certaines structures ne peuvent pas être observées à cause de la bande spectrale de détection et du filtrage spectrale de la lumière excitatrice. Le pic que l'on associe à un mode plasmon est souvent observé dans le cas de la 1PL [21,158,163,167–172] car il est facile d'exciter les échantillons avec une λ_{laser} (si $h\nu_{laser} > h\nu_{ib}$)

assez loin de λ_{SPR} . En revanche, à cause de la réponse non linéaire en intensité incidente, la MPPL nécessite souvent une excitation impulsionelle et accordée à la SPR. La MPPL des structures plasmoniques est donc plus difficile à étudier. Des nombreux spectres de PL très différents reportés dans la littérature, la caractéristique cohérente qui s'en dégage est la linéarité de la réponse en intensité incidente pour la bande spectrale de longueur d'onde plus grande que λ_{laser} , et la non-linéarité de la réponse en intensité incidente pour la bande spectrale de longueur d'onde plus petite que λ_{laser} . Nous allons donc synthétiser ces résultats selon la bande spectrale de PL considérée par rapport à λ_{laser} , conduisant donc soit à la 1PPL, soit à la MPPL. Quelques travaux des années 2000, beaucoup cités par les articles plus récents, seront sélectionnés afin de découvrir les mécanismes proposés. Dans un deuxième temps, un résumé basé sur des articles récents sera présenté.

4.1.1 Photoluminescence à 1 photon

- Mohamed et al. [19] ont réalisé la première expérience de 1PL avec des AuNR de RA variant entre 2,0 et 5,4, correspondant à une λ_{LgSPR} variant entre 600 et 800 nm. La longueur d'onde d'excitation est fixée à 480 nm qui peut à la fois exciter le plasmon transverse des nanobâtonnets et induire une transition interbande. Le spectre de 1PL acquis s'étend entre 500 et 750 nm. Le pic d'émission est localisé dans la bande de 548 à 590 nm. La longueur d'onde correspondant à l'intensité d'émission maximale, λ_{em} , augmente avec le RA. En raison d'un grand décalage de λ_{em} vers le bleu par rapport à λ_{LgSPR} pour tous les RA étudiés, l'attribution de l'émission à la relaxation radiative directe des plasmons est éliminée. Les auteurs expliquent cette dépendance de λ_{em} en RA des AuNR par l'exaltation de la PL de l'or intrinsèque (recombinaison d'électrons de la bande sp et de trous de la bande d) à la fréquence d'excitation et d'émission, comme pour le SERS (surface enhanced Raman scattering, diffusion Raman exalté par la surface). Leur hypothèse permet d'interpréter l'augmentation du rendement quantique de PL et de λ_{em} avec l'augmentation de RA, mais leur calcul ne reproduit pas du tout correctement la valeur de λ_{em} pour les différents RA.
- Hwang et al. [21] ont étudié la PL avec des AuNS de taille d'environ 25 nm. Les spectres d'émission sont tous similaires au spectre d'absorption des AuNS, et ce pour deux longueurs d'onde d'excitation différentes, 514,5 nm et 457,9 nm. La dynamique d'émission est mesurée avec la technique d'up-conversion ultrarapide de fluorescence avec une excitation à 400 nm. Le temps de relaxation de l'émission est similaire au temps de thermalisation des électrons qui est de l'ordre de la picoseconde. Ce temps de relaxation augmente lorsque l'intensité en excitation augmente. Les auteurs ont proposé d'expliquer la 1PL par la conversion de l'énergie lumineuse provenant de l'interaction entre le plasmon de surface des AuNS et le photon incident et non par la recombinaison des électrons de la bande sp et des trous de la bande d comme précédemment. En effet, selon eux cette recombinaison est gouvernée par la dynamique des trous d qui est différente de celle des électrons en raison des courbes de dispersion différentes des bandes d et sp, et des masses effectives différentes des deux espèces de porteurs de charge.
- Varnavski et al. [158] ont publié une étude sur la dynamique de l'émission de 1PPL réalisée avec la même technique que précédemment à quelques mois d'intervalle, en utilisant des AuNS de même taille moyenne (~ 25 nm) et des AuNR de deux RA différents (2,7 et 1,8), excités aussi à 400 nm. Pour toutes ces nanoparticules, ils ont déterminé une émission plus rapide que la réponse de l'instrument de mesure. En outre, cette dynamique ultrarapide ne dépend pas de la longueur d'onde en émission dans la limite de la résolution temporelle de leur instrument. Un temps de relaxation d'émission inférieur à 50 fs est estimé avec une procédure de déconvolution. Ce temps

de relaxation est du même ordre de grandeur que la durée de vie des trous d estimée pour le cas du cuivre à 20-30 fs [173,174], et que l'on suppose similaire dans le cas de l'or. Ces auteurs ont aussi observé dans la dynamique une composante de durée de vie longue ($\gg 3$ ps). L'origine de cette composante reste obscure. Ils ont par ailleurs noté la dépendance linéaire de l'intensité d'émission en intensité d'excitation. La même dynamique est observée sous excitation UV à 267 nm. Cette émission ultrarapide est dépolarisée pour les deux longueurs d'onde d'excitation. En normalisant l'intensité du pic d'émission à 530 nm par le nombre de photons absorbés, les auteurs de l'étude ont montré que cette intensité normalisée est indépendante de la longueur d'onde d'excitation. Tout cela conduit les chercheurs à attribuer la photoluminescence à la recombinaison des électrons sp et des trous d avec une exaltation de la lumière incidente et de la lumière émise par les modes plasmons, tout comme Mohamed et al. deux ans auparavant [19]. Le calcul du facteur d'exaltation montre un bon accord avec le même facteur extrait des résultats expérimentaux.

Ainsi, nous avons d'ores et déjà vu deux résultats complètement différents obtenus avec la même technique, la même énergie de photon d'excitation et les mêmes objets plasmoniques, conduisant à proposer deux mécanismes très différents pour expliquer la 1PPL. Notons que les informations reportées dans ces duex publications ne nous permettent pas de comparer les fluences incidentes. Ce paramètre revêt pourtant une importance notable puisqu'il régit certainement le poids relatif des différents mécanismes pouvant contribuer à la PL.

- Beversluis et al. [163], en suivant Boyd et al. [156], ont séparé les deux phénomènes régissant les propriétés optiques de nano-objets d'or : (i) transitions électroniques gouvernées par la densité d'états électronique jointe qui dépend de l'énergie des photons d'excitation, et (ii) couplage optique (couplage entre le champs proche et le mode photonique) régi par l'exaltation liée aux modes SPR spécifiques à chaque échantillon. Ils ont alors mené une étude sur la PL. Pour la 1PPL, ils ont étudié l'émission infrarouge (entre 800 et 1000 nm) avec une excitation à 780 nm avec un laser fs et un laser cw. Ils ont également observé une émission visible que nous détaillerons dans la partie consacrée à la MPPL. Excitant un film d'or rugueux avec le laser fs et cw, ainsi que des AuNS et une pointe en or avec le laser fs, une émission infrarouge est observée dans tous les cas. Cette émission n'est pas observée pour un film d'or lisse. L'émission de PL par la pointe montre une polarisation le long de l'axe de la pointe. Les auteurs attribuent cette 1PPL infrarouge à une transition intrabande (car $h\nu_{laser} < h\nu_{ib}$) suivie d'une recombinaison intrabande. Tout comme pour une absorption intrabande, cette recombinaison intrabande est impossible à l'ordre dipolaire électrique car (i) les états électroniques initial et final ont la même symétrie ; (ii) ces états sont séparés en vecteur d'onde et donc la recombinaision ne peut pas être médiée par la seule émission d'un photon. Cependant, la composante évanescente du champ proche de la nanostructure métalique possède un vecteur d'onde suffisamment large pour accommoder la transition entre les deux états dans l'espace réciproque et induire une recombinaison intrabande. La forte polarisation de la 1PPL infrarouge émise par la pointe en d'or montre que cette émission infrarouge est aussi couplée par la relaxation radiative de plasmon de surface localisé. Cette étude présente un aspect complémentaire par rapport aux études précédentes. Ce mécanisme de relaxation intrabande sera reprise plus tard dans le cas de l'analyse de la MPPL (section \S 4.1.3).
- Dulkeith et al. [167] ont étudié des AuNS de taille variant entre 1 nm et 30 nm. Ils ont utilisé des impulsions de 120 fs à 375 nm (3,3 eV). Ils observent une bonne superposition du pic d'émission et du pic d'absorption dans le spectre, et ce pour toutes les tailles de AuNS étudiées. En particulier, le pic de PL suit le même décalage vers le rouge que la bande de SPR lors de l'augmentation de la taille des AuNS. Les auteurs en déduisent que la PL ne peut pas simplement

provenir de la recombinaison des électrons sp et des trous d issus des transitions interbandes générées par l'absorption des photons excitateurs [19,158]. En même temps, ils n'observent pas de décalage du pic de PL lors d'un changement de longueur d'onde d'excitation. Ils en concluent que le pic de PL est associé à la SPR. En intégrant le spectre de PL, ils montrent que l'intensité de PL dépend linéairement de l'intensité en excitation; de plus, elle est proportionnelle au volume des AuNS, fait attribué à la proportionnalité de la section efficace d'absorption au volume. Pour toutes les AuNS de diamètre supérieur à 1 nm, le rendement quantique de PL est le même, de l'ordre de 10^{-6} , soit quatre ordres de grandeur supérieur à celui d'un film d'or lisse (10^{-10}) . Cette grande valeur de rendement quantique ne peut pas être expliquée par le seul facteur d'exaltation lié au plasmon. En effet, lorsque la longueur d'onde d'excitation n'est pas accordée à la SPR, ce facteur vaut ~ 10 lorsque la longueur d'onde d'émission est proche de λ_{SPR} . De plus, le facteur d'exaltation décroît avec l'augmentation de la taille des AuNS (pour des NP plus grande que ~ 10 nm), ce qui ne peut donc pas expliquer l'indépendence du rendement quantique en taille de NP. Les auteurs ont alors proposé un mécanisme en trois étapes : (i) création d'un trou d par transition interbande entre la bande d et la bande de conduction, (ii) relaxation non radiative du trou d en émettant un plasmon [175–177], (iii) relaxation radiative (ou non radiative) du plasmon [178]. L'efficacité de PL peut être donc exprimée comme le produit des efficacités de chaque étape. Selon le modèle proposé par les auteurs, lorsque la taille des NP varie, la modification de l'efficacité d'émission de plasmon par un trou d, proportionnelle à l'inverse du volume des AuNS [176, 177], est compensée par celle de l'efficacité de relaxation radiative du plasmon, proportionnelle au volume des AuNS. Ceci explique l'indépendance de l'efficacité de PL vis-à-vis de la taille des AuNS.

Nous avons synthétisé quelques articles antérieurs à 2008 parmi ceux les plus cités sur la 1PPL. Nous avons vu que les deux mécanismes proposés [19,167] pour la 1PPL visible peuvent expliquer partiellement les résultats expérimentaux. Les résultats obtenus avec la même technique, la même énergie de photon d'excitation et les mêmes échantillons peuvent être très différents. Ceci engendre une difficulté supplémentaire à comprendre la physique impliquée dans le phénomène de 1PPL. Nous allons maintenant présenter un résumé d'articles plus récents, de ces dix dernières années, afin d'aller plus loin dans l'analyse de cette physique.

• Le groupe de S. Link a mené une analyse systématique de la polarisation, du rendement quantique, de l'amortissement, et de l'effet des électrons chauds sur la 1PPL des AuNR, que nous allons présenter dans la suite de cette section [168, 169, 171, 172]. Tcherniak et al. [168] ont étudié la 1PPL et son application pour sonder la dynamique translationnelle et rotationnelle de AuNR. Ils ont utilisé deux longueurs d'onde d'excitation, l'une à 514 nm, l'autre à 633 nm, correspondant à l'excitation des TrSPR et LgSPR, respectivement, de AuNR individuels sélectionnés dans une solution colloïdale. Avant d'étudier la polarisation de la 1PPL, ils ont observé le même pic dans le spectre de 1PPL pour les deux longueurs d'onde d'excitation, qui de plus se superpose bien au pic observé dans le spectre de diffusion. En effectuant la mesure avec des AuNR dans l'air ou dans l'eau, la superposition des deux pics ne change pas. La linéarité de l'intensité d'émission avec l'intensité d'excitation est aussi vérifiée. Lorsque la 1PPL est obtenue avec une excitation à 514 nm, un petit pic autour de 520 nm est aussi observé. La position exacte de ce pic ne peut pas être déterminée à cause du filtrage de la lumière excitatrice. Les auteurs ont attribué ce petit pic à la SPR transverse. En analysant ensuite la polarisation de la lumière au pic du spectre de 1PPL, ils ont observé qu'avec une excitation à 514 nm la polarisation du pic qui se superpose au mode LgSPR est toujours parallèle au grand axe des AuNR quelle que soit la polarisation de l'excitation. Ceci contraste avec le cas de la 1PPL obtenue avec une excitation à 633 nm, dont la polarisation au pic est collinéaire avec celle en excitation. Quant au pic à plus petite longueur d'onde, il est faiblement polarisé. Ces résultats sont cohérents avec le mécanisme proposé par Dulkeith et al. [167]. L'émission de plasmon par paire électron-trou explique bien la polarisation du pic de 1PL à λ_{LgSPR} indépendamment de la polarisation en excitation à 513 nm. Le plasmon longtudinal est la voie de relaxation radiative dominante.

- Fang et al. [169] ont présenté une étude du rendement quantique de 1PL de AuNR en fonction de leur RA. La longueur d'onde de la lumière excitatrice est de 532 nm avec une polarisation circulaire. La forme du spectre de 1PL est proche de cele du spectre de diffusion indépendamment du RA. Ces résultats sont similaires à ceux de Tcherniak et al. présentés plus haut [168]. Pour exclure que les transitions interbandes soient la cause de la PL, les chercheurs ont alors modifié la longueurd'onde d'excitation à 785 nm (1.58 eV). Cette énergie de photon ne permet pas d'induire une transition interbande. Le spectre de 1PPL obtenu est encore similaire à celui de diffusion malgré qu'une partie du pic de PL est coupé par le filtrage de la lumière d'excitation. La PL est polarisée le long du grand axe des AuNR. De plus, il y a toujours un petit mais reproductible décalage vers le bleu de la PL par rapport au spectre de diffusion, indépendamment du RA. Ce décalage augmente avec l'intensité du laser, mais l'effet de fusion partielle des NR est exclu par la mesure du spectre de diffusion avant et après la mesure de PL. L'influence du changement d'indice de réfraction dû à l'effet thermique est aussi très peu probable, car l'augmentation de température des AuNR estimée est inférieure à 10 K; le décalage spectral est trop important pour être expliqué par ce faible échauffement [179] s'il est dû à l'or. L'effet thermique du substrat (silice), quant à lui, tend plutôt à s'opposer au décalage vers le bleu à cause de l'augmentation d'indice avec la température [180]. Le même phénomène de décalage est aussi observé avec une excitation à 532 nm. Une explication possible avancée par les auteurs est que le décalage vers le bleu du spectre de PL est dû à une augmentation de la densité d'électrons effective suite à l'interaction des porteurs chauds photo-créés avec l'environnement direct des NP qui peut provoquer un décalage LgSPR vers le bleu [181]. En analysant la dépendance du rendement quantique vis-à-vis de la différence d'énergie entre l'absorption et l'émission, ΔE . Lors des expériences à $\lambda_{laser} = 532$ nm, Fang et ses collègues ont constaté que ce rendement quantique diminue lorsque ΔE augmente. Ils ont expliqué ce phénomène par la diminution du couplage entre la paire d'électron-trou et le plasmon longitudinal, gouverné par le taux de relaxation non radiative de la paire électron-trou. C'est un phénomène similaire à celui observé en fluorescence de molécules. Dans ce dernier cas, la probabilité de relaxation non radiative de la transition initiale diminue exponentiellement quand ΔE augmente [182].
- A la même période, Yorulmaz et al. [170] ont aussi publié une étude du rendement quantique de PL de AuNR uniques de différents RA et volumes. La gamme de RA varie de 1,0 à (sphère) à ~ 3.5 , correspondant à une gamme de λ_{LgSPR} de 530 à 780 nm. Les AuNR sont excités par la lumière polarisée circulairement à 476 nm. Le rendement quantique est calculé pour 150 AuNR. Les auteurs montrent une augmentation significative du rendement quantique pour des particules dont le plasmon longitudinal varie de 530 à 650 nm. Pour des AuNR avec $\lambda_{LgSPR} > 650$ nm, ils n'observent plus de changement significatif du rendement quantique avec la variation du RA. L'augmentation du rendement quantique est expliquée par la diminution du l'amortissement de plasmon lorsque celui-ci varie de 530 nm à 650 nm, dû au découplage progressif avec les transitions interbandes [178]. Par ailleurs, afin d'étudier l'influence du volume des AuNR sur le rendement quantique de PL, les chercheurs ont sélectionné des particules d'énergie de plasmon similaire mais avec différents volumes. Ils n'ont pas observé de dépendance significative du rendement quantique

en volume de AuNR. Le rendement quantique de PL de AuNR ayant le même volume mais des RA différents est aussi étudié. Cette mesure est réalisée grâce à la fusion partielle de AuNR. Cette fusion partielle est réalisée en plusieurs étapes, de sorte que le RA diminue petit à petit. A la fin de chaque étape, la PL est mesurée. En calculant le rendement quantique à chaque étape, Yorulmaz et ses collègues ont confirmé le phénomène observé : le rendement quantique ne change pas de manière significative lorsque le plasmon se déplace de 720 nm à 640 nm, mais il diminue jusqu'à un facteur 6 lorsqu'il atteint 540 nm. Ils ont aussi corrélé le spectre de PL et le spectre de diffusion pour des AuNR de RA différents, ou avec un changement de milieu environnant. Une bonne superposition des deux spectres est toujours observée pour les RA les plus élevés. Pour des AuNR de faible RA, le spectre de PL est plus large et décalé vers le bleu par rapport au spectre de diffusion. Les auteurs ont analysé par ailleurs la polarisation de la PL. Ils ont trouvé que l'onde émise au pic de PL correspondant à la LgSPR est polarisée le long du grand axe des AuNR, alors que la PL autour de 550 nm est dépolarisée (ou faiblement polarisée). Cette dernière caractéristique est attribuée à la recombinaison interbande et l'émission de plasmon transverse. Si nous comparons ces résultats avec ceux de Fang et al. [169] discuté plus haut, les conculsions sur la corrélation entre le pic du spectre de PL et celui du spectre de diffusion d'une part, et les polarisations des ondes émises aux pics correspondant à la LgSPR et à la TrSPR d'autre part, sont cohérentes. Cependant, en ce qui concerne le rendement quantique, ces deux équipes trouvent une dépendance en RA complètement différente et l'expliquent pourtant par le même mécanisme [167].

- Sakat et al. [183] ont mené une étude de PL résolue en temps avec des réseaux 2D de AuNR lithographiés. La dynamique de PL est étudiée à la fois pour la 1PPL et MPPL. Ici nous présenterons les résultats de 1PPL, ceux de MPPL seront présentés par la suite. Deux réseaux de AuNR sont utilisés, présentant des λ_{LgSPR} de 630 et 800 nm, respectivement. Pour la 1PPL, la longueur d'onde d'excitation est de 470 nm. La PL d'un film d'or est aussi mesurée pour comparaison. Les réseaux de AuNR à la résonance plasmonique présentent une PL plus intense que celle du film d'or. Pour le film d'or où le pic principal de PL est autour de 500 nm comme dans l'or massif, le spectre de 1PPL, enregistré en fonction du temps, présente une durée de vie très courte. Toute la 1PPL est détectée en quelques ps après l'excitation. Pour le réseau de AuNR, la 1PPL intégrée spectralement, pour une fluence d'excitation relativement faible, montre une réponse transitoire rapide, limitée par la résolution temporelle de la caméra de détection. La limite supérieure estimée du temps de relaxation est de \sim 500 fs. Les auteurs ont montré avec la composante MPPL que cette durée de vie augmente avec la puissance du laser, possiblement jusqu'à la picoseconde. Notons que ce résultat est compatible avec l'influence de l'intensité observée sur la dynamique du gaz d'électrons chauds (voir la discussion plus loin et la Réf [21]).
- Cai et al. [171] ont démontré récemment que la PL de AuNR peut être vue comme la recombinaison de porteurs chauds amplifiée par effet Purcell. Par principe, l'effet Purcell décrit l'accroissement du taux d'émission d'un émetteur dipolaire couplé à une cavité photonique lorsque leurs énergies de résonance sont proches [184]. Pour appliquer ce concept, ils ont considéré les porteurs chauds comme des émetteurs et les modes plasmoniques des NP comme cavités résonantes [185]. La SPR détermine la densité d'états photonique (PDOS), qui représente le nombre d'états électromagnétiques par unité de volume, moyenné sur toute la NP, accessibles pour l'émission d'un photon [186]. Cette vision est en accord avec les deux mécanismes proposés précédemment [19,167], à savoir que le plasmon de surface localisé augmente l'émission de PL. Cinq longueurs d'onde sont utilisées en excitation : 405, 408, 532, 633 et 785 nm, la dernière correspondant à une énergie de photon sous le seuil interbande. Les AuNR utilisées ont une λ_{LqSPR} variant entre 693 et 933 nm.

Les spectres de PL des AuNR présentent un pic principal similaire à celui de la LgSPR [169]. Dans leur modèle de simulation, Cai et ses collègues ont modélisé la densité d'états électronique (EDOS) avec le schéma simplifié proposé par Lin et al. [56]. Le seuil de transition interbande est fixé à 1,7 eV. Les éléments de matrice de la transition sont supposés ne dépendre que de l'énergie, l'énergie de la transition étant supposée égale à l'énergie du photon incident. La distribution de porteurs chauds est déterminée par l'EDOS et les éléments de matrice de la transition. Elle ne suit pas une loi de Fermi-Dirac. L'évolution temporelle des porteurs chauds est négligée dans ce modèle. La PDOS est ensuite calculée avec la BEM [49]. L'intensité de PL est donc finalement évaluée avec la distribution de porteurs chauds et les éléments de matrice de la transition, et pondérée par la PDOS dans la gamme d'énergie d'émission d'intérêt.

Le spectre de PL calculé reproduit alors bien les résultats expérimentaux. Le pic de PL proche de l'énergie de photon d'excitation supérieure au seuil interbande est attribué à la réémission directe de la transition interbande (cas de $\lambda_{laser}=488,\,532$ et 633 nm, 405 nm étant en dehors de la zone de détection). La position et la forme des pics latéraux sont déterminées par les spécificités de la distribution des porteurs chauds. Dans le cas d'une excitation au-dessus du seuil interbande, cette émission directe est renforcée par la grande EDOS de la bande d. Ce modèle combine les émissions provenant des recombinaisons interbande et intrabande (médiée par la relaxation d'un trou d ou pas) qui est ensuite renforcée par le plasmon de surface, ici à travers la PDOS. Pour une excitation à 785 nm, l'émission via une transition interbande est impossible. Les chercheurs ont donc attribué la 1PPL excitée à 785 nm à la relaxation radiative au sein de la bande de conduction, telle que proposée par Beversluis et et~al.~[163]. D'après leur simulation, la PDOS du plasmon transverse est tellement petite qu'elle n'influence pas le spectre de PL. Ceci peut expliquer la dépolarisation du pic de PL à petite longueur d'onde [168-170].

Le rendement quantique est ensuite étudié pour les cinq longueurs d'onde d'excitation. Le rendement quantique à $\lambda_{laser}=785$ nm est le plus faible. Ceci est expliqué par la suppression de la voie de relaxation après transition interbande. Mais cette conclusion est un peu trop rapide, car la suppression de relaxation interbande élimine aussi la voie de relaxation non radiative interbande. Or, vu l'ordre de grandeur du rendement quantique de PL de l'or massif ($\sim 10^{-10}$), la relaxation interbande non radiative est non seulement loin d'être négligeable devant la relaxation interbande radiative, mais elle est même plus importante. Le taux de relaxation interbande radiative est luimême plus grand que le taux de relaxation intrabande à cause de la conservation du moment déjà évoquée plus haut [163]. Pour les AuNR avec des énergies de LgSPR et de pic de PL inférieures au seuil interbande, le grand rendement quantique observé pour une excitation interbande suggère que la majorité des trous chauds créés par les transitions interbandes transfèrent leur énergie aux électrons de la bande de conduction (processus Auger¹) [187] car le taux de relaxation interbande radiative est très faible devant le taux de relaxation non radiative. Les rendements quantiques pour une excitation à 405, 448 et 532 nm sont similaires mais ils sont inférieurs à celui pour une excitation à 633 nm. Cette augmentation du rendement quantique lorsque la différence d'énergie entre l'absorption et l'émission diminue est expliquée par l'augmentation du taux de transfert d'énergie, de manière similaire à ce que Fang et al. reportaient dans la Réf. [169] comme décrit plus haut. La physique inhérente à ce modèle est aussi cohérente avec les résultats expérimentaux sur la durée de vie de PL présentant une composante rapide (recombinaison interbande) et une composante longue (relaxation du plasmon) [21, 158].

^{1.} Le processus Auger désigne la relaxation d'un trou dans la bande d, créé par excitation interbande, l'énergie libérée permettant ensuite l'excitation d'un électron au sein de la bande sp.

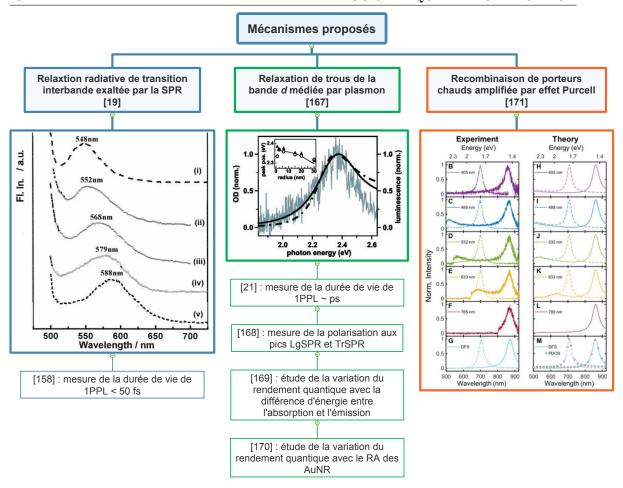


Fig. 4.1 – Carte heuristique synthétisant les résultats de la sélection d'articles sur la 1PPL.

4.1.2 Synthèse des résultats sur la 1PPL

Les résultats de 1PPL que nous venons de décrire présentent tous un spectre de PL similaire à celui du spectre de diffusion ou d'exctinction des nanoparticules plasmoniques. Les trois mécanismes proposés ont tous révélé la corrélation entre la PL et la SPR. Une carte heuristique synthétisant les mesures principales des articles revus précédemment, selon le mécanisme, est présentée sur la Fig. 4.1. Le premier mécanisme explique la 1PPL par la relaxation radiative d'une excitation interbande, exaltée par la SPR [19]. D'après ce mécanisme, la dynamique de la 1PPL est gouvernée par la durée de vie des trous dans la bande d, qui est de l'ordre de quelques dizaines de fs. Ce mécanisme est cohérent avec la mesure de la durée de vie de PL inférieure à 50 fs [158]. Le deuxième mécanisme propose d'expliquer la 1PPL par la relaxation de trous de la bande d en émettant un plasmon qui relaxe ensuite de manière radiative ou non radiative [167]. Ce mécanisme est cohérent avec la mesure de la durée vie de 1PPL de l'ordre de la ps [21]. Ce désaccord sur la durée de vie mesurée est très probalement dû à la différence d'intensité incidente utilisée. Les études de différents groupes sur la polarisation de la 1PPL d'un AuNR sont cohérentes [168, 170]. Le pic du spectre d'émission correspondant à la LgSPR est polarisé parallèment au grand axe du AuNR, alors que le pic du spectre d'émission correspondant à la TrSPR est dépolarisé ou faiblement polarisé [168, 170]. Ceci est en accord avec le deuxième mécanisme. Deux études sur la variation du rendement quantique sont présentées [169,170]. Les auteurs expliquent tous leurs résultats par le deuxième des mécanismes proposés; cependant, la tendance observée sur la variation du rendement quantique avec le RA est opposée dans ces deux études. Le troisième mécanisme

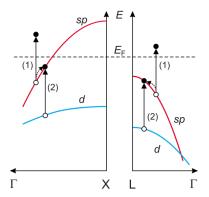


Fig. 4.2 – Mécanisme d'absorption à 2 photons selon Imura et al. et Biagioni et al. [20,159] : (1) un premier photon induit une transition intrabande $(sp \to sp)$; (2) un deuxième photon induit une transition interbande $(d \to sp)$ en recombinant le trou créé précédemment dans la bande sp avec l'électron excité.

regroupe les différents types de relaxation, ce qui fait qu'il est cohérent avec l'ensemble des résultats expérimentaux [171]. La corrélation entre la 1PPL et la SPR est expliquée par la modulation de la lumière émise par la PDOS [171]. Avec cet analyse des articles, nous pouvons déduire que l'intensité incidente joue un rôle important sur le phénomène observé qui peut être mieux décrit par l'un ou l'autre des deux premiers mécanismes.

4.1.3 Photoluminescence multiphotonique

Les résultats expérimentaux de MPPL sont encore plus hétérogènes que ceux concernant la 1PPL. Dans cette section, nous allons regrouper les articles par type de mécanisme proposé pour expliquer la non-linéarité de PL.

4.1.4 Absorption multiphotonique séquentielle

La première approche consiste à expliquer la non-linéarité observée par un processus d'absorption multiphotonique. Une non-linéarité d'ordre 2 était déjà présentée dans l'article de Beversluis et al. [163], qu'il attribuèrent à l'absorption à 2 photons, sans plus préciser son mécanisme. Plus tard, Imura et al. [20] proposèrent un mécanisme d'absorption à 2 photons séquentielle, repris par Biagioni et al. [159] et schématisé sur la Fig. 4.2. Notons que ce schéma ne représente pas la nécessaire intervention d'une autre particule pour que l'état final de la première transition (1) soit bien situé sur la bande sp (transition intrabande : assistée par collision). Ce modèle explique la 2PPL de la manière suivante : un électron de la bande sp dont l'énergie est inférieure à l'énergie de Fermi est excité vers un état au-dessus du niveau de Fermi en absorbant un photon. C'est la transition intrabande induite par un premier photon (Fig. 4.2(1)). Ensuite, un électron de la bande d est excité par un deuxième photon vers la bande de conduction, et il se recombine avec le trou créé précédemment (Fig. 4.2(2)). Enfin, le trou créé dans la bande d se recombine radiadivement avec l'électron excité initialement.

ullet Dans l'article de Imura et al. les auteurs ont observé deux pics principaux sur le spectre de PL, l'un autour de 550 nm et l'autre autour de 650 nm, qui sont attribués aux transitions interbandes aux points L et X de la première zone Brillouin de l'or. Pourtant, en analysant la variation de l'intensité de PL (bande spectrale entre 450 et 650 nm avec une excitation à 800 nm)

avec l'orientation de la polarisation incidente, une dépendance en $\cos^2\theta$ (θ : angle entre le grand axe du AuNR et la polarisation incidente) est observée. En parallèle, une dépendance en $\cos^4\theta$ est observée pour le signal de génération de second harmonique (SHG) des AuNR. Imura et ses collègues ont expliqué ce résultat pour la PL par l'absorption de deux photons successifs. En effet, une dépendance en $(\cos^2\theta)^n$ (où n est un entier) de l'intensité de PL vis-à-vis de la polarisation incidente nous fournit directement l'ordre n de la non-linéarité de la PL. En effet, l'énergie absorbée par un AuNR d'orientation θ fixée est proportionnelle à $\cos^2\theta$. Notons que l'ordre de la non-linéarité n=2 ne permet pas de différencier la 2PPL de la SHG. C. Molinaro et al. ont démontré une 2PPL avec un AuNR unique, son intensité variant en $(\cos^2\theta)^2$ [108]. Les résultats d'Imura et al. montrent une réponse linéaire (n=1) de la PL visible avec une excitation dans le proche infrarouge. Le mécanisme proposé par Imura et al. ne permet donc pas d'expliquer leurs résultats.

- Biagioni et al. ont repris ce modèle. Ils ont étudié l'influence de la durée d'impulsion sur le rendement de 2PPL en fixant l'énergie total par impulsion. L'échantillon étudié est un réseau de nanofils d'or (AuNW). La longueur d'onde d'excitation est 800 nm. La durée d'impulsion, au_p , varie entre 40 fs et 5 ps. Le taux de comptage de 2PPL, C_{2PPL} , en fonction de la puissance moyenne incidente, P_0 , est ajusté avec la loi quadratique : $C_{2PPL} = \beta P_0^2$. La valeur de β est donc le rendement de 2PPL. Les chercheurs ont mis en évidence que lorsque $\tau_p < 1$ ps β ne dépend pas de τ_p de manière significative, tandis que pour $\tau_p > 1$ ps, β décroît avec l'augmentation de τ_p . Pour expliquer cette tendance, ils ont calculé la densité de trous dans la bande d en se basant sur le mécanisme présenté sur la Fig. 4.2, établissant deux équations de taux pour les densités de trous des bandes sp et d, respectivement. La valeur de C_{2PPL} est proportionnelle à la densité de trous dans la bande d, et à P_0^2 . En comparant τ_p avec le temps de relaxation de la paire électron-trou de la bande sp, τ_{sp} , différentes approximations peuvent être faites. Lorsque $\tau_{sp}\gg \tau_p$, β ne dépend pas de τ_p . La probabilité que la paire électron-trou créée par le premier photon dans la bande sp se recombine au cours de l'impulsion est négligeable. Dans ce cas, l'intensité de 2PPL est proportionnelle à l'intégrale de la fonction d'autocorrélation d'impulsion dans le temps, et elle ne dépend pas de τ_p . En revanche, pour $\tau_p \gg \tau_{sp}$, les deux absorptions séquentielles d'un photon chacune peut être considérées comme simultanées à l'échelle de temps de la durée d'impulsion. Dans cette limite, β varie en τ_p^{-1} . Les résultats expérimentaux présentent une signature d'absorption séquentielle de deux photons avec une durée de vie de l'état intermédiaire (τ_{sp}) de 1 ps. Ceci est ensuite confirmé par des mesures de type pompe-sonde, qui démontrent une durée de vie de l'ordre de 1 ps, due aux collisions e - e et e - ph.
- Biagioni et al. [160] ont aussi observé avec des nano-antennes d'or de la 2PPL et de la 4PPL selon la durée d'impulsion. Ils ont effectué des mesures de corrélation à deux impulsions, de durées inférieures à 100 fs et à la longueur d'onde de 800 nm, dans lesquelles la MPPL est enregistrée en fonction du délai entre les deux impulsions. La fenêtre spectrale est de 450 à 750 nm en filtrant la longueur d'onde d'excitation et la SHG. La corrélation de 2PPL pour des délais supérieurs à 200 fs est normalisée par le signal obtenu pour deux impulsions bien séparées (délai > 4 ps), révélant une décroissance exponentielle de temps caractéristique \sim 1 ps. Le signal obtenu est très différent du signal de SHG d'un cristal de β -barium borate (BBO) qui présente une absorption à 2 photons incohérents. Ils ont ensuite observé une MPPL d'ordre 4 avec les nano-antennes excitées par des impulsions de durée inférieure à 100 fs. Ils ont étendu le modèle d'absorption à 2 photons à l'absorption à 4 photons en l'expliquant par une absorption simultanée à 3 photons (état intermédiaire virtuel de durée de vie nulle) dans la bande sp, suivie d'une absorption à un photon induisant une transition interbande. La 4PPL a la même dynamique que celle de la 2PPL, ce qui

confirme l'absorption simultanée à 3 photons. En particulier, la durée de vie de la 4PPL est aussi gouvernée par la valeur de τ_{sp} . La 4PPL est plus favorable que la 3PPL grâce à la conservation de parité de la transition $sp \to sp$ à 3 photons. Lorsqu'ils ont augmenté la durée de l'impulsion à une valeur supérieure à 700 fs, avec les mêmes nano-antennes et des puissance moyennes similaires, les auteurs n'ont plus observé que la 2PPL. Ils ont expliqué la disparition de la 4PPL par la grande dépendance en intensité crête de la 4PPL. Ils ont aussi proposé d'interpréter l'ordre de la MPPL en régime intermédiaire [86, 188, 189], soit par l'excitation conjointe des 2PPL et 4PPL avec des efficacités similaires pour ces conditions d'illumination (puissance, durée d'impulsion), soit comme la conséquence de l'effet thermique qui peut induire un remplissage partiel des états vides audessus du niveau de Fermi et l'augmentation du taux de collisions électron-électron [?, 190, 191]. En étudiant le temps caractéristique de la décroissance exponentielle de la corrélation de 4PPL pour des nano-antennes résonantes et non résonantes, les chercheurs ont déterminé une valeur de $\tau_{sp}\sim 650$ fs pour une nano-antenne résonante et $\tau_{sp}\sim 1$ ps pour une nano-antenne non résonante. Ce phénomène peut être expliqué par l'effet thermique mentionné précédemment ou par la relaxation plus efficace dans les modes plasmon de l'antenne résonante. En revanche, Demichel etal. [189] ont démontré avec des grandes AuNR que la résonance et l'augmentation de la puissance incidente retardent la relaxation ultrarapide des charges photo-excitées dans le bain de phonons, qui peut atteindre plusieurs ps. En même temps, Sakat et al. [183] ont montré un temps de relaxation de MPPL inférieur à 500 fs en régime de faible perturbation, pouvant atteindre la picoseconde à plus forte puissance incidente. Un peu plus tard que Biagioni et al., Jiang et al. [161] ont aussi analysé l'effet de corrélation de deux impulsions sur la 2PPL observé avec des AuNR et des chaînes de AuNS couplées. Ils ont montré une corrélation de 2PPL similaire avec un temps de relaxation de ~ 4 ps. Une mesure de type pompe-sonde confirme alors une durée de vie de l'état intermédiaire $de \sim 4$ ps, ce qui prouve également le processus d'absorption séquentielle à 2 photons.

En résumé, plusieurs travaux ont démontré une durée de vie de la MPPL de l'ordre de la ps [159–161,183], gouvernée par la durée de vie des trous dans la bande sp (état intermédiaire réel). Pour la 2PPL, lorsque la durée d'impulsion augmente, l'ordre de la PL ne change pas, mais l'efficacité diminue si la durée d'impulsion est supérieure à 1 ps [159]. Ceci est cohérent avec le mécanisme d'absorption séquentielle à deux photons. Avec des nano-antennes, une diminution de l'ordre de non-linéarité est observée lorsque la durée d'impulsion diminue en fixant l'énergie d'impulsion. Ceci est aussi observé par les auteurs de la Réf. [162] mais ceux-ci proposent d'expliquer la MPPL par la diffusion inélastique de la lumière comme nous allons le voir maintenant.

4.1.5 Diffusion inélastique de la lumière

Un autre mécanisme est proposé par Huang et al. [162], décrivant cette émission de PL par la diffusion Raman électronique. Ce mécanisme désigne la diffusion inélastique du photon par une paire électron-trou. Un schéma du principe de la diffusion Raman électronique (intrabande) est présenté sur la Fig. 4.3. Un premier photon incident peut être absorbé par un électron de la bande de conduction (dans le cas de la MPPL) en créant une paire électron-trou dans cette même bande. Cette paire électron-trou peut ensuite diffuser un deuxième photon de manière inélastique. Lorsque l'énergie du photon diffusé est inférieure à celle du photon incident (le photon céde de l'énergie à la paire électron-trou); ceci est appelée diffusion Raman avec décalage Stokes (par analogie avec le processus de diffusion Stokes par les phonons). Lorsqu'une paire électron-trou créée préalablement par un prermier photon incident cède de l'énergie à un second photon, celui-ce est diffusé avec une énergie supérieure à son énergie initiale. Ceci est appelée diffusion Raman

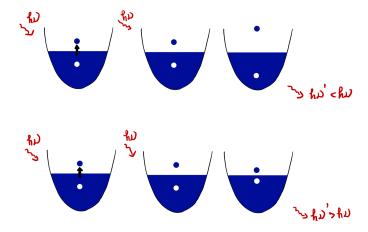


Fig. 4.3 – Schéma du principe de la diffusion Raman électronique. Schéma du haut : diffusion Raman avec décalage Stokes. Schéma du bas : diffusion Raman avec décalage anti-Stokes.

avec décalage anti-Stokes. Pour simplifier le langage, nous allons appeler les deux composantes du spectre correspondantes "Stokes" et "anti-Stokes". Par extension, on appelle composante "Stokes" la partie du spectre émis pour laquelle $h\nu_{\acute{e}m} < h\nu_{inc}$. En particulier, la 1PPL contribue à cette composante. La composante "anti-Stokes" quant à elle est d'origine purement multiphotonique (MPPL). Précédemment, nous avons vue que des auteurs proposent d'expliquer le décalage vers le bleu du spectre d'émission par rapport au spectre d'absorption par l'absorption intrabande de deux photons dans le proche infrarouge, suivie de la relaxation radiative de cette excitation. Ici, Huang et ses collègues interprètent la 2PPL par la diffusion Raman par les paires électrontrou excitées, qui est amplifiée par le plasmon de manière résonante. Trois solutions colloïdales de AuNR de RA différents sont utilisées dans leur expérience. Les valeurs de λ_{LgSPR} sont 532, 647 et 770 nm. Les solutions sont excitées soit par un laser cw, soit par un laser pulsé, tous les deux à $\lambda_{laser} = 785$ nm. Deux durées d'impulsion sont utilisées, l'une de 450 fs, l'autre de 1,3 ps. L'excitation par laser cw produit une bande anti-Stokes étroite et une bande Stokes large. L'intensité d'émission varie linéairement avec l'intensité incidente pour les deux bandes. En ce qui concerne l'excitation impulsionnelle, avec les deux durées d'impulsion l'intensité d'émission dans la partie "anti-Stokes" du spectre varie approximativement de manière quadratique avec la puissance moyenne incidente. Ceci est cohérent avec les résultats de la Réf. [163]. Cependant, lorsque les auteurs augmentent la durée d'impulsion (de 450 fs à 1,3 ps) en fixant l'énergie de l'impulsion, l'ordre de la non-linéarité devient très inférieur à 2. Les auteurs ont interprété ces résultats par la diffusion Raman électronique. La dynamique de la population de paires életron-trou est décrite par la statistique de Bose-Einstein où la température életronique T_e dépend du temps. L'évolution de la température électronique est calculée avec le TTM (cf. Chap. 1). Les auteurs ajustent leurs données expérimentales avec le modèle décrit ci-dessus en utilisant la section efficace σ_{abs} de la solution des AuNR comme paramètre d'ajustement. Ils trouvent une valeur de σ_{abs} cohérente avec celle fournie par la méthode DDA et permettant d'ajuster les résultats obtenus avec les deux durées d'impulsions pour la partie "anti-Stokes". σ_{abs} étant le seul paramètre ajustable de leur modèle, ce résultat permet aux auteurs de confirmer leur interprétation de la variation de l'ordre de nonlinéarité avec la durée d'impulsion. Cependant, cette valeur de σ_{abs} ne convient pas pour ajuster les composantes Stokes. Le mécanisme proposé, adapté à l'interprétation de la composante anti-Stokes, ne permet donc pas d'expliquer l'évolution de la bande "Stokes" avec l'intensité incidente, alors que cette composante domine le spectre global. Notons que le mécanisme proposé est cohérent avec

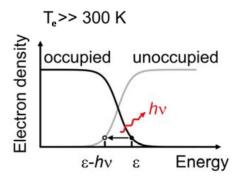


Fig. 4.4 – Principe de la PL via la relaxation intrabande, d'après Haug et al. [87].

la durée de vie mesurée expériementalement, car la durée de vie de PL décrite par ce mécanisme est gouvernée par la dynamique des paires électron-trou, donc le temps de collision e - ph.

4.1.6 Rayonnement thermique

Haug et al. [87] ont fait une étude de la non-linéarité de PL résolue spectralement avec des films de nanoparticules d'argent et d'or. Cette étude est focalisée sur la variation spectrale relative de l'émission par un point chaud ("hot spot" en anglais) avec les paramètres d'excitation. En effet, le spectre d'émission dépend a priori de la densité d'états photonique; l'étude relative présentée ici ne nécessite pas de connaître cette PDOS. Elle est d'abord effectuée avec le film d'argent qui permet d'éliminer la contribution interbande (seuil à \sim 4 eV pour l'argent) car la limite supérieure de détection est de 3 eV. Les chercheurs ont proposé d'expliquer la PL par la relaxation radiavtive intrabande d'un gaz d'électrons chauds. L'exposant de la loi de puissance, p, entre le flux de photons émis intégré $\phi = \int \phi(\nu) d\nu$ et l'intensité incidente I est déduit en ajustant les données avec une relation linéaire $log(\phi) = const + p \ log(I)$. Les auteurs trouvent que p = 2,04 pour la partie "anti-Stokes" du spectre (voir \S 4.1.5 pour la définition) et p = 1,22 pour la partie "Stokes", composantes qui étaient attribuée à la 2PPL et la 1PPL, respectivement [163]. Cependant, une telle analyse de la dépendance de l'intensité spectralement intégrée vis-à-vis de l'intensité d'excitation ne traduit pas fidèlement les informations disponibles à partir de l'expérience. L'équipe de Lupton a alors effectué une étude de p en fonction de l'énergie des photons émis, $h\nu$. Cette analyse de l'ordre de la non-linéarité permet aux auteurs d'éliminer l'influence de la PDOS. Ils ont alors découvert que p est proportionnel à ν dans le cas d'une excitation avec un laser fs. Ceci est un reflet du décalage du spectre d'émission vers le bleu lorsque l'intensité incidente augmente. Cette loi linéaire de p en ν est vraie à la fois pour les composantes "Stokes" et "anti-Stokes" du spectre. Pour comparaison, les chercheurs ont aussi effectué la même mesure et la même analyse avec un laser cw à la même longueur d'onde. Seule une faible émission dans le domaine "Stokes" est détectée, où $p \simeq 1$ pour toutes les énergies des photons émis. Pour expliquer ce résultat expérimental avec une recombinaison intrabande des porteurs chauds, ils ont fait deux hypothèses : (i) une température effective fixe, $T_e \gg T$, peut être attribuée au gaz d'électrons sur l'échelle de temps de la PL, où T est la température du réseau métallique. La densité des électrons suit la statistique de Fermi-Dirac à la température T_e (Fig. 4.4). (ii) Une dépendance $T_e^a \propto I$ est supposée. La valeur a=2 est bien connue dans le cas du métal massif (la capacité calorifique d'un gaz d'électrons libres varie comme T_e) [192]. Le flux de photons émis par relaxation intrabande peut être calculé de la manière suivante en supposant que la EDOS est plate autour du niveau de Fermi :

$$\phi(\nu) \propto \int_{-\infty}^{+\infty} \rho(\nu) f(\varepsilon) [1 - f(\varepsilon - h\nu)] d\varepsilon \tag{4.1}$$

où $\rho(\nu)$ est la PDOS, ε est l'énergie des porteurs relative à E_F , et $f(\varepsilon) = [exp(\varepsilon/k_BT_e) + 1]^{-1}$. Dans la limite $h\nu \gg k_BT_e$, l'Eq. (4.1) devient :

$$\phi(\nu) \propto \frac{h\nu\rho(\nu)}{exp(\frac{h\nu}{k_BT_e}) - 1} \simeq h\nu\rho(\nu)exp(-\frac{h\nu}{k_BT_e}). \tag{4.2}$$

En utilisant l'Eq. (4.2), les auteurs trouvent l'expression de p sous la forme :

$$p(\nu) = h\nu/ak_B T_e^*, \tag{4.3}$$

où T_e^* est la température électronique de référence dépendante de l'intensité incidente expérimentale de référence I^* . L'intensité incidente est alors variée dans une gamme étroite autour de I^* induisant la variation de T_e autour de T_e^* . Les valeurs de a et de T_e^* dans une NP, différentes de celles de la phase massive, dépendent des propriétés thermodynamiques du gaz d'électrons et de l'intensité expérimentale I^* . Les auteurs déduisent donc de la linéarité de $p(\nu)$ observée expérimentalement le fait que l'énergie déposée dans le gaz d'électrons par l'excitation est suffisamment grande pour que toute la PL soit émise avant le début du refroidissement par collisions électron-phonon. Cette relation linéaire entre p et ν est aussi observée sur le spectre d'émission par le film d'or. On note une diminution de l'amplitude du spectre d'émission pour les hautes énergies de photon par rapport au film d'argent, due à la plus petite énergie du seuil interbande. Haug et ses collègues ont donc étendu le mécanisme proposé pour le cas de l'argent à celui de l'or à cause des similitudes dans le comportement du spectre d'émission. Les valeurs de a et de T_e^* sont déduites des données expérimentales. La valeur de a varie très peu pour toutes les énergies de photon émis, et sa valeur moyenne est égale à 4,57. La gamme d'intensité incidente utilisée correspond à une variation de T_e^* de 2000 à 4000 K. Le spectre est relativement bien ajusté par la loi de Planck dans le domaine spectral qui présente un effet d'amortissement par couplage avec les transitions interbandes négligeable. Cet ajustement par la loi de Planck donne une valeur de a similaire, de 4,16. La relaxation intrabande d'un gaz d'électrons chauds ressemble donc beaucoup au rayonnement thermique de type corps noir.

La même équipe a mené une étude similaire avec des AuNR uniques et des petits agrégats de nanoparticules [166]. Le spectre d'émission d'un même objet est mesuré pour différentes gammes de faible intensité incidente en s'assurant que la particule n'est pas dégradée par les impulsions fs. Avec une analyse fine de la composante des spectres "anti-Stokes" selon l'intensité d'excitation, Roloff et~al. ont observé deux régimes de comportement différent pour p. En régime d'intensité de quelques kW cm⁻², une relation linéaire entre p et l'énergie des photons émis est mise en évidence, ce qui est cohérent avec les résultats présentés précédemment. Cependant, en régime de plus faible intensité d'excitation ($\sim 1~\rm kW~cm^{-2}$), p est quasiment constante égale à 2, cette valeur de p étant plus petite que celle mesurée à plus haute intensité. Ceci ne peut pas être expliqué par le mécanisme de relaxation intrabande, car dans ce modèle, la relation de proportionalité $p \propto 1/T_e^*$ (Eq. (4.3)) prévoit une augmentation de la valeur de p lorsque l'intensité diminue. Les

mêmes résultats sont obtenus avec un agrégat de particules. Les auteurs ont comparé les résultats théoriques issus des modèles basés sur la recombinaison interbande, sur la diffusion inélastique de la lumière, et sur la relaxation intrabande, respectivement, avec les données expérimentales, en ajustant T_e^* . Seul le calcul dans le modèle de relaxation intrabande peut expliquer le régime de haute intensité d'excitation. Ils ont donc interprété ces résultats de la manière suivante : en régime de faible intensité, pour la composante "Stokes" du spectre, la réponse linéaire est due à la relaxation intrabande [163]. Pour le spectre côté "anti-Stokes", la réponse quadratique est due à une absorption à 2 photons. En régime de haute intensité d'excitation, l'ensemble du spectre (parties "Stokes" et "anti-Stokes") peut être interprété par un seul mécanisme unifié. La linéarité de la relation entre p et ν peut être seulement expliquée par un phénomène de rayonnement thermique. Roloff et al. attribuent le mauvais accord sur la variation de p avec I à la nature athermale de la distribution de charges, source du rayonnement, qui n'est pas prise en compte dans leur modèle. De plus, leur modèle nécessite d'éliminer la PDOS qui est supposée indépendante du temps et de l'intensité incidente. Nous avons vu dans le chapitre 2 que, ceci n'est pas vrai dans nos conditions expérimentales. La valeur de a n'est pas une constante pour des hautes températures électroniques, ce qui a déjà été démontré dans le cas des métaux nobles massifs [56]. Enfin, ce modèle ne prend pas en compte la dynamique de la distribution électronique. L'intégration temporelle de la PL fournit peut-être une relation entre p et T_e moins simple que l'Eq. (4.3), ce qui peut expliquer la différence entre les deux régimes d'intensité incidente.

4.1.7 Synthèse des résultats sur la MPPL

En analysant les trois mécanismes proposés par les différentes équipes (absorption séquentielle, diffusion Raman électronique, rayonnement du gaz d'électrons chauds) et leurs résultats expérimentaux, nous pouvons déduire que la PL dépend fortement des conditions d'excitation expérimentales (intensité incidente, durée d'impulsion). Selon ces conditions d'excitation, les poids des différents mécanismes potentiellement impliqués dans la PL sont plus ou moins importants. Tous les trois sont cohérents avec la durée de MPPL mesurée (\sim ps). Dans la section suivante, nous nous proposons de reprendre le modèle de rayonnement thermique décrit ci-dessus en tenant compte de la nature athermale de la distribution électronique.

4.2 Un modèle en régime de haute intensité d'excitation

Dans le chapitre 2, nous avons décrit l'évolution ultrarapide de la fonction de distribution électronique pendant et suivant l'absorption d'une impulsion laser ultracourte par une NP plasmonique. Cette évolution a lieu à l'échelle de temps de l'émission de photoluminescence [158, 167, 183], et peut donc avoir une influence importante sur celle-ci. En nous appuyant sur les résultats présentés dans les sections précédentes, en particulier dans le régime de haute intensité incidente, nous proposons un modèle inspiré par le modèle de rayonnement thermique de l'équipe de Lupton. Il consiste à déterminer le spectre d'émission par le gaz d'électrons chauds, généré dans une NP par une impulsion laser, décrit par une fonction de distribution arbitraire évoluant dans le temps, spectre modulé par le(s) mode(s) plasmon de la nanoparticule via sa PDOS. Pour calculer le rayonnement thermique d'un gaz d'électron hors équilibre thermodynamique, nous supposons que nous pouvons diviser à chaque instant la distribution électronique en un grand nombre de sous-populations, chacun étant considérée à l'équilibre et donc caractérisée par sa propre température "locale". Le rayonnement de chaque fraction d'électrons suit la loi de Planck. Le spectre en puissance total émis est alors reconstitué en sommant ceux de toutes les fractions par intégration

sur l'ensemble des énergies électroniques. Concrètement, la fonction de distribution athermale est discrétisée par une succession d'éléments d'énergie électronique de largeur $d\varepsilon$. Nous supposons que chaque portion élémentaire de la distribution d'énergie ε est à l'équilibre thermodynamique interne, et donc décrite par la distribution de Fermi-Dirac. Nous pouvons donc trouver la température locale de cette portion d'électrons grâce à l'équation suivante :

$$T_e(\varepsilon,t) = \frac{\varepsilon}{k_B \ln(1/f(\varepsilon,t) - 1)} \tag{4.4}$$

où $f(\varepsilon,t)$ est la fonction de distribution électronique arbitraire à l'instant t. Le rayonnement de la fraction de la distribution ayant une énergie comprise entre ε et $\varepsilon + d\varepsilon$ est proportionnel au nombre d'électrons dans cet intervalle d'énergie :

$$dN_e = f(\varepsilon, t)\rho(\varepsilon)d\varepsilon. \tag{4.5}$$

L'intensité spectrale du rayonnement thermique émis par l'ensemble des électrons, $\mathcal{P}(\nu,t)$, est donc égale à :

$$\mathcal{P}(\nu,t) = \int_{0}^{\infty} \mathcal{B}(\nu,T_{e}) f(\varepsilon,t) \rho(\varepsilon) d\varepsilon \tag{4.6}$$

où $\mathcal{B}(\nu,T_e)=2h\nu^3/[c^2(\exp(h\nu/k_BT_e)-1)]$ est la luminance énergétique spectrale du rayonnement thermique du corps noir. Cette émission par les électrons est ensuite modulée par l'émissivité de la particule plasmonique. Ceci est équivalent à l'approche de l'équipe de Lupton [87, 166] où le rayonnement du gaz d'électrons modulé par la PDOS $\rho(\nu)$ comme nous l'avons vu dans la section précédente. Cependant, ces auteurs ne cherchent pas à évaluer la PDOS dans leur analyse puisqu'ils travaillent avec des données normalisées, sous l'hypothèse que $\rho(\nu)$ ne dépend ni du temps, ni de l'intensité d'excitation. Or nous avons vu au chapitre 2 que cette hypothèse n'est pas valide, au moins dans nos conditions expérimentales. Nous devons donc tenir compte du profil spectral de la PDOS, ou, de manière équivalente, de l'émissivité. Pour évaluer cette dernière, nous allons maintenant introduire une hypothèse forte dans le modèle. Bien que la distribution des porteurs soit hors équilibre, nous supposons qu'à chaque instant de la dynamique et pour chaque souspopulation élémentaire, définie par sa température "locale", la loi de Kirchhoff s'applique (voir la discussion à la fin du complément VI.F de la Réf. [193]). Récemment, J. J. Greffet et ses collègues ont montré que le spectre de PL d'un gaz d'électrons chauds en équilibre thermodynamique interne pouvait être décrit par une loi de Kirchhoff locale [194]. Nous supposons donc que l'émissivité à la fréquence ν du rayonnement et à l'instant t de la dynamique est égale à l'absorbance à ν et à t. L'émissivité de la particule est donc proportionnelle à la section efficace d'absorption, $\sigma_{abs}(\nu,t)$. Le spectre d'émission de la particule plasmonique, $S(\nu)$, est donc à chaque instant :

$$S(\nu,t) = \sigma_{abs}(\nu,t)\mathcal{P}(\nu,t). \tag{4.7}$$

Le spectre total émis vaut alors :

$$S_{tot}(\nu) = \int_0^\infty S(\nu)dt. \tag{4.8}$$

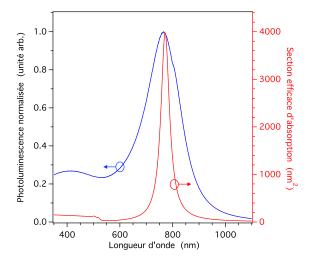


Fig. 4.5 – En bleu (échelle de gauche) : spectre de photoluminescence normalisé d'un AuNR de $50 \times 12,5$ nm² excité par une impulsion de 100 fs à 772 nm, polarisée linéairement le long du grand axe du AuNR, calculé par notre modèle de rayonnement thermique d'une distribution d'électrons chauds non thermale. En rouge (échelle de droite) : spectre de la section efficace d'absorption stationnaire du même bâtonnet.

Comme le rayonnement thermique du gaz d'électron peut être modulé à la fois par le mode plasmon longitudinal et le mode transverse à travers la PDOS, nous avons calculé la section efficace d'absorption moyennée spatialement en tenant compte des deux composantes. Elle est donc donnée par :

$$\sigma_{abs}(\nu,t) = \frac{2\sigma_{abs}^T(\nu,t) + \sigma_{abs}^L(\nu,t)}{3} \tag{4.9}$$

où $\sigma_{abs}^T(\nu,t)$ est la section efficace d'absorption transverse (polarisation orthogonale au grand axe), et $\sigma_{abs}^L(\nu,t)$ est la section efficace d'absorption longitudinale (polarisation le long du grand axe).

4.3 Résultat de simulation numérique

4.3.1 Spectre de photoluminescence d'un AuNR

Pour ce calcul du spectre de PL, nous avons choisi de simuler le cas d'un AuNR dans l'eau de taille $50 \times 12,5$ nm², excité par une impulsion de 100 fs à $\lambda_{laser} = \lambda_{LgSPR} = 772$ nm polarisée linéairement le long du grand axe du AuNR avec une intensité crête $I_0 = 1$ GW cm⁻². Nous avons d'abord calculé comme dans le chapitre 2 la fonction diélectrique à chaque instant, de t_0 (début de l'impulsion) jusqu'à $t-t_0=1$ ps avec un pas de temps de 1 fs. Notons que dans ce calcul nous négligeons la contribution de l'émission et de la réabsorption de photons par la distribution d'électrons chauds dans l'évolution de sa dynamique par résolution de l'équation de Boltzmann. Le spectre de photoluminescence est ensuite déterminé par la méthode ci-dessus, avec un pas d'énergie $\delta \varepsilon = 1$ meV. L'intégrale en énergie dans l'Eq. (4.6) court de $\varepsilon = -E_F = -5,49$ eV à $\varepsilon = E_c = 3,72$ eV (énergie critique d'éjection d'électrons). L'intégrale temporelle dans l'Eq. (4.8) va de $t=t_0=-125$ fs à t=875 fs. Le résultat du calcul est présenté sur la Fig. 4.5. Nous y avons superposé le spectre d'absorption stationnaire, $\sigma_{abs}^0(\lambda)$. Nous pouvons voir que le spectre d'émission possède deux pics correspondant approximativement aux modes de plasmon transverse et longitudinal. Tous

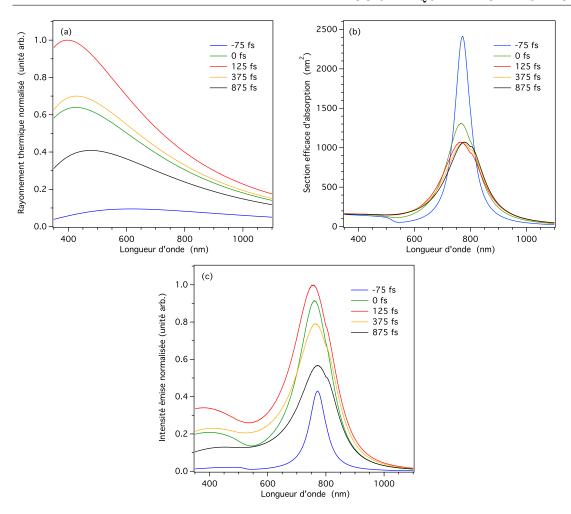


Fig. 4.6 – Spectre à différents instants t. (a) Rayonnement thermique du gaz d'électron, $\mathcal{P}(\lambda,t)$; (b) section efficace d'absorption, $\sigma_{abs}(\lambda,t)$; (c) photoluminescence émise au champ lointain, $\mathcal{S}(\lambda,t)$. Les conditions de la simulation sont les mêmes que sur la Fig. 4.5.

les deux sont décalés vers le bleu par rapport aux pics plasmons stationnaires. Ceci correspond bien à ce qu'ont révélé différentes expériences reportées dans la littérature [87,166,169–172] comme nous l'avons vu au § 4.1.1 plus haut. Le pic correspondant au plasmon longitudinal est beaucoup plus large que le pic d'absorption stationnaire (cf. Fig. 2.11) à cause de l'amortissement ultrarapide du plasmon décrit au chapitre 2. L'allure du spectre ne change quasiment pas si l'on augmente le temps d'intégration de l'Eq. (4.8) jusqu'à 2 ps. Pour regarder plus précisément l'évolution temporelle de la PL, les spectres de rayonnement thermique $\mathcal{P}(\lambda,t)$, de la section efficace d'absorption, $\sigma_{abs}(\lambda,t)$ et de la photoluminescence $\mathcal{S}(\lambda,t)$ à différents instants sont présentés sur la Fig. 4.6. Nous pouvons voir que la dynamique de la PL est principalement gouvernée par la dynamique du rayonnement thermique puisque σ_{abs} évolue peu dans la période d'émission principale de PL. Pendant l'impulsion elle-même (jusqu'à t=125 fs sur les figures), l'effet de l'amortissement du plasmon qui modifie la valeur de σ_{abs} reste plus faible que l'effet de l'augmentation du nombre d'électrons chauds et de leur énergie cinétique sur la variation du rayonnement thermique. Après le passage de l'impulsion (t>125 fs), σ_{abs} évolue très peu dans l'intervalle de temps considéré. Nous observons un décalage du pic de PL vers le bleu pendant l'impulsion et un décalage vers le rouge après le passage d'impulsion, correspondant à l'échauffement puis au refroidissement du gaz d'électrons. Intégré dans le temps, le décalage vers le bleu des deux pics de PL par rapport aux pics de σ_{abs} (Fig. 4.5) a donc pour

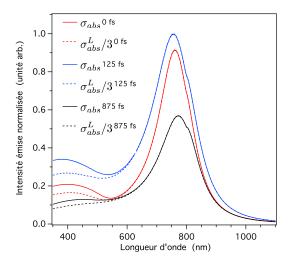


Fig. 4.7 – Spectres de photoluminescence à différents instants t. Traits continus : σ_{abs} . Traits pointillés : $\sigma_{abs}^{L}/3$.

origine la dynamique du rayonnement thermique des électrons (cf. Fig. 4.6(a)) à laquelle s'ajoute le déplacement cinétique de initial la résonance plasmon, par rapport à son position spectrale stationnaire, lié à son amortissement (cf. Fig. 4.6(b)).

4.3.2 Étude de l'ordre de non-linéarité

Comme nous l'avons vu dans première partie de ce chapitre, les spectres expérimentaux de PL sont très différents selon les travaux publiés par différents groupes. De plus, pour le cas de la MPPL, il est très difficile d'observer la signature correspondant au plasmon longitudinal à cause du filtrage de la lumière excitatrice dans le dispositif de détection. Cependant, la dépendance de l'intensité émise vis-à-vis l'intensité d'excitation nous fournit un résultat cohérent entre la plupart des groupes. Une réponse linéaire est principalement mesurée pour le domaine spectral "Stokes", alors que pour le domaine spectral "anti-Stokes" la réponse est souvent non linéaire. Nous allons donc calculer la valeur de l'ordre de la non-linéarité, p, en fonction de l'énergie des photons émis. En raison du temps de calcul important nécessaire pour la détermination de $\sigma_{abs}(\lambda,t)$, nous allons simplifier ce calcul en faisant deux hypothèses.

Nous pouvons premièrement négliger la contribution du plasmon transverse à σ_{abs} lorsque l'énergie des photons émis est suffisamment loin du seuil interbande. Nous allons donc comparer les spectres de photoluminescence calculés avec σ_{abs} et $\sigma^L_{abs}/3$ à différents instants afin de trouver l'intervalle spectral dans lequel nous pourrons ne considérer que la contribution longitudinale. Les spectres d'émission de σ_{abs} et de σ^L_{abs} sont présentés sur la Fig. 4.7. Nous avons choisi trois instants correspondant à l'intensité maximale, à la fin d'impulsion et à 1 ps après l'impulsion. Nous pouvons voir que dans l'intervalle de temps où la PL est importante la contribution du plasmon transverse peut être négligée pour une longueur d'onde d'émission plus grande que 550 nm (la différence entre σ_{abs} et $\sigma^L_{abs}/3$ est alors inférieure à 10%).

Afin de gagner encore en temps de calcul, nous allons remplacer le pic de LgSPR par une fonction lorentzienne. L'effet de l'amortissement du plasmon calculé correspond assez bien à un profil lorentzien dont la hauteur du pic est inversement proportionnelle à sa largeur à mi-hauteur. Cependant, nous pouvons voir sur la Fig. 4.7 que le pic est légèrement asymétrique à cause des

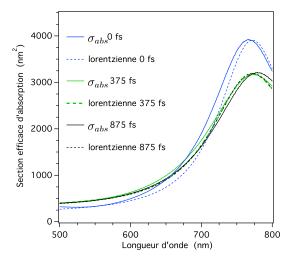


Fig. 4.8 – Spectres de section efficace d'absorption à différents instants t. Traits continus : σ_{abs} . Traits pointillés : modèle lorentzien.

transitions interbandes aux courtes longueurs d'onde. Dans la mesure où notre objectif est ici de calculer l'ordre de la non-linéarité de la PL, nous allons ajuster le pic de LgSPR par une fonction, $f(\nu)$, afin d'avoir un bon accord dans le domaine spectral entre 550 nm et 800 nm. Dans cette approche, nous négligeons le décalage vers le bleu du pic de LgSPR. Ce pic est à chaque instant décrit phénoménologiquement par une fonction de la forme :

$$f(\nu) = aL(\nu) + b \tag{4.10}$$

où $L(\nu) = \frac{\gamma}{2\pi} \frac{1}{\gamma^2/4 + (\nu - \nu_0)^2}$ est une fonction lorentzienne centrée en ν_0 et de largeur à mi-hauteur γ . L'introduction du paramètre b sert uniquement à mieux ajuster le spectre de la section efficace d'absorption pour les courtes longueurs d'onde. ν_0 est une constante correspondant au maximum de la LgSPR du AuNR. La valeur de γ est donnée par :

$$\gamma(t) = \sigma_{abs}(\nu_0, t_0) \gamma(t_0) / \sigma_{abs}(\nu_0, t). \tag{4.11}$$

En imposant cette relation, les valeurs des paramètres a et b peuvent être déduites pour chaque instant t de la dynamique en ne calculant la valeur de σ_{abs} qu'à deux fréquences, l'une étant ν_0 . Le profil total du pic, $f(\nu)$, peut alors être reconstitué à chaque t

Les spectres de section efficace d'absorption évalués par cette méthode à différents instants sont présentés sur la Fig. 4.8 avec, pour comparaison, ceux déterminés par la BEM aux mêmes instants. Nous pouvons voir que le profil de $\sigma_{abs}(\lambda)$ est globalement bien reproduit. Cependant, à cause du décalage vers le bleu de la LgSPR pendant le passage de l'impulsion, nous pouvons noter un écart entre le profil lorentzien et celui calculé avec la BEM de 10% entre 600 et 700 nm. Cette différence est négligeable pour les temps plus longs. Il faut noter que nous présentons le cas où $I_0 = 1 \text{ GW cm}^{-2}$, correspondant à l'intensité crête maximale pour le calcul de p. Pour des valeurs de I_0 plus faibles, l'amortissement du plasmon et son décalage vers le bleu sont plus faibles. Les écarts observés sur la Fig. 4.8 correspondant donc au cas le moins favorable.

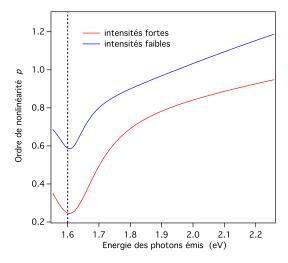


Fig. 4.9 – Ordre de non-linéarité en fonction de l'énergie des photons émis. Le trait pointillé vertical correspond à $\lambda_{laser} = \lambda_{LqSPR} = 772$ nm.

Nous avons choisi de calculer la valeur de p pour un régime d'intensité plutôt faible (1 à 50 MW cm⁻²) et un régime d'intensité forte (50 MW cm⁻² à 1 GW cm⁻²). Notons que ceci ne correspond pas aux deux régimes désignés comme tels dans l'article de Roloff et al. [166]. Notre étude nous permet de révéler l'effet de l'intensité sur la valeur de p. Les valeurs de p en fonction de l'énergie des photons émis sont présentées sur la Fig. 4.9. Nous pouvons voir que pour les énergies de photon supérieures à 1.8 - 1.9 eV (~ 650 à 700 nm), nous avons une relation quasi linéaire entre p et $h\nu$. Cette linéarité n'est plus valable pour la lumière émise dans la zone spectrale autour du plasmon longitudinal. Ceci peut certainement être attribué à l'amortissement de la résonance plasmon pendant la durée de la majorité du rayonnement. Pour les énergies de photon élevées, le spectre de PL est gouverné par la loi de Planck. Dans le cas où $h\nu\gg k_BT_e$, l'intensité spectrale du rayonnement thermique est proportionnelle à $h\nu exp(-h\nu/k_BT_e)$. Par conséquent, dans ce domaine spectral, nous avons une relation similaire à celle de Haug et al. (cf. Eq. 4.2) [87]. La valeur de p diminue lorsque T_e augmente [87], donc les valeurs de $p(\nu)$ en régime d'intensité faible sont supérieures à celles en régime d'intensité forte, ce qui est bien reproduit par nos calculs (Fig. 4.9). En revanche, ceci reste en contradiction avec les résultats de Roloff et al. [166] qui montrent une augmentation de p avec l'augmentation de l'intensité incidente, malgré la prise en compte dans notre modèle de la nature non thermale de la distribution électronique.

Nous pouvons voir que les valeurs de p dans le domaine spectral "anti-Stokes" ($h\nu>1,6$ eV) sont très proches de 1, voire inférieures. Ceci n'est pas cohérent avec la plupart des résultats expérimentaux résumés dans la première partie du chapitre. Néanmoins, certains groupes ont démontré une réponse linéaire de la PL (p=1) pour des énergies de photon supérieures à l'énergie de photon d'excitation [20,164], et pour une intensité crête d'excitation de l'ordre du GW cm⁻² [164]. Cette dépendance linéaire est due à la grande intensité d'excitation, qui fait que le phénomène de rayonnement thermique est prédominant par rapport au phénomène de recombinaison des paires électron-trou excitées par une absorption multiphotonique [166].

Conclusion

Nous avons vu dans ce chapitre les différents mécanismes proposés par plusieurs groupes de chercheurs pour expliquer le phénomène de photoluminescence. Nous avons distingué la 1PPL et la MPPL, correspondant aux bandes spectrales "Stokes" et "anti-Stokes", respectivement. Les spectres de 1PPL présentent souvent la signature des modes plasmon des nano-objets. Pour les AuNR, l'émission autour de 500 nm est faiblement polarisée, et l'émission à la longueur d'onde de LgSPR est polarisée le long du grand axe des AuNR [168-170]. La PL dans le proche infrarouge est expliquée par les recombinaisons intrabandes. Pour la 1PPL visible, il y a principalement trois mécanismes invoqués, selon les résultats expérimentaux obtenus par les chercheurs. Le premier consiste en la relaxation radiative de transition interbandes, qui est exaltée par le plasmon de surface localisé de la nanostructure [19, 156]. Le spectre d'émission visible est gouverné à la fois par la structure de bande du métal et le(s) mode(s) plasmon. Ce mécanisme est cohérent avec la durée de vie de PL mesurée, inférieure à 50 fs [158]. Le deuxième mécanisme conduit à la PL en trois étapes: (i) l'absorption d'un photon induit une transition interbande qui crée un trou dans la bande d, (ii) ce trou relaxe de manière non radiative en émettant un plasmon, et (iii) le plasmon relaxe radiativement (ou non radiativement) [167]. Ce mécanisme, proposé dans les Réfs [21, 167], peut expliquer l'ordre de grandeur du rendement quantique des nano-objets plasmoniques, ainsi que la durée de vie mesurée par les auteurs, de l'ordre de la ps. La différence de durée d'émission de PL reportée dans les Réfs [158] et [21] ne peut provenir que des différentes intensités d'excitation utilisées. Le troisième mécanisme permettant d'expliquer la PL est la recombinaison radiative de porteurs chauds amplifiée par effet Purcell [171]. La recombinaison de porteurs regroupe la recombinaison interbande et la recombinaison intrabande. Ce dernier mécanisme inclut de possibles processus Auger. Grâce au regoupement des différents processus de relaxation, ce mécanisme peut expliquer les différentes durées de vie de PL mesurées. Il permet d'avoir un mécanisme unifié pour l'émission de lumière visible et infrarouge. Le troisième mécanisme est une combinaison des deux premiers. Il est donc cohérent avec l'ensemble des résultats expérimentaux. Selon l'intensité utilisée, le phénomène observé (par exemple la durée de vie de la PL) peut être mieux décrit par l'un ou l'autre des deux premiers mécanismes gouvernés respectivement par la recombinaison des paires électron-trou et par la relaxation de trous dans la bande d médiée par plasmon.

Pour la MPPL, les spectres d'émission sont très différents selon publications. L'ordre de nonlinéarité observé varie de 2 à 4, et peut aussi prendre des valeurs non entières. Pour expliquer cette dépendance non linéaire de l'intensité de PL vis-à-vis de l'intensité incidente, trois mécanismes sont proposés. Le premier mécanisme est un processus d'absorption multiphotonique [159, 160]. Pour une réponse non linéaire d'ordre 2, le processus d'absorption est réalisé en absorbant séquentiellement deux photons via un état intermédiaire réel, de durée de vie de l'ordre de la ps [159, 161]. La 4PPL est aussi observée dans certaines conditions, et elle est expliquée par une absorption simultanée de 3 photons induisant une transition intrabande, suivie par l'absorption d'un quatrième photon qui induit une transition interbande. L'ordre 4 est plus favorable que les ordres 3 et 5 à cause de la conservation de la parité pour la transition intrabande [160]. Le deuxième mécanisme invoqué par certains autres est la diffusion inélastique de la lumière par des paires électron-trou [162]. Comme la distribution de ces dernières dépend fortement de la température, certains groupes ont aussi utilisé le spectre de MPPL pour évaluer la température de nanoparticules et du milieu environnant dans le cas d'une excitation par laser cw [195]. Le troisième mécanisme mis en avant pour expliquer la PL est la relaxation intrabande du gaz d'électrons de conduction. Cette approche permet d'expliquer la relation linéaire entre l'ordre de la non-linéarité et l'énergie des photons émis. Ce mécanisme présente un comportement ressemblant au rayonnement thermique de type corps noir modulé par la PDOS. Les trois mécanismes proposés permettent d'expliquer les valeurs de l'ordre de non-linéarité observées expérimentalement jusqu'à présent. Ils sont tous cohérents avec la durée de vie mesurée dans le cas de la MPPL. Cependant, l'observation de 4PPL sans 2PPL dans la Réf. [160], tendant à démontrer que la réponse d'ordre élevée est prédominante n'est pas très convaincante. Le deuxième mécanisme proposé permet de reproduire la diminution de l'ordre de non-linéarité lorsque la durée d'impulsion diminue à énergie d'impulsion fixe. Néanmoins, ce mécanisme ne permet pas d'interpréter les composantes spectrales "Stokes" qui devraient aussi pouvoir être décrites par la diffision inélastique de la lumière. Enfin, plusieurs expériences démontrent la diminution de l'ordre de la non-linéarité lorsque l'intensité incidente diminue (à durée d'impulsion fixe) [166], ou de manière équivalente lorsque la durée d'impulsion augemente à énergie par impulsion fixe [160, 162]. Ceci est cohérent avec la tandance observée lorsqu'on passe d'un laser fs à un laser cw. Cependant, le troisième mécanisme proposé prédit un comportement opposé; ceci révèle donc une faiblesse de cette approche. Quoi qu'il en soit, ces différents résultats démontrent que, aussi bien pour la 1PPL que pour la MPPL, l'intensité incidente joue un rôle important sur l'ordre de la non-linéarité. Le phénomène de MPPL est surement très complexe, gouverné par différents mécanismes de poids différents selon les conditions expérimentales.

Sur la base de l'analyse de la littérature consacrée à la PL, nous avons proposé un modèle basé sur le mécanisme de rayonnement thermique en tenant compte de la nature non thermale de la distribution électronique et de son évolution temporelle. Pour cela, nous avons considéré la distribution électronique hors équilibre à chaque instant comme une somme de sous-populations élémentaires caractérisées par leur température "locale". Nous avons supposé que la loi de Kirchhoff est valable à chaque instant, conduisant à l'égalité entre émissivité et absorbance des NP tout au long de la dynamique. Nous avons appliqué ce modèle au calcul de la PL de AuNR dans l'eau dans un régime de forte intensité d'excitation. La PL simulée présente deux pics larges dans les domaines des deux modes plasmons. Pour étudier l'ordre de la non-linéarité du spectre de MPPL, nous avons simplifié le calcul de la section efficace d'absorption en négligeant sa composante transverse et en modélisant le pic de LgSPR par une fonction lorentzienne. Les résultats de simulation montrent une relation linéaire entre l'ordre de la non-linéarité et l'énergie des photons émis au-delà de 1,9 eV. Cependant, la valeur de cet ordre est très proche de 1, voire inférieure, dans la bande spectrale considérée. Ceci est contradictoire avec la plupart des résultats expérimentaux. Les hypothèses sur l'émissivité et l'évaluation de la température électronique restent discutables, elles sont à revisiter pour effectuer une étude plus correcte sur la PL. En particulier, il serait sans doute plus pertinent de calculer directement l'émission de lumière par une distribution de porteurs chauds hors équilibre; ceci s'avère néanmoins un développement particulièrement complexe à mettre en œuvre.

Conclusion

Ce travail avait pour but principal de développer et étudier des nanohybrides photo-acitvés pour la thérapie contre le cancer. Une grande partie du travail expérimental a été effectuée en collaboration avec des chimistes, des biologistes et des médecins. Les nanoparticules d'or, connues pour leur biocompatibilité et leurs propriétes liées à la SPR, présentant une grande efficacité de conversion photothermique localisée, ce qui fait d'elles des objets très intéressants pour la thérapie par hyperthermie. Grâce à l'effet photothermique, nous avons souhaité déclencher le ciblage cellulaire de manière optique. Pour cela, des polymères thermosensibles ont été greffés à la surface de nanobâtonnets d'or, choisis pour la simpilicité d'accorder leur mode plasmon longitudinal à la fenêtre de transparence des tissus biologiques (650-1350 nm) et à la longueur d'onde de nos lasers (femtoseconde et continu) à ~ 800 nm. Selon le type de source lumineuse utilisé, les études optiques ont été naturellement effectuées sur deux échelles de temps différentes : le régime ultrarapide (la première picoseconde après excitation par une impulsion laser) et le régime thermique (au-delà de la nanoseconde). Pour le régime ultrarapide, nous nous somme intéressés à l'absorption d'impulsions laser ultracourtes par les AuNR, et au phénomène de photoluminescence. Pour le régime thermique, nous nous sommes focalisés sur l'efficacité de destruction cellulaire induit par l'effet photothermique localisé.

Dans un premier temps, nous avons rappelé les approches théoriques permettant de décrire la fonction diélectrique de l'or massif qui dépend de la distribution électronique, de la température électronique (à l'équilibre), et de la température du réseau métallique. A l'échelle nanométrique, les propriétés optiques des AuNP sont différentes de celles de l'état massif en raison du phénomène de SPR. La réponse optique de AuNR peut être calculée numériquement par la DDA ou la BEM. Dans le cas d'une excitation impulsionnelle, à cause de la dynamique des processus d'échange d'énergie, la distribution électronique évolue et avec elle les propriétés optiques des AuNP. Pour évaluer la variation de ces dernières pendant la première picoseconde suivant l'interaction avec une impulsion initiale, deux modèles peuvent être utilisés : le TTM et le modèle "athermal", qui tient compte de l'éventuelle nature non thermale de la distribution électronique. Le processus de conversion photothermique a ensuite été présenté dans le cas d'une sphère. Selon le type de source lumineuse utilisé, on peut moduler le confinement thermique. Plus l'impulsion est courte, plus l'échauffement est localisé. Enfin, nous avons décrit deux méthodes de ciblage cellulaire illustrées par des exemples de la littérature dans le cas d'applications biomédicales pour optimiser l'efficacité de destruction d'une tumeur cancéreuse. Nous pouvons utiliser, soit une vectorisation moléculaire pour obtenir un ciblage spécifique, soit un ciblage photo-induit par illumination de la tumeur traitée.

Dans le chapitre 2, nous avons effectué une étude à la fois expérimentale et théorique de la section efficace d'absorption de AuNR soumis à des impulsions ultracourtes. Avec une simple mesure de transmittance, nous avons mis en évidence l'influence des électrons chauds sur l'absorption

148 CONCLUSION

optique. Ceci démontre l'importance d'utiliser la section efficace d'absorption effective pour évaluer l'énergie absorbée lorsque les nanoparticules plasmoniques sont excitées par des impulsions ultracourtes. En mettant en œuvre le modèle athermal, nous avons montré que la variation de l'absorption optique est principalement due à l'amortissement de la résonance plasmon pendant le passage de l'impulsion. Lors de l'absorption de celle-ci, les états électroniques sous le niveau de Fermi sont creusés, ce qui induit la diminution du seuil interbande. Le plasmon est alors amorti par couplage avec les transitions interbandes. En même temps, les taux de collisions e-e et e-ph augmentent aussi avec la température électronique (réelle ou effective) et la température du réseau. Ceci accroît encore l'amortissement ultrarapide du plasmon. Selon l'intervalle spectral entre l'excitation et la LgSPR et selon l'intensité incidente, la variation d'absorption peut être positive ou négative. A énergie d'impulsion fixe, plus la durée d'impulsion est courte, plus la variation relative de la section efficace d'absorption effective par rapport à sa valuer en régime stationnaire est grande. En comparant ces résultats avec ceux obtenus par le TTM, nous avons aussi démontré l'importance de la nature athermale des électrons chauds. Lorsque les nanoparticules plasmoniques sont excitées par des impulsions ultracourtes, on suppose souvent que le système peut être considéré comme "gelé", et donc que l'énergie absorbée peut être calculée par les propriétés optiques stationnaires. Dans ce chapitre, nous avons démontré que l'évolution des propriétés optiques de nanoparticules plasmoniques n'est pas toujours négligeable dans le cas d'une excitation par des impulsions ultracourtes. Ceci s'avère important pour l'évaluation de l'énergie absorbée dans tous les développement de la plasmonique ultrarapide, dont les applications biomédicales.

Dans des conditions expérimentales où nous pouvons négliger la variation d'absorption optique due à l'amortissement ultrarapide de la résonance plasmon, nous avons effectué des études in vitro et in vivo avec des AuNR greffés par des polymères thermosensibles, décrites dans le troisième chapitre. Deux types de polymères sont utilisés : la Jeffamine et le PVCL. La LCST de ces polymères peut être choisie en modifiant, respectivement, leur composition et leur masse molaire moyenne. L'évolution du spectre d'absorption avec la température a été mesurée pour les AuNR@Jeffamine. Un changement de spectre irréversible dû à l'agrégation des nanohybrides sur les parois de la cuvette optique a été observé. Ceci prouve que le greffage a bien eu lieu en comparaison avec les résultats des AuNR sans greffage. Cependant, en éliminant l'effet des parois, nous n'avons pas observé de signature de l'agrégation des nanohybrides en solution. Cette mesure spectrométrique ne nous permet donc pas de déterminer la température de transition des nanohybrides. Pour étudier la transition de phase des nanohybrides dans le cadre de l'application biomédicale visée, il faudra effectuer des mesures microscopiques dans un environnement cellulaire. Par ailleurs, afin de diminuer la cytotoxcité des nanohybrides, nous avons établi un protocole de lavage avec du milieu de culture cellulaire complet. Les AuNR greffés par PVCL sont assez stables pour effectuer des expériences in vitro et in vivo. A même concentration en AuNR@PVCL, même durée d'irradiation et même intensité moyenne pour les deux lasers, nous avons démontré une meilleure efficacité du laser fs pour induire la mort cellulaire qu'avec le laser cw. Plusieurs hypothèse peuvent expliquer ce résultat : (a) échauffement plus intense au très proche voisinage des NP, générant (i) une transition de phase efficace du polymère greffé, et/ou (ii) un effet d'hyperthermie plus fort; (b) la génération d'effets additionnels (cavitation, production de ROS) favorisant la mort cellulaire. Cependant, nous n'avons pas observé d'effet de ciblage notable induit par le changement de conformation du PVCL greffé lors des expériences in vitro et in vivo. Ce résultat, qui corrobore l'absence de signature spectroscopique de la transition de phase évoquée ci-dessus, est très probablement imputable à la faible densité de greffage du polymère et à la faible longueur des chaînes. De plus, nous avons identifié un problème de vieillissement des solutions après lavage. Pour obtenir des résultats 149 CONCLUSION

plus concluants, il faudra pour la poursuite de ce travail bien caractériser la densité de greffage et l'évolution de la solution après lavage. Pour les études *in vivo* en vue de l'optimisation d'un protocole de traitement, il sera intéressant d'essayer des séances d'injection/irradiation répétées ainsi que des injections intratumorales pour optimiser l'accumulation de nanohybrides dans la tumeur et l'effet photothermique. Enfin, à la fin de ce chapitre 3, nous avons présenté des résultats préliminaires encourageants sur l'utilisation de la vectorisation par anticorps de nanocoquilles plasmoniques originales permettant de cibler efficacement les cellules tumorales et inhiber la croissance tumorale par illumination laser impulsionnelle répétée.

Enfin, nous nous sommes intéressés à la photoluminescence de nanoparticules plasmoniques. Dans un premier temps, nous avons présenté une synthèse bibliographique sur le sujet. Nous avons parcouru des articles selon la gamme d'énergie des photons émis par rapport à celle des photons d'excitation (1PPL et MPPL). Pour la 1PPL, la corrélation entre le spectre d'émission et la SPR est claire (superposition des pics et polarisation). La différence entre les mécanismes proposés par les multiples auteurs concerne la relaxation des porteurs (relaxation radiative de trous d ou relaxation non radiative de trous d en émettant un plasmon). La différence de durée de vie mesurée d'une étude à l'autre est très probablement due à la différente intensité incidente utilisée. Selon la gamme d'intensité, les poids respectifs des deux processus de relaxation proposés varient. La durée de vie des deux processus est différente, soit gouvernée par la durée de vie des trous d(quelques 10 fs), soit gouvernée par le temps de relaxation du mode plasmon (\sim ps). Pour la MPPL, la durée de vie mesurée (\sim ps) est similaire dans toutes les études. Le profil du spectre d'émission est très varié, et ne présente pas de signature apparente du plasmon à cause du filtrage de la lumière excitatrice, accordée la plupart du temps à la SPR. Pour expliquer la réponse non linéaire de la PL, trois mécanismes sont proposés : l'absorption multiphotonique séquentielle, la diffusion Raman électronique et le rayonnement thermique. L'importance à la fois de la durée de l'impulsion et de la gamme d'intensité incidente sont démontrés pour les trois mécanismes. Comme pour la 1PPL, le mécanisme dominant dépend sûrement de l'intensité incidente. Cependant, les trois mécanismes proposés par les différents auteurs présentent des faiblesses, et ils ne peuvent expliquer à chaque fois qu'une partie des résultats expérimentaux reportés. Dans un deuxième temps, souhaitant tirer partie de notre approche théorique déjà exploitée au chapitre 2, nous avons présenté un modèle basé sur le rayonnement thermique sous relativement haute intensité d'excitation. Nous avons pour cela raffiné le modèle de l'équipe de Lupton sur certains points : l'évolution de la distribution électronique est déterminée en tenant compte de sa nature non thermale, et nous incluons l'évolution de la PDOS dans le calcul. Nous avons montré que, comme avec le modèle de rayonnement thermique, l'ordre de la non-linéarité de PL varie linéairement avec l'énergie des photons émis. Cependant, la valeur de l'ordre de non-linéarité est très faible par rapport à celles mesurées expérimentalement et reportées dans plusieurs articles. Dans notre modèle nous avons supposé que la loi de Kichhoff est valable à chaque instant. Cette hypothèse est discutable lorsque la distribution électronique est hors équilibre. De plus, l'évaluation de la température électronique à partir d'une distribution électronique athermale est aussi à revisiter. Comme nous l'avons vu dans ce chapitre, la PL peut être générée par une combinaison de différents processus de relaxation; dans l'intervalle de temps où la distribution électronique est athermale, la contribution du rayonnement thermique peut être minoritaire. Il s'avère donc nécessaire de raffiner notre modèle pour le calcul de la lumière émise à partir d'une distribution électronique hors équilibre afin d'interpréter plus correctement l'ensemble des caractéristiques de la PL mesurée dans différentes conditions expérimentales.

150 CONCLUSION

Annexe A

Système de circulation microfludique

Nous notons la configuration de OB1 comme $\{P1,P2\}$ en bar, et la configuration de MUX comme $\{V1, V2, V3, V4\}$, avec $Vi \in \{0,1\}$, et $i \in [\![1..4]\!]$; Vi=1 désigne la valve ouverte, Vi=0 sinon. On commute donc la vidange des réservoirs tout en gardant le même sens de circulation dans la cuvette avec 2 combinaisons de configuration de OB1 et de MUX définies suivant :

- OB1 Config. 1 (P1>P2) + MUX Config. 1 $\{1,0,0,1\}$
- OB1 Config. 2 (P2>P2) + MUX Config. 1 $\{0,1,1,0\}$.

Pour assurer une circulation continue pendant toute l'expérience, j'ai réalisé un programme qui pilote OB1 et MUX. Le schéma du programme est présenté dans la Fig. A.1. Ce programme de

1	MUX {0, 0, 0, 0}
2	OB1 Config.1 {2, 0}
3	MUX Config.1 {1, 0, 0, 1}
4	Wait 30 s
5	MUX {0, 0, 0, 0}
6	OB1 Config.2 {0, 2}
7	MUX Config.2 {0, 1, 1, 0}
8	Wait 30 s
9	Go to 3 – 200 times
10	MUX {0, 0, 0, 0}
11	END

Fig. A.1 – Schéma du programme de pilotage du système microfluidique.

"stop-go" dure 1 minute pour chaque boucle. La configuration MUX $\{0,0,0,0\}$ signifie que toute les valves sont fermées, la circulation s'arrête. L'intérêt de cette étape est de ne pas faire revenir les AuNR irradiés sous les faisceaux laser. Chaque réservoir se vide pendant 30 s pour éviter

leur vidange complète. On répète cette boucle 200 fois, ce qui est largement suffisant pour notre expérience. Le temps de réponse entre chaque étape est d'environ 20 ms. La durée pendant laquelle le flux s'arrête est donc négligeable par rapport au temps de mesure, qui est de l'ordre de la seconde.

Abréviations

Abréviation Signification

LPQM Laboratoire de Photonique Quantique et Moléculaire

SPR Résonance de plasmon de surface, surface plasmon resonance

AuNR Nanobâtonnet d'or

Lg Longitudinal

Lasik Laser-Assisted In-Situ Keratomileusis

ROS Dérivés réactifs de l'oxygène, reactive oxygen species

AuNP Nanoparticule d'or JDOS Densité d'états jointe

EDJDOS Distribution en énergie de la densité d'états jointe

RA Rapport d'aspect
AuNS Nanosphère d'or
Tr Transverse

DDA Approximation des dipôles discrets BEM Méthode des éléments frontières

STAT Méthode BEM quasistatique standard

EIG Méthode BEM quasistatique sur un nombre fini de modes propres

TTM Modèle à deux températures
TPT Thérapie photothermique

CTAB Bromure de cétyltriméthylammonium EPR $Enhanced\ permeability\ and\ retention$

PEG Polyéthylène glycol

pGSN PEG-functionalized gold nanoshell on silica nanorattle

Tf Transferrine
Doc Docétaxel

NIR Proche infrarouge

LCST Lower critical solution temperature
pNIPAM Poly(N-isopropylacrylamide)

Dox Doxorubicine

Nanocom AuNR recouvert de silice puis greffés par pNIPAM

PBS Phosphate buffered saline

SIMM Laboratoire Sciences et Ingénierie de la Matière Molle

ESPCI Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la ville de Paris

MET Microscopie électronique en transmission cw Caractère continu d'une source laser

D.O Densité optique

154 ABREVIATIONS

OB1 Source de pression du système microfluidique

MUX Système de control de matrice de valve microfluidique

ANR Agence nationale de la recherche LCP Laboratoire de Chimie Physique

PVCL Polyvinylcaprolactame
PO Oxyde de propylène
EO Oxyde d'éthylène

M600 Monoamine Jeffamine ayant un rapport EO/PO égal à 1/9

et une masse molaire de 600 g/mol

M1000 Monoamine Jeffamine ayant un rapport EO/PO égal à 19/3

et une masse molaire de 1000 g/mol

PPG Polypropylène glycol

DHLA- Modifié par l'acide dihydrolipoïque

THF Tétrahydrofurane

SEC Chromatographie d'exclusion stérique, size exlusion chromatography

DMEM Dulbecco's modified eagl's medium

MTT Bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium

HSA Albumine de sérum humain NMRI Naval Medical Research Institute

Nec Tissu tumoral nécrosé Viv Tissu tumoral vivant

ICP-MS Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif

HES Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine HER2 Human epidermal growth factor receptor 2

PVIS Poly(vinylimidazole-co-silane)

PL Photoluminescence

1PPL Photoluminescence à 1 photon
MPPL Photoluminescence multiphotonique
2PPL Photoluminescence à 3 photon
PDOS Densité d'états photonique
EDOS Densité d'états électronique
SHG Génération de second harmonique

AuNW Nanofil d'or

BBO β -borate de baryum

Bibliographie

- [1] "Colours in metal glasses and in metallic films," *Philos. Trans. R. Soc. London*, vol. 203, no. 359-371, pp. 385-420, 1904.
- [2] G. Mie, "Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen," Ann. Phys., vol. 330, pp. 377–445, 1908.
- [3] S. Link and M. A. El-Sayed, "Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods," J. Phys. Chem. B, vol. 103, no. 40, pp. 8410–8426, 1999.
- [4] A. M. Smith, M. C. Mancini, and S. Nie, "Second window for in vivo imaging," *Nature Nanotech.*, vol. 4, pp. 710, 11 2009.
- [5] N. R. Jana, L. Gearheart, and C. J. Murphy, "Wet chemical synthesis of high aspect ratio cylindrical gold nanorods," J. Phys. Chem. B, vol. 105, no. 19, pp. 4065–4067, 2001.
- [6] X. Ye, L. Jin, H. Caglayan, J. Chen, G. Xing, C. Zheng, V. Doan-Nguyen, Y. Kang, N. Engheta, C. R. Kagan, and C. B. Murray, "Improved size-tunable synthesis of monodisperse gold nanorods through the use of aromatic additives," ACS Nano, vol. 6, no. 3, pp. 2804–2817, 2012, PMID: 22376005.
- [7] C. K. Sun, F. Vallée, L. H. Acioli, E. P. Ippen, and J. G. Fujimoto, "Femtosecond-tunable measurement of electron thermalization in gold," *Phys. Rev. B*, vol. 50, pp. 15337–15348, Nov 1994.
- [8] Y. Guillet, E. Charron, and B. Palpant, "Spectral dependence of the ultrafast optical response of nonspherical gold nanoparticles," *Phys. Rev. B*, vol. 79, pp. 195432, May 2009.
- [9] H. Baida, D. Mongin, D. Christofilos, G. Bachelier, A. Crut, P. Maioli, N. Del Fatti, and F. Vallée, "Ultrafast nonlinear optical response of a single gold nanorod near its surface plasmon resonance," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 107, pp. 057402, 2011.
- [10] X. Wang, Y. Guillet, P. R. Selvakannan, H. Remita, and B. Palpant, "Broadband spectral signature of the ultrafast transient optical response of gold nanorods," J. Phys. Chem. C, vol. 119, no. 13, pp. 7416–7427, 2015.
- [11] D. Du, X. Liu, G. Korn, J. Squier, and G. Mourou, "Laser-induced breakdown by impact ionization in SiO2 with pulse widths from 7 ns to 150 fs," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 64, no. 23, pp. 3071–3073, 1994.
- [12] Vikram Kohli, Abdulhakem Y. Elezzabi, and Jason P. Acker, "Cell nanosurgery using ultrashort (femtosecond) laser pulses: Applications to membrane surgery and cell isolation," *Lasers Surg. Med.*, vol. 37, no. 3, pp. 227–230, 2005.
- [13] G. Baffou and H. Rigneault, "Femtosecond-pulsed optical heating of gold nanoparticles," Phys. Rev. B, vol. 84, pp. 035415, Jul 2011.

[14] P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Piette, B. C. Wilson, and J. Golab, "Photodynamic therapy of cancer: An update," CA: A Cancer J. Clin., vol. 61, no. 4, pp. 250–281.

- [15] E. Boulais, R. Lachaine, and M. Meunier, "Plasma-mediated nanocavitation and photothermal effects in ultrafast laser irradiation of gold nanorods in water," *J. Phys. Chem. C*, vol. 117, no. 18, pp. 9386–9396, 2013.
- [16] E. E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C. J. Murphy, and M. D. Wyatt, "Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity," *Small*, vol. 1, no. 3, pp. 325–327.
- [17] J. M. Bergen, H. A. V. Recum, Goodman. T. T., A. P. Massey, and S. H. Pun, "Gold nanoparticles as a versatile platform for optimizing physicochemical parameters for targeted drug delivery," *Macromol. Biosci.*, vol. 6, no. 7, pp. 506–516, 2006.
- [18] B. Y. Kogan, N. V. Andronova, N. G. Khlebtsov, B. N. Khlebtsov, V. M. Rudoy, O. V. Dement'eva, E. V. Sedykh, and L. N. Bannykh, "Pharmacokinetic study of pegylated plasmon resonant gold nanoparticles in tumor-bearing mice," NSTI-Nanotech., vol. 2, pp. 65–68, 2008.
- [19] M. B. Mohamed, V. Volkov, S. Link, and M. A. El-Sayed, "The 'lightning' gold nanorods: fluorescence enhancement of over a million compared to the gold metal," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 317, no. 6, pp. 517 523, 2000.
- [20] K. Imura, T. Nagahara, and H. Okamoto, "Near-field two-photon-induced photoluminescence from single gold nanorods and imaging of plasmon modes," J. Phys. Chem. B, vol. 109, no. 27, pp. 13214–13220, 2005.
- [21] Y. N. Hwang, D. H. Jeong, H. J. Shin, D. Kim, S. C. Jeoung, S. H. Han, J. S. Lee, and G. Cho, "Femtosecond emission studies on gold nanoparticles," *J. Phys. Chem. B*, vol. 106, no. 31, pp. 7581–7584, 2002.
- [22] Haifeng Wang, Terry B Huff, Daniel A Zweifel, Wei He, Philip S Low, Alexander Wei, and Ji-Xin Cheng, "In vitro and in vivo Two-Photon Luminescence Imaging of Single Gold Nanorods.," Proc. Nati. Acad. Sci. U.S.A., vol. 102, no. 44, pp. 15752–6, Nov. 2005.
- [23] T. Labouret, Irradiation laser ultrabrève de nanobâtonnets d'or individuels en milieu aqueux : photo-génération de phénomènes d'intérêt biomédical, thèse de l'Université Paris-Saclay, 2016.
- [24] J. D. Jackson, Electrodynamique Classique, Dunod, Paris, 2001.
- [25] E. L. Green and L. Muldawer, "Optical properties of the alpha-phase alloys Ag-Zn and Ag-Cd," *Phys. Rev. B*, vol. 2, pp. 330–340, Jul 1970.
- [26] G. W. Rubloff, "Normal-incidence reflectance, optical properties, and electronic structure of Zn," Phys. Rev. B, vol. 3, pp. 285–292, Jan 1971.
- [27] P. B. Johnson and R. W. Christy, "Optical constants of the noble metals," Phys. Rev. B, vol. 6, pp. 4370–4379, Dec 1972.
- [28] E. D. Palik, Handbook of Optical Constants of Solids, Academic Press, 1985.
- [29] B. Palpant, Cours Plasmonique, Master LuMI, Sorbonne Université, 2014.
- [30] N. W. Ashcroft and N. D. Mermin, Solid State Physics, Saunders College, Philadelphia, 1976.
- [31] J. M. Ziman, Electrons and Phonons, Clarendon Press, Oxford, 1960.

[32] R. N. Gurzhi, "Mutual electron correlations in metal optics," J. Exp. Theor. Phys, vol. 35, no. 8, pp. 673–675, 1959.

- [33] C. Voisin, Etude femtoseconde de la dynamique électronique et vibrationnelle dans des nanoparticules métalliques, thèse de l'Université Paris XI, 2001.
- [34] Y. Guillet, Dynamique de la réponse optique non-linéaire ultra-rapide d'une assemblée de nanoparticules d'or, thèse de l'Université Pierre et Marie Curie, 2007.
- [35] X. Wang, Photo-induced ultrafast optical and thermal responses of gold nanoparticles, thèse de l'Université Pierre et Marie Curie, 2013.
- [36] J. M. Ziman, Principles of the theory of solids, Cambridge University Press, Cambridge, 1969.
- [37] M. Guerrisi, R. Rosei, and P. Winsemius, "Splitting of the interband absorption edge in Au," Phys. Rev. B, vol. 12, pp. 557–563, Jul 1975.
- [38] N. E. Christensen and B. O. Seraphin, "Relativistic band calculation and the optical properties of gold," *Phys. Rev. B*, vol. 4, pp. 3321–3344, Nov 1971.
- [39] R. Rosei, F. Antonangeli, and U. M. Grassano, "d bands position and width in gold from very low temperature thermomodulation measurements," Surf. Sci., vol. 37, pp. 689 – 699, 1973.
- [40] T. Stoll, P. Maioli, A. Crut, N. Del Fatti, and F. Vallée, "Advances in femto-nano-optics: ultrafast nonlinearity of metal nanoparticles," Eur. Phys. J. B, vol. 87, no. 11, pp. 260, Nov 2014.
- [41] R. Rosei, "Temperature modulation of the optical transitions involving the Fermi surface in Ag: Theory," *Phys. Rev. B*, vol. 10, pp. 474–483, Jul 1974.
- [42] R. Carminati, Cours Ondes en milieux complexes, ESPCI Paris, 2014.
- [43] S. A. Maier, Plasmonics: fundamentals and applications, Springer, Bath, UK, 2006.
- [44] B. Palpant, B. Prével, J. Lermé, E. Cottancin, M. Pellarin, M. Treilleux, A. Perez, J. L. Vialle, and M. Broyer, "Optical properties of gold clusters in the size range 2–4 nm," Phys. Rev. B, vol. 57, pp. 1963–1970, Jan 1998.
- [45] U. Kreibig and C. V. Fragstein, "The limitation of electron mean free path in small silver particles," *Zeitschrift fur Physik*, vol. 224, pp. 307–323, Aug. 1969.
- [46] A. Liebsch, "Surface-plasmon dispersion and size dependence of Mie resonance: Silver versus simple metals," *Phys. Rev. B*, vol. 48, pp. 11317–11328, Oct 1993.
- [47] E. M. Purcell and C. R. Pennypacker, "Scattering and Absorption of Light by Nonspherical Dielectric Grains," Astrophys. J., vol. 186, pp. 705–714, Dec. 1973.
- [48] B. T. Draine and P. J. Flatau, "Discrete-dipole approximation for scattering calculations," J. Opt. Soc. Am. A, vol. 11, no. 4, pp. 1491–1499, Apr 1994.
- [49] U. Hohenester and A. Truegler, "MNPBEM a matlab toolbox for the simulation of plasmonic nanoparticles," *Comput. Phys. Commun.*, vol. 183, no. 2, pp. 370 381, 2012.
- [50] B. T. Draine and P. J. Flatau, "Discrete-dipole approximation for periodic targets: theory and tests," J. Opt. Soc. Am. A, vol. 25, no. 11, pp. 2693–2703, Nov 2008.
- [51] P. J. Flatau and B. T. Draine, "Fast near field calculations in the discrete dipole approximation for regular rectilinear grids," *Opt. Express*, vol. 20, no. 2, pp. 1247–1252, Jan 2012.

[52] B. T. Draine and P. J. Flatau, "User guide for the discrete dipole approximation code ddscat 7.3," arXiv preprint arXiv, 02 2010.

- [53] "MNPBEM, a Matlab toolbox," http://physik.uni-graz.at/~uxh/mnpbem/mnpbem.html, version 13.
- [54] B. Palpant, "Photothermal properties of gold nanoparticles," in Gold Nanoparticles for Physics, Chemistry and Biology, C. Louis and O. Pluchery, Eds., pp. 87–130. World Scientific, 2017.
- [55] D. R. Lide, CRC Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, Coca Raton, 1993.
- [56] Z. Lin, L. V. Zhigilei, and V. Celli, "Electron-phonon coupling and electron heat capacity of metals under conditions of strong electron-phonon nonequilibrium," *Phys. Rev. B*, vol. 77, pp. 075133, Feb 2008.
- [57] C. Voisin, D. Christofilos, N. Del Fatti, F. Vallée, B. Prével, E. Cottancin, J. Lermé, M. Pellarin, and M. Broyer, "Size-dependent electron-electron interactions in metal nanoparticles," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 85, pp. 2200–2203, Sep. 2000.
- [58] W. S. Fann, R. Storz, H. W. K. Tom, and J. Bokor, "Electron thermalization in gold," Phys. Rev. B, vol. 46, pp. 13592–13595, Nov 1992.
- [59] Y. Guillet, M. Rashidi-Huyeh, and B. Palpant, "Influence of laser pulse characteristics on the hot electron contribution to the third-order nonlinear optical response of gold nanoparticles," *Phys. Rev. B*, vol. 79, pp. 045410, Jan 2009.
- [60] P. Grua, J. P. Morreeuw, H. Bercegol, G. Jonusauskas, and F. Vallée, "Electron kinetics and emission for metal nanoparticles exposed to intense laser pulses," *Phys. Rev. B*, vol. 68, pp. 035424, Jul 2003.
- [61] M. Rashidi-Huyeh, S. Volz, and B. Palpant, "Non-Fourier heat transport in metal-dielectric core-shell nanoparticles under ultrafast laser pulse excitation," *Phys. Rev. B*, vol. 78, pp. 125408, Sep 2008.
- [62] G. Baffou, R. Quidant, and C. Girard, "Thermoplasmonics modeling: A Green's function approach," Phys. Rev. B, vol. 82, pp. 165424, Oct 2010.
- [63] S. Ju, B. Palpant, and Y. Chalopin, "Adverse effects of polymer coating on heat transport at the solid-liquid interface," J. of Phys. Chem. C, vol. 121, no. 25, pp. 13474–13480, 2017.
- [64] M. Hu and G. V. Hartland, "Heat dissipation for au particles in aqueous solution: Relaxation time versus size," *J. Phys. Chem. B*, vol. 106, no. 28, pp. 7029–7033, 2002.
- [65] M. Rashidi-Huyeh and B. Palpant, "Thermal Response of Nanocomposite Materials Under Pulsed Laser Excitation," J. Appl. Phys., vol. 96, no. 8, pp. 4475–4482, Oct. 2004.
- [66] G. Baffou, R. Quidant, and F. J. García de Abajo, "Nanoscale control of optical heating in complex plasmonic systems," ACS Nano, vol. 4, no. 2, pp. 709–716, 2010.
- [67] R. R. Anderson and J. A. Parrish, "Microvasculature can be selectively damaged using dye lasers: A basic theory and experimental evidence in human skin," *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 1, no. 3, pp. 263–276, 1981.
- [68] W. R. Chen, R. L. Adams, S. Heaton, D. A. Dickey, K. E. Bartels, and R. E. Nordquist, "Chromophore-enhanced laser-tumor tissue photothermal interaction using an 808-nm diode laser.," Cancer Lett., vol. 88 1, pp. 15–9, 1995.
- [69] C. W. Kuo, J. J. Lai, K. H. Wei, and P. Chen, "Studies of surface-modified gold nanowires inside living cells," Adv. Funct. Mater., vol. 17, no. 18, pp. 3707–3714, 2007.

[70] S. Wang, W. Lu, O. Tovmachenko, U. S. Rai, H. Yu, and P. C. Ray, "Challenge in understanding size and shape dependent toxicity of gold nanomaterials in human skin keratinocytes," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 463, no. 1, pp. 145 – 149, 2008.

- [71] D. Pissuwan, S. M. Valenzuela, M. C. Killingsworth, X. Xu, and M. B. Cortie, "Targeted destruction of murine macrophage cells with bioconjugated gold nanorods," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 9, no. 6, pp. 1109–1124, Dec 2007.
- [72] C. Su, H. Sheu, C. Lin, C. Huang, Y. Lo, Y. Pu, J. Weng, D. Shieh, J. Chen, and C. Yeh, "Nanoshell magnetic resonance imaging contrast agents," J. Am. Chem. Soc., vol. 129, no. 7, pp. 2139–2146, 2007.
- [73] X. Huang, B. Zhang, L. Ren, S. Ye, L. Sun, Q. Zhang, M. Tan, and G. Chow, "In vivo toxic studies and biodistribution of near infrared sensitive Au-Au(2)S nanoparticles as potential drug delivery carriers.," J. Mat. Sci. Mat. in Med., vol. 19 7, pp. 2581–8, 2008.
- [74] Z. Zhang, J. Wang, X. Nie, T. Wen, Y. Ji, X. Wu, Y. Zhao, and C. Chen, "Near infrared laser-induced targeted cancer therapy using thermoresponsive polymer encapsulated gold nanorods," J. Am. Chem. Soc., vol. 136, no. 20, pp. 7317–7326, 2014.
- [75] Y. Matsumura and H. Maeda, "A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs," Cancer Res., vol. 46, no. 12 Part 1, pp. 6387–6392, 1986.
- [76] K. Greish, Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect for Anticancer Nanomedicine Drug Targeting, pp. 25–37, Humana Press, Totowa, NJ, 2010.
- [77] C. J. Scott, W. M. Marouf, D. J. Quinn, R. J. Buick, S. J. Orr, R. F. Donnelly, and P. A. McCarron, "Immunocolloidal targeting of the endocytotic siglec-7 receptor using peripheral attachment of siglec-7 antibodies to poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles," *Pharm. Res.*, vol. 25, no. 1, pp. 135—146, January 2008.
- [78] A. Cirstoiu-Hapca, F. Buchegger, N. Lange, L. Bossy, R. Gurny, and F. Delie, "Benefit of anti-her2-coated paclitaxel-loaded immuno-nanoparticles in the treatment of disseminated ovarian cancer: Therapeutic efficacy and biodistribution in mice," *J. Control. Release*, vol. 144, no. 3, pp. 324—331, June 2010.
- [79] J. W. Park, D. B. Kirpotin, K. Hong, R. Shalaby, Y. Shao, U.B. Nielsen, J.D. Marks, D. Papahadjopoulos, and C.C. Benz, "Tumor targeting using anti-HER2 immunoliposomes," J. Control. Release, vol. 74, no. 1, pp. 95 – 113, 2001, Proceeding of the International Symposium on Tumor Targeted Delivery Systems.
- [80] G. Tuffin, E. Waelti, J. Huwyler, C. Hammer, and H. P. Marti, "Immunoliposome targeting to mesangial cells: A promising strategy for specific drug delivery to the kidney," J. Am. Soc. Nephrol., vol. 16, no. 11, pp. 3295–3305, 2005.
- [81] C. Loo, A. Lowery, N. Halas, J. West, and R. Drezek, "Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy," *Nano Lett.*, vol. 5, no. 4, pp. 709–711, 2005.
- [82] F. Fay and C. J. Scott, "Antibody-targeted nanoparticles for cancer therapy," Immunotherapy, vol. 3, no. 3, pp. 381–394, 2011.
- [83] H. Liu, T. Liu, X. Wu, L. Li, L. Tan, D. Chen, and F. Tang, "Targeting gold nanoshells on silica nanorattles: a drug cocktail to fight breast tumors via a single irradiation with near-infrared laser light," Adv. Mat., vol. 24, no. 6, pp. 755–761, 2011.
- [84] K. C. Gatter, G. Brown, I. S. Trowbridge, R. E. Woolston, and D. Mason, "Transferrin receptors in human tissues: their distribution and possible clinical relevance.," J. Clin. Pathol., vol. 36 5, pp. 539–45, 1983.

[85] J. E. Chung, M. Yokoyama, M. Yamato, T. Aoyagi, Y. Sakurai, and T. Okano, "Thermoresponsive drug delivery from polymeric micelles constructed using block copolymers of poly(n-isopropylacrylamide) and poly(butylmethacrylate)," J. Control. Release, vol. 62, no. 1, pp. 115 – 127, 1999.

- [86] T. Labouret, J. F. Audibert, R. B. Pansu, and B. Palpant, "Plasmon-assisted production of reactive oxygen species by single gold nanorods," Small, vol. 11, no. 35, pp. 4475–4479, 2015.
- [87] T. Haug, P. Klemm, S. Bange, and J. M. Lupton, "Hot-electron intraband luminescence from single hot spots in noble-metal nanoparticle films," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 115, pp. 067403, Aug 2015.
- [88] R. Méjard, A. Verdy, M. Petit, A. Bouhelier, B. Cluzel, and O. Demichel, "Energy-resolved hot-carrier relaxation dynamics in monocrystalline plasmonic nanoantennas," ACS Photonics, vol. 3, no. 8, pp. 1482–1488, 2016.
- [89] T. Labouret and B. Palpant, "Nonthermal model for ultrafast laser-induced plasma generation around a plasmonic nanorod," *Phys. Rev. B*, vol. 94, pp. 245426, 2016.
- [90] P. Zilio, M. Dipalo, F. Tantussi, G. C Messina, and F. de Angelis, "Hot electrons in water: Injection and ponderomotive acceleration by means of plasmonic nanoelectrodes," *Light Sci. Appl.*, vol. 6, pp. e17002, 2017.
- [91] O. Ekici, R.-K. Harrison, N.-J. Durr, D.-S. Eversole, M. Lee, and A. Ben-Yakar, "Thermal analysis of gold nanorods heated with femtosecond laser pulses," *J. Phys. D : Appl. Phys.*, vol. 41, no. 18, pp. 185501, Aug. 2008.
- [92] H. Petrova, J. Perez Juste, I. Pastoriza-Santos, G. V. Hartland, L. M. Liz-Marzan, and P. Mulvaney, "On the temperature stability of gold nanorods: Comparison between thermal and ultrafast laser-induced heating," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 8, pp. 814–821, 2006.
- [93] X. Hou, N. Djellali, and B. Palpant, "Absorption of ultrashort laser pulses by plasmonic nanoparticles: Not necessarily what you might think," ACS Photonics, vol. 5, no. 9, pp. 3856–3863, 2018.
- [94] E. Boulais, R. Lachaine, and M. Meunier, "Plasma mediated off-resonance plasmonic enhanced ultrafast laser-induced nanocavitation," *Nano Lett*, vol. 12, no. 9, pp. 4763–4769, 2012.
- [95] J. H. Hodak, I. Martini, and G. V. Hartland, "Observation of acoustic quantum beats in nanometer sized au particles," J. Chem. Phys., vol. 108, no. 22, pp. 9210–9213, 1998.
- [96] M. Moocarme, B. Kusin, and L. T. Vuong, "Plasmon-induced Lorentz forces of nanowire chiral hybrid modes," Opt. Mater. Express, vol. 4, no. 11, pp. 2355–2367, Nov 2014.
- [97] T. Stoll, P. Maioli, A. Crut, S. Rodal-Cedeira, I. Pastoriza-Santos, F. Vallée, and N. Del Fatti, "Time-resolved investigations of the cooling dynamics of metal nanoparticles: Impact of environment," J. Phys. Chem. C, vol. 119, no. 22, pp. 12757–12764, 2015.
- [98] S. C. Nguyen, Q. Zhang, K. Manthiram, X. Ye, J. P. Lomont, C. B. Harris, H. Weller, and A. P. Alivisatos, "Study of heat transfer dynamics from gold nanorods to the environment via time-resolved infrared spectroscopy," ACS Nano, vol. 10, no. 2, pp. 2144–2151, 2016.
- [99] K. Roejarek, Y. Bo, and X. Su, "UV-vis spectroscopy and dynamic light scattering study of gold nanorods aggregation.," *Nucleic Acid Ther.*, vol. 23 4, pp. 273–80, 2013.
- [100] A. Plech, R. Cerna, V. Kotaidis, F. Hudert, A. Bartels, and T. Dekorsy, "A surface phase transition of supported gold nanoparticles," *Nano Lett.*, vol. 7, no. 4, pp. 1026–1031, 2007.

[101] Y. Gan and S. Jiang, "Ultrafast laser-induced premelting and structural transformation of gold nanorod," J. Appl. Phys., vol. 113, no. 7, pp. 073507, 2013.

- [102] S. Link and M. A. El-Sayed, "Spectroscopic determination of the melting energy of a gold nanorod," J. Chem. Phys., vol. 114, no. 5, pp. 2362–2368, 2001.
- [103] A. B. Taylor, A. M. Siddiquee, and J. W. M. Chon, "Below melting point photothermal reshaping of single gold nanorods driven by surface diffusion," ACS Nano, vol. 8, no. 12, pp. 12071–12079, 2014.
- [104] S. Link, C. Burda, B. Nikoobakht, and M.A. El-Sayed, "How long does it take to melt a gold nanorod?: A femtosecond pump-probe absorption spectroscopic study," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 315, no. 1, pp. 12 18, 1999.
- [105] A. Plech, V. Kotaidis, S. Grésillon, C. Dahmen, and G. von Plessen, "Laser-induced heating and melting of gold nanoparticles studied by time-resolved X-ray scattering," *Phys. Rev. B*, vol. 70, pp. 195423, Nov 2004.
- [106] G. A. Wurtz, R. Pollard, W. Hendren, G. P. Wiederrecht, D. J. Gosztola, V. A. Podolskiy, and A. V. Zayats, "Designed ultrafast optical nonlinearity in a plasmonic nanorod metamaterial enhanced by nonlocality," *Nature Nanotech.*, vol. 6, no. 2, pp. 107–111, 2011.
- [107] X. Wang, R. Morea, J. Gonzalo, and B. Palpant, "Coupling localized plasmonic and photonic modes tailors and boosts ultrafast light modulation by gold nanoparticles," *Nano Lett.*, vol. 15, no. 4, pp. 2633–2639, 2015.
- [108] C. Molinaro, Y. El Harfouch, E. Palleau, F. Eloi, S. Marguet, L. Douillard, F. Charra, and C. Fiorini-Debuisschert, "Two-photon luminescence of single colloidal gold nanorods: Revealing the origin of plasmon relaxation in small nanocrystals," J. Phys. Chem. C, vol. 120, no. 40, pp. 23136–23143, 2016.
- [109] E. Boulais, R. Lachaine, A. Hatef, and M. Meunier, "Plasmonics for pulsed-laser cell nanosurgery: Fundamentals and applications," J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev, vol. 17, pp. 26 – 49, 2013.
- [110] R. Lachaine, E. Boulais, and M. Meunier, "From thermoto plasma-mediated ultrafast laser-induced plasmonic nanobubbles," ACS Photonics, vol. 1, no. 4, pp. 331–336, Apr. 2014.
- [111] R. Vankayala, A. Sagadevan, P. Vijayaraghavan, C. Kuo, and K. C. Hwang, "Metal nanoparticles sensitize the formation of singlet oxygen," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 50, no. 45, pp. 10640–10644, 2011.
- [112] L. Minai, D. Yeheskely-Hayon, and D. Yelin, "High levels of reactive oxygen species in gold nanoparticle-targeted cancer cells following femtosecond pulse irradiation.," Sci. Rep., vol. 3, pp. 2146, Jan. 2013.
- [113] L. J. E. Anderson, E. Hansen, E. Y. Lukianova-Hleb, J. H. Hafner, and D. O. Lapotko, "Optically guided controlled release from liposomes with tunable plasmonic nanobubbles," J. Control. Release, vol. 144, no. 2, pp. 151 – 158, 2010.
- [114] J. Shao, R. J. Griffin, E. I. Galanzha, J. W. Kim, N. Koonce, J. Webber, T. Mustafa, A. S. Biris, D. A. Nedosekin, and V. P. Zharov, "Photothermal nanodrugs: Potential of TNF-gold nanospheres for cancer theranostics," Sci. Rep., vol. 3, pp. 1293, 2013.
- [115] T. Kawano, Y. Niidome, T. Mori, Y. Katayama, and T. Niidome, "PNIPAM gel-coated gold nanorods for targeted delivery responding to a near-infrared laser," *Bioconjugate Chem.*, vol. 20, no. 2, pp. 209–212, 2009.

[116] Y. Shen, M. Kuang, Z. Shen, J. Nieberle, H. Duan, and H. Frey, "Gold nanoparticles coated with a thermosensitive hyperbranched polyelectrolyte: Towards smart temperature and pH nanosensors," Angew. Chem. Int. Ed., vol. 47, no. 12, pp. 2227–2230, 2008.

- [117] Q. Wei, J. Ji, and J. Shen, "Synthesis of near-infrared responsive gold nanorod/PNIPAAm core/shell nanohybrids via surface initiated ATRP for smart drug delivery," *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 29, no. 8, pp. 645–650, 2008.
- [118] P. Winkler, M. Belitsch, A. Tischler, V. Häfele, H. Ditlbacher, J. R. Krenn, A. Hohenau, M. Nguyen, N. Félidj, and C. Mangeney, "Nanoplasmonic heating and sensing to reveal the dynamics of thermoresponsive polymer brushes," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 107, no. 14, pp. 141906, 2015.
- [119] S. Fujishige, K. Kubota, and I. Ando, "Phase transition of aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylmethacrylamide)," J. Phys. Chem., vol. 93, no. 8, pp. 3311–3313, 1989.
- [120] C. Durand-Gasselin, M. Capelot, N. Sanson, and N. Lequeux, "Tunable and reversible aggregation of poly(ethylene oxide-st-propylene oxide) grafted gold nanoparticles," *Langmuir*, vol. 26, no. 14, pp. 12321–12329, 2010.
- [121] H. Cheng, L. Shen, and C. Wu, "LLS and FTIR studies on the hysteresis in association and dissociation of poly(N-isopropylacrylamide) chains in water," *Macromolecules*, vol. 39, no. 6, pp. 2325–2329, 2006.
- [122] M. Nguyen, X. Sun, E. Lacaze, P. M. Winkler, A. Hohenau, J. R. Krenn, C. Bourdillon, A. Lamouri, J. Grand, G. Lévi, L. Boubekeur-Lecaque, C. Mangeney, and N. Félidj, "Engineering thermoswitchable lithographic hybrid gold nanorods as plasmonic devices for sensing and active plasmonics applications," ACS Photonics, vol. 2, no. 8, pp. 1199–1208, 2015.
- [123] Z. Li, R. Jin, C. A. Mirkin, and R. L. Letsinger, "Multiple thiol-anchor capped DNA-gold nanoparticle conjugates," *Nucleic Acids Res.*, vol. 30, no. 7, pp. 1558–1562, 4 2002.
- [124] C. Pfeiffer, C. Rehbock, D. Hühn, C. Carrillo-Carrion, D. J. de Aberasturi, V. Merk, S. Barcikowski, and W. J. Parak, "Interaction of colloidal nanoparticles with their local environment: the (ionic) nanoenvironment around nanoparticles is different from bulk and determines the physico-chemical properties of the nanoparticles," J. Royal Soc. Interface, vol. 11, no. 96, 2014.
- [125] K. Y. van Berkel and C. J. Hawker, "Tailored composite polymer-metal nanoparticles by miniemulsion polymerization and thiol-ene functionalization," J. Polym. Sci. Pol. Chem., vol. 48, no. 7, pp. 1594–1606.
- [126] Y. Maeda, T. Nakamura, and I. Ikeda, "Hydration and phase behavior of poly(N-vinylcaprolactam) and poly(N-vinylpyrrolidone) in water," *Macromolecules*, vol. 35, no. 1, pp. 217–222, 2002.
- [127] F. Meeussen, E. Nies, H. Berghmans, S. Verbrugghe, E. Goethals, and F. Du Prez, "Phase behaviour of poly(N-vinyl caprolactam) in water," *Polymer*, vol. 41, no. 24, pp. 8597 – 8602, 2000.
- [128] J. R. Collins, "Change in the infra-red absorption spectrum of water with temperature," *Phys. Rev.*, vol. 26, pp. 771–779, 01 1925.
- [129] L. Wang, X. Jiang, Y. Ji, R. Bai, Y. Zhao, X. Wu, and C. Chen, "Surface chemistry of gold nanorods: origin of cell membrane damage and cytotoxicity," *Nanoscale*, vol. 5, pp. 8384–8391, 2013.

[130] M. Zhu, L. Wang, G. J. Exarhos, and A. D. Q. Li, "Thermosensitive gold nanoparticles," J. Am. Chem. Soc., vol. 126, no. 9, pp. 2656–2657, 2004.

- [131] M. Beija, J. D. Marty, and M. Destarac, "Thermoresponsive poly(N-vinyl caprolactam)coated gold nanoparticles: sharp reversible response and easy tunability," *Chem. Commun.*, vol. 47, pp. 2826–2828, 2011.
- [132] H. H. Richardson, M. T. Carlson, P. J. Tandler, P. Hernandez, and A. O. Govorov, "Experimental and theoretical studies of light-to-heat conversion and collective heating effects in metal nanoparticle solutions," *Nano Lett.*, vol. 9, no. 3, pp. 1139–1146, 2009.
- [133] C. Duperray, "La cytometrie en flux," http://cytobase.montp.inserm.fr/Cours/Cours.html.
- [134] V. P. Zharov, V. Galitovsky, and M. Viegas, "Photothermal detection of local thermal effects during selective nanophotothermolysis," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 83, no. 24, pp. 4897–4899, 2003.
- [135] F. C. Herriques, "Studies of thermal injury; the predictability and significance of thermally induced rate process leading to irrverisble epidermal injury," Arch. Pathol., vol. 43, pp. 489–502, 1947.
- [136] J. R. Lepock, "Cellular effects of hyperthermia: relevance to the minimum dose for thermal damage.," *Int. J. Hyperthermia*, vol. 19, pp. 252–266, 2003.
- [137] X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed, and M. A. El-Sayed, "Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells with the use of immunotargeted gold nanoparticles," *Photochem. and Photobiol.*, vol. 82, no. 2, pp. 412–417.
- [138] C. M. Pitsillides, E. K. Joe, X. Wei, R. R. Anderson, and C. P. Lin, "Selective Cell Targeting with Light-Absorbing Microparticles and Nanoparticles," *Biophys. J.*, vol. 84, no. 6, pp. 4023–4032, jun 2003.
- [139] B. D. Chithrani, A. A. Ghazani, and W. C. W. Chan, "Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells," *Nano Lett.*, vol. 6, no. 4, pp. 662–668, 2006.
- [140] J. H. Lee, H. B. Lee, and J. D. Andrade, "Blood compatibility of polyethylene oxide surfaces," Prog. Polym. Sci., vol. 20, no. 6, pp. 1043 – 1079, 1995.
- [141] X. Xia, M. Yang, Y. Wang, Y. Zheng, Q. Li, J. Chen, and Y. Xia, "Quantifying the coverage density of poly(ethylene glycol) chains on the surface of gold nanostructures," ACS Nano, vol. 6, no. 1, pp. 512–522, 2012.
- [142] N. Khlebtsov and L. Dykman, "Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: A review of in vitro and in vivo studies," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, no. 3, pp. 1647–1671, 2011.
- [143] T. Niidome, M. Yamagata, Y. Okamoto, Y. Akiyama, H. Takahishi, T. Kawano, Y. Katayama, and Y. Niidome, "PEG-modified gold nanorods with a stealth character for in vivo applications," J. Control. Release, vol. 114, no. 3, pp. 343–347, 9 2006.
- [144] T. Nunes, "Rapport des résultats d'irradiation in vivo," 2017.
- [145] "Hématoxyline éosine safran," https://www.histalim.com/fr/accueil/activites/nos-services/histologie/hematoxyline-eosine-safran/.
- [146] Y. Akiyama, T. Mori, Y. Katayama, and T. Niidome, "The effects of PEG grafting level and injection dose on gold nanorod biodistribution in the tumor-bearing mice," J. Control. Release, vol. 139, no. 1, pp. 81 – 84, 2009.

[147] Z. Popović, W. Liu, V. P. Chauhan, J. Lee, C. Wong, A. B. Greytak, N. Insin, D. G. Nocera, D. Fukumura, R. K. Jain, and M. G. Bawendi, "A nanoparticle size series for in vivo fluorescence imaging," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 49, no. 46, pp. 8649–8652, 2010.

- [148] A. Pluen, Y. Boucher, S. Ramanujan, T. D. McKee, T. Gohongi, E. di Tomaso, E. B. Brown, Y. Izumi, R. B. Campbell, D. A. Berk, and R. K. Jain, "Role of tumor-host interactions in interstitial diffusion of macromolecules: Cranial vs. subcutaneous tumors," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 98, no. 8, pp. 4628–4633, 2001.
- [149] V. P. Chauhan, Z. Popović, O. Chen, J. Cui, D. Fukumura, M. G. Bawendi, and R. K. Jain, "Fluorescent nanorods and nanospheres for real-time in vivo probing of nanoparticle shapedependent tumor penetration," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 50, no. 48, pp. 11417–11420, 2011.
- [150] R. B. Campbell, D. Fukumura, E. B. Brown, L. M. Mazzola, Y. Izumi, R. K. Jain, V. P. Torchilin, and L. L. Munn, "Cationic charge determines the distribution of liposomes between the vascular and extravascular compartments of tumors," *Cancer Res.*, vol. 62, no. 23, pp. 6831–6836, 2002.
- [151] T. Stylianopoulos, M.-Z. Poh, N. Insin, M. G. Bawendi, D. Fukumura, L. L. Munn, and R. K. Jain, "Diffusion of Particles in the Extracellular Matrix: The Effect of Repulsive Electrostatic Interactions," *Biophys. J.*, vol. 99, pp. 1342–1349, Sept. 2010.
- [152] K. N. Plunkett, X. Zhu, J. S. Moore, and D. E. Leckband, "PNIPAM chain collapse depends on the molecular weight and grafting density," *Langmuir*, vol. 22, no. 9, pp. 4259–4266, 2006.
- [153] T. Nunes, T. Pons, X. Hou, K. V. Do, B. Caron, M. Rigal, M. Di Benedetto, B. Palpant, C. Leboeuf, A. Janin, and G. Bousquet, "Pulsed laser irradiation of multifunctional gold nanoshells to overcome trastuzumab resistance in HER2-overexpressing breast cancer," soumis à Nano Today.
- [154] A. Mooradian, "Photoluminescence of metals," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 22, pp. 185–187, Feb 1969.
- [155] C. K. Chen, A. R. B. de Castro, and Y. R. Shen, "Surface-enhanced second-harmonic generation," Phys. Rev. Lett., vol. 46, pp. 145–148, Jan 1981.
- [156] G. T. Boyd, Z. H. Yu, and Y. R. Shen, "Photoinduced luminescence from the noble metals and its enhancement on roughened surfaces," *Phys. Rev. B*, vol. 33, pp. 7923–7936, Jun 1986.
- [157] J. P. Wilcoxon, J. E. Martin, F. Parsapour, B. Wiedenman, and D. F. Kelley, "Photoluminescence from nanosize gold clusters," J. Chem. Phys., vol. 108, no. 21, pp. 9137–9143, 1998.
- [158] O. P. Varnavski, M. B. Mohamed, M. A. El-Sayed, and T. Goodson, "Relative enhancement of ultrafast emission in gold nanorods," *J. Phys. Chem. B*, vol. 107, no. 14, pp. 3101–3104, 2003.
- [159] P. Biagioni, M. Celebrano, M. Savoini, G. Grancini, D. Brida, S. Mátéfi-Tempfli, M. Mátéfi-Tempfli, L. Duò, B. Hecht, G. Cerullo, and M. Finazzi, "Dependence of the two-photon photoluminescence yield of gold nanostructures on the laser pulse duration," *Phys. Rev. B*, vol. 80, pp. 045411, Jul 2009.
- [160] P. Biagioni, D. Brida, J. Huang, J. Kern, L. Duò, B. Hecht, M. Finazzi, and G. Cerullo, "Dynamics of four-photon photoluminescence in gold nanoantennas," *Nano Lett.*, vol. 12, no. 6, pp. 2941–2947, 2012.

[161] X. Jiang, Y. Pan, C. Jiang, T. Zhao, P. Yuan, T. Venkatesan, and Q. Xu, "Excitation nature of two-photon photoluminescence of gold nanorods and coupled gold nanoparticles studied by two-pulse emission modulation spectroscopy," J. Phys. Chem. Lett., vol. 4, no. 10, pp. 1634–1638, 2013.

- [162] J. Huang, W. Wang, C. J. Murphy, and D. G. Cahill, "Resonant secondary light emission from plasmonic au nanostructures at high electron temperatures created by pulsed-laser excitation," *Proc. Natl Acad. Sci.*, vol. 111, no. 3, pp. 906–911, 2014.
- [163] Michael R. Beversluis, Alexandre Bouhelier, and Lukas Novotny, "Continuum generation from single gold nanostructures through near-field mediated intraband transitions," *Phys. Rev. B*, vol. 68, pp. 115433, Sep 2003.
- [164] A. Bouhelier, R. Bachelot, G. Lerondel, S. Kostcheev, P. Royer, and G. P. Wiederrecht, "Surface plasmon characteristics of tunable photoluminescence in single gold nanorods," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 95, pp. 267405, Dec 2005.
- [165] S Wang, W Xi, F Cai, X Zhao, Z Xu, J Qian, and S He, ," Theranostics, vol. 5, no. 3, pp. 251–266, 2015.
- [166] L. Roloff, P. Klemm, I. Gronwald, R. Huber, J. M. Lupton, and S. Bange, "Light emission from gold nanoparticles under ultrafast near-infrared excitation: Thermal radiation, inelastic light scattering, or multiphoton luminescence?," *Nano Lett.*, vol. 17, no. 12, pp. 7914–7919, 2017.
- [167] E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, G. von Plessen, D. I. Gittins, K. S. Mayya, and F. Caruso, "Plasmon emission in photoexcited gold nanoparticles," *Phys. Rev. B*, vol. 70, pp. 205424, Nov 2004.
- [168] A. Tcherniak, S. Dominguez-Medina, W. Chang, P. Swanglap, L. S. Slaughter, C. F. Landes, and S. Link, "One-photon plasmon luminescence and its application to correlation spectroscopy as a probe for rotational and translational dynamics of gold nanorods," J. Phys. Chem. C, vol. 115, no. 32, pp. 15938–15949, 2011.
- [169] Y. Fang, W. Chang, B. Willingham, P. Swanglap, S. Dominguez-Medina, and S. Link, "Plasmon emission quantum yield of single gold nanorods as a function of aspect ratio," ACS Nano, vol. 6, no. 8, pp. 7177–7184, 2012.
- [170] M. Yorulmaz, S. Khatua, P. Zijlstra, A. Gaiduk, and M. Orrit, "Luminescence quantum yield of single gold nanorods," *Nano Lett.*, vol. 12, no. 8, pp. 4385–4391, 2012.
- [171] Y. Cai, J. G. Liu, L. J. Tauzin, D. Huang, E. Sung, H. Zhang, A. Joplin, W. Chang, P. Nordlander, and S. Link, "Photoluminescence of gold nanorods: Purcell effect enhanced emission from hot carriers," ACS Nano, vol. 12, no. 2, pp. 976–985, 2018.
- [172] L. J. Tauzin, Y. Cai, K. W. Smith, S. A. Hosseini Jebeli, U. Bhattacharjee, W. Chang, and S. Link, "Exploring the relationship between plasmon damping and luminescence in lithographically prepared gold nanorods," ACS Photonics, vol. 5, no. 9, pp. 3541–3549, 2018.
- [173] R. Matzdorf, A. Gerlach, F. Theilmann, G. Meister, and A. Goldmann, "New lifetime estimates for d-band holes at noble metal surfaces," *Appl. Phys. B*, vol. 68, no. 3, pp. 393–395, Mar 1999.
- [174] H. Petek, H. Nagano, M. J. Weida, and S. Ogawa, "The role of Auger decay in hot electron excitation in copper," *Chem. Phys.*, vol. 251, no. 1, pp. 71 86, 2000.
- [175] B. N. J. Persson and A. Baratoff, "Theory of photon emission in electron tunneling to metallic particles," Phys. Rev. Lett., vol. 68, pp. 3224–3227, May 1992.

[176] T. V. Shahbazyan, I. E. Perakis, and J.-Y. Bigot, "Size-dependent surface plasmon dynamics in metal nanoparticles," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 81, pp. 3120–3123, Oct. 1998.

- [177] T. V. Shahbazyan and I.E. Perakis, "Surface collective excitations in ultrafast pump-probe spectroscopy of metal nanoparticles," *Chemical Physics*, vol. 251, no. 1, pp. 37 49, 2000.
- [178] C. Sönnichsen, T. Franzl, T. Wilk, G. von Plessen, J. Feldmann, O. Wilson, and P. Mulvaney, "Drastic reduction of plasmon damping in gold nanorods," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 88, pp. 077402, Jan 2002.
- [179] M. Liu, M. Pelton, and P. Guyot-Sionnest, "Reduced damping of surface plasmons at low temperatures," *Phys. Rev. B*, vol. 79, pp. 035418, Jan 2009.
- [180] T. Toyoda and M. Yabe, "The temperature dependence of the refractive indices of srtio 3 and tio 2," J. Phys. D: Appl. Phys., vol. 16, no. 12, pp. L251, 1983.
- [181] C. Novo, A. M. Funston, and P. Mulvaney, "Direct observation of chemical reactions on single gold nanocrystals usint surface plasmon spectroscopy," *Nature Nanotech.*, vol. 3, pp. 598, 2008.
- [182] R. Englman and J. Jortner, "The energy gap law for radiationless transitions in large molecules," Mol. Phys., vol. 18, no. 2, pp. 145–164, 1970.
- [183] E. Sakat, I. Bargigia, M. Celebrano, A. Cattoni, S. Collin, D. Brida, M. Finazzi, C. D'Andrea, and P. Biagioni, "Time-resolved photoluminescence in gold nanoantennas," ACS Photonics, vol. 3, no. 8, pp. 1489–1493, 2016.
- [184] M. Pelton, "Modified spontaneous emission in nanophotonic structures," Nature Photon., vol. 9, pp. 427–435, July 2015.
- [185] J. G. Liu, H. Zhang, S. Link, and P. Nordlander, "Relaxation of plasmon-induced hot carriers," *ACS Photonics*, vol. 5, no. 7, pp. 2584–2595, 2018.
- [186] A. Losquin and M. Kociak, "Link between cathodoluminescence and electron energy loss spectroscopy and the radiative and full electromagnetic local density of states," ACS Photonics, vol. 2, no. 11, pp. 1619–1627, 2015.
- [187] E. Knoesel, A. Hotzel, and M. Wolf, "Ultrafast dynamics of hot electrons and holes in copper: Excitation, energy relaxation, and transport effects," *Phys. Rev. B*, vol. 57, pp. 12812–12824, May 1998.
- [188] P. Mühlschlegel, H.-J. Eisler, O. J. F. Martin, B. Hecht, and D. W. Pohl, "Resonant optical antennas," *Science*, vol. 308, no. 5728, pp. 1607–1609, 2005.
- [189] O. Demichel, M. Petit, S. Viarbitskaya, R. Méjard, F. de Fornel, E. Hertz, F. Billard, A. Bouhelier, and B. Cluzel, "Dynamics, efficiency, and energy distribution of nonlinear plasmon-assisted generation of hot carriers," ACS Photonics, vol. 3, no. 5, pp. 791–795, 2016.
- [190] M. Perner, P. Bost, U. Lemmer, G. von Plessen, J. Feldmann, U. Becker, M. Mennig, M. Schmitt, and H. Schmidt, "Optically induced damping of the surface plasmon resonance in gold colloids," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 78, pp. 2192–2195, Mar 1997.
- [191] N. Rotenberg, A. D. Bristow, M. Pfeiffer, M. Betz, and H. M. van Driel, "Nonlinear absorption in au films: Role of thermal effects," Phys. Rev. B, vol. 75, pp. 155426, Apr 2007.
- [192] C. Kittel, Introduction to Solid State Physics, John Wiley & Sons, New York, 1996.
- [193] B. Diu, C. Guthmann, D. Lederer, and B. Roulet, *Physique statistique*, Hermann, 1997.
- [194] J. J. Greffet, P. Bouchon, G. Brucoli, and F. Marquier, "Light emission by nonequilibrium bodies: Local kirchhoff law," Phys. Rev. X, vol. 8, pp. 021008, Apr 2018.

[195] A. Carattino, M. Caldarola, and M. Orrit, "Gold nanoparticles as absolute nanothermometers," *Nano Lett.*, vol. 18, no. 2, pp. 874–880, 2018.

Titre: Nano-objets photo-activés pour le ciblage et l'hyperthermie

Mots clés: plasmon, photothermique, nanoparticule, ultrarapide

Résumé: Les nanoparticules plasmoniques possèdent des propriétés intéressantes grâce à la résonance de plasmon de surface localisé. En plus de leur grande efficacité de conversion photothermique due au plasmon, confinement de l'échauffement peut être modulé par le type de source lumineuse utilisée (impulsionnelle ou continue). Ces font des nanoparticules propriétés plasmoniques une solution potentielle pour la thérapie contre le cancer par hyperthermie. Afin de développer une telle application biomédicale, il est nécessaire d'optimiser l'absorption de l'énergie lumineuse et le ciblage des nanoparticules sur la tumeur considérée.

Dans cette thèse, l'influence des électrons chauds photo-générés sur l'absorption d'impulsions laser par les ultracourtes nanoparticules est d'abord étudiée. Ensuite, un travail effectué avec des chimistes, biologistes médecins pour l'application nanoparticules d'or irradiées par impulsions laser ultracourtes à la thérapie contre le cancer est présenté. Enfin, nous présentons une étude préliminaire sur la photoluminescence de nanoparticules plasmoniques, dont l'origine est encore controversée, en appliquant un modèle prenant en compte la nature non thermale de la distribution d'électrons chauds.

Title: Photo-active nano-objects for cell targeting and hyperthermia

Keywords: plasmon, plasmonic, nanoparticle, ultrafast

Abstract: Plasmonic nanoparticles possess interesting properties thanks to the localized surface plasmon resonance. In addition to their high photothermal conversion efficiency, the heat release confinement can be modulated by the type of light source used (pulsed or continuous laser). These properties make the plasmonic nanoparticles a potential solution for cancer therapy by hyperthermia. In order to develop such a biomedical application, it is necessary to optimize the absorption of light energy and the targeting of nanoparticles on the tumor considered.

In this thesis, the influence of the photogenerated hot electrons on the absorption of ultrashort laser pulses by nanoparticles is first studied. Then, a work carried out with chemists, biologists and physicians for the application of gold nanoparticles irradiated by ultrashort laser pulses to cancer therapy is described. Finally, we present a preliminary study on the photoluminescence of plasmonic nanoparticles, the origin of which is still controversial, by applying a model accounting for the non-thermal nature of the hot electron distribution.

