

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



# **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Pharmacie Industrielle**

Intitulé du mémoire

**Elaboration des nanoparticules à base d'argent  
et d'acide ascorbique pour le traitement du  
cancer**

Présenté par :

-DJABOUB KHADIDJA

Encadré par :

- Dr NAIT BACHIR  
YACINE

Année universitaire 2018/2019

## **RESUME**

Le domaine pharmaceutique évolue de jour en jour, ce qui a permis de produire des nouvelles formes innovantes, efficaces, rapides et faciles à utiliser.

Nous allons proposer un nouveau procédé permettant l'enrobage des nanoparticules d'argent. En premier lieu les nanoparticules d'argent ont été préparés par réduction avec l'acide ascorbique. et en deuxième lieu l'enrobage des nanoparticules d'argent a été fait avec l'acide ascorbique en utilisant le citrate de trisodium, lors de cette étape, le procédé d'élaboration a été optimisé en utilisant un plan d'expériences. Un taux d'enrobage de 61 % a été atteint par 30 min au montage a reflux, ph de 10 et température de 60°C

Ensuite, les nanoparticules d'argent enrobées d'acide ascorbique ont été caractérisés par : granulométrie laser, métamérie, activité antioxydante invitro, spectroscopie FTIR, diffraction des rayons x, microscopie électronique à balayage et analyses thermogravimétriques.

Ces analyses permettent de bien définir les caractéristiques des nanoparticules d'argent enrobées ainsi que leur propriétés physico-chimiques.

Enfin les caractéristiques des nanoparticules d'argent ont été améliorées après leur enrobage avec la vitamine C.

## **ABSTRACT**

The evolutionary pharmaceutical field in day, which allows to produce new innovative forms, effective, fast and easy to use.

We will propose a new process for the coating of silver nanoparticles. First, the silver nanoparticles remained in stock with the ascorbic acid. the first coating site of the silver nanoparticles. ascorbic acid using trisodium citrate, to this step it A coating rate of 61% was achieved by 30 min at reflux, ph of 10 and temperature of 60 ° C

Then, coated silver nanoparticles were characterized by: laser granulometry, Zetameter, invitro antioxidant activity, FTIR spectroscopy, x-ray diffraction and scanning electron microscopy

Finally, the characteristics of the silver nanoparticles have been improved after their coating with vitamin C.

## ملخص

يتغير مجال المستحضرات الصيدلانية يوماً بعد يوم ، مما ينتج عنه أشكال جديدة ومبتكرة وفعالة وسريعة وسهلة الاستخدام.

سنقترح عملية جديدة تسمح بتغليف الجسيمات النانوية الفضية. في المقام الأول تم تحضير الجسيمات النانوية الفضية عن طريق الاختزال باستخدام حمض الأسكوربيك. وثانياً ، تم طلاء جسيمات الفضة النانوية بـ حمض الأسكوربيك باستخدام سترات الصوديوم ، خلال هذه الخطوة ، تم تحسين عملية التوضيح باستخدام خطة من التجارب. تم تحقيق معدل طلاء بنسبة 61 ٪ في 30 دقيقة عند الارتجاع ، ودرجة الحموضة 10 ودرجة حرارة 60 درجة مئوية.

بعد ذلك ، تميزت الجسيمات النانوية الفضية المطلوبة بـ حمض الأسكوربيك بما يلي: قياس الحبيبات بالليزر ، والميتريام ، والنشاط المضاد للأكسدة *invitro* ، وطيف FTIR ، والحيود بالأشعة السينية ، ومسح الميكروسكوب الإلكتروني والتحليلات الحرارية الحرارية.

أخيراً ، تم تحسين خصائص الجسيمات النانوية الفضية بعد طلاءها بـ حمض الأسكوربيك.

## REMERCIEMENT

*Je tiens tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant de m'avoir aidé à réaliser ce discret travail.*

*Mes remerciements s'adressent à madame HADJ ZIANE Amel pour m'avoir accueillie au sein du Laboratoire.*

*Je remercie très chaleureusement mon encadreur monsieur NAIT BACHIR Yacine. de m'avoir proposer le sujet et qui a ménagé ses efforts pour que ce mémoire puisse voir le jour. Je lui exprime ma gratitude de m'avoir dirigé, encouragé et surtout aidé afin de réaliser ce travail sans vous ce mémoire n'aurait pas lieu.*

*Je tiens également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de siéger à ma soutenance.*

*Je souhaite remercier mes chères amies pour leur sincère amitié et confiance. Finalement, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma familles qui m'ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.*

**DEDICACE**

*Je dédie ce mémoire :*

*A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.*

*A ma sœur bouthaina, mon frère Abdeljalil , vous êtes ma force.*

*A ma deuxième sœur khaoula, et tous mes cousins*

*A ma grande famille, grande et petite*

*A mes chers amis Amine, Walid, Yasmine, ibtisseme , amina , rabea et nacera et toute la famille PhI .*

*Je tiens à exprimer mes profonds sentiments pour la personne qui m'aide gentiment à prendre les bonnes décisions dans ma vie.*

*Et le meilleur pour la fin, A mon cher père*

*J'aurai aimé que tu sois la « tu n'es plus ou tu etais*

*Mais tu es partout la ou je suis »*

## TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
LA LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : Les nanoparticules magnétiques dans le domaine pharmaceutique	3
I.1. INTRODUCTION	3
I.2. NANOPARTICULES MAGNETIQUES	3
I.2.1. Description des nanoparticules magnétiques	3
I.2.2. La force magnétique	3
I.2.3. Les Propriétés des nanoparticules magnétiques	4
I.3. PROCÉDES DE FABRICATION DES NANOPARTICULES MAGNETIQUE	4
I.3.1. La coprécipitation	4
I.3.2. Les microémulsions	5
I.3.3. Les polyols	5
I.3.4. Décomposition à haute température de précurseurs organiques	5
I.4. LES CARACTERISTIQUES DES NANOPARTICULES MAGNETIQUES	6
I.4.1. La taille	6
I.4.2. La forme	6
I.4.3. Les caractéristiques de surface	7
I.4.4. Les caractéristiques de sortie	7
I.5. LES TECHNIQUES DE CARACTERISATION DES NANOPARTICULES MAGNETIQUES	8
I.6. LES APPLICATIONS DE NANOPARTICULE MAGNETIQUE DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE	8
I.6.1. L'imagerie du cancer	9
I.6.2. L'imagerie RMN	9
I.6.3. L'imagerie des maladies cardiovasculaires	9
I.6.4. L'imagerie moléculaire	9
I.6.5. L'applications thérapeutiques Hyperthermie	10
I.6.6. La séparation et sélection	10

I.7. LE CIBLAGE DES CELLULES	11
I.7.1. Le ciblage passif de tumeurs à l'aide de nanoparticules	12
I.7.2. Le ciblage actif du cancer	12
I.8. ENROBAGE DE SURFACE ET FONCTIONNALISATION	13
I.8.1. L'acide ascorbique Pour l'enrobage et la fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques	13
Chapitre II : les nanoparticules d'argent	14
II.1. INTRODUCTION	14
II.2. L'ATOME D'ARGENT	14
II.2.1. Les nanoparticules d'argent	15
II.2.2. Pouvoir magnétique	16
II.2.3. Les propriétés des nanoparticules d'argent	16
II.3. LES METHODES DE SYNTHESE DES NANOPARTICULES D'ARGENT	16
II.3.1 Les méthodes chimiques	16
II.3.2. Les méthodes physiques	16
II.3.3. Les méthodes biologiques	17
II.4. LE MECANISME DE TOXICITE INDUIT PAR LES NANOPARTICULES D'ARGENT	17
II.5. LES APPLICATIONS DES NANOPARTICULES D'ARGENT	19
II.5.1. Les nanoparticules en tant qu'agents virucides	19
II.5.2. Les nanoparticules en tant qu'agents antiangiogéniques	19
II.5.3. applications thérapeutiques potentielles des nanoparticules d'argent dans le cancer	19
II.5.4. L'application dans la leucémie	19
II.6. LA TOXICITE DE NANOPARTICULE D'ARGENT	19
Chapitre III : le traitement du cancer	21
III.1. INTRODUCTION	21
III.2. STATISTIQUE SUR LE CANCER ET TENDANCES DE LA SURVIE AU	21
III.3. LE TRAITEMENT DU CANCER ET LES THERAPIES	21
III.3.1. La chirurgie	21
III.3.2. La chimiothérapie	22
III.3.3. Les thérapies ciblées	22
III.3.4. La radiothérapie	22
III.3.5. L'hormonothérapie	22

III.4. LA VITAMINE C ET LE CANCER	22
III.4.1 La vitamine C	22
III.4.2 La biosynthèse d'acide ascorbique	23
III.4.3. La fonction biologique d'acide ascorbique	23
III.4.4 L'ascorbate et prévention du cancer	23
III.4.5. Mécanisme d'action	24
III.4.6. Les tests cliniques	24
III.4.7. Le rôle de la vitamine C en association avec la chimiothérapie et la radiothérapie	26
Chapitre IV : matériels et méthodes	27
IV.1. MATERIELS	27
IV.2. PREPARATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT AGNP	27
IV.3. PREPARATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT ENROBES D'ACIDE ASCORBIQUE (AG-AA)	27
IV.4. L'OPTIMISATION DU PROCEDE D'ENROBAGE	28
IV.5. Caractérisation des AG-AA	30
IV.5.1. le taux d'enrobage	30
IV.5.2 Diffusion dynamique de la lumière (DLS)	30
IV.5.3. Potentiel zêta	31
IV.6 Analyse structurale des nanoparticules d'argent enrobées	31
IV.6.1. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	31
IV.6.2. Diffraction des rayons X	31
IV.6.3. la microscopie électronique a balayage	32
IV.6.4. Analyse thermogravimétrique (TGA)	31
IV.6.5. L'activité antioxydante in vitro	32
IV.6.6. L'hémocompatibilité	32
Chapitre V : résultats et discussions	34
V.1. L'optimisation du procédé d'enrobage des nanoparticules d'argent	34
V.2. Les coefficients de corrélation (R <sup>2</sup> ) et des coefficients de prédiction (Q <sup>2</sup> )	36
V.3. Les effets des facteurs sur les réponses	37
V.4. La modélisation et prédiction des résultats	39
V.5. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	47
V.6. Diffraction des rayons X	48

V.7. La microscopie électronique a balayage	50
V.8. Analyse thermogravimétrique (TGA)	51
V.9. L'activité antioxydante in vitro	51
V.10. L'hémocompatibilité	52
V.11. Mécanisme de la synthèse	53
V.12. Mécanisme d'action	56
Perspective	58
conclusion	59

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure I.1 : Représentation schématique de la séparation assistée magnétiquement

Figure I.2 : Illustration du ciblage passif du cancer et la perméabilité de la vascularisation

Figure I.3: Illustration de la délivrance de MNP spécifique à un tissu par ciblage actif

Figure II.1 : Mécanismes de l'action toxique des AgNPs

Figure V.1 : Les différentes étapes de synthèse de nanoparticules d'argent

Figure V.2 : L'enrobage de nanoparticules d'argent

La figure V.3 : les solutions de nanoparticules d'argent enrobées des essais de plan d'expérience.

Figure V.4 : l'étape de la collecte des nanoparticules d'argent enrobées après séchage

Figure V.5 : Les histogrammes des valeurs ( $R^2$ ) et ( $Q^2$ ) pour réponse.

Figure V.6 : L'effet des facteurs sur le taux d'enrobage

Figure V.7 : L'effet des facteurs sur le diamètre moyen

Figure V.8 : L'effet des facteurs sur le potentiel zêta

Figure V.9 : L'effet des facteurs sur l'activité antioxydante

Figure V.10 : Les contours représentant les prédictions de taux d'enrobage.

Figure V.12 : Les contours représentant les prédictions de taux d'enrobage.

Figure V.14 : Les contours représentant les prédictions de taux d'enrobage.

Figure V.16: Les contours représentant les prédictions de diamètre moyen

Figure V.18: Les contours représentant les prédictions de diamètre moyen

Figure V.20 : Les contours représentant les prédictions de diamètre moyen

Figure V.22 : Les contours représentant les prédictions de potentiel zêta

Figure V.24 : Les contours représentant les prédictions de potentiel zêta

Figure V.26 : Les contours représentant les prédictions de potentiel zêta

Figure V.28 : Les contours représentant les prédictions d'activité anti oxydante

Figure V.30 : Les contours représentant les prédictions d'activité antioxydante

Figure V.32: Les contours représentant les prédictions d'activité antioxydante

Figure V.34 : Les spectres infrarouges de l'acide ascorbique

Figure V.35 : Les spectres infrarouges des nanoparticules d'argent

Figure V.36 : Le spectre infrarouge des nanoparticules d'argent enrobées

Figure V.37 : Les diffractogrammes de l'acide ascorbique

Figure V.38 : Le diffractogramme des nanoparticules d'argent

Figure V.39 : Les diffractogrammes des nanoparticules d'argent enrobées

Figure V.40 : microphotographie des nanoparticules d'argent obtenue par M.E.B

Figure V.41 : microphotographie des nanoparticules d'argent enrobées obtenue par M.E.B

Figure V.42 : les thermogrammes d'AA, des AgNP et les AgAA

Figure V.43 : Histogramme représentant l'activité antioxydante des essais

Figure V.44 : les différentes étapes de synthèse de nanoparticules d'argent

Figure V.45 : les premières minutes lors de la formation des nanoparticules

Figure V.46 : la formation des nanoparticules

Figure V.47 : la formation des nanoparticules à l'échelle structural

Figure V.48 : l'enrobage de nanoparticules d'argent

Figure V.49 : Illustration de la délivrance des AgNP spécifique à un tissu par ciblage actif

La figure V.50 : les différents constituants d'une cellule

Tableau II.1 : des propriétés d'atome d'argent

Tableau III.1: l'effet oxydants de l'ascorbate chez les modèles animaux.

Tableau IV.1 : les niveaux des facteurs choisis dans le plan d'expérience.

Tableau IV.2 : Matrice des expériences

Tableau V.2 : les modèles mathématiques

Tableau V.3 : La matrice des optimums proposé par le modde6

## LA LISTE DES ABREVIATIONS :

NPs : les nanoparticules.

E / H : eau dans l'huile.

FeCl<sub>2</sub> et FeCl<sub>3</sub> : les chlorure de fer .

RES : le système réticuloendothélial.

MNP : nanoparticule magnétique.

EPR : enhanced permeability and retention ' effet de retention et perméabilité'.

AA : acide ascorbique.

AscH<sup>-</sup> : acide ascorbique sous la forme anionique (AscH<sup>-</sup>)

ROS : espèces réactives de l'oxygène.

VEGF : croissance endothéliale vasculaire.

BREC : cellules épithéliales rétiniennes bovines 'bovine retinal epithelial cells'.

pKa : force d'un acide.

DHA : l'acide déhydroascorbique.

GLO : L-gulonolactone oxydase.

AG-AA : les nanoparticules d'argent enrobées a la vitamine C.

KBr : Le bromure de potassium.

EDTA : l'acide éthylènediamine tétraacétique.

T.E : le taux d'enrobage.

A.A (%) : l'activité antioxydante.

## INTRODUCTION :

Au cours des dernières années, le nombre d'applications utilisant des objets nanostructurés a fortement augmenté. Les nanostructures sont appliquées par exemple dans l'électronique, l'environnement, la médecine ou la cosmétique. Dans ces applications, il est utilisé que les nanoobjets présentent des propriétés physiques considérablement modifiées par rapport aux propriétés des macro-objets ou des matériaux en vrac. Ainsi, les nanostructures donnent accès à de nouvelles techniques ou peuvent être utilisées pour améliorer des applications existantes.

Les nanoparticules magnétiques constituent une classe importante de ces nouveaux nanoobjets et leur application en biomédecine fait actuellement l'objet de recherches approfondies. Ces nanoparticules magnétiques sont utilisées pour des applications diagnostiques comme agents de contraste en imagerie ou traceurs, pour des applications thérapeutiques telles que le ciblage magnétique des drogues et l'hyperthermie magnétique, ainsi que pour des techniques in vitro comme la séparation magnétique, ou magnétofection.

Parmi les nanoparticules les plus utilisés sont les nanoparticules d'argent et les ions d'argent ; elles ont été utilisées pour leurs propriétés bactéricides. La thérapie à l'argent a en principe de nombreux effets bénéfiques, tels que l'effet antibactérien à plusieurs niveaux sur les cellules qui réduisent considérablement les chances de développer une résistance, L'efficacité contre les organismes multirésistants et une faible toxicité systémique.

Et depuis Klenner et ses collègues ont appliqué de la vitamine C (acide ascorbique) pour guérir le cancer en 1949 et Linus Pauling et Ewan Cameron ont rapporté que l'administration d'acide ascorbique aux patients cancéreux en phase terminale amélioré la qualité de vie et prolongé leur vie donc il est très intéressant dans le contexte actuel de préparer des nanoparticules magnétiques d'argent enrobées[1].

Donc l'efficacité des nanoparticules d'argent peuvent être renforcés par association de la vitamine C qui est très bien connu pour ses propriétés anti-oxydantes et a de nombreuses fonctions biologiques et constitue un excellent agent réducteur.

Dans ce travail, nous avons présenté l'état des connaissances sur les nanoparticules magnétiques, leurs propriétés et leurs domaine d'application comme initiation au chapitre n°2 dans lequel on a élaboré les méthodes de synthèses de nanoparticules d'argent , leurs propriétés

toxiques et physicochimiques, ainsi que leurs impact sur la santé humaine et l'environnement ; Le troisième chapitre présente un tableau général du rôle d'acide ascorbique dans le cancer tout en exploitant son mécanisme d'action et les tests cliniques , la détermination de tous ces caractéristiques nous a mené à l'idée de combiner entre les nanoparticules d'argent et la vitamine C définir un nouveau protocole et de l'optimiser selon les résultats des analyses effectuées .

Pour la partie expérimentale, elle est divisée en deux parties, nous avons défini dans la première le nouveau protocole ainsi que son optimisation et les analyses de caractérisation, la deuxième partie dans laquelle nous avons exploité les résultats des analyses, nous a mené à trouver notre optimum puis faire sa caractérisation structurale pour l'activité cytotoxique et c'est l'objectif de notre recherche .

# CHAPITRE I : LES NANOPARTICULES MAGNETIQUES DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE

## I.1.INTRODUCTION

Dans ce chapitre nous présentons l'état des connaissances sur les nanoparticules (NPs) magnétiques. Après une courte description de ce que nous appellerons NPs tout au long de ce texte, nous décrirons quelques notions générales de magnétisme dans les NPs. Ensuite, Pour ce type de systèmes nous aborderons leur procédés de fabrication, les techniques de caractérisation et leurs domaines d'application , ainsi que le ciblage des cellules sera discuté [2].

## I.2.NANOPARTICULES MAGNETIQUES

### I.2.1. Description des nanoparticules magnétiques

Les nanoparticules magnétiques ont des tailles contrôlables allant de quelques nanomètres jusqu'à des dizaines de nanomètres, ce qui les place à des dimensions inférieures ou comparables à celles des cellules d'une cellule (10 – 100  $\mu\text{m}$ ), un virus (20 – 450 nm), une protéine (5 – 50 nm) ou un gène (2 nm de large et 10 – 100 nm de long). Elles sont magnétiques, ce qui signifie qu'elles obéissent à la Loi de Coulomb, et peuvent être manipulées par un gradient de champ magnétique externe.[3]

### I.2.2. La force magnétique

Pour comprendre comment un champ magnétique peut être utilisé pour manipuler des nanoparticules magnétiques, nous devons rappeler certains éléments de la théorie des champs de vecteurs. Ce n'est pas toujours intuitif, Il est également important de reconnaître qu'un gradient de champ magnétique est nécessaire pour exercer une force à distance [4]; un champ uniforme donne lieu à un couple, mais aucune action de translation. Nous partons de la définition de la force magnétique agissant sur un dipôle  $m$  magnétique ponctuel[3] :

$$F_m = (m \cdot \nabla)B$$

Où :

$F_m$  : force magnétique.[4]

$\nabla$  : gradient.

$M$  : la masse.

$B$  : intensité du champ magnétique.

### I.2.3. Les Propriétés des nanoparticules magnétiques

Les propriétés magnétiques des nanoparticules (NP) sont dominées par deux caractéristiques principales ; effets de taille finie (structures à domaine unique, domaines multiples et confinement quantique) et effets de surface, résultant de la rupture de symétrie de la structure cristalline à la surface de la particule, oxydation, des liaisons pendantes, des taches de surface, etc. Les effets de surface deviennent significatifs à mesure que la taille de la particule diminue, car le rapport entre le nombre d'atomes de surface et les atomes centraux augmente. Il est bien établi que plusieurs propriétés magnétiques telles que l'anisotropie magnétique, le moment magnétique par atome, la température de Curie et le champ de coercivité des NP peuvent être différentes de celles d'un matériau en vrac [5].

Dans la plupart des applications médicales, la taille préférée des nanoparticules se situe généralement autour de 10 à 50 nm. Dans cette gamme de tailles, une nanoparticule devient généralement un seul domaine magnétique (pour minimiser son énergie magnétique) et présente un comportement superparamagnétique lorsque la température est supérieure à une certaine température appelée température de blocage [5].

Cinq facteurs principaux déterminent les propriétés magnétiques des nanoparticules. Ceux-ci sont [5] :

- a) Les propriétés géométriques des nanoparticules.
- b) Les interactions magnétiques qui se produisent à l'intérieur de la nanoparticule
- c) Les interactions magnétiques particule à particule (interactions entre particules).
- d) Les interactions magnétiques entre les nanoparticules et le matériau de matrice.
- e) Les interactions de champs magnétiques appliquées aux particules.

## **I.3. PROCÉDES DE FABRICATION DES NANOPARTICULES MAGNETIQUE**

### I.3.1. La coprécipitation

Il existe deux méthodes principales pour la synthèse en solution de particules sphériques de magnétite de l'ordre du nanomètre. Dans le premier cas, les suspensions d'hydroxyde ferreux sont partiellement oxydées avec différents agents oxydants [6]. L'autre méthode consiste à vieillir dans des mélanges stœchiométriques d'hydroxydes ferreux et ferriques en milieu aqueux, donnant des particules de magnétite sphériques de taille homogène [7].

### I.3.2. Les microémulsions

Les microémulsions E / H qui sont des microgouttelettes fines de la phase aqueuse piégées dans des assemblages de molécules de tensioactif dispersées dans une phase huileuse continue, se sont révélées être une méthode adéquate, polyvalente et simple pour préparer des particules nanométriques[6] et ce sont les caractéristiques qui pourraient rendre cette méthode utile pour les applications in vivo et in vitro. [8].

Pileni et ses collaborateurs [9] ont préparé des particules magnétiques nanométriques d'une taille moyenne de 12 nm en utilisant des microémulsions. Une solution micellaire ferreuse de sulfate de dodécyle, Fe(DS) a été utilisée pour produire des particules magnétiques de taille nanométrique dont la taille est contrôlée par la concentration en tensioactif et par la température. Des nanoparticules de magnétite d'environ 4 nm de diamètre ont été préparées par hydrolyse contrôlée avec de l'hydroxyde d'ammonium en solutions aqueuses FeCl<sub>2</sub> et FeCl<sub>3</sub> au sein des nanocavités à micelles inverses générées en utilisant l'AOT comme surfactant et de l'heptane comme phase huileuse continue.

### I.3.3 Les polyols

La technique du polyol est une technique très prometteuse pour la préparation de nanoparticules uniformes qui auraient pu être utilisées dans des applications biomédicales. Les fines particules métalliques sont obtenues par réduction des sels métalliques dissous et par précipitation directe des métaux à partir d'une solution contenant un polyol[9]. Ce procédé a d'abord été utilisé pour préparer des métaux nobles tels que le Ru, le Pd, le Pt, l'Au et d'autres, tels que le Co, le Ni ou le Cu[9]. Le polyol liquide joue le rôle de solvant du précurseur métallique, d'agent réducteur et, dans certains cas, d'agent complexe pour les cations métalliques. La solution est agitée et chauffée à une température donnée atteignant le point d'ébullition du polyol pour les métaux moins réductibles. En contrôlant la cinétique de la précipitation, on peut obtenir des particules métalliques non agglomérées ayant une forme et une taille bien définies[8]

### I.3.4. Décomposition à haute température de précurseurs organiques

La décomposition des précurseurs de fer en présence d'agents de surface organiques chauds a donné des échantillons améliorés de manière marquée, avec un bon contrôle de la taille, une distribution de taille étroite et une bonne cristallinité de nanoparticules d'oxyde de fer magnétiques dispersables et individuelles[7].

## **I.4.LES CARACTERISTIQUES DES NANOPARTICULES MAGNETIQUES**

Les caractéristiques physiques et chimiques des nanoparticules jouent individuellement des rôles majeurs pour la biodistribution *in vivo* et l'internalisation cellulaire de ces porteurs de médicaments. Dans cette section, nous nous concentrerons sur les principaux paramètres qui déterminent la durée de vie et la livraison des nanoparticules.

### **I.4.1. La taille**

La taille des particules est l'un des principaux facteurs essentiels dans la détermination du temps de circulation des nanoparticules. Après administration systémique, les nanoparticules de diamètres supérieurs à 200 nm s'accumulent dans la rate en raison de la filtration mécanique et sont éliminées par le système réticuloendothélial (RES)[10]. Puisque les fenestrations dans la rate sont typiquement de 200 – 500 nm de largeur ; les particules qui sont supérieures à 200 nm doivent être déformables pour éviter cette filtration[11]. Actuellement, 100 – 200 nm est accepté comme taille optimale pour les systèmes de délivrance de médicaments. Les particules avec un diamètre inférieur à 5nm sont rapidement débarrassées de la circulation sanguine par la clairance rénale ou l'extravasation[11] . Cependant, les particules d'une taille allant jusqu'à 15  $\mu\text{m}$  ; s'accumulent dans le foie, la rate et la moelle osseuse[11].

### **I.4.2. La forme**

Les propriétés de dégradation des nanoparticules et la libération de la charge utile subséquente ont été montrées dépendantes de la forme des particules[12]. Il a également été démontré que l'importance de la surface et du diamètre était critique pour l'absorption cellulaire des nanoparticules[13]. Des particules hémisphériques ont été générées en tant que dispositifs à libération prolongée afin d'obtenir un ordre de zéro. Les particules sphériques, cependant, peuvent fournir différents profils de dégradation que leurs formes sont sensibles à la dégradation [14].

Dans une étude, decuzzi et coll [15] ont étudié l'effet de la taille et de la forme des nanoparticules sur la biodistribution et l'accumulation de tumeurs après injection intraveineuse. Des particules sphériques de silice ont été générées dans différentes tailles allant de 700 à 3  $\mu\text{m}$  aussi dans différentes formes telles que les particules quasi-hémisphériques, discoïdes et cylindriques à base de silicium. Après une seule injection intraveineuse de particules aux souris porteuses de tumeurs, les tumeurs et les principaux organes, y compris le foie, la rate, le cœur, les poumons, les reins et le cerveau ont été analysés pour la teneur en silicium et l'évaluation

histologique. Cette étude a élucidé l'importance des propriétés de forme des nanoparticules en plus de la distribution de la taille, ce qui indique que la géométrie des nanoparticules contribue à l'opsonisation, la biodistribution in vivo, la force de l'adhérence et le taux d'internalisation dans les cellules[15]. De plus, Godin et coll [16] ont démontré que l'accumulation de particules discoïdes dans les tumeurs du sein était cinq fois plus élevée que les particules sphériques, malgré leurs diamètres similaires.

#### I.4.3. Les caractéristiques de surface

Les propriétés de surface jouent un rôle clé sur la période de nanoparticules dans la circulation sanguine administration systémique subséquente. Après administration, les nanoparticules peuvent être recouvertes de protéines appelées « opsonines», comme les immunoglobulines et les protéines complémentaires qui contribuent à la reconnaissance des nanoparticules par les macrophages [17] . Par conséquent, l'opsonisation est le facteur clé qui détermine le sort des nanoparticules dans une mesure dans la circulation sanguine. La modification de la surface des nanoparticules peut être utilisée comme une stratégie pour améliorer ou réduire leur temps de circulation dans le sang et les tissus. Par exemple, les nanoparticules chargées négativement entraînent un dégagement rapide de RES à partir de la circulation[18] . Les surfaces cationiques peuvent induire la perméabilité de la membrane cellulaire et améliorer l'absorption cellulaire[19]. D'autre part, l'utilisation de particules chargées de façon neutre conduisent à une réduction importante de l'absorption des particules par le RES[20]. De plus, la surface des nanoparticules peut être modifiée avec des ligands qui reconnaissent et se lient à des récepteurs spécifiques[21].

#### I.4.4. Les caractéristiques de sortie

Les propriétés de libération des nanoparticules déterminent l'efficacité du traitement sur les sites cibles. Les médicaments conventionnels utilisés en clinique ont une fenêtre thérapeutique étroite en raison de l'augmentation et de la diminution rapides des taux plasmatiques de médicament après l'administration systémique, ce qui entraîne des doses limites avec des effets secondaires. Cependant, les systèmes d'administration de médicaments visent à délivrer la concentration souhaitée du médicament dans la plage thérapeutique au site cible, aboutissant à des effets secondaires minimisés et à un inconfort minimisé chez les patients. Des taux plasmatiques de médicament constants sur une longue période peuvent être atteints par une cinétique de libération d'ordre zéro qui peuvent être obtenue en utilisant une pression osmotique, un pompage mécanique et un transport électrocinétique[17].

## **I.5.LES TECHNIQUES DE CARACTERISATION DES NANOPARTICULES MAGNETIQUES**

Techniques de détermination de la structure, de la composition chimique et de la taille des particules [22]:

- Microscopie électronique à balayage (MEB).
- Microscopie électronique à transmission (TEM).
- Diffraction des rayons X (XRD).
- Diffraction des neutrons (ND).
- Diffusion dynamique de la lumière (DLS) + potentiel zêta
- Fractionnement champ-flux à flux asymétrique (AF4).
- Diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS).
- Diffusion des neutrons aux petits angles (SANS).
- Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICPMS).
- Spectroscopie Mössbauer.
- Spectroscopie par structure fine à absorption de rayons X (XAFS).

Techniques de mesures magnétiques [22]:

- Magnétométrie CC, aimantation en fonction du champ et température (DCM).
- Résonance ferromagnétique à base de cavité (FMR).
- Susceptibilité magnétique AC en fonction de la fréquence (ACS vs. f).
- Susceptibilité magnétique AC en fonction de la température (ACS vs. T).
- Magnéto-relaxométrie (MRX).
- Spectroscopie de particules magnétiques (MPS).
- Champ magnétique rotatif (RMF) (décalage de phase  $\phi$  vs. f).

## **I.6.LES APPLICATIONS DE NANOPARTICULE MAGNETIQUE DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE**

Nous pouvons classer les applications biomédicales de nanoparticules magnétiques en fonction de leur application à l'intérieur (in vivo) qui pourraient être davantage séparées en applications thérapeutiques (hyperthermie et ciblage de médicaments) et diagnostiques (imagerie par résonance magnétique nucléaire), ou à l'extérieur (in vitro) du corps, elles seraient principalement utilisées en diagnostic (séparation / sélection et magnéto-relaxométrie)[7].

### I.6.1. L'imagerie du cancer

Les MNP ont été largement étudiés en tant qu'agents de contraste IRM pour améliorer la détection, le diagnostic et la gestion thérapeutique des tumeurs solides. Actuellement, l'imagerie clinique des tumeurs du foie et des métastases a permis de distinguer des lésions aussi petites que 2 à 3 mm[23]. Cette approche non invasive a de vastes implications dans la mesure et l'identification du stade et de la détermination des approches de traitement des maladies telles que les cancers de la prostate, du sein et du colon[24].

### I.6.2. L'imagerie RMN

Le développement de la technique d'imagerie par RMN pour le diagnostic clinique a suscité le besoin d'une nouvelle classe de produits pharmaceutiques, appelés magnétopharmaceutiques. Ces médicaments doivent être administrés à un patient afin d'améliorer le contraste de l'image entre les tissus normaux et malades et / ou d'indiquer le statut des fonctions organiques ou du débit sanguin[25]. Un certain nombre d'agents différents ont été suggérés comme agents de contraste de RMN potentiels. La plupart des agents de contraste utilisés jusqu'à présent dans les études d'imagerie RMN étaient paramagnétiques.[7]

### I.6.3. L'imagerie des maladies cardiovasculaires

Les MNP ont été proposés en tant qu'agents de contraste IRM pour plusieurs applications cliniques en médecine cardiovasculaire, notamment les lésions du myocarde, l'athérosclérose et d'autres maladies vasculaires[26]. L'absorption de MNP par les macrophages, qui se sont révélés être un marqueur de plaques athéromateuses [27] instables a également été exploitée pour visualiser ces sites artériels prédisposés aux lésions[28].

### I.6.4. L'imagerie moléculaire

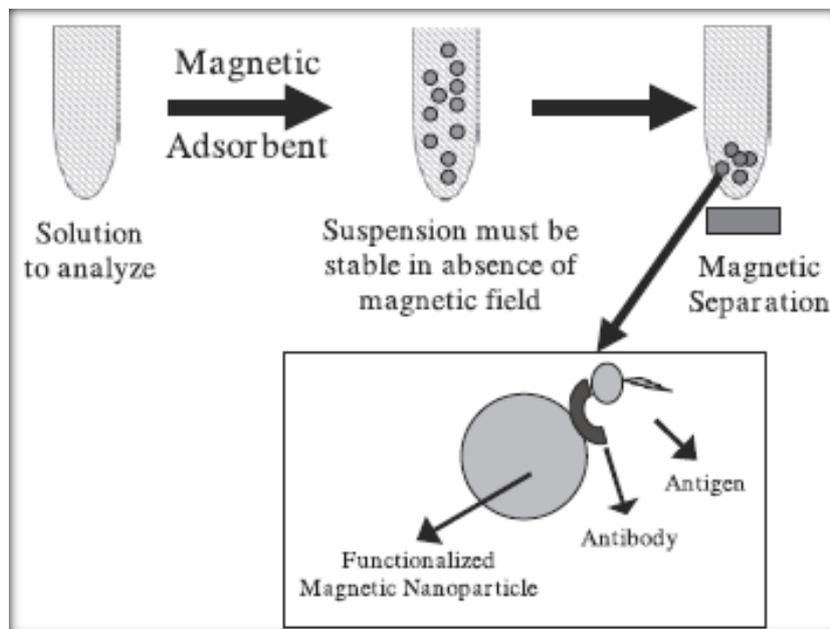
L'imagerie moléculaire a été définie comme la représentation visuelle, la caractérisation et la quantification non invasives in vivo des processus biologiques aux niveaux cellulaire et moléculaire[29]. En associant les progrès de la technologie d'imagerie médicale à ceux de la biologie moléculaire et cellulaire, cette discipline de recherche en croissance offre le potentiel d'avoir un impact majeur sur la détection précoce de la maladie, le traitement individualisé et le développement de médicaments[30].

### I.6.5. L'applications thérapeutiques Hyperthermie

L'hyperthermie est une procédure thérapeutique utilisée pour élever la température d'une région du corps touchée par une tumeur maligne ou d'autres tumeurs. Il est administré en association avec d'autres traitements anticancéreux (stratégies oncologiques multimodales). La justification repose sur un effet de destruction directe des cellules à des températures supérieures à  $(41-42)^\circ\text{C}$ [31] ,31].

### I.6.6. La séparation et sélection

La séparation et la préconcentration de la substance à partir de grands volumes de solution peuvent prendre beaucoup de temps lorsque vous utilisez une l'extraction en phase solide SPE à colonne standard. C'est dans ce domaine que l'utilisation d'adsorbants magnétiques ou magnétisables, appelée extraction magnétique en phase solide (MSPE), prend de l'importance[33]. Dans cette procédure, l'adsorbant magnétique est ajouté à une solution ou une suspension contenant la cible. Celui-ci est adsorbé sur l'adsorbant magnétique puis l'adsorbant avec la cible adsorbée est récupéré de la suspension à l'aide d'un séparateur magnétique approprié (figure I.1). Pour la séparation et la sélection, l'utilisation de nanoparticules magnétiques à la place de microparticules magnétiques présente l'avantage de pouvoir préparer des suspensions stables contre la sédimentation en l'absence de champ magnétique appliqué[7].



**Figure I.1 :** Représentation schématique de la séparation assistée magnétiquement des substances. Dans ce cas particulier, une nanosphère magnétique à laquelle un anticorps a été ancré est dispersée dans un milieu liquide contenant l'antigène (substance à analyser).

## I.7. LE CIBLAGE DES CELLULES

### I.7.1. Le ciblage passif de tumeurs à l'aide de nanoparticules

Les systèmes de nanoparticules exploitent les caractéristiques de la croissance tumorale pour l'utilisation d'une forme de ciblage passif. La tumeur devient diffusion limitée à un volume de 2 mm<sup>3</sup> ou plus. Cette limitation de la diffusion a une incidence sur l'apport nutritionnel, l'excrétion des déchets et l'apport en oxygène. La tumeur est capable de surmonter la limitation de la diffusion en augmentant le système vasculaire environnant lors d'un événement appelé angiogenèse[34]. La vascularisation incomplète de la tumeur entraîne la formation de vaisseaux présentant des fuites avec une taille de fente de 100 nm à 2 µm, en fonction du type de tumeur ( Figure I.2) [35][36]. De plus, la pression interstitielle est plus élevée au centre des tumeurs qu'à la périphérie car les tumeurs ne possèdent pas de système lymphatique bien défini. L'augmentation de la pression interne provoque un écoulement de fluide interstitiel par convection vers l'extérieur, ce qui diminue la diffusion du médicament au centre de la tumeur[37]. Cependant, les médicaments et les nanoparticules qui ont un accès interstitiel à la tumeur ont des temps de rétention supérieurs aux tissus normaux. La combinaison de la vasculature qui fuit et du mauvais drainage lymphatique a pour résultat ce que l'on appelle l'effet de perméation et de rétention accrue (EPR), des nanoparticules plus petites que les fenêtrures peuvent pénétrer dans l'interstitium et être piégées dans la tumeur[37].

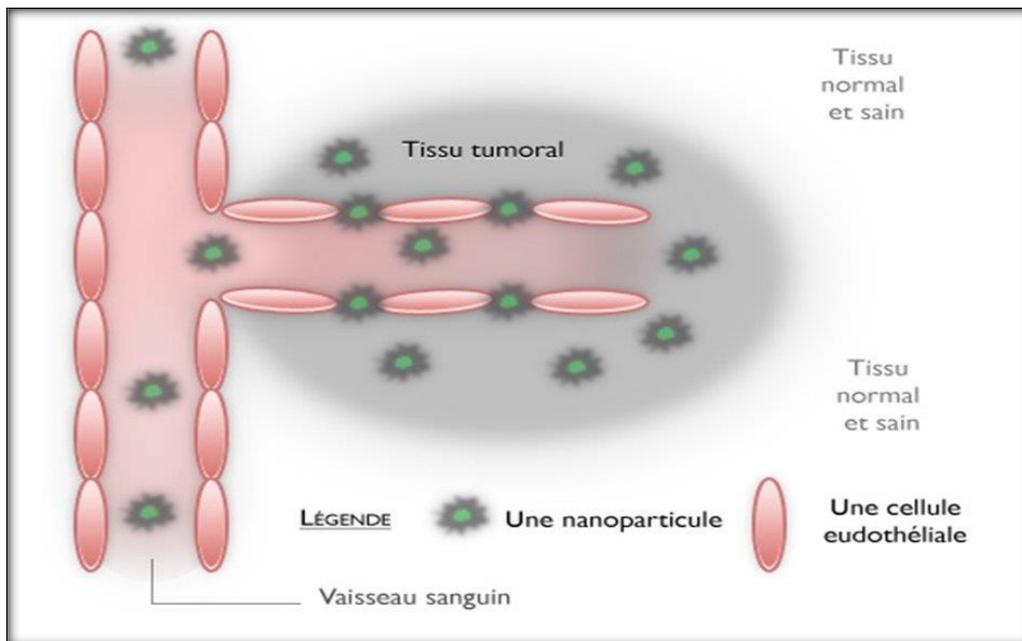
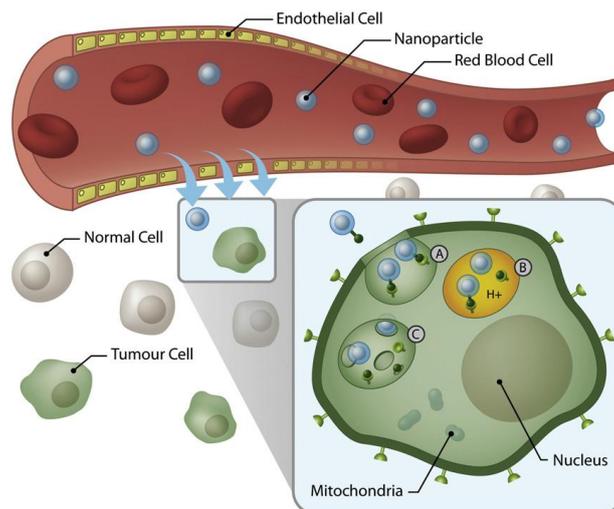


Figure I.2 : illustration du ciblage passif du cancer et la perméabilité de la vascularisation.

### I.7.2. Le ciblage actif du cancer

Le ciblage actif implique l'utilisation de fractions de ciblage conjuguées de manière périphérique pour améliorer la délivrance de systèmes à nanoparticules (voir figure I.3). Bien que le ciblage par anticorps soit considéré comme une stratégie prometteuse en augmentant l'internalisation chez les modèles animaux [21][38]. Les fractions de ciblage sont importantes pour le mécanisme d'absorption cellulaire. Des temps de circulation longs permettront un transport efficace des nanoparticules vers le site de la tumeur grâce à l'effet EPR, et la molécule de ciblage peut augmenter l'endocytose des nanoparticules. L'internalisation des systèmes d'administration de médicaments à base de nanoparticules a montré un effet thérapeutique accru [21][38], [39]. Si la nanoparticule se fixe aux cellules endothéliales vasculaires via un épitope non internalisant, des concentrations locales élevées du médicament seront disponibles à la surface externe de la cellule cible. Bien que cela ait une efficacité supérieure à celle du médicament libre libéré dans la circulation, seule une fraction du médicament libéré sera délivrée à la cellule cible. Dans la plupart des cas, l'internalisation de la nanoparticule est importante pour la délivrance efficace de certains médicaments anticancéreux, en particulier dans la délivrance de gènes, le silençage de gènes et d'autres produits biothérapeutiques [40]. Les cibles de cancer pour les systèmes de nanoparticules actuels ont été organisées en fonction de caractéristiques sélectionnées de la croissance tumorale et des métastases. Le chevauchement entre ces divisions est important, ce qui reflète l'hétérogénéité de la biologie tumorale et le potentiel important de systèmes de ciblage multiple utilisant le même ligand [34].



**Figure I.3:** Illustration de la délivrance de MNP spécifique à un tissu par ciblage actif, facilitée par un système vasculaire «qui fuit». (A) Internalisation de nanoparticules par (A) endocytose médiée par le récepteur et formation d'un endosome. (B) L'acidification de l'endosome par des pompes à protons entraîne une pression osmotique élevée, un gonflement et une (C) rupture de l'endosome permettant la libération de la nanoparticule et des agents thérapeutiques conjugués.

## I.8. ENROBAGE DE SURFACE ET FONCTIONNALISATION

Les revêtements de surface font partie intégrante de toutes les plateformes MNP pour les applications biomédicales. Bien que n'étant pas attirés magnétiquement, en raison de leurs propriétés superparamagnétiques, les nanoparticules ont encore une tendance significative à agglomérer en raison de leur énergie de surface élevée. La stabilisation électrostatique colloïdale résultant de la répulsion des charges superficielles sur les nanoparticules n'est généralement pas suffisante pour empêcher l'agrégation dans les solutions biologiques en raison de la présence de sels ou d'autres électrolytes qui peuvent neutraliser cette charge. En outre, lors de l'injection intraveineuse, les surfaces des MNPs sont soumises à l'adsorption de protéines plasmatiques, ou à l'opsonisation, comme première étape de leur clairance par le RES. L'absorption par le RES et le maintien d'une longue demi-vie plasmatique constituent un défi majeur pour nombreuses applications de MNP en médecine[41]. De plus les métaux présentent l'inconvénient d'être très sensibles à toutes sortes d'agents oxydants (air, eau etc.), car leur réactivité est exacerbée à l'état de NP. Donc, il est primordial aujourd'hui de développer des stratégies efficaces d'enrobage pour améliorer la stabilité chimique de telles NPS[42].

### I.8.1. L'acide ascorbique Pour l'enrobage et la fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques

L'acide ascorbique (vitamine C) est très bien connu pour ses propriétés anti-oxydantes (Pardoe et al, 2001), il est donc très intéressant dans le contexte actuel de préparer des nanofluides magnétiques stables solubles dans l'eau à l'aide d'acide ascorbique. En tant qu'antioxydant, l'acide ascorbique élimine les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (Songping et Shuyuan, 2005 ; Davies et al., 1991). L'acide ascorbique a deux groupes hydroxyle ionisables avec un pKa de 4,2 et 11,6 ; par conséquent, il existe sous forme d'ascorbate ( $\text{AscH}^-$ ) à pH physiologique (Deutsch, 1998). L'Ascorbate a de nombreuses fonctions biologiques et constitue un excellent agent réducteur à un électron qui réduit les ions ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en métaux ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), tout en étant oxydé en radical ascorbate (Du et al.) En outre, l'acide ascorbique a un effet saisissant sur l'absorption du fer non hémique en augmentant la biodisponibilité du fer et en réduisant et en liant le fer alimentaire non hémique (Frei et Lawson 2008)[43].

## CHAPITRE II : LES NANOPARTICULES D'ARGENT

### II.1. INTRODUCTION

Les nanoparticules d'argent ont été largement utilisées dans les domaines biomédicaux en raison de leurs propriétés thérapeutiques intrinsèques. Nous présentons ici des méthodes de synthèse des AgNPs et discutons de leurs propriétés physico-chimiques et leurs propriétés toxiques. Nous examinons également l'impact des AgNPs sur la santé humaine et l'environnement ainsi que les mécanismes sous-jacents. Plus important encore, nous soulignons les nouvelles applications émergentes des AgNPs en tant qu'agents antiviraux et en tant qu'agents thérapeutiques anticancéreux[44].

### II.2. L'ATOME D'ARGENT

L'argent est l'élément chimique de numéro atomique 47, de symbole Ag. Le corps simple argent est un métal précieux alors parfois appelé argent métallique ou plus simplement argent métal. Tableau II.1 montrant les propriétés d'atome d'argent [45].

**Tableau II.1** : des propriétés d'atome d'argent

Position dans le tableau périodique	
Symbole	Ag
Nom	Argent
Numéro atomique	47
Groupe	11
Période	5 <sup>e</sup> période
Famille d'éléments	Métal de transition
Configuration électronique	[Kr] 5s <sup>1</sup> 4d <sup>10</sup>
Propriétés atomiques de l'élément	

Masse atomique	107,8682 ± 0,0002 u <sup>1</sup>
État(s) d'oxydation	±1
Électronégativité(Pauling)	1,93
Oxyde	Amphotère
Propriétés physiques du corps simple	
État ordinaire	Solide
Masse volumique	10,50 g·cm <sup>-3</sup> (20 °C) <sup>1</sup> ;
Système cristallin	Cubique à faces centrées
Couleur	Blanc argenté métallique
Point de fusion	961,78 °C (congélation)
Point d'ébullition	2 162 °C
Volume molaire	10,27×10 <sup>-6</sup> m <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup>
Conductivité électrique	63×10 <sup>6</sup> S·m <sup>-1</sup>
Solubilité	sol. dans les acides oxydants et les solutions de cyanures de métaux alcalins en présence d'O <sub>2</sub> ;sol. dans HNO <sub>3</sub> ;

### II.2.1. Les nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent sont un assemblage d'atome d'argent d'une taille comprise entre 1 nm et 100 nm. De nombreuses formes de nanoparticules peuvent être construites en fonction de l'application. Les nanoparticules d'argent sphériques sont couramment utilisées.

### II.2.2. Pouvoir magnétique

Il fait partie des matériaux diamagnétiques, Ils s'aimantent faiblement dans le sens opposé au champ magnétisant. Leur aimantation cesse dès que le champ magnétisant est supprimé.

### II.2.3. Les propriétés des nanoparticules d'argent

Certaines propriétés physicochimiques des AgNP, notamment la taille (surface), la forme, la charge et le revêtement de surface, l'agglomération et la vitesse de dissolution, sont particulièrement importantes pour déterminer leurs interactions et leurs impacts biologiques. Les plus petites particules ont une plus grande surface et ont donc un potentiel toxique plus grand[46] . Il est bien connu que la forme des nanostructures en argent peut affecter considérablement leurs propriétés physiques et chimiques. Les nanostructures d'argent fréquemment utilisées dans le domaine biomédical comprennent les nanoparticules d'argent sphériques, les nanofils, les nanorodes, les nanoplaques et les nanocubes[47]. Des études ont montré que les effets biologiques des AgNPs dépendent des différentes charges de surface de leurs revêtements, ce qui peut affecter l'interaction des AgNP avec les systèmes vivants[48].

## II.3. LES METHODES DE SYNTHÈSE DES NANOPARTICULES D'ARGENT

De nombreuses voies ont été introduites pour la synthèse de nanostructures d'argent, qui peuvent être classées comme suit :

### II.3.1 Les méthodes chimiques

Les méthodes chimiques pour la synthèse de nanostructures d'argent peuvent être subdivisées en réduction chimique, techniques électrochimiques, méthodes chimiques assistées par irradiation et pyrolyse. La synthèse de nanostructures d'argent en solution contient généralement trois composants principaux : les précurseurs de métaux, les agents réducteurs et les agents stabilisants / coiffants[49]–[51].

### II.3.2. Les méthodes physiques

En revanche, les méthodes physiques n'impliquent pas de produits chimiques toxiques et ont généralement des temps de traitement rapides. Ces méthodes incluent la condensation physique de la vapeur, la décharge en arc, le procédé de broyage à boule en énergie et la pulvérisation cathodique par magnétron à courant continu (CC). Un autre avantage des

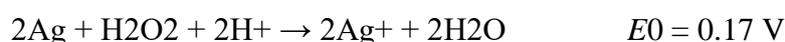
méthodes physiques est que les AgNP formés ont une distribution de taille étroite ; Cependant, un inconvénient majeur est leur consommation d'énergie élevée[52]–[54].

### II.3.3. Les méthodes biologiques

Dans la synthèse biologique des AgNP, les agents réducteurs toxiques et les stabilisants sont remplacés par des molécules non toxiques (protéines, glucides, antioxydants, etc.) produites par des organismes vivants, notamment des bactéries, des champignons, des levures et des plantes. Des méthodes biologiques basées sur des microorganismes tels que des bactéries, des champignons et des levures ont été largement rapportées. Des systèmes végétaux moins coûteux, tels que la citronnelle, l'aloë vera, les algues, la luzerne, le thé, le neem, la moutarde, le safeda, les lotus et le tulsi, ont été explorés pour la synthèse de l'AgNP. Les mécanismes possibles de la synthèse biologique comprennent la réduction enzymatique (par exemple, la NADPH réductase) et la réduction non enzymatique. En général, la synthèse d'AgNP à partir d'extraits de plantes est la méthode de production respectueuse de l'environnement la plus utilisée[55]–[57].

## II.4. LE MECANISME DE TOXICITE INDUIT PAR LES NANOPARTICULES D'ARGENT

Les interactions entre les nanomatériaux et les cellules, l'absorption cellulaire et la réponse toxique subséquente de la cellule font partie des problèmes les plus cruciaux liés à la toxicité induite par l'AgNP. Pour la plupart des cellules, l'absorption d'AgNPs principalement par l'endocytose dépend du temps, de la dose et de l'énergie, et les principaux organites cibles sont les endosomes et les lysosomes[57]. Les nanoparticules peuvent induire directement la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) lorsqu'elles sont exposées à l'environnement acide des lysosomes[59]. De plus, Singh et al. a également démontré l'accumulation de Ag<sup>+</sup> dans les lysosomes[60]. Les ROS contiennent des anions superoxydes (O<sup>2-</sup>), des radicaux hydroxyles (OH) et du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Les réactions entre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et AgNP seraient l'un des facteurs conduisant à la libération d'Ag<sup>+</sup> in vivo. La réaction chimique possible implique[48] :



La réaction peut se produire lors du contact avec le milieu de culture cellulaire ou les protéines présentes dans le cytoplasme. De plus, les ROS sont très réactifs et entraînent des

dommages oxydatifs aux protéines et à l'ADN, et induisent un dysfonctionnement mitochondrial. Les AgNPs et les ions  $\text{Ag}^+$  peuvent également s'échapper des lysosomes, induisant en outre l'augmentation des ROS intracellulaires. AgNPs et les ions  $\text{Ag}^+$  libérés préfèrent interagir avec les groupes thiol des molécules présentes dans le cytoplasme, la membrane cellulaire et membrane interne des mitochondries, qui pourrait libérer du peroxyde lipidique et augmenter la perméation de la membrane cellulaire et des systèmes mitochondriaux[60]. Une lésion de la membrane cellulaire entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et une éventuelle nécrose, alors que la rupture des membranes lysosomales active l'apoptose médiée par les lysosomes. De plus, les dommages causés aux mitochondries entravent le transfert d'électrons, activant ainsi l'apoptose dépendante des mitochondries[61]. De plus, il a été rapporté que les AgNPs pourraient facilement se diffuser dans le noyau et s'y déplacer par le biais de complexes de pores nucléaires, conduisant ainsi à la formation de ROS, qui provoquent directement des dommages à l'ADN et des anomalies chromosomiques (Figure II.1). Des études récentes ont également indiqué qu'  $\text{Ag}^+$  peut directement causer des dommages à l'ADN en plus d'endommager les mitochondries et d'induire la production de ROS[62].

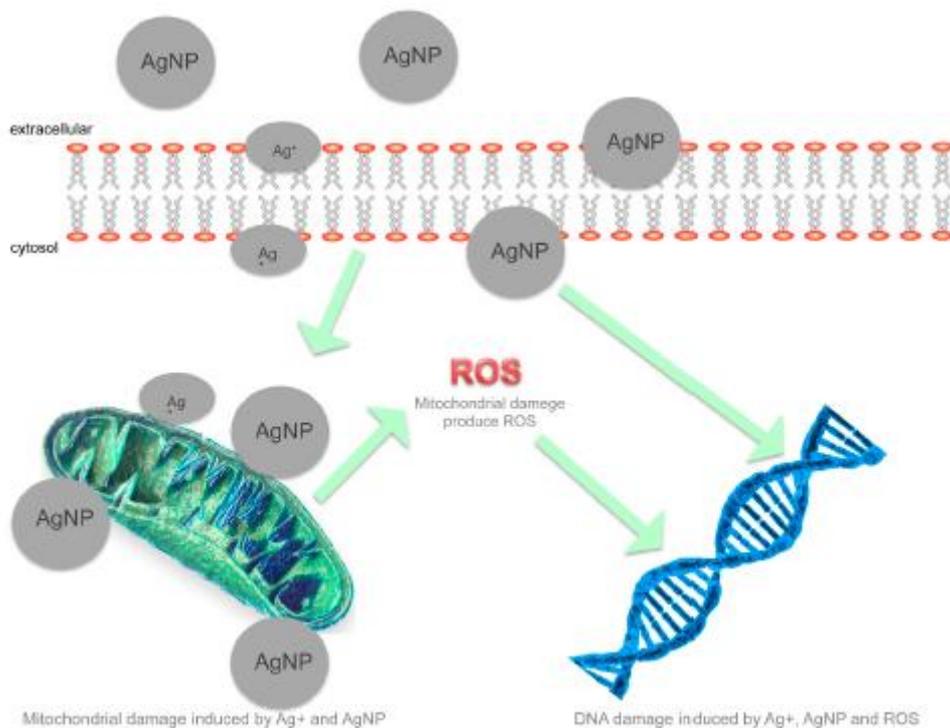


Figure II 1. Mécanismes de l'action toxique des AgNPs.

## **II.5. LES APPLICATIONS DES NANOPARTICULES D'ARGENT**

### **II.5.1. Les nanoparticules en tant qu'agents virucides**

Les nanoparticules sont maintenant considérées comme une alternative viable aux antibiotiques et semblent avoir un potentiel élevé pour résoudre le problème de l'émergence de la multi-résistance bactérienne. Beaucoup d'étude ont montré que les AgNP peuvent inhiber plusieurs virus.[63]–[65]

### **II.5.2. Les nanoparticules en tant qu'agents antiangiogéniques**

Il est bien établi que l'angiogenèse joue un rôle central dans plusieurs maladies, dont le cancer. Le groupe d'Eom a rapporté des AgNP contribuant presque également aux effets inhibiteurs de l'angiogenèse induite par le facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF) en bloquant la phosphorylation dans des cellules épithéliales rétinienne bovines (BREC) in vitro[66], [67].

### **II.5.3. Les applications thérapeutiques potentielles des nanoparticules d'argent dans le cancer**

Les AgNP ont démontré des effets anti tumoraux prometteurs. Il a été signalé qu'une faible concentration d'AgNPs peut causer des dommages à l'ADN et des aberrations chromosomiques (génétoxicité)[68].

### **II.5.4. L'application dans la leucémie**

La leucémie est un groupe de cancers qui commence habituellement dans la moelle osseuse et entraîne un nombre élevé de globules blancs anormaux. Plusieurs chercheurs ont rapporté que les AgNP induisaient un effet cytotoxique contre les cellules leucémiques[60], [62].

## **II.6. LA TOXICITE DE NANOPARTICULE D'ARGENT**

Impact sur la santé humaine, les patients peuvent être exposés aux AgNP de différentes manières, par exemple par contact cutané, administration orale, inhalation et circulation sanguine. Les macrophages sont les premières cellules que les AgNPs rencontreront dans le corps humain[69]. Il est connu que la taille de l'AgNP dicte son mode de cytotoxicité aux macrophages murins (spécifique de l'ion  $\text{Ag}^+$  et / ou de la particule). La toxicité des AgNP (<10 nm) est principalement induite par les ions  $\text{Ag}^+$  libérés, le foie étant l'organe cible principal,

suivi de la rate, des poumons et des reins. Une étude a montré que l'effet des AgNPs de 20 nm et 100 nm sur des rats WU dérivés de Wistar traités à des doses de 6 mg / kg de poids corporel correspondait à une augmentation du poids de la rate ; de plus, les paramètres de chimie clinique indiquaient également des dommages au foie[70].

Une autre étude a notamment montré que les AgNP avaient un impact négligeable sur la cavité nasale et les poumons. De plus, il a été rapporté que les niveaux d'argent signalés chez les travailleurs de la fabrication de nanomatériaux exposés à des concentrations d'argent de 0,35 à 1,35 g / m<sup>3</sup> n'étaient que de 0,0135 à 0,034 mg / m<sup>3</sup> pour le sang et de 0,043 mg / m<sup>3</sup> pour l'urine, et aucun résultat significatif n'a été constaté sur leur état de santé[71]. Bien que de nombreuses études toxicologiques utilisant des AgNP aient été publiées, il est encore difficile d'établir un diagnostic définitif. En règle générale, plus la taille des AgNPs est petite, plus les effets cytotoxiques qu'ils peuvent avoir sont importants[48]

Sur l'environnement, on sait peu de choses sur les effets spécifiques des AgNPs. Donc, il est actuellement Impossible d'évaluer les risques environnementaux associés à la production et à l'utilisation des AgNPs[72].

## **CHAPITRE III : LE TRAITEMENT DU CANCER**

### **III.1. INTRODUCTION**

Le cancer est un problème de santé publique mondial caractérisé par une mortalité accrue. Bien qu'il y ait de nombreux types de cancers. Ce chapitre présente un tableau général du rôle d'acide ascorbique dans le cancer, tout en exploitant les tests cliniques et la tendance de la survie au cancer.

### **III.2. STATISTIQUE SUR LE CANCER ET TENDANCES DE LA SURVIE AU CANCER**

Le cancer est une maladie génétique non héréditaire[73] pour laquelle certaines cellules d'un organisme adoptent un comportement anormal caractérisé par une indépendance vis-à-vis des signaux, mécanismes antiprolifératifs, croissance infinie et l'acquisition d'un pouvoir invasif aboutissant à la production de tumeurs malignes[74]. Selon l'organisation mondiale de la santé, Le cancer constitue la deuxième cause de décès dans le monde, pour l'année 2018 globalement on estime 18.1 millions de personnes qui ont été diagnostiqué de cancer, et 9.6 millions en décéderont.

Et ce qui concerne la survie au cancer, en comparant chez les patients diagnostiqués au milieu des années 1970 avec ceux diagnostiqués de 2006 à 2012, le taux de survie relative à 5 ans est de 35% d'après une récente étude d'essais cliniques capturée par le système de classification plus moderne de l'Organisation mondiale de la Santé[75], [76].

### **III.3. LE TRAITEMENT DU CANCER ET LES THERAPIES**

Tous les traitements visent à éliminer les cellules cancéreuses. Ils agissent soit localement, c'est-à-dire uniquement sur les cellules cancéreuses d'un organe atteint, soit par voie générale, c'est-à-dire sur l'ensemble des cellules cancéreuses présentes dans l'organisme. Les thérapies ciblées sont sélectives et s'attaquent à une cible précise dans la cellule cancéreuse. Les grands types de traitements contre le cancer sont :

#### **III.3.1. La chirurgie**

Souvent le premier traitement, elle est utilisée dans environ 80 % des cas. Une fois la tumeur localisée, elle est éliminée et les éventuelles cellules cancéreuses présentes à proximité de celle-ci. Plus la tumeur est petite, plus les chances de succès sont importantes.

### III.3.2. La chimiothérapie

La chimiothérapie est un traitement reposant sur la prise d'une substance chimique. Ces médicaments agissent soit en détruisant les cellules cancéreuses, soit en arrêtant leur multiplication. Certains d'entre eux sont plus actifs contre un type de cancer plutôt que d'autres [77].

### III.3.3. Les thérapies ciblées

De nouvelles thérapies dites « ciblées » permettent dans certains cas une médecine personnalisée qui consiste à choisir le traitement le plus adapté en fonction du profil biologique du patient et des caractéristiques moléculaires de sa maladie. Mesurer un marqueur biologique pour adapter la dose d'un médicament relève de la médecine personnalisée. C'est en oncologie que cette médecine a connu de grands développements, grâce à la connaissance approfondie du fonctionnement de la cellule cancéreuse.

### III.3.4. La radiothérapie

La radiothérapie est l'un des traitements les plus fréquemment employés dans la prise en charge des cancers, elle consiste à exposer les cellules cancéreuses à des rayons. Ce qui provoque une transformation des cellules qui perdent alors leur faculté à se multiplier. Seule la zone où se trouve la tumeur est exposée aux rayons afin d'éviter au maximum que des cellules saines ne soient elles aussi touchées [77].

### III.3.5. L'hormonothérapie

Ce type de traitement repose, comme pour la chimiothérapie, sur la prise de médicaments. Certains cancers sont sensibles à l'action d'hormones naturellement produites par l'organisme. C'est fréquemment le cas pour les cancers du sein et de la prostate. Les cellules cancéreuses ont tendance à se multiplier plus vite en présence de ces hormones. L'idée est donc de bloquer la production ou l'activité de ces hormones[78].

## III.4. LA VITAMINE C ET LE CANCER

### III.4.1 La vitamine C

Dans les 80 ans qui ont suivi la découverte de la vitamine C, le nombre de ses fonctions biologiques connues ne cesse de croître. L'acide ascorbique (AscH, vitamine C) est une cétolactone soluble dans l'eau avec deux groupes hydroxyle ionisables. Il a deux pKa, pK1 est de 4,2 et pK2 est de 11,6 ; L'ascorbate est un excellent agent réducteur et subit facilement deux oxydations consécutives d'un électron pour former un radical ascorbate (Asc • -) et de l'acide déhydroascorbique (DHA). Le radical ascorbate est relativement peu réactif en raison de la stabilisation par résonance de l'électron non apparié ; il détruit facilement l'ascorbate et le DHA ( $k_{obs} = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , pH 7,0). Ces propriétés font de l'ascorbate un antioxydant donneur efficace[79].

#### III.4.2 La biosynthèse d'acide ascorbique

Les plantes et la plupart des animaux synthétisent l'ascorbate à partir du glucose. Chez les poissons primitifs, les amphibiens et les reptiles, la synthèse de l'ascorbate a lieu dans les reins, alors que le foie est le site de synthèse chez les mammifères. Les humains ne peuvent pas synthétiser l'ascorbate car le gène codant pour la L-gulonolactone oxydase (GLO), enzyme nécessaire à la dernière étape de la synthèse de l'ascorbate, n'est pas fonctionnel[80]. Ainsi, l'apport alimentaire devient vital, c'est-à-dire une vitamine. Le régime alimentaire humain typique contient à la fois de l'ascorbate et du DHA [81], [82].

#### III.4.3. La fonction biologique d'acide ascorbique

En général, on peut définir trois types d'activité biologique pour la L-AA : sa fonction en tant que cofacteur enzymatique, en tant que piègeur de radicaux et en tant que donneur / accepteur dans le transport d'électrons soit au niveau de la membrane plasmique, soit dans les chloroplastes [ [81] 82], [83], [84].

#### III.4.4 L'ascorbate et prévention du cancer

Les prix Nobel Pauling et Cameron ont préconisé l'utilisation de fortes doses d'acide ascorbique (> 10 g / jour) pour guérir et prévenir les infections par le froid et le traitement du cancer[86] . Les avantages inclus étaient un sentiment accru de bien-être ou une qualité de vie améliorée, une prolongation des temps de survie des patients en phase terminale et une régression complète dans certains cas[87]. Les chercheurs croient maintenant que l'acide ascorbique prévient le cancer en neutralisant les radicaux libres avant qu'ils ne puissent endommager l'ADN et initier la croissance tumorale, ou qu'ils agissent comme un pro-oxydant

aidant les propres radicaux libres du corps à détruire les tumeurs à leurs stades précoces[88][89].

#### III.4.5. Le mécanisme d'action :

Les chercheurs s'intéressent à un mécanisme moléculaire appelé stress oxydant. Ce phénomène est lié à certaines molécules qui s'accumulent dans la cellule. Si elles ne sont pas neutralisées, elles entraînent la mort cellulaire. Des recherches ont montré que les cellules cancéreuses sont plus sensibles au stress oxydant que les cellules saines. Cela explique pourquoi les chercheurs souhaitent identifier des molécules capables d'initier un stress oxydant spécifiquement au niveau des cellules cancéreuses, et ainsi de les détruire. la vitamine C. Jusqu'à présent, on savait qu'à faible dose, la vitamine C prévenait le stress oxydant. On sait aujourd'hui qu'à des doses plus élevées, cette vitamine augmente ce stress oxydatif, et ce tout particulièrement dans les cellules cancéreuses [90].

#### III.4.6. Les tests cliniques

Le tableau III.1 montre les essais cliniques d'effet oxydant d'acide ascorbique chez les modèles animaux.

Tableau III.1 :l'effet oxydants de l'ascorbate chez les modèles animaux.

espèces	type des cellules	traitement	Effet	Reference
une souche albinos/Une souris nude	HT29 cancer du colon	Asc 15 mg, 100, 1000 mg / kg, i.p., par jour. 4 semaines	7/7 souris ont survécu à 1000 mg / kg. Aucune invasion cancérogène. Le volume des tumeurs diminue. Les gènes ARS et Eif sont régulés à la baisse.	[91]
une souche albinos/Une souris nude	Leucémie K562	Vit K3 10 mg/kg, i.p.; Asc 1 g/kg, i.p	Asc + vit K3 la diminution de la croissance tumorale.	[92]
une souris nude NCR	Ovcar5 cancer des ovaires	Asc 4 g/kg, i.p., 2fois par jour. 30jours	Aucun effet indésirable. la diminution de la croissance tumorale..	[93]

une souris nude NCR	Cancer du pancea Pan02	Asc 4 g/kg, i.p., quotidiennement pour 14 jours	Aucun effet indésirable. la diminution de la croissance tumorale..	[93]
une souris nude NCR	Glioblastome 9L	Asc 4 g/kg, i.p., 2fois par jour. 12jours	Aucun effet indésirable. la diminution de la croissance tumorale.. Prévenir les métastases.	[93]
une souris nude NCR	Cancer du pancea Pan02	Asc 4 g / kg, ip, tous les jours ; Gemcitabine 30, 60 mg / kg, i.p., tous les 4 jours. 21 jours.	Aucun effet secondaire sauf le stress osmotique. Asc + Gem significativement la diminution de la croissance tumorale.	[94]
une souris nude NCR	Cancer du pancea PAN-1	Asc 4 g / kg, ip, tous les jours ; Gemcitabine 30, 60 mg / kg, tous les 4 jours. 33 jours	Aucun effet secondaire sauf le stress osmotique. Asc + Gem significativement la diminution de la croissance tumorale.	[94]
Une souris nude	Cancer du pancea MIA paCa-2	Asc 4 g / kg, i.p., deux fois par jour. 14 jours.	Aucun effet indésirable. la diminution de la croissance tumorale.	[95]
Une souris NMRI	Hépatome murin de TLT	Asc 1 g / kg, i.p., tous les jours. 30 jours.	la diminution de la croissance tumorale.	[96]
Une souris nude	Cancer du poumon H322	Asc 250 mg / kg, i.p. ; 101 nanoparticules F6 i.v.	Asc synergistic avec 101 F6 la diminution de la croissance tumorale.	[97]
Une souris SCID	cellules de mésothéliome EHMS-10	Asc 0,88, 8,8 g / souris, i.v. une seule dose.	la diminution de la croissance tumorale.	[98]
une souche albinos/Une souris nude	Sarcome murin S180 cellules	Asc 5,5, 30 mg / souris, i.p., tous les deux jours.	La diminution de la croissance tumorale. Inhiber bFGF, VEGF	[1]

			et les gènes MMP2.	
une souche albinos/Une souris nude	Sarcome murin S180 cellules	Asc 1,5 mg / g, i.p., tous les trois jours.	Inhiber la tumeur ; RKIP et Les niveaux A5 augmentent.	[99]

#### III.4.7. Le rôle de la vitamine C en association avec la chimiothérapie et la radiothérapie

En théorie, la vitamine C pourrait sensibiliser les cancers réfractaires à la radiothérapie et à la chimiothérapie. Mais on ignore si l'utilisation concomitante d'antioxydants avec la chimiothérapie et la radiothérapie est bénéfique ou préjudiciable en raison de la rareté de l'évaluation des essais cliniques, les preuves à ce jour reposent principalement sur des données in vitro et in vivo, On postule également que la vitamine C à forte dose réduit la toxicité de la chimiothérapie en raison de la restauration des concentrations plasmatiques de vitamine C et donc de la capacité antioxydante. Des preuves in vitro suggèrent également que la vitamine C pourrait réduire la toxicité cardiaque associée à la doxorubicine sans compromettre l'efficacité, supposée liée à la peroxydation des lipides cardiaques[100].[101], [102]

## CHAPITRE IV. MATERIELS ET METHODES

### IV.1. MATERIELS

Les matériels utilisés sont l'acide ascorbique (MERCK, Allemagne), citrate de sodium (PANREAC, Espagne), nitrate d'argent (SIGMA-ALDRICH, France), hydroxyde de sodium (PANREAC, Espagne), ammoniacque (SIGMA-ALDRICH, France), DPPH (SIGMA-ALDRICH, France), l'acide éthylènediamine tétraacétique EDTA (SIGMA-ALDRICH, France) et hydrogénophosphate de sodium monobasique et dibasique (MERCK, Allemagne) ont été tous utilisés comme acheter sans purification.

### IV.2. PREPARATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT AGNP

Le nitrate d'argent et l'acide ascorbique ont été utilisés comme produits de départ pour la préparation de nanoparticules d'argent. Les ions argent ont été réduits en argent métallique par l'acide ascorbique (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>), qui a un potentiel redox suffisamment faible[103], selon la réaction suivante:



0,6 ml de solution aqueuse 0,1 M d'AgNO<sub>3</sub> ont été ajoutés à 60 ml de solution aqueuse d'acide ascorbique ( $6,0 \times 10^{-4}$  M) à une vitesse d'agitation de 900 tr / min dans un bain-marie à 30 ° C.

Les nanoparticules d'argent en été séparé par centrifugation, lavé 3 fois avec l'eau distillé et séché a l'étuve a 40°C pendant 24h.

### IV.3. PREPARATION DES NANOPARTICULES D'ARGENT ENROBES D'ACIDE ASCORBIQUE (AG-AA)

Le nitrate d'argent, l'acide ascorbique et le citrate de trisodium ont été utilisés comme produits de départ pour l'enrobage des nanoparticules d'argent.

0,5g d'acide ascorbique sont mélangé à 80 ml de solution aqueuse de citrate de sodium ( $3,0 \times 10^{-3}$  M), le mélange a été ajoutés à la suspension de nanoparticules d'argent préalablement préparé, ensuite 0,2 de solution d'AgNO<sub>3</sub> (0,01 M) a été ajoutée lentement sous agitation vigoureuse.

#### IV.4. L'OPTIMISATION DU PROCÉDE D'ENROBAGE

L'optimisation du procédé d'enrobage a été réalisé en utilisant le même protocole décrit dans la section précédente (IV.3) et en utilisant la technique des plans d'expérience. Nous avons choisi un plan factoriel complet à deux niveaux, avec trois facteurs et deux points au centre.

Les facteurs étudiés sont : la température (X1, qui varie entre 60 et 100 °C), le pH (X2, varie entre 10 et 12) et le temps (X3, qui varie entre 30 et 90 minutes), ces niveaux ont été choisis après des essais préliminaires pour déterminer les facteurs influençant. Le tableau IV.1 représente les niveaux des facteurs du plan d'expérience.

Tableau IV.1 représentant les niveaux des facteurs choisis dans le plan d'expérience

facteur	Niveau haut (+1)	Niveau bas (-1)
température	100°C	60°C
Ph	12	10
Temps	90 min	30 min

Le nombre d'expérience est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$N=L^K+ C$$

D'où

N : nombre d'expériences.

L : nombre de niveau.

K : nombre de facteur.

C : nombre de point au centre.

Donc le nombre total d'essai est de l'ordre de  $2^3+2 = 10$  essais. La matrice des essais est donnée dans le tableau

Tableau IV.2 : Matrice des expériences

	X1(°C)		X2(PH)		X3(min)	
	niveau	valeur	niveau	valeur	niveau	valeur
1	+1	100	+1	12	+1	90

2	-1	60	+1	12	+1	90
3	+1	100	-1	10	+1	90
4	-1	60	-1	10	+1	90
5	+1	100	+1	12	-1	30
6	-1	60	+1	12	-1	30
7	+1	100	-1	10	-1	30
8	-1	60	-1	10	-1	30
9	0	80	0	11	0	60
10	0	80	0	11	0	60

- Les réponses étudiées :

La réponse principale dans notre étude est le taux d'enrobage (réponse Y1), trois autres réponses ont été prise en considération : le diamètre moyen (réponse Y2), le potentiel zêta (réponse Y3) et l'activité antioxydante (réponse Y4).

La dépendance de chaque réponse expérimentale « Y » sur des facteurs a été modélisée en appliquant l'équation polynomiale suivante (Box, 1978) [104] :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i x_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

Où «  $\beta_0$  » est le terme constant,

«  $\beta_i$  » et «  $\beta_{ij}$  » sont les coefficients de régression,

« E » est l'erreur,

«  $X_i$  » et «  $x_j$  » sont les variables et « n » est leur nombre.

Après la réalisation des expériences et l'analyse des résultats à l'aide du logiciel MODDE.6 (suède, 2001), l'effet des facteurs sur les réponses sera évalué et les différents coefficients des modèles mathématiques seront obtenus.

La qualité globale du modèle mathématique, c'est-à-dire la corrélation entre les données d'entrée et de réponse, a été évaluée par la qualité de l'ajustement  $R^2$  et la prédiction  $Q^2$ . La validité du modèle ainsi que la répétabilité des essais ont été estimées.

## IV.5. Caractérisation des nanoparticules d'argent enrobées

### IV.5.1. Le taux d'enrobage :

Le taux d'enrobage a été calculé par rapport la quantité de nanoparticule d'argent initialement introduite en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Taux d'enrobage} = \frac{m_{AgAA} - m_{Ag}}{m_{AgAA}} * 100 \quad \text{IV.1}$$

D'où

$m_{Ag-AA}$  : masse de nanoparticules d'argent enrobé d'acide ascorbique (mg).

$m_{Ag}$  : masse de nanoparticule d'argent initialement introduite (mg).

### IV.5.2 Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

De chaque essai, 1 ml a été pris du mélange obtenu et a été complété par 100 ml d'eau distillé. À l'aide d'un filtre a seringue de 0.22 um la solution a été filtrée et a été passée dans l'appareil HORIBA (SZ-100) dans une cellule en quarts (four opening). Toutes les mesures ont été effectuées en triple à 25 ° C

Après l'obtention des résultats, le diamètre moyen a été calculé avec l'équation suivante[105] :

$$DM = \frac{\sum_{i=1}^n f_i \cdot x_i}{\sum_{i=1}^n f_i} \quad \text{IV.2}$$

Où

DM est le diamètre moyen arithmétique (nm)

« n » le nombre de classes divisant l'échantillon

« xi » le diamètre représentatif et fi la fréquence.

### IV.5.3. Potentiel zêta

de chaque essai , 1 ml a été pris du mélange obtenu et a été complété par 100 ml d'eau distillé. la solution a été passé dans l'appareil dans une cellule électrode GOLD PLATING 6 mm, Toutes les mesures ont été effectuées en triple à 25 ° C. Le potentiel zêta été calculéen utilisant l'équation de Smoluchowski [106]:

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{\varepsilon} \frac{v}{L} \quad \text{IV.3}$$

d'où

« U » est la tension

« L » est la distance entre les deux électrodes.

« ε » et « η » sont la constante diélectrique et la viscosité de l'eau pure, respectivement.

« v » est la vitesse de déplacement des microparticules dans le champ électrique.

## IV.6 Analyse structurale des nanoparticules d'argent enrobées

Les analyses structurales ont été réalisés pour l'acide ascorbique , les nanoparticules d'argent ainsi que les nanoparticules d'argent enrobées (l'optimum).

### IV.6.1. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les spectres FTIR d'acide ascorbique, de nanoparticules d'argent et des nanoparticules d'argent enrobées ont été obtenus par spectrophotomètre Tensor 27 FT-IR. Une quantité de poudre de chaque échantillon mélangé avec du bromure de potassium KBr est déposée directement entre les deux cristaux.

### IV.6.2. Diffraction des rayons X

Les diagrammes de diffraction des rayons X des AgNPs ont été obtenus en utilisant un diffractomètre à rayons X Philips PW 3710 les trois échantillons AgNP, l'acide ascorbique et les Ag-AA ont été caractérisés. Le tube fonctionnait à 45 kV, 9 mA [107].

#### IV.6.3.la microscopie électronique à balayage

L'analyse a été réalisé en utilisant un microscope électronique à balayage de type QANTA 400 FEI, Allemagne. L'échantillon a directement été placé sur une pastille en carbone, la détection a été réalisé en utilisant le détecteur de type LFD.

#### IV.6.4.Analyse thermogravimétrique (TGA)

Analyse thermique simultanée TGA: la teneur en eau des AgNPs est déterminée par analyse Thermogravimétrique (TGA) sur une plage de températures allant de 10 ° C à 300° C. La TG a été réalisée en utilisant un STA 409 PC: ATD; ATG; - Instrument NETSCH sous atmosphère de gaz de purge N2 dynamique à une vitesse constante de 50 cc / min et à une vitesse de chauffage de 10 ° C / min [5].

#### IV.6.5. L'activité antioxydante in vitro

De chaque essai, 5 mg de nanoparticules enrobées ont été mises dans 1 ml d'eau distillée et une solution de 3 ml de DPPH a été ajouté, les échantillons ont été mis à l'abri de la lumière pour 30 minutes d'incubation.

L'absorbance de chaque solution est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type Shimadzu. l'activité antioxydante a été déterminée en utilisant l'équation suivante :

$$AA_0 = \frac{A_0 - A_s}{A_0} * 100 \quad \text{IV.4}$$

AA<sub>0</sub> : pourcentage de l'activité antioxydante.

A<sub>s</sub> : absorbance de chaque échantillon.

A<sub>0</sub> : absorbance du DPPH.

#### IV.6.6. L'hémocompatibilité

Un échantillon de sang stabilisé avec de l'acide éthylènediamine tétraacétique (EDTA) a été récemment collecté des rats. Le sang total a été centrifugé à 1600 tr / min pendant 5 min et le plasma, la couche leucocyto-plaquettaire et la couche supérieure de cellules ont été jetés. Les cellules sanguines emballées restantes ont été lavées quatre fois avec du PBS isotonique stérile. Après lavage, 0,2 ml de globules rouges tassés ont été dilués à 4 ml avec du PBS (hématocrite à 5%)[108]. La suspension diluée de globules rouges (0,2 ml) a ensuite été mélangée à différentes concentrations des Ag-AA et AgNP à 10 ,20 et 40 ug/ml dans du PBS (0,8 ml). Une suspension diluée de globules rouges mélangée à 0,8 ml de PBS et à 0,8 ml d'eau bidistillée a été utilisée comme contrôle négatif et positif, respectivement. Le mélange a été doucement tourbillonné et incubé à la température ambiante pendant 2 h. Après centrifugation (1600 tr / min, 5 min) du mélange incubé, on a mesuré l'absorbance du surnageant à 541 nm par spectrophotomètre UV – visible [108]. Enfin, l'hémocompatibilité a été évaluée en termes de pourcentage d'hémolyse [109] :

$$\text{le pourcentage d'hémolyse} = \frac{As - An}{Ap - An} * 100 \quad \text{IV.5}$$

- « As » est l'absorbance de l'échantillon
- « An » est l'absorbance du contrôle négatif.
- « Ap » est l'absorbance du contrôle positif.

## CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

### V.1. L'optimisation du procédé d'enrobage des nanoparticules d'argent

L'argent métallique est obtenu par réduction des ions d'argent par l'acide ascorbique après subir a une coalescence et une maturation, les graines des nanoparticules d'argent sont obtenues.

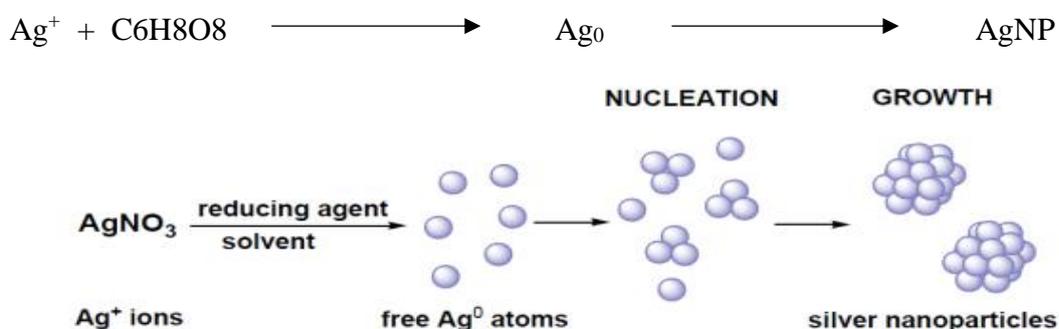


Figure V.1 : les différents étapes de synthèse de nanoparticules d'argent

On a observé que les solutions réactionnelles passaient d'incolores à jaunes puis brunes. Au bout de 15 minutes, il n'y a plus eu de changement de couleur, ce qui indique que les réactions sont complètes.

Avec le citrate trisodium TCS non réagit utilisé comme un stabilisant et en ajoutant l'acide ascorbique en excès, les nanoparticules d'argent enrobées d'acide ascorbique ont été obtenues.

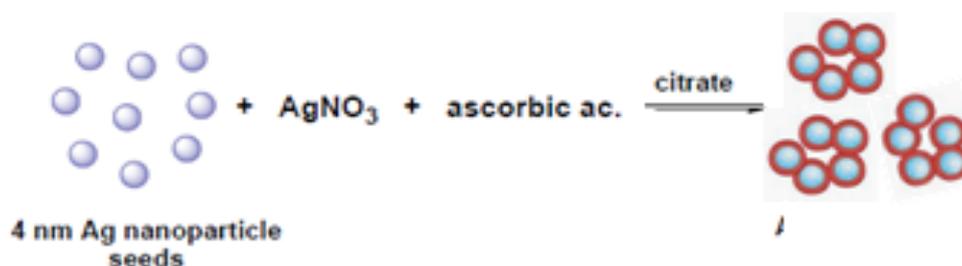
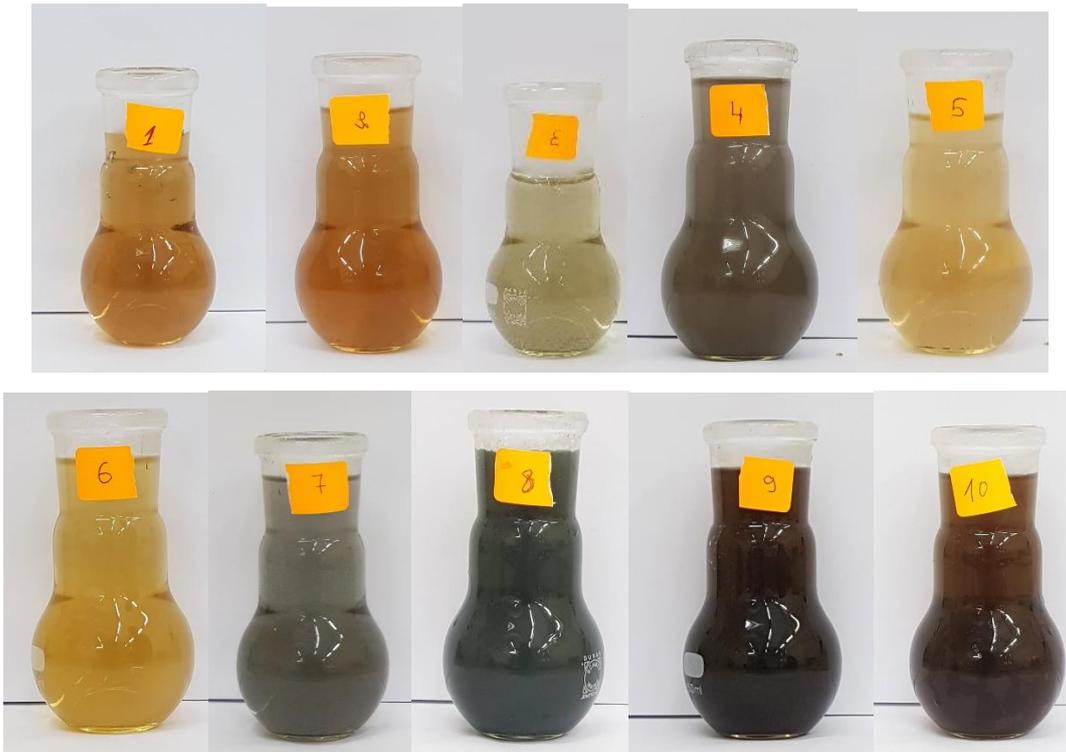


Figure V.2 : l'enrobage de nanoparticules d'argent

- Les nanoparticules d'argent obtenues sont de taille de 8 nm et de masse moyen 7.9mg.

La figure V.3 montre les solutions de nanoparticules d'argent enrobées des essais de plan d'expérience et la figure V.4 représente les nanoparticules enrobés bien séchées



La figure V.3 : les solutions de nanoparticules d'argent enrobées des essais de plan d'expérience.



Figure V.4 : l'étape de la collecte des nanoparticules d'argent enrobées après séchage

Les valeurs des réponses pour chaque expérience sont données dans le tableau V.1 .

Tableau V.1 : La matrice des résultats du plan d'expérience

	X1	X2	X3	MD (nm)	Masse (mg)	PZ (Mv)	T.E (%)	A A (%)
1	+1	+1	+1	18	17.7	45	0	20.6
2	-1	+1	+1	16	12	49	0	0.83
3	+1	-1	+1	22	16.9	0.3	38.94	57
4	-1	-1	+1	21	11.7	0.1	28.13	61
5	+1	+1	-1	24	9.6	0.1	41.03	27
6	-1	+1	-1	33	5.6	7.5	42.5	8
7	+1	-1	-1	41	11.3	0.3	59.17	34
8	-1	-1	-1	43	5.3	0.1	61.02	39
9	0	0	0	30	12.2	16	43.44	33
10	0	0	0	32	9	15.1	23.34	41

Les réponses Y peuvent être visualisées en affichant les histogrammes représentant les valeurs des coefficients de corrélation ( $R^2$ ) et des coefficients de prédiction ( $Q^2$ ), les histogrammes de paramètres indicatifs les effets des facteurs et de prédiction dans la conception expérimentale par les tracés des surfaces de réponse pour le chaque facteur.

## V.2. Les coefficients de corrélation ( $R^2$ ) et des coefficients de prédiction ( $Q^2$ )

Les histogrammes représentant les valeurs des coefficients de corrélation ( $R^2$ ) et des coefficients de prédiction ( $Q^2$ ) sont donnés dans la figure. On remarque que toutes les valeurs de  $R^2$  se rapprochent de 1, tandis que les valeurs de  $Q^2$  sont moins importantes que celle des

coefficients de corrélations. Une seule valeur de  $Q^2$  inférieur à 0.5 a été observée pour le diamètre moyen (figure V.5).

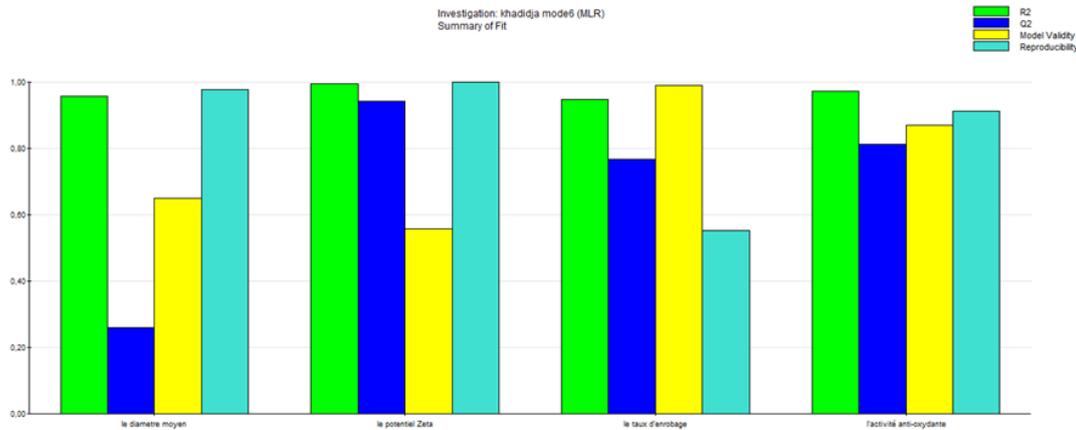


Figure V.5 : Les histogrammes des valeurs ( $R^2$ ) et ( $Q^2$ ) pour réponse.

### V.3. Les effets des facteurs sur les réponses

#### V.3.1. Le taux d'enrobage

Dans la figure V.6 :

-Les facteurs temps et température influencent négativement sur le taux d'enrobage contrairement au PH.

-L'interaction de la température avec temps et avec le PH influence négativement alors que l'interaction de ces deux dernières influencent positivement.

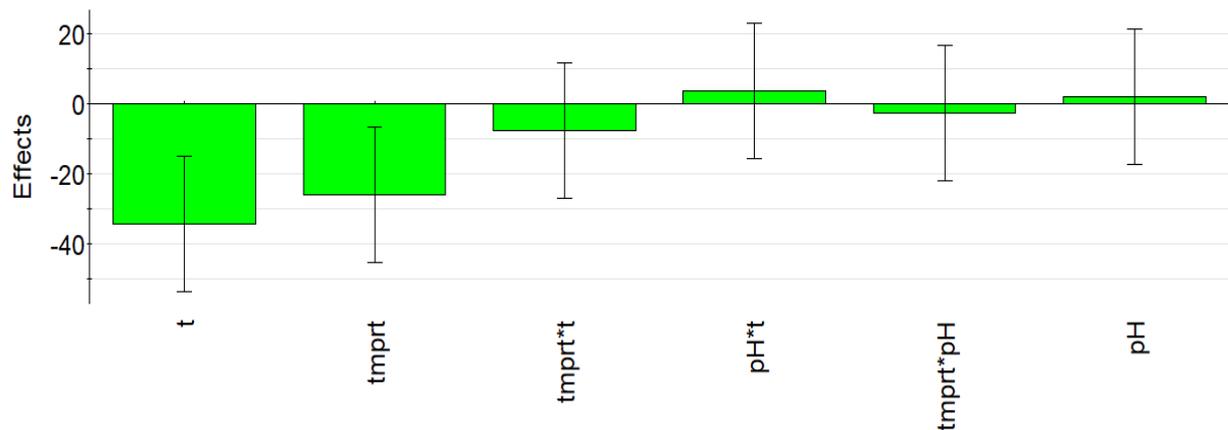


Figure V.6 : L'effet des facteurs sur le taux d'enrobage.

$R^2$  et  $Q^2$  : La figure V.6 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modèles d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement  $R^2$  de Y est 0.946 et la prédiction  $Q^2$  de Y est 0,766.

### V.3.2 Le diamètre :

Dans la figure V.7:

- Tous les facteurs influencent négativement le diamètre dans notre procédé.
- L'interaction du temps avec la température et avec le PH influence positivement alors que l'interaction de ces deux derniers influencent négativement.

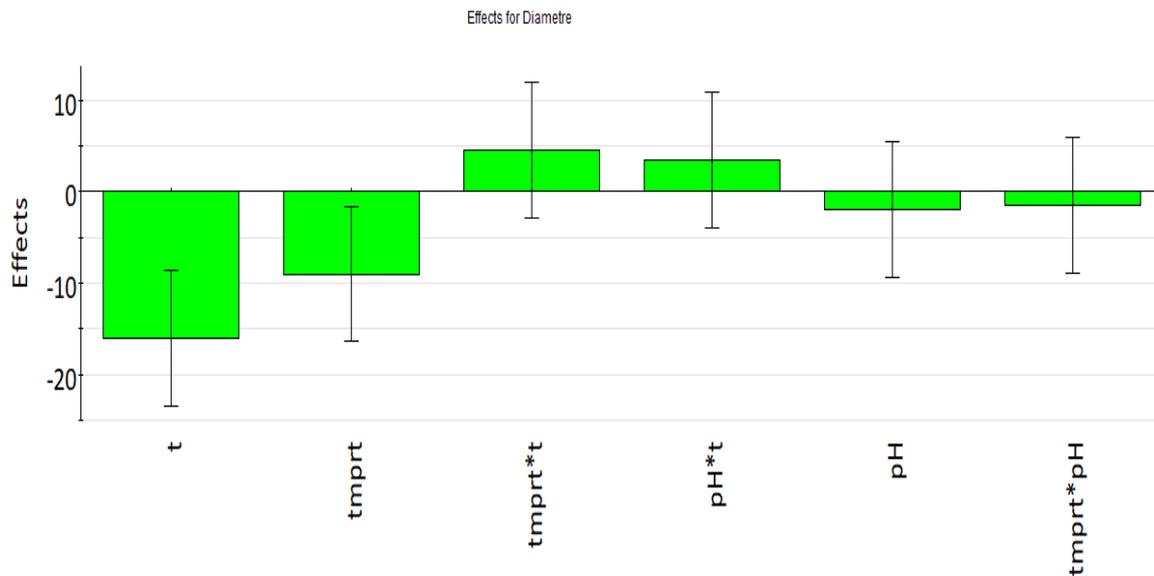


Figure V.7 : L'effet des facteurs sur le diamètre moyen

$R^2$  et  $Q^2$  : La figure V.7 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modèles d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement  $R^2$  de Y est 0,959 et la prédiction  $Q^2$  de Y est 0,260.

### V.3.3. Le potentiel zêta

Dans la figureV.8 :

- Les facteurs temps et la température influencent positivement sur le potentiel contrairement au PH qui influence négativement.
- L'interaction du temps avec la température et avec le PH influence positivement alors que l'interaction de ces deux dernières influencent négativement.

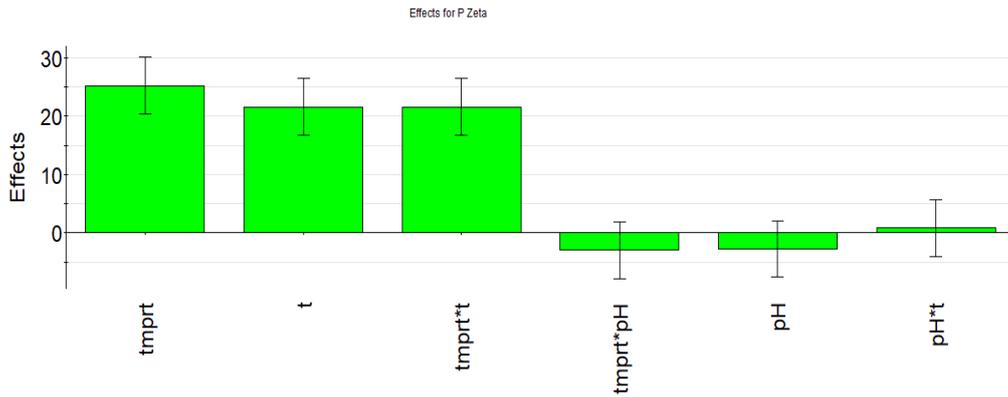


Figure V.8 : l'effet des facteurs sur le potentiel zêta.

$R^2$  et  $Q^2$ : La figure V.8 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modélisation d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement  $R^2$  de Y est 0,996 et la prédiction  $Q^2$  de Y est 0,942.

#### V.3.4. L'activité antioxydante

Dans la figure V.9 :

-Le PH et le temps influencent positivement sur l'activité antioxydante dans notre procédé tandis que la température influence négativement.

-L'interaction de la température avec le pH influence positivement sur l'activité antioxydante et son interaction avec le temps influence négativement, alors que l'interaction du pH et le temps est presque nulle.

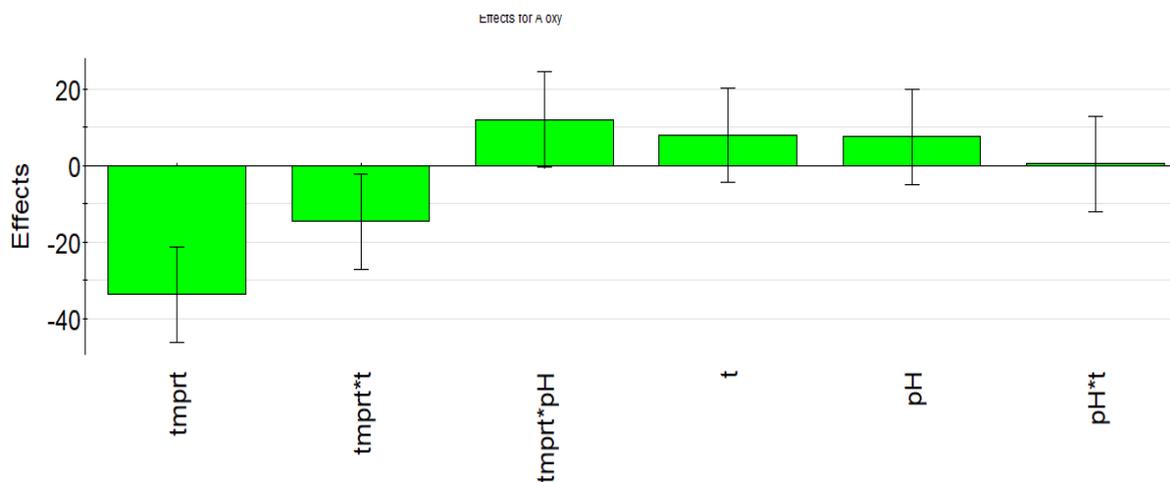


Figure V.9 : L'effet des facteurs sur l'activité antioxydante.

$R^2$  et  $Q^2$  : La figure V.9 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modèles d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement  $R^2$  de Y est 0.972 et la prédiction  $Q^2$  de Y est 0,812.

#### V.4. La modélisation et prédiction des résultats

Les modèles obtenus nous permettront de prédire les réponses pour les valeurs proposées des facteurs, la significativité des valeurs obtenues dépendra de la précision des modèles obtenus. Selon les valeurs de P obtenues par l'analyse ANOVA, tous les modèles mathématiques sont statistiquement significatifs ( $P < 0.05$ ).

Les différents modèles mathématiques du procédé d'enrobage de nanoparticules magnétiques d'argent avec l'acide ascorbique sont donnés dans le tableau V.2. pour les coefficient des chaque reponse voir annexe 2

Tableau V.2 : les modèles mathématiques

Réponses	Modèles mathématiques	probabilité P	Significativité du modèle
Le taux d'enrobage (%)	$Y = 33.75 - 12.96 X_1 + 0.93 X_2 - 17.08 X_3 - 1.3 X_1 X_2 - 3.8 X_1 X_3 + 1.7 X_2 X_3$	5%	Significative
Le diamètre moyen (nm)	$Y = 28 - 4.5 X_1 - X_2 - 8 X_3 - 0.75 X_1 X_2 + 2.25 X_1 X_3 + 1.75 X_2 X_3$	3.5%	Significative $P < 0.05$
Le potentiel zêta (mV)	$Y = 13.35 + 12.6 X_1 - 1.37 X_2 + 10.8 X_3 - 1.74 X_1 X_2 + 10.8 X_1 X_3 + 0.42 X_2 X_3$	0.1%	Très significative $P < 0.05$
L'activité antioxydante	$Y = 32.14 - 16.82 X_1 + 3.72 X_2 + 3.92 X_3 + 5.97 X_1 X_2 - 7.32 X_1 X_3 + 0.22 X_2 X_3$	1.9%	Significative $P < 0.05$

La probabilité de la régression est significative à 95%. Le modèle est statistiquement bon.

La probabilité de la régression n'est pas significative à 95%, Le modèle est statistiquement faible.

##### V.4.1. La prédiction pour le taux d'enrobage

Pour les surface de réponse voir annexe 1

- Pour une valeur de la température, le taux d'enrobage augmente plus le temps diminue tandis que la variation du PH ne prédit rien.



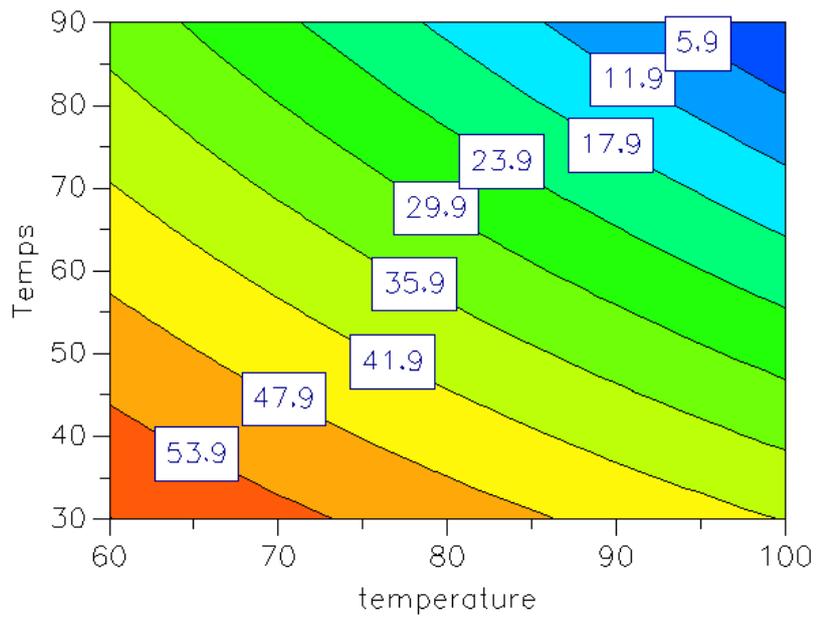


Figure V.14 : Les contours représentant les prédictions de taux d'enrobage.

#### V.4.2. Le diamètre moyen

-Pour une valeur fixe de la température, plus le temps et le PH diminuent, le diamètre moyen augmente.

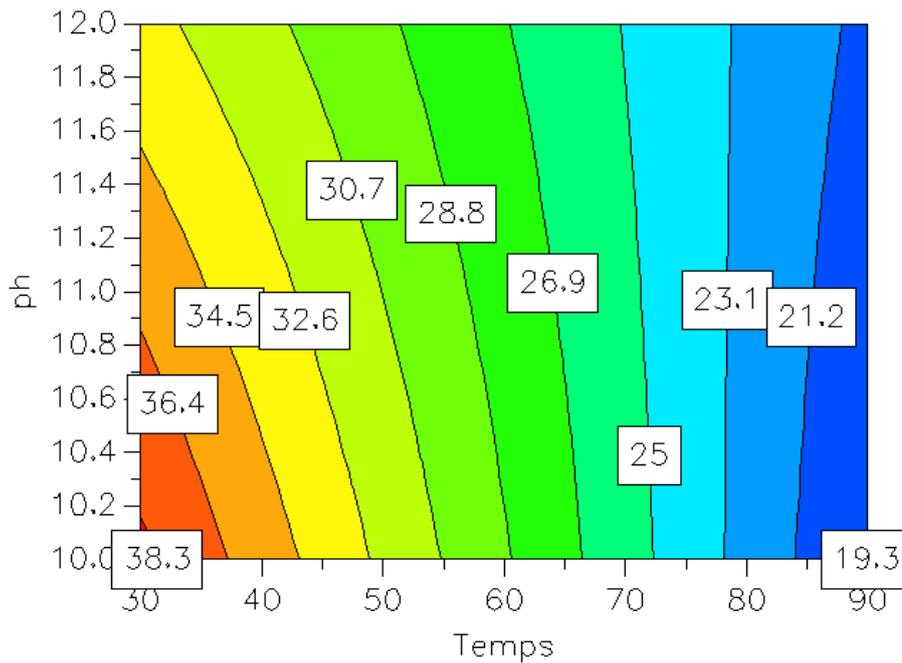


Figure V.16: Les contours représentant les prédictions de diamètre moyen

-Plus la température diminue le diamètre moyen augmente alors que le PH ne prédit rien pour une valeur fixe du temps.

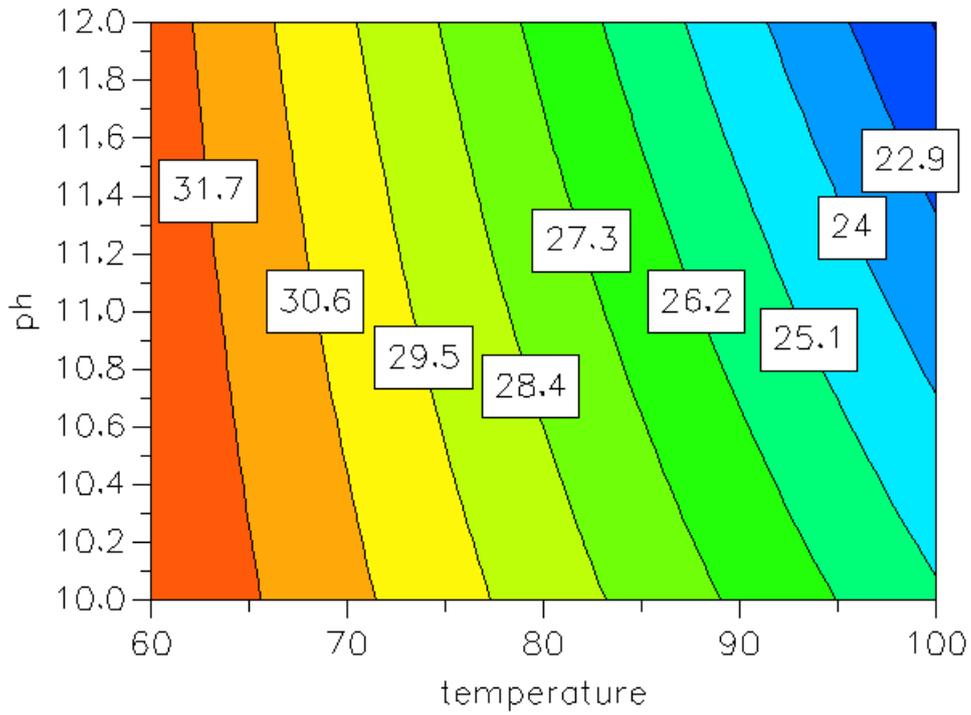


Figure V.18: Les contours représentant les prédictions de diamètre moyen

-Pour une valeur fixe du PH, plus le temps et la température diminuent, le diamètre moyen augmente.

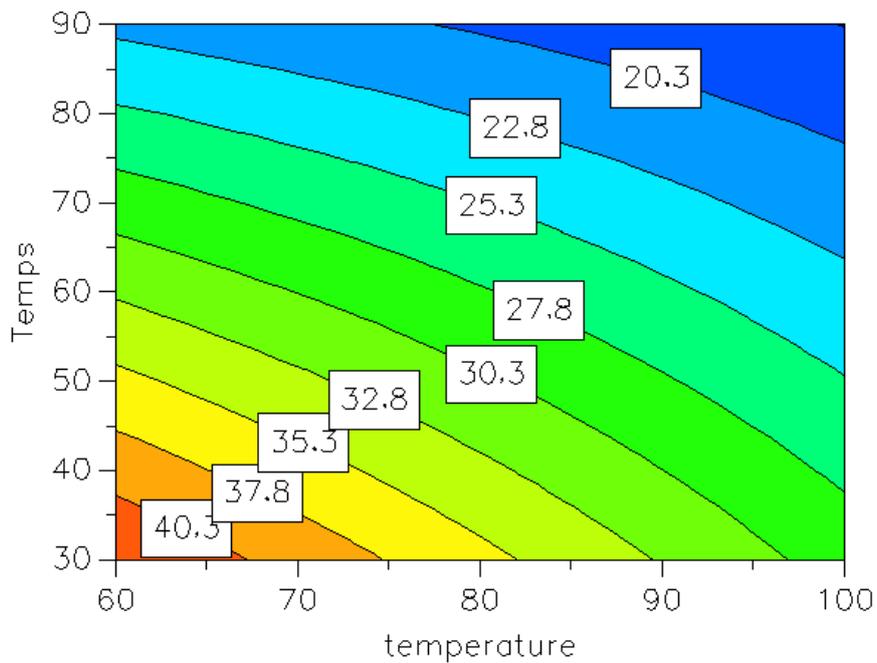


Figure V.20 : Les contours représentant les prédictions de diamètre moyen

### V.4.3. Le potentiel zêta

-Pour une valeur fixe de température, plus le temps augmente plus le potentiel zêta augmente

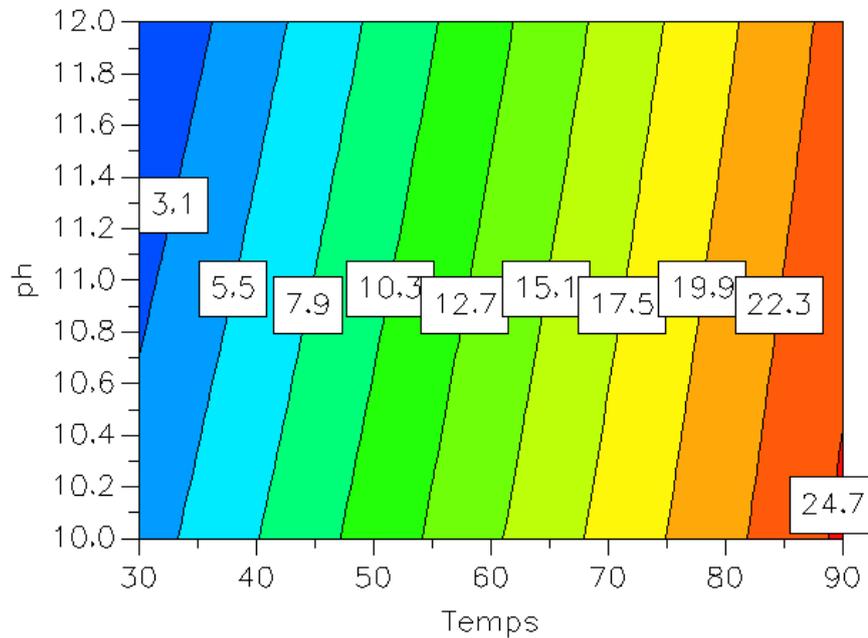


Figure V.22 : Les contours représentant les prédictions de potentiel zêta

-Lorsque la température augmente et le PH diminue, le potentiel zêta augmente ; pour une valeur fixe du temps.

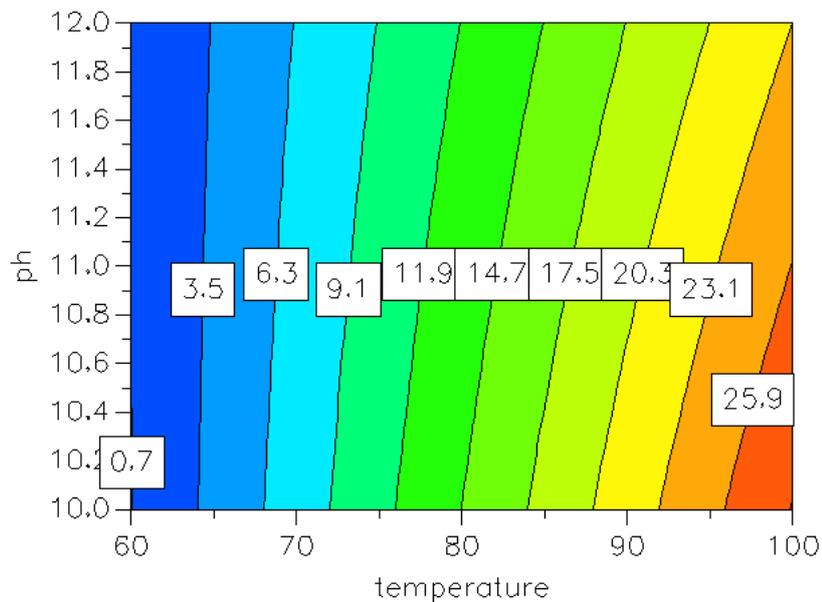


Figure V.24 : Les contours représentant les prédictions de potentiel zêta

-Plus la température et le temps augmentent le potentiel zêta augmente, pour une valeur fixe du pH

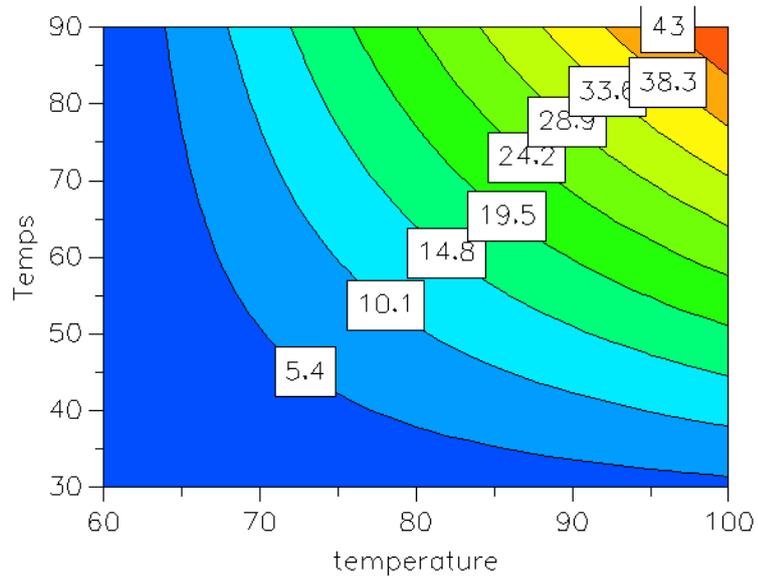


Figure V.26: Les contours représentant les prédictions de potentiel zêta

#### V.4.4. L'activité anti oxydante

-Plus le temps et le pH augmentent, l'activité antioxydante augmente ; pour une valeur de température fixe.

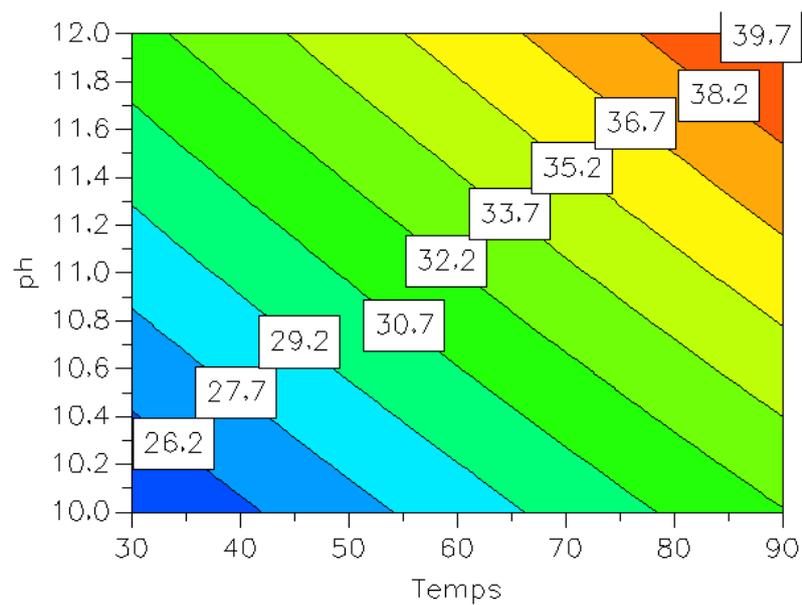


Figure V.28 : Les contours représentant les prédictions d'activité anti oxydante

-Pour une valeur fixe du temps, lorsque la température et le pH diminuent, l'activité anti-oxydante augmente.

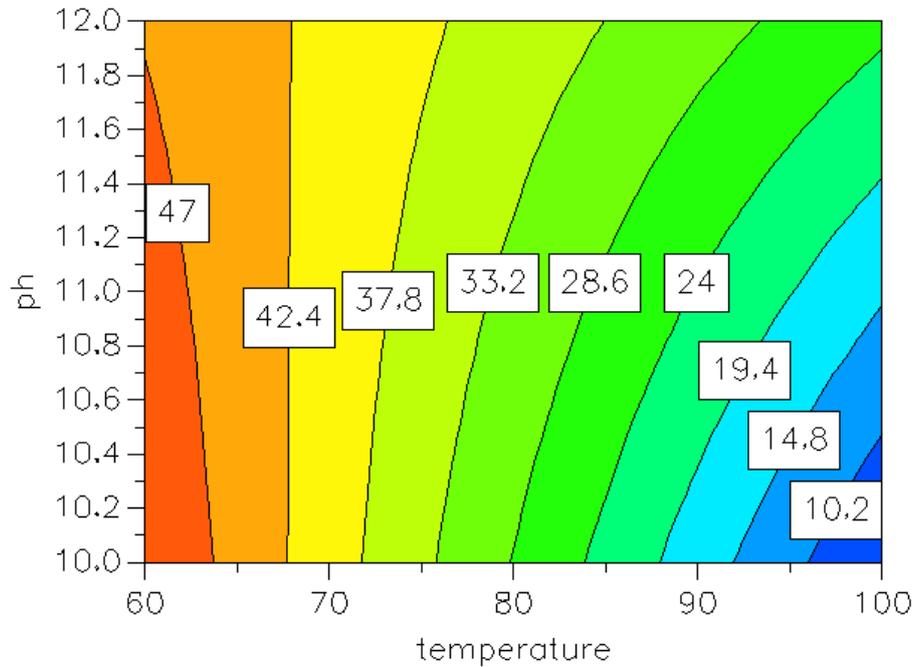


Figure V.30: Les contours représentant les prédictions d'activité antioxydante

-Pour une valeur du pH fixe ; plus la température diminue et le temps augmente, l'activité anti-oxydante augmente.

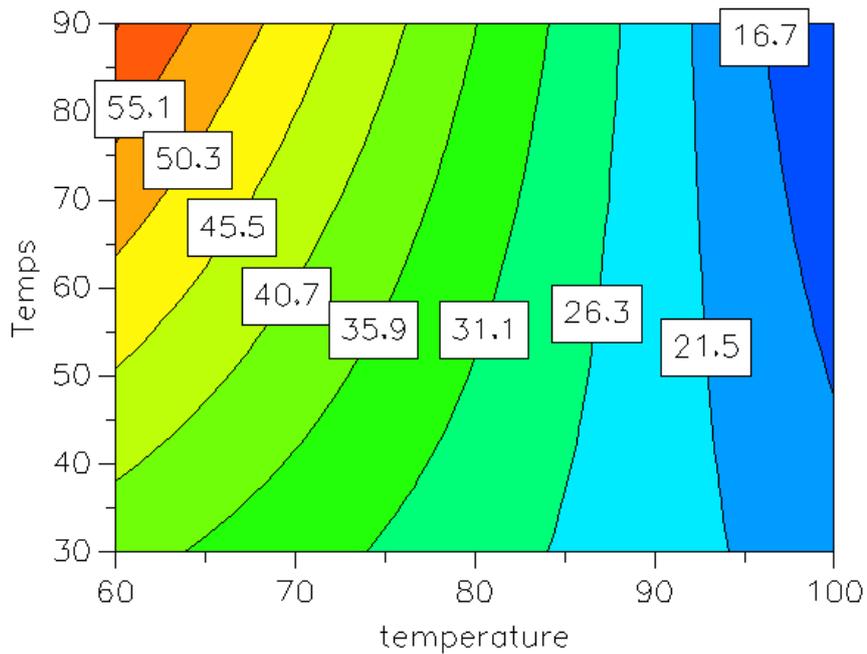


Figure V.32: Les contours représentant les prédictions d'activité antioxydante

Après tous les résultats obtenus : on constate que l'essai optimum des plans d'expériences étudiés permettant le meilleur le taux d'enrobage est l'essai n°8, qui correspond à un temps 30 min, Ph de 10 et une température de 60°C.

La matrice des optimums proposé par le modde6 est donne dans le tableau V.3.

Tableau V.3 : La matrice des optimums proposé par le modde6

température	ph	Temps	Diamètre moyen	Potentiel Zeta	Taux d'enrobage	Activité oxydante	iter	log(D)
60	12	30	40,75	0,425	60,477	35,243	13	-0,6021
60,0845	11,9964	30,0003	40,7255	0,4276	60,431	35,237	169	-0,5893
60,0232	12	31,7996	40,2316	0,4516	59,7739	35,9266	245	-0,4244
60,0013	11,2935	30,0251	42,1544	0,6548	60,131	36,9979	130	-0,5101
60,0005	10,0175	30,0008	44,7146	1,0694	59,5372	40,1422	195	-0,372
60	10,4	30	43,95	0,945	59,719	39,197	27	-0,412
60,0232	12	31,7996	40,2316	0,4516	59,7739	35,9266	245	-0,4244
60	12	30	40,75	0,425	60,477	35,243	13	-0,6021

#### V.5. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les spectres infrarouges de l'acide ascorbique des nanoparticules d'argent et des nanoparticules enrobées sont données dans les figures V.34 ,V.35, V.36.

Le spectre de l'acide ascorbique présente la bande O-H à 3400, C=O à 1660 énohydroxyle à 1312 , C-O à 1131 , C-C à 1031 et CH<sub>2</sub> à 750 ,cm<sup>-1</sup>, ces bandes caractéristiques de l'acide ascorbique. Le spectre infrarouge de l'acide ascorbique enrobées est donné dans la figure V.34

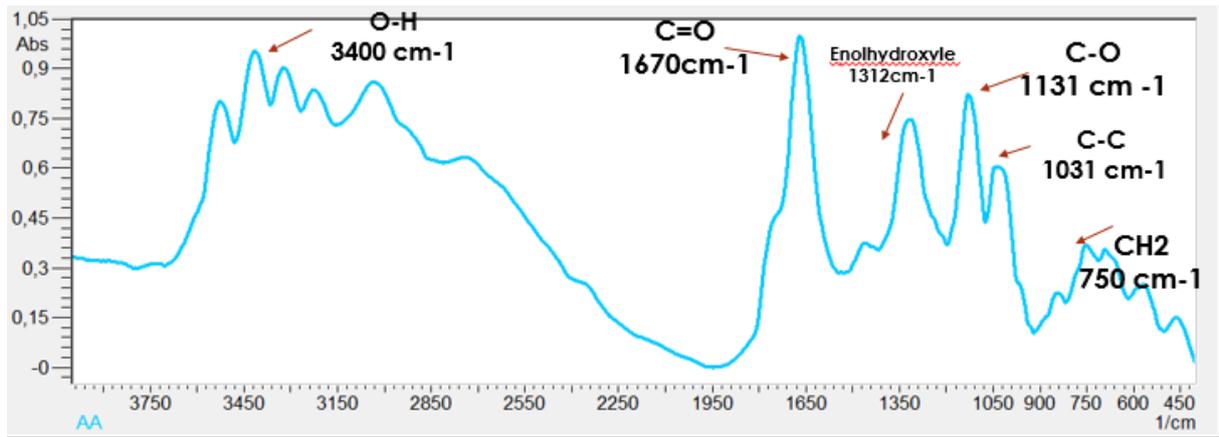


Figure V.34 : Les spectres infrarouges de l'acide ascorbique

Le spectre de nanoparticules d'argent présente la bande C-Ag et O-H à  $3400$ , C=O à  $1625$  et C-O à  $1355\text{ cm}^{-1}$ , ces bandes caractérisent l'acide ascorbique qui a aidé à la formation des nanoparticules d'argent. Le spectre infrarouge des nanoparticules d'argent est donné dans la figure V.35

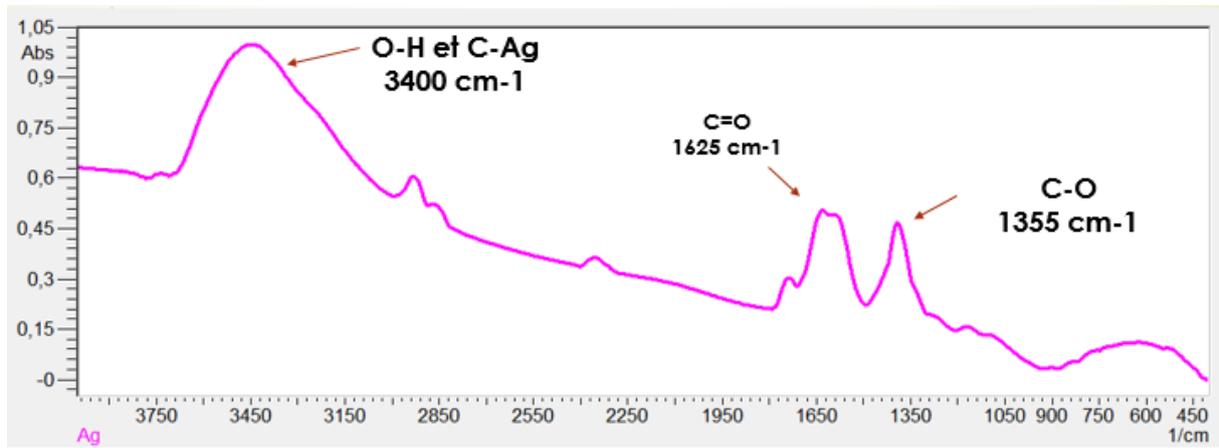


Figure V.35 : Les spectres infrarouges des nanoparticules d'argent

Le spectre de nanoparticules d'argent enrobées présente la bande C-Ag et O-H à  $3400$ , C-C à  $1750$ , C=O à  $1650$  et C-O à  $1385\text{ cm}^{-1}$ , ces bandes caractérisent l'esterification d'acide ascorbique. Le spectre infrarouge des nanoparticules d'argent enrobées est donné dans la figure V.36

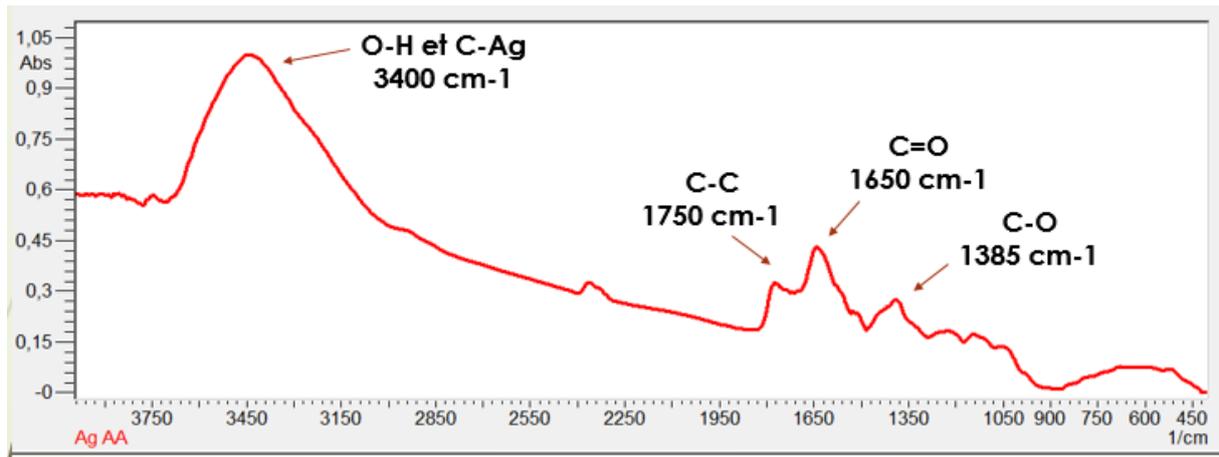


figure V.36 :Le spectre infrarouge des nanoparticules d'argent enrobées

## V.6. Diffraction des rayons X

Les diffractogrammes de l'acide ascorbique, des nanoparticules d'argent ainsi que des nanoparticules enrobées sont données dans les figures V.37 ,V.38 , V.39

Les diffractogrammes présentent plusieurs pics entre 0 et 70 2theta représentant les phases cristallines de l'acide ascorbique, leur intensité est de l'ordre 70000.

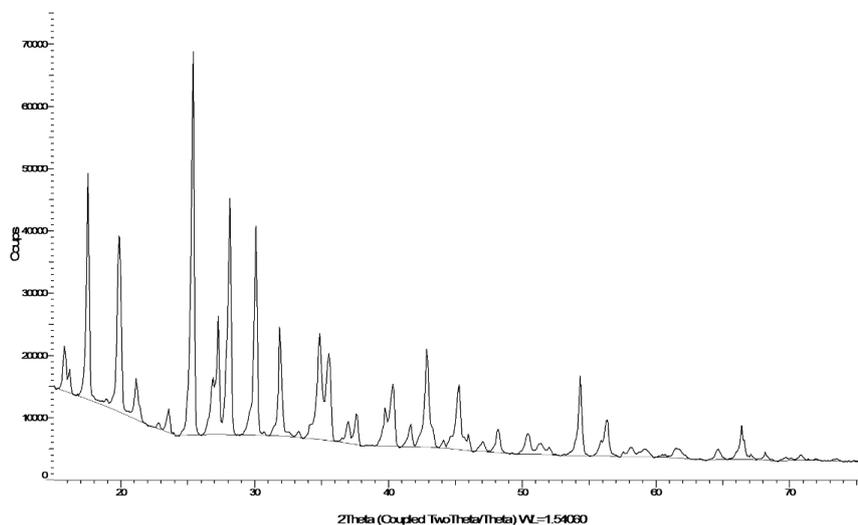


Figure V.37 : Les diffractogrammes de l'acide ascorbique

Les diffractogrammes des nanoparticules d'argent présentent des pics avec de très faible intensité environs 17000, on remarque le pique caractéristique de l'élément argent à 2theta = 38°

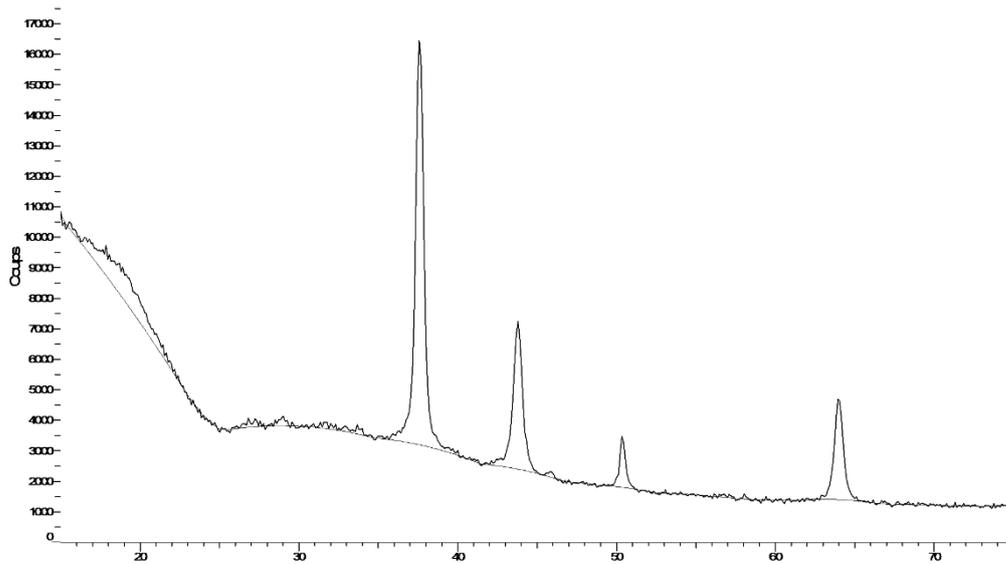


Figure V.38 : Le diffractogrammes des nanoparticules d'argent

Les diffractogrammes des nanoparticules d'argent enrobées présentent des pics avec des intensités de 10000, on remarque le même pic caractéristique de l'élément argent ( $2\theta = 38^\circ$ ) et aucun pic d'acide ascorbique parce que qu'il a perdu sa cristallinité.

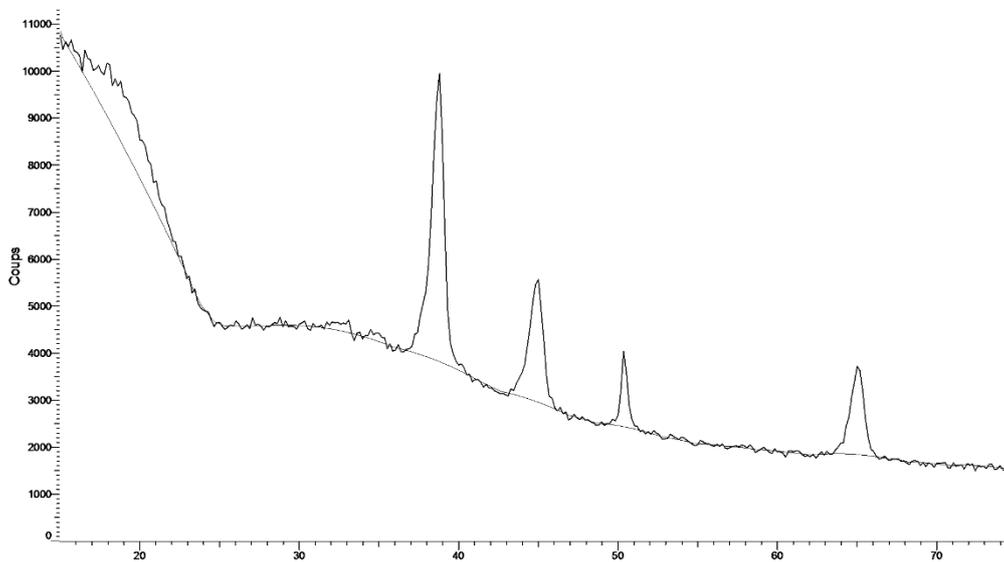


Figure V.39 : Les diffractogrammes des nanoparticules d'argent enrobées

#### V.7. La microscopie électronique à balayage :

Les figures représentent des microphotographies obtenues par microscopie électronique à balayage pour les nanoparticules d'argent et les nanoparticules enrobées.

Sur la figure V.40 les nanoparticules de très faible taille sont observées, elles sont représentées par de petits points de contraste blanchâtre signe de présence de matériaux à forte densité, elles sont dispersées sur toute la surface de la pastille en carbone.

La figure V.41 représente la structure des nanoparticules enrobées, les nanoparticules présentent une morphologie sphérique avec des bords bien définies. Leur taille est d'environ 50nm, ce résultat concorde parfaitement avec des valeurs obtenues par la granulométrie laser.

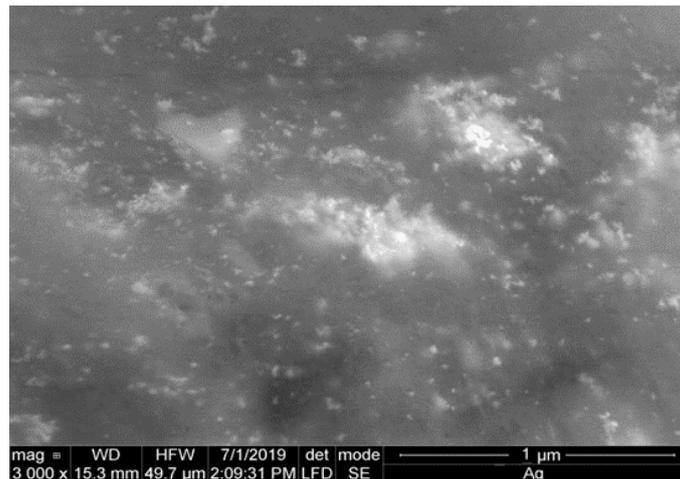


Figure V.40 : microphotographie des nanoparticules d'argent obtenue par M.E.B

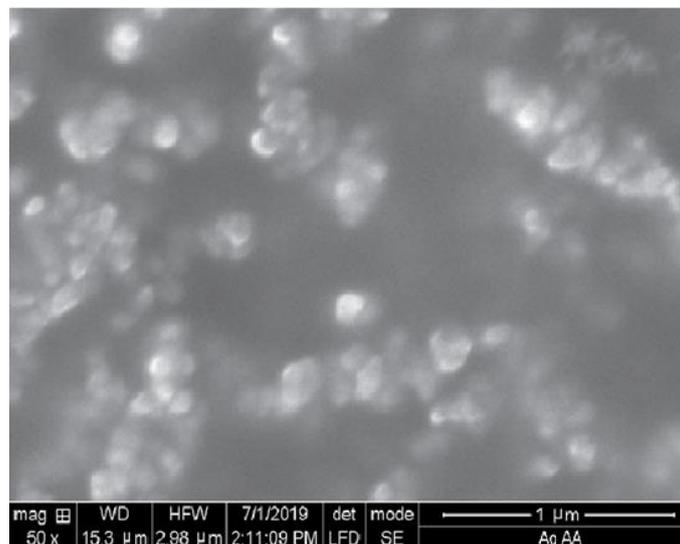


Figure V.41 : microphotographie des nanoparticules d'argent enrobées obtenue par M.E.B

## V.8. Analyse thermogravimétrique (TGA)

On remarque sur les thermogrammes l'évaporation de l'eau à 100°C. les nanoparticules présentes des taux d'humidité assez importants de l'ordre de 5% et 9% pour les AgAA et Ag respectivement . Tandis que l'AA est sec et ne contient pas d'humidité.

Les nanoparticules d'argents Ag sont stable à la température et ne présente pas de dégradation

Les nanoparticules enrobées présentent une dégradation non régulière et cette dégradation s'arrête à 41 % environs. Ces résultats nous confirment que la couche d'enrobage est hétérogène (dégradation non homogène) et que l'enrobage organique à base de vitamine C se dégrade (environ 60% du poids totale des nanoparticules AgAA) et que les 40% restants sont l'argent qui reste stable a la température.

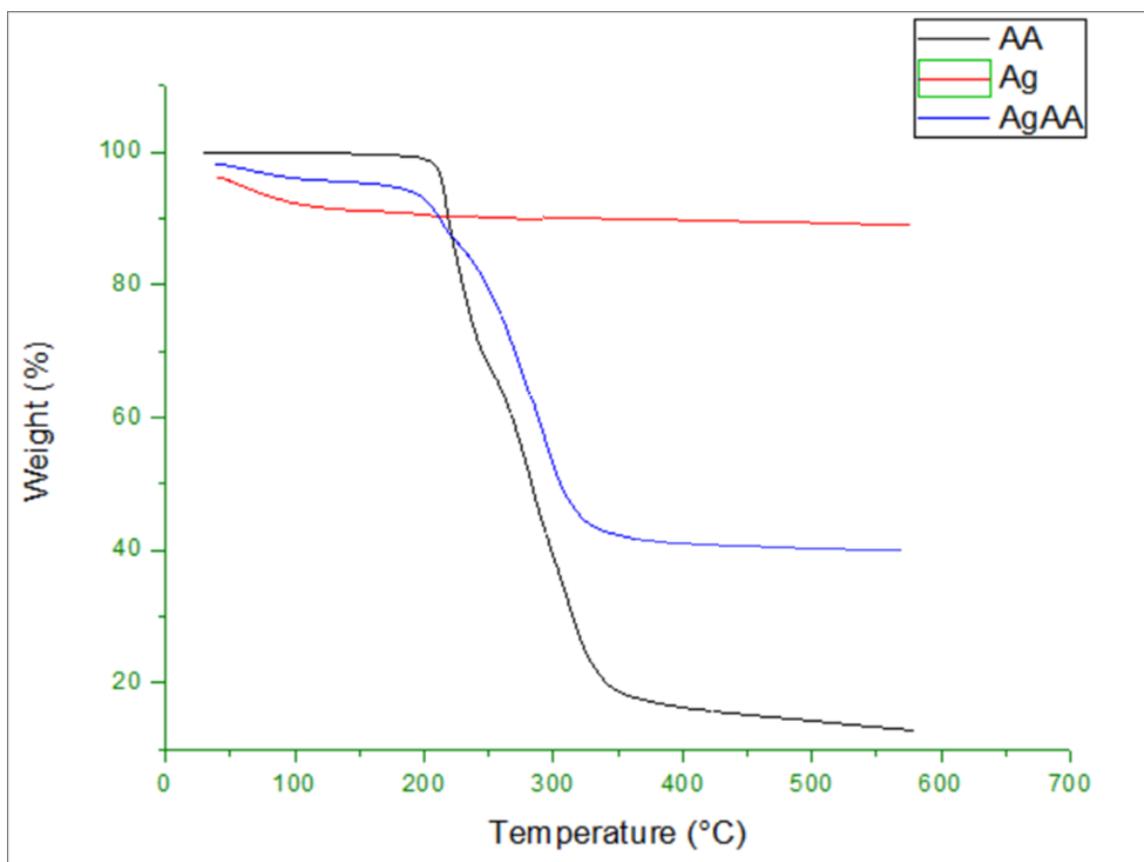


Figure V.42 :les thermogrammes d'AA, des AgNP et les AgAA

#### V.9. L'activité antioxydante in vitro

L'activité antioxydante en utilisant le DPPH invitro correspond à l'inhibition des radicaux libre produit par les cellules et les tissus à défauts comme les cellules cancéreuses et les tumeurs. Parmi ces radicaux libres naturelles on retrouve principalement le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Les formulations 2 et 6 présentent de très faible activité antioxydante (ces des nanoparticules d'argent non-enrobées), les autres nanoparticules enrobées présentent des valeurs très importante d'inhibition des radicaux libre de DPPH. La relation entre le taux d'enrobage et l'activité anti oxydante reste inconnue car on retrouve des nanoparticules ayant un grand taux d'enrobage mais une faible activité anti oxydante comparées a des nanoparticules avec moins d'enrobage.

Ces résultats nous indiquent clairement que la qualité de l'enrobage influe les propriétés antioxydante et non pas sa quantité uniquement. Effectivement un enrobage poreux présentant une plus grande surface de contact avec le milieu extérieur présentera sans aucun doute une meilleure activité anti oxydante. La figure V.43 représente l'activité antioxydante des nanoparticules enrobées.

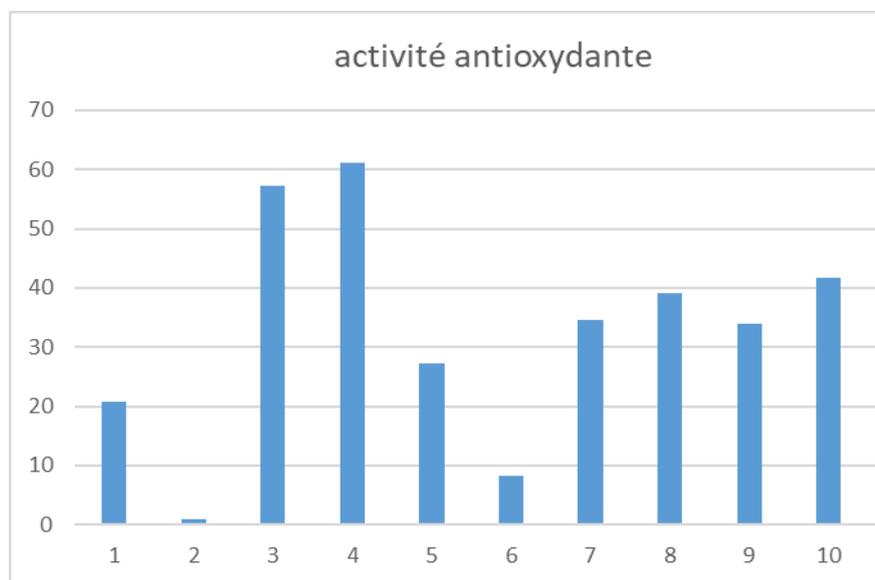


Figure V.43 : Histogramme représentant l'activité antioxydante des essais

#### V.10. L'hémocompatibilité :

L'hémocompatibilité est estimée par le taux de destruction des globules rouges par les substance xénobiotique. les nanoparticules d'argent présentent un taux de destruction 0.75% pour une concentration de 40 ug/ml tandis que cette valeur est de l'ordre de 0.26% pour les nanoparticules enrobées à concentration similaire . Cette diminution de la toxicité est due a la quantité de metal qui diminue.

## V.11. Mécanisme de la synthèse

L'argent métallique est obtenu par réduction des ions d'argent par l'acide ascorbique après avoir subi une coalescence et une maturation, les graines des nanoparticules d'argent sont obtenues.

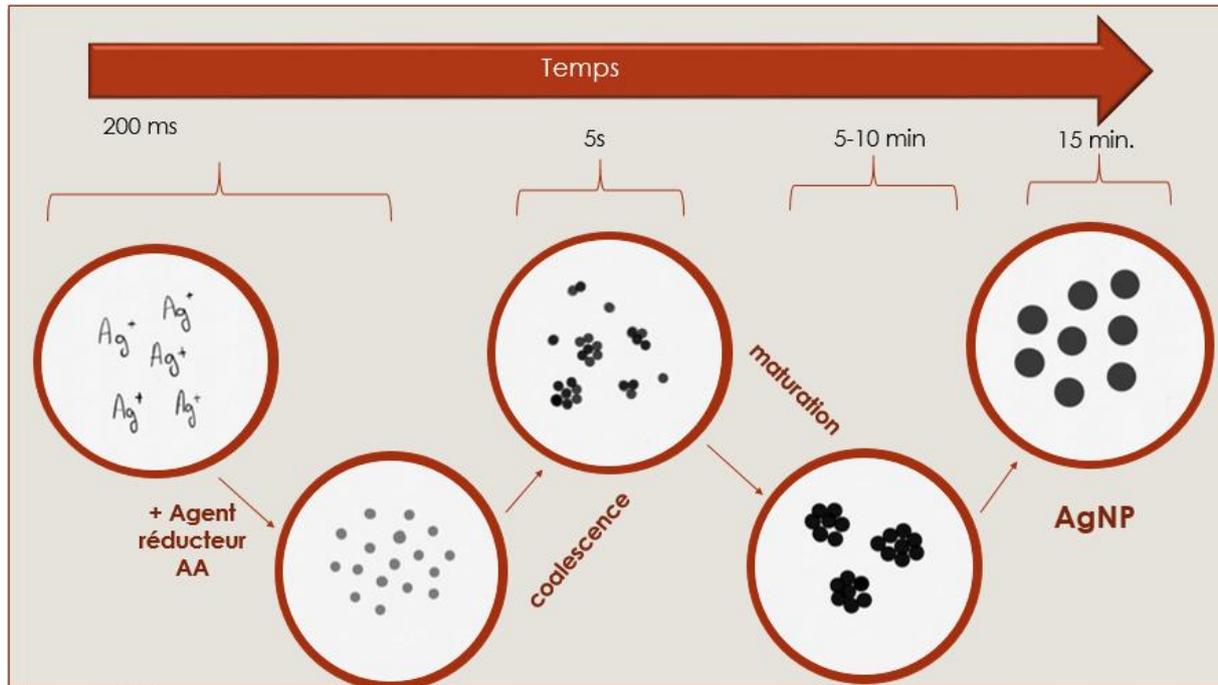


Figure V.44 : les différentes étapes de synthèse de nanoparticules d'argent

On a observé que les solutions réactionnelles passaient d'incolores à jaunes puis brunes. Au bout de 15 minutes, il n'y a plus eu de changement de couleur, ce qui indique que les réactions sont complètes.

la croissance de la réduction de surface conduit à des particules monodispersées qui se produit par transfert d'électrons qui réduit les ions  $\text{Ag}^+$  sur la surface des particules déjà présentes dans la solution.,

D'après Harada et Katagiri, La formation des particules d'argent s'est révélée qu'elle se fait en 2 phases : la première phase est une étape d'initiation dans laquelle se produit une augmentation rapide du nombre de particules d'Ag en solution combinée à la nucléation au cours des premières minutes comme montré dans la figure V.45.

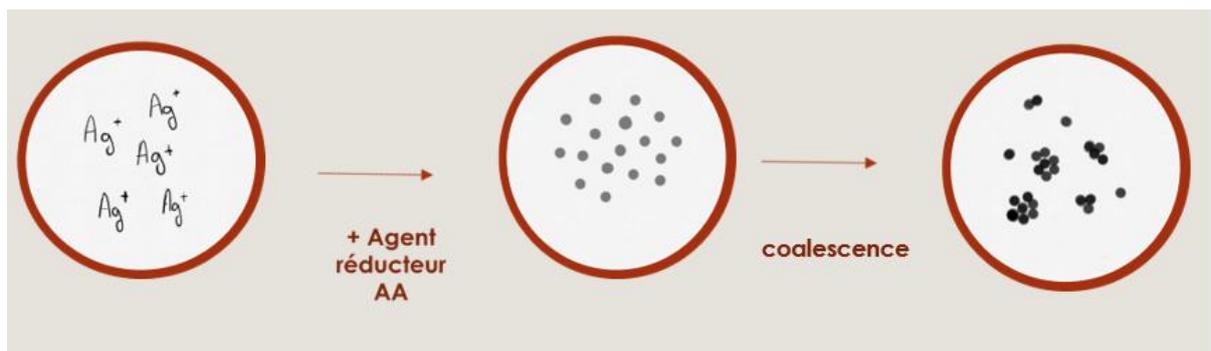


Figure V.45 : les premières minutes lors de la formation des nanoparticules

Dans la seconde phase, le nombre de particules diminue sensiblement, tandis que la taille des particules augmente parallèlement, ce qui peut être directement expliqué par la maturation d'Ostwald puis la formation des graines AgNP, ces données sont également en excellent accord avec théorie de LSW1( Lifshitz – Slyozov– Wagner) ,

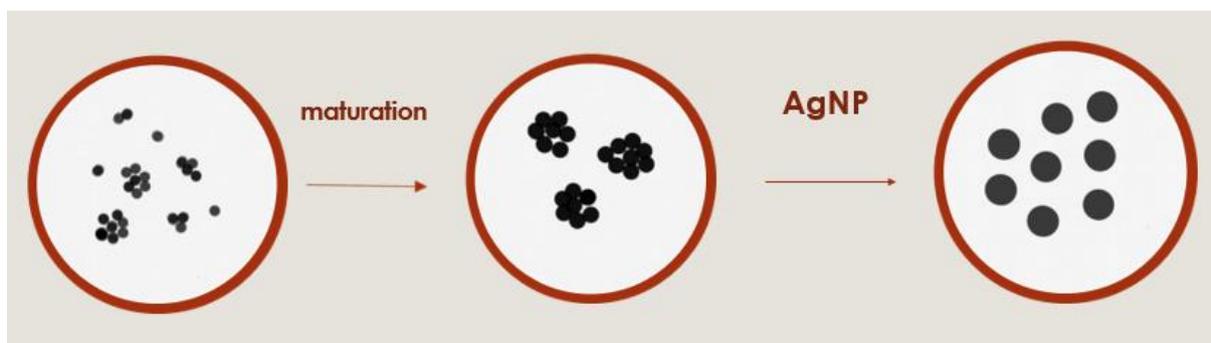


Figure V.46 : la formation des nanoparticules

Ces AgNP sont de taille de 8 nm, et un potentiel zêta -38mV.

A l'échelle structural : l'acide ascorbique est un composé fortement soluble dans l'eau et de forte polarité, car il comprend des électrons issus d'une double liaison carbonyle à cycle lactone pouvant former un système conjugué (déjà trouvé dans l'analyse FTIR) et d'une paire simple hydroxyle qui selon Jing et Wang facilite la formation de nanoparticules par liaison hydrogène inter et intramoléculaire et ainsi pour éviter l'agrégation.

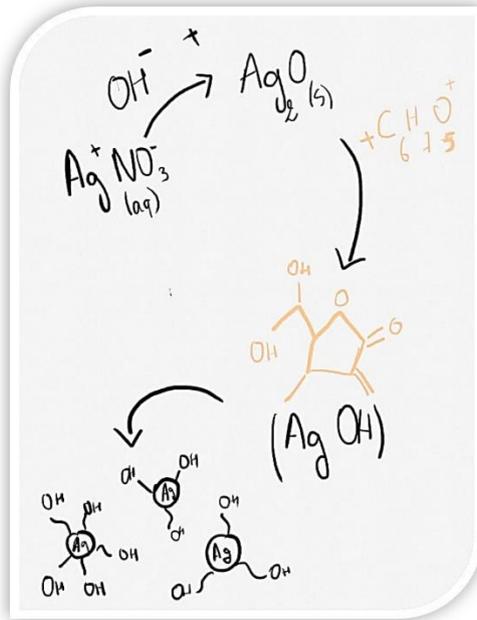


Figure V.47 : la formation des nanoparticules a l'échelle structural

Selon **Laskowski et collaborateur**, La charge de surface négative est attendue en raison de la formation d'acide déhydroascorbique qui recouvre la surface de nanoparticules d'argent ,les trois groupes carbonyle dans sa structure contribue donc à une électronégativité élevée ce qui confirme nos résultats de potentiel zêta,

Deuxième étapes : Avec le citrate trisodium TCS non réagit utilisé comme un stabilisant et en ajoutant l'acide ascorbique en excès, les nanoparticules d'argent enrobées d'acide ascorbique ont été obtenues.

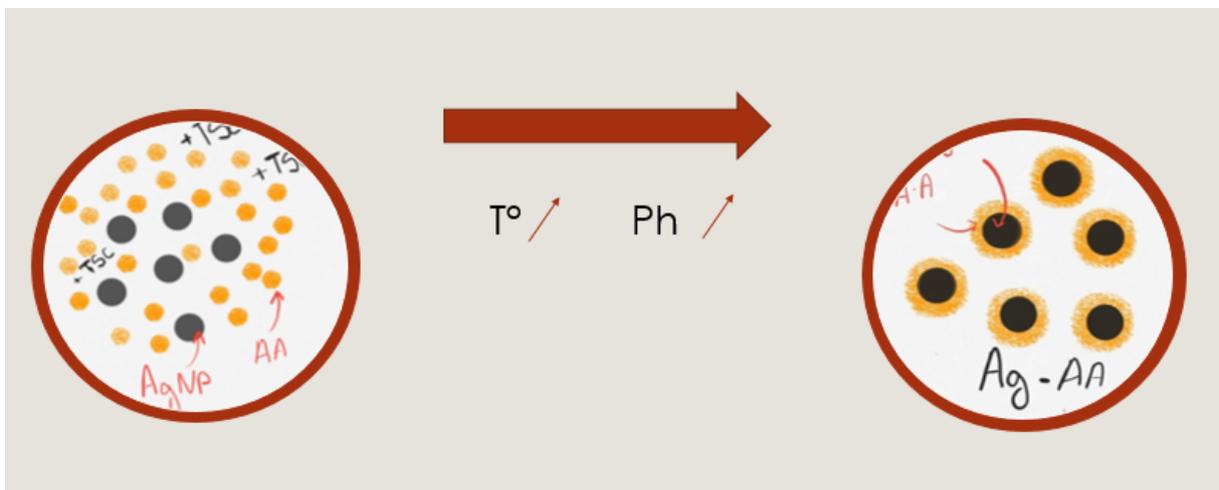


Figure V.48 : l'enrobage de nanoparticules d'argent

Selon **rehana et ses collaborateurs** : Au cours du processus de synthèse, les électrons du seul groupe polaire d'acide ascorbique ont réagi avec des nanoparticules d'argent par liaison hydrogène pour former un composé complexe, comme illustré à la figure . L'acide ascorbique est ainsi coiffé de nanoparticules. Une fois qu'il s'est recouverte à la surface des nanoparticules, l'empêchement stérique empêche l'agglomération et ce qui fait l'enrobage des ces nanoparticules d'argent par estérification d'acides ascorbique

ce qui confirme aussi l'apparition de bandes C=O et C-O dans le spectre des nanoparticules enrobées

#### V.12. Mécanisme d'action

Après administration systématique, les nanoparticules ciblent et pénètrent dans la cellule tumorale à cause de la vascularisation incomplète des vaisseaux par le cancer et la pression interstitielle, les nanoparticules piégées dans la tumeur vont délivrer le gradient de dose de vitamine C, qui va compenser le déséquilibre de stress oxydant, en oxydant les radicaux libres avec l'acide ascorbique pour empêcher la formation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que les cellules tumorales ne peuvent pas régler par manque d'enzyme catalase démontré par **harman et ses collaborateurs**.

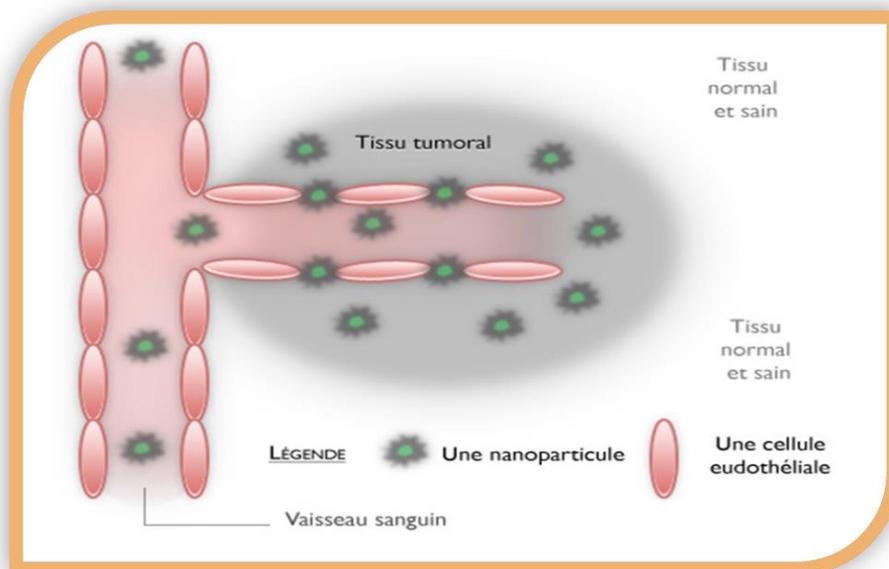
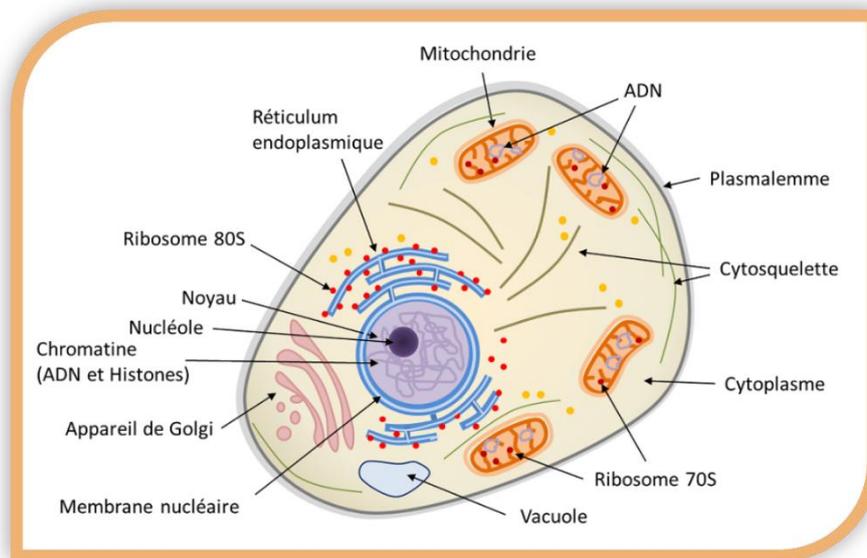


Figure V.49 : Illustration de la délivrance des AgNP spécifique à un tissu par ciblage actif

Ensuite , AgNPs et les ions Ag<sup>+</sup> seront libérées et vont interagir avec les groupes thiol des molécules présentes dans le cytoplasme, la membrane cellulaire et membrane interne des mitochondries, qui pourrait libérer du peroxyde lipidique et augmenter la perméation de la membrane cellulaire et des systèmes mitochondriaux.

Une lésion de la membrane cellulaire entraîne une fuite du contenu cytoplasmique alors que la rupture des membranes lysosomales active l'apoptose médiée par les lysosomes. De plus, les dommages causés aux mitochondries entravent le transfert d'électrons, activant ainsi l'apoptose dépendante des mitochondries et tout cela a été démontré par **ARORA et ses collaborateurs** par des études in vitro. La figure V.50 montre les différents constituants d'une cellule



. La figure V.50 :les différents constituants d'une cellule

De plus, selon Trefry **et Wooley** il a été rapporté que les AgNPs pourraient facilement se diffuser dans le noyau et s'y déplacer par le biais de complexes de pores nucléaires, conduisant ainsi à la formation de ROS, qui provoquent directement des dommages à l'ADN.

## PERSPECTIVE

Le travail réalisé est original et représente une piste sérieuse pour le traitement du cancer, effectivement regroupé les propriétés magnétiques de l'argent et les propriétés anti oxydante de l'acide ascorbique permettra un ciblage tumoral sélectif avec des substances naturelles non toxique.

La principale perspective pour ce modeste travail est l'évaluation de la cytotoxicité de nanoparticule sur des cellules de ligné cancéreuse, des tissus tumoraux et enfin in vivo sur les animaux de laboratoire destinés a l'expérimentation sur le cancer. L'étape finale de ce travail sera les tests cliniques de ces traitements sur le sujet humain atteint du cancer.

## CONCLUSION

D'après les analyses effectuées pour les nanoparticules d'argent enrobées, nous avons pu arriver à notre objectif qui est un enrobage de vitamine C bien homogène et des nanoparticules d'argent sphériques de taille bien définies, et qui ont une bonne activité anti oxydante et elles sont hémo-compatible et non toxique sur la santé humaine, ce qui nous mène à conclure que notre recherche a une approche prometteuse dans la cytoxicité.

## GLOSSAIRE

Amphotère : certains composés chimiques sont à la fois une base et un acide

Anisotropie magnétique : Une anisotropie magnétique est présente lorsque les propriétés magnétiques d'un système sont orientées selon des axes privilégiés. C'est le cas dans les matériaux ferromagnétiques

Superparamagnétique : L'aimantation de ces grains peut se renverser spontanément sous l'influence de la température

La température de Curie (ou point de Curie) d'un matériau ferromagnétique ou ferrimagnétique est la température TC à laquelle le matériau perd son aimantation permanente. Le matériau devient alors paramagnétique.

Le système réticulo-endothélial l'ensemble des cellules phagocytaires et endothéliales libres ou fixées. Celles-ci servent dans le cadre du système immunitaire de la défense et l'élimination des déchets et des particules étrangères ainsi que des agents pathogènes.

L'opsonisation : est un processus biochimique par lequel une molécule (alors qualifiée d'opsonine) recouvre la membrane d'une cellule cible (une bactérie ou une cellule du corps infectée par un agent pathogène) pour favoriser sa phagocytose par une cellule dotée de récepteurs pour les opsonines.

Les opsonines : toute substance qui se lie à la membrane d'une cellule ciblée induit leur phagocytose par des macrophages ou des leucocytes neutrophiles.

Métastase : un type de cancer qui s'est propagé à une autre partie du corps.

Ordre zéro : Aux réactions d'ordre zéro, la vitesse de réaction est indépendante de la concentration du réactif, de sorte que des changements de sa concentration n'influent pas sur la vitesse.

L'angiogenèse : est le processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants. C'est un processus physiologique normal, Mais c'est aussi un processus pathologique, primordial dans la croissance des tumeurs malignes et le développement des métastases.

La pression interstitielle ou pression de l'eau en un point donné d'un sol ou d'une roche correspond au poids de l'eau mesuré en ce point Endocytose :

Épitope : c'est une molécule qui peut être reconnue par un paratope (partie variable d'un anticorps ou d'un récepteur membranaire

Le silençage génique : réduire au silence le gène responsable d'une maladie.

Les péricytes, parfois appelés « cellules de Rouget », sont des cellules murales localisées au niveau de la lame basale de l'endothélium des capillaires, qu'elles entourent par de longs prolongements circonférentiels et cytoplasmiques.

Endosomes : sont des sous-compartiments de la cellule, ou organites

Les lysosomes : sont des organites cellulaires de 0,2 à 0,5 micron présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes.

Endocytose : est une endocytose sélective grâce à l'existence de récepteurs membranaires qui permettent la reconnaissance et donc la liaison à des molécules particulières

Cytoplasme : Partie de la cellule qui entoure le noyau.

Apoptose :est le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal.

Génotoxicité : Agents provoquant l'apparition de lésions dans l'ADN, qui peuvent éventuellement conduire à des mutations.

Cytotoxique : Se dit d'une substance toxique pour une espèce de cellule.

Macrophage : est une cellule du système immunitaire.

## ANNEXE 1

le taux d'enrobage

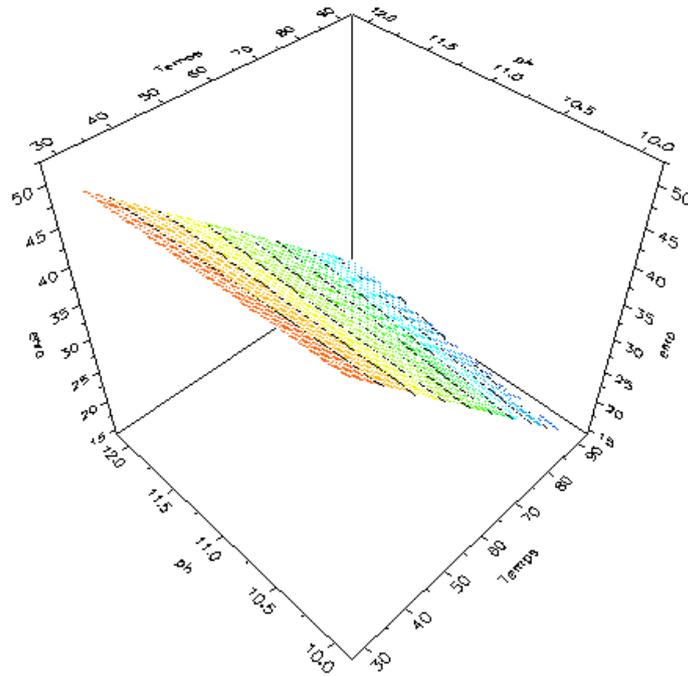


Figure V.11 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de taux d'enrobage.

le taux d'enrobage

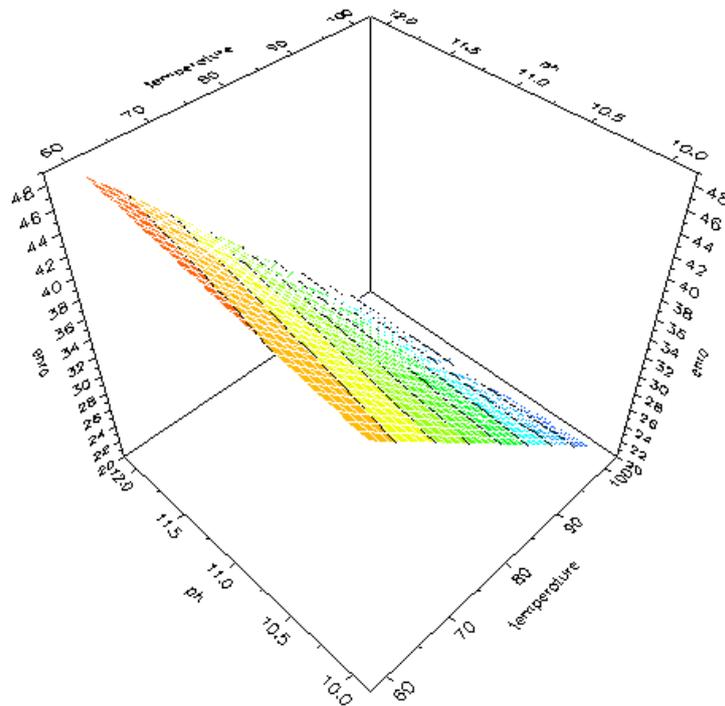


Figure V.13 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de taux d'enrobage.

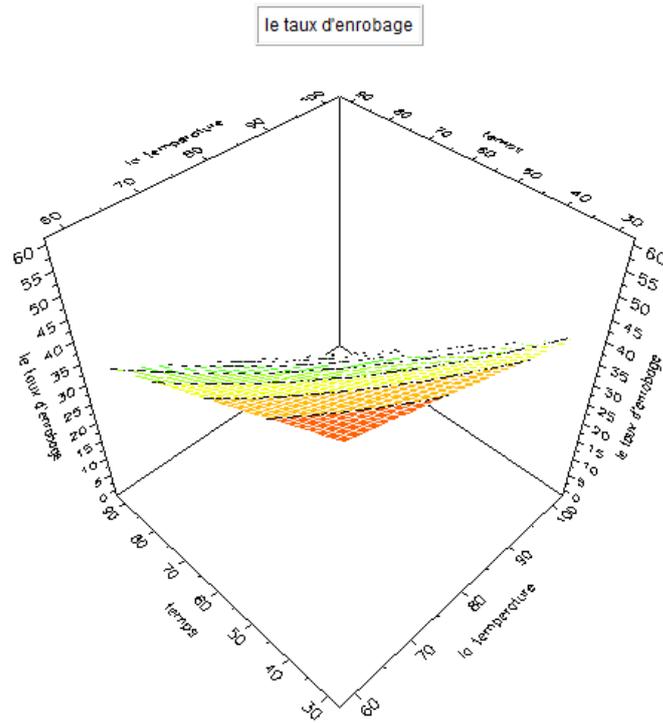


Figure V.15 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de taux d'enrobage.

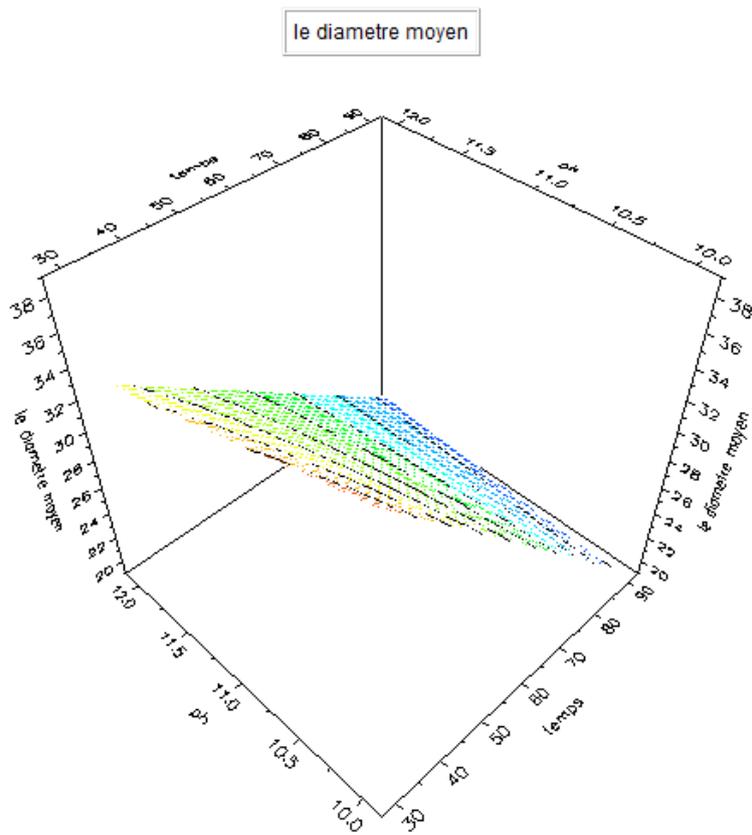


Figure V.17: les surfaces de réponse représentant les prédictions de diamètre moyen

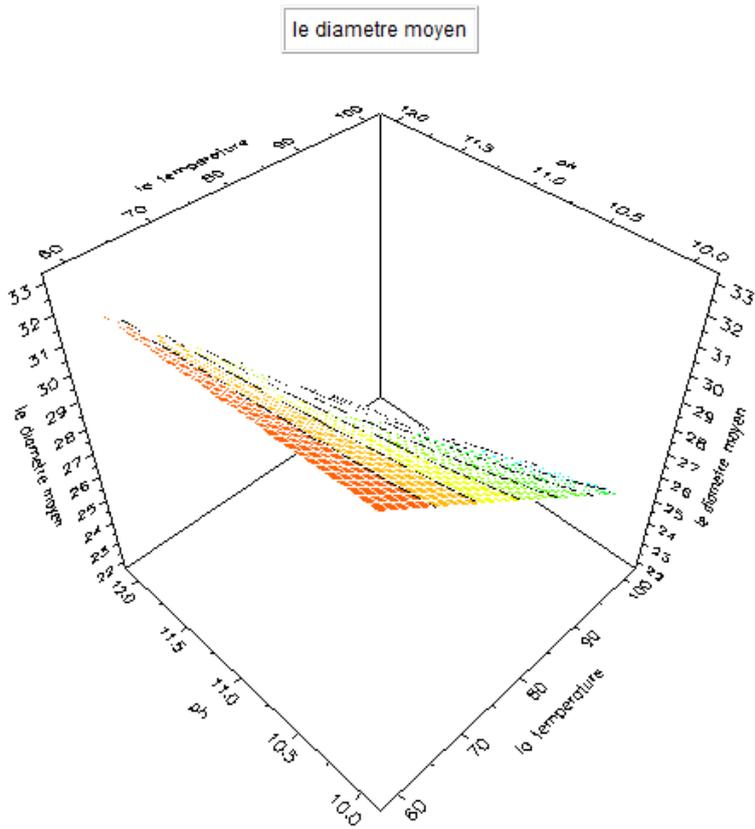


Figure V.19 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de diamètre moyen

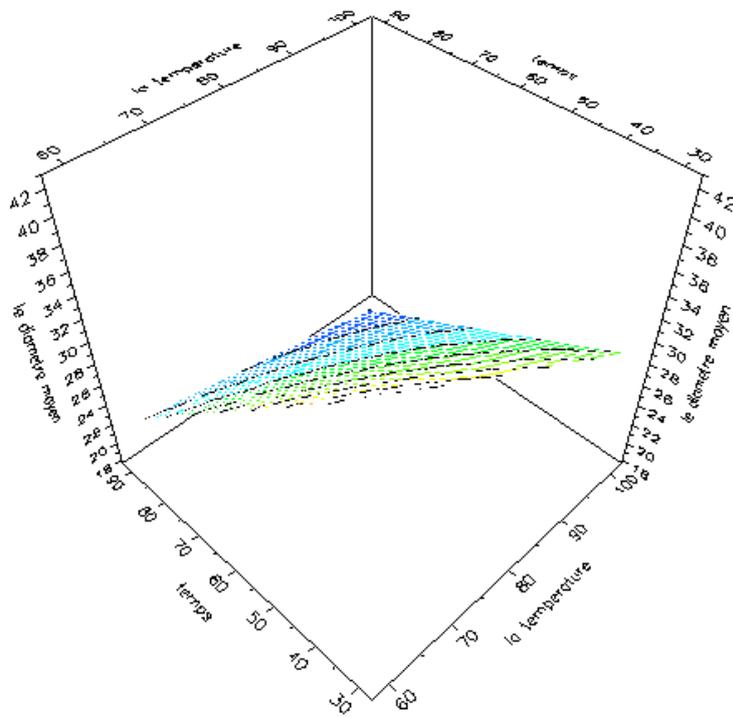


Figure V.21 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de diamètre moyen

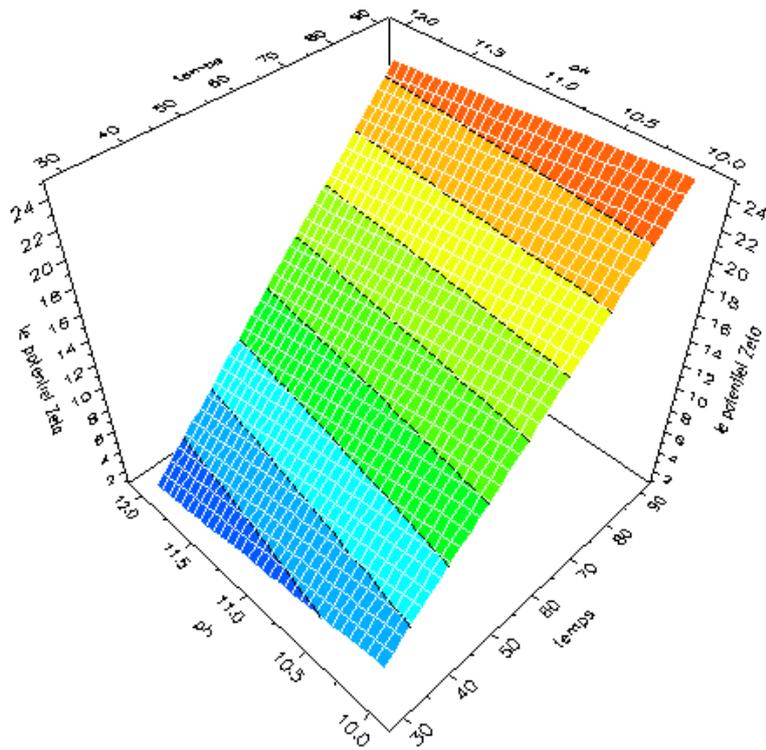


Figure V.23 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de potentiel zêta

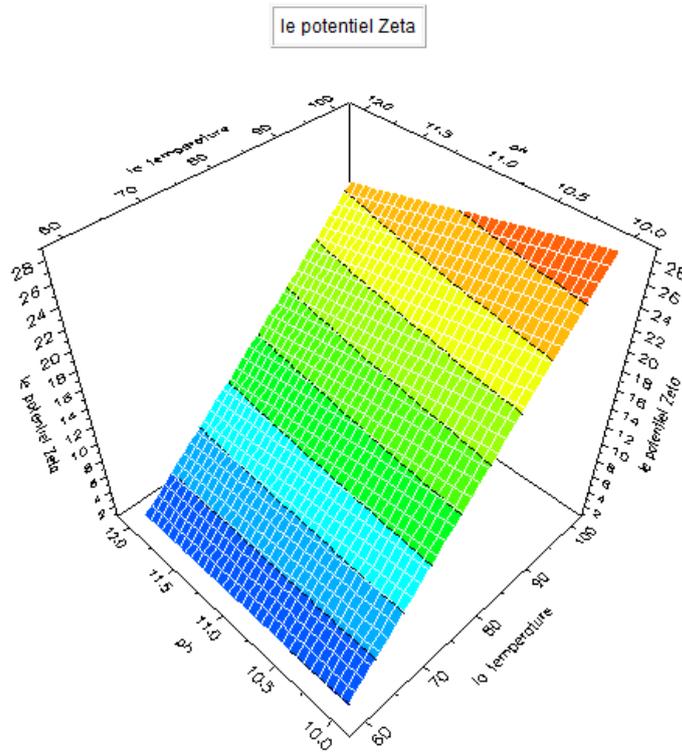


Figure V.27 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de potentiel zêta

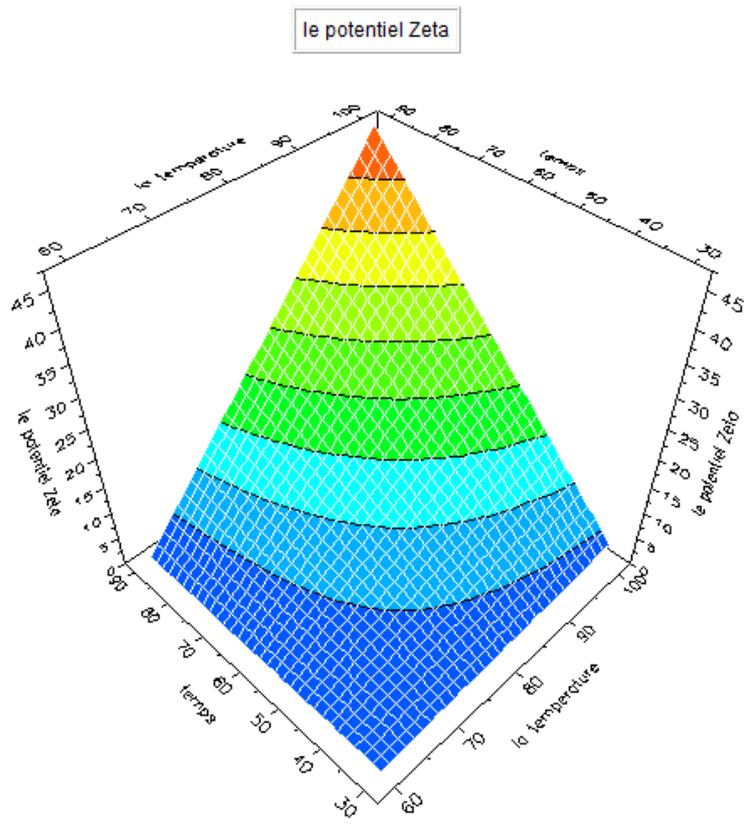


Figure V.29 : les surfaces de réponse représentant les prédictions de potentiel zêta

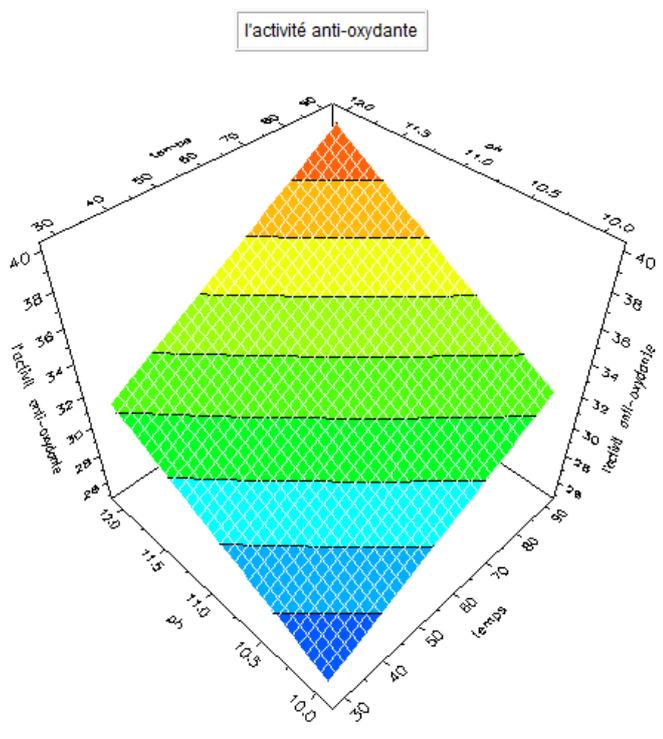


Figure V.29 : les surfaces de réponse représentant les prédictions d'activité anti oxydante.

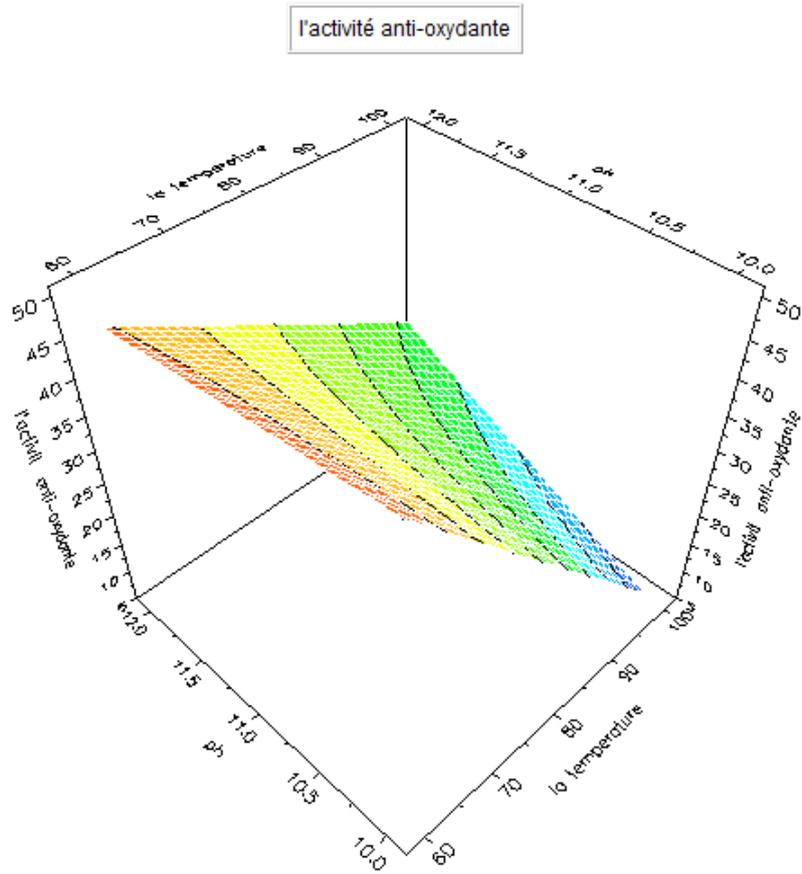


Figure V.31 : les surfaces de réponse représentant les prédictions d'activité anti oxydante

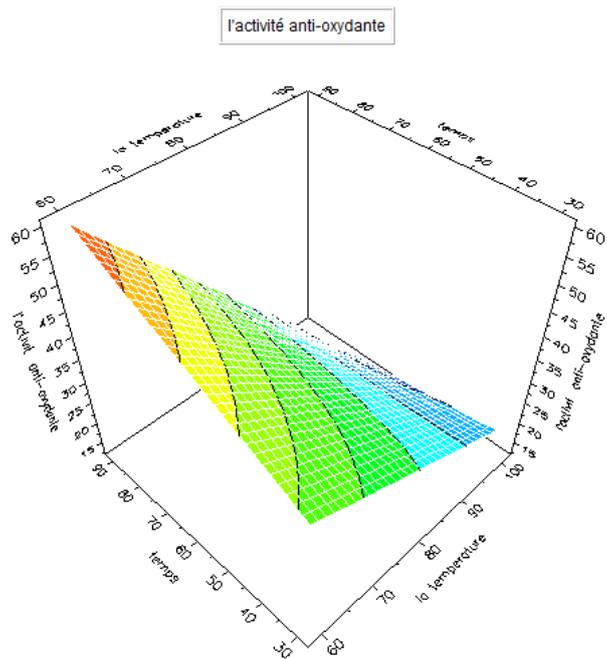


Figure V.33 : les surfaces de réponse représentant les prédictions d'activité antioxydante

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] C. H. Yeom *et al.*, “High dose concentration administration of ascorbic acid inhibits tumor growth in BALB/C mice implanted with sarcoma 180 cancer cells via the restriction of angiogenesis,” *J. Transl. Med.*, vol. 7, pp. 1–9, 2009.
- [2] E. Ciuculescu, “Synthèse et étude des propriétés de nanoparticules magnétiques de type cœur-coquille . To cite this version : HAL Id : tel-00342358 Eliza-Diana CIUCULESCU CŒUR-COQUILLE,” 2008.
- [3] H. Search, C. Journals, A. Contact, M. Iopscience, and I. P. Address, “Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine,” vol. 167, 2003.
- [4] G. P. Hatch and R. E. Stelter, “Magnetic design considerations for devices and particles used for biological high-gradient magnetic separation ( HGMS ) systems,” vol. 225, pp. 262–276, 2001.
- [5] B. Issa, I. M. Obaidat, B. A. Albiss, and Y. Haik, “Magnetic Nanoparticles : Surface Effects and Properties Related to Biomedicine Applications,” pp. 21266–21305, 2013.
- [6] T. Sugimoto and E. Matijević, “Formation of uniform spherical magnetite particles by crystallization from ferrous hydroxide gels,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 74, no. 1, pp. 227–243, 1980.
- [7] P. Tartaj, P. Morales, S. Veintemillas-verdaguer, and T. Gonz, “The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine,” vol. 182, 2003.
- [8] M. P. Pileni, “Reverse Micelles as Microreactors,” no. Figure 3, pp. 6961–6973, 1993.
- [9] N. Feltin and M. P. Pileni, “New Technique for Synthesizing Iron Ferrite Magnetic Nanosized Particles,” *Langmuir*, vol. 13, no. 15, pp. 3927–3933, 2002.
- [10] J. Wang, J. D. Byrne, M. E. Napier, and J. M. Desimone, “More effective nanomedicines through particle design,” *Small*, vol. 7, no. 14, pp. 1919–1931, 2011.
- [11] R. A. Petros and J. M. Desimone, “Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 9, no. 8, pp. 615–627, 2010.
- [12] R. Bawa, R. A. Siegel, B. Marasca, M. Karel, and R. Langer, “An explanation for the controlled release of macromolecules from polymers,” *J. Control. Release*, vol. 1, no. 4, pp. 259–267, 1985.
- [13] J. Panyam *et al.*, “Polymer Degradation and Protein Release,” *J. Control. Release*, vol. 92, no. 1–2, pp. 173–187, 2003.
- [14] J. A. Champion, Y. K. Katare, and S. Mitragotri, “Particle shape: A new design parameter for micro- and nanoscale drug delivery carriers,” *J. Control. Release*, vol. 121, no. 1–2, pp. 3–9, 2007.

- [15] P. Decuzzi, R. Pasqualini, W. Arap, and M. Ferrari, "Intravascular delivery of particulate systems: Does geometry really matter?," *Pharm. Res.*, vol. 26, no. 1, pp. 235–243, 2009.
- [16] B. Godin *et al.*, "Discoidal porous silicon particles: Fabrication and biodistribution in breast cancer bearing mice," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 22, no. 20, pp. 4225–4235, 2012.
- [17] B. Aslan, B. Ozpolat, A. K. Sood, and G. Lopez-berestein, "Nanotechnology in cancer therapy," vol. 2330, pp. 1–10, 2013.
- [18] † Alisar S. Zahr, † and Cheryl A. Davis, and ‡ Michael V. Pishko\*, "Macrophage Uptake of Core–Shell Nanoparticles Surface Modified with Poly(ethylene glycol)," *Langmuir*, vol. 22, no. 14, pp. 8178–8185, 2006.
- [19] J. Chen *et al.*, "Cationic nanoparticles induce nanoscale disruption in living cell plasma membranes," *J. Phys. Chem. B*, vol. 113, no. 32, pp. 11179–11185, 2009.
- [20] A. L. Børresen-Dale *et al.*, "235 speaker THE GENETIC AND EPIGENETIC INFLUENCE ON RADIATION RESPONSE," *Radiother. Oncol.*, vol. 99, no. 95, pp. S90–S91, 2011.
- [21] D. B. Kirpotin *et al.*, "Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models," *Cancer Res.*, vol. 66, no. 13, pp. 6732–6740, 2006.
- [22] M. Fougat and L. Fernández, "Classification of analysis methods for characterization of magnetic nanoparticle properties CLASSIFICATION OF ANALYSIS METHODS FOR CHARACTERIZATION OF MAGNETIC NANOPARTICLE PROPERTIES," 2015.
- [23] R. C. Semelka and T. K. G. Helmberger, "State of the Art Contrast Agents for MR Imaging of the Liver 1," pp. 27–38.
- [24] M. G. Harisinghani and R. Weissleder, "Sensitive , Noninvasive Detection of Lymph Node Metastases," vol. 1, no. 3, 2004.
- [25] I. Coroiu, "Relaxivities of different superparamagnetic particles for application in NMR tomography," vol. 201, no. 15, pp. 449–452, 1999.
- [26] D. E. Sosnovik, M. Nahrendorf, and R. Weissleder, "New Drugs and Technologies Cardiovascular Medicine," pp. 2076–2086, 2015.
- [27] C. Corot, P. Robert, J. Idée, and M. Port, "Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging ☆," vol. 58, pp. 1471–1504, 2006.
- [28] K. A. Kelly, M. Nahrendorf, A. M. Yu, F. Reynolds, and R. Weissleder, "In Vivo Phage Display Selection Yields Atherosclerotic Plaque Targeted Peptides for

- Imaging,” no. May, pp. 201–207, 2006.
- [29] R. Weissleder, “Molecular Imaging 1,” 2000.
- [30] R. Weissleder, “Molecular Imaging in Cancer,” vol. 1168, no. 2006, 2014.
- [31] P. Wust *et al.*, “Review Hyperthermia in combined treatment of cancer,” pp. 487–497.
- [32] A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fa, and R. Felix, “Magnetic field induced hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles,” vol. 201, pp. 413–419, 1999.
- [33] C. Republic and C. Republic, “Magnetic solid-phase extraction,” vol. 194, pp. 108–112, 1999.
- [34] J. D. Byrne, T. Betancourt, and L. Brannon-peppas, “Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 60, no. 15, pp. 1615–1626, 2008.
- [35] M. Sciences, “Regulation of transport pathways in tumor vessels : Role of tumor type and microenvironment,” vol. 95, no. April, pp. 4607–4612, 1998.
- [36] S. K. Rasnici *et al.*, “EFFECT OF THE SURFACE CHARGE OF LIPOSOMES ON THEIR UPTAKE BY ANGIOGENIC TUMOR VESSELS,” vol. 567, no. May 2002, pp. 561–567, 2003.
- [37] B. Haley and E. Frenkel, “Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment,” vol. 26, pp. 57–64, 2008.
- [38] H. Hatakeyama *et al.*, “Tumor targeting of doxorubicin by anti-MT1-MMP antibody-modified PEG liposomes,” vol. 342, pp. 194–200, 2007.
- [39] D. C. Drummond, K. Hong, J. W. Park, C. C. Benz, and D. B. Kirpotin, “Liposome Targeted to Tumors using Vitamin and Growth Factor Receptors,” vol. 60, 2001.
- [40] J. Y. Asuda *et al.*, “In Vitro Efficacy of a Sterically Stabilized Immunoliposomes Targeted to Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase ( MT1-MMP ),” vol. 30, no. 5, pp. 972–978, 2007.
- [41] C. C. Berry and A. S. G. Curtis, “Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine,” vol. 198, 2003.
- [42] C. Sun, J. S. H. Lee, and M. Zhang, “Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery ☆,” vol. 60, pp. 1252–1265, 2008.
- [43] V. S. K. N. J. P. A. Joy, “Water-dispersible ascorbic-acid-coated magnetite nanoparticles for contrast enhancement in MRI,” 2014.
- [44] Z. C. G. Chen, L. Wei, J. Lu, H. Xu, A. Patel, and Z. Chen, “Access to,” *Drug Discov. Today*, 2014.

- [45] L. Alamos, "MAGNETISM OR BONDING : A NEARLY PERIODIC TABLE OF TRANSITION ELEMENTS," vol. 90, pp. 83–88, 1983.
- [46] H. J. Johnston, G. Hutchison, F. M. Christensen, S. Peters, S. Hankin, and V. Stone, "A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates : Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity," vol. 40, no. November 2009, pp. 328–346, 2010.
- [47] M. Rycenga *et al.*, "Controlling the Synthesis and Assembly of Silver Nanostructures for Plasmonic Applications," pp. 3669–3712, 2011.
- [48] Z. C. G. Chen, L. Wei, J. Lu, H. Xu, A. Patel, and Z. Chen, "Ac ce us cr t," *Drug Discov. Today*, 2014.
- [49] G. A. Sotiriou *et al.*, "Nanosilver on nanostructured silica : Antibacterial activity and Ag surface area," *Chem. Eng. J.*, vol. 170, no. 2–3, pp. 547–554, 2011.
- [50] "preview.pdf." .
- [51] Q. Zhang, N. Li, J. Goebel, Z. Lu, and Y. Yin, "A Systematic Study of the Synthesis of Silver Nanoplates : Is Citrate a ' Magic ' Reagent ?," pp. 18931–18939, 2011.
- [52] D. Tien, K. Tseng, and C. Liao, "Discovery of ionic silver in silver nanoparticle suspension fabricated by arc discharge method," vol. 463, pp. 408–411, 2008.
- [53] A. Kosmala, R. Wright, Q. Zhang, and P. Kirby, "Synthesis of silver nano particles and fabrication of aqueous Ag inks for inkjet printing," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 129, no. 3, pp. 1075–1080, 2011.
- [54] K. M. M. A. El-nour, A. Al-warthan, and R. A. A. Ammar, "Synthesis and applications of silver nanoparticles," *Arab. J. Chem.*, vol. 3, no. 3, pp. 135–140, 2010.
- [55] S. Shivaji, S. Madhu, and S. Singh, "Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria," *Process Biochem.*, vol. 46, no. 9, pp. 1800–1807, 2011.
- [56] G. Li, D. He, Y. Qian, B. Guan, S. Gao, and Y. Cui, "Fungus-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus terreus*," pp. 466–476, 2012.
- [57] A. Mourato and A. R. Lino, "Biosynthesis of Crystalline Silver and Gold Nanoparticles by Extremophilic Yeasts," vol. 2011, 2011.
- [58] T. Zhang, L. Wang, Q. Chen, and C. Chen, "Cytotoxic Potential of Silver Nanoparticles," vol. 55, no. 2, pp. 283–291, 2014.
- [59] T. T. Effects and Z. Nanoparticles, "The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles," pp. 2850–2871, 2012.
- [60] R. P. Singh and P. Ramarao, "Cellular uptake , intracellular trafficking and cytotoxicity

- of silver nanoparticles,” *Toxicol. Lett.*, vol. 213, no. 2, pp. 249–259, 2012.
- [61] S. Arora, J. Jain, J. M. Rajwade, and K. M. Paknikar, “Cellular responses induced by silver nanoparticles : In vitro studies,” vol. 179, pp. 93–100, 2008.
- [62] D. Guo *et al.*, “Biomaterials Anti-leukemia activity of PVP-coated silver nanoparticles via generation of reactive oxygen species and release of silver ions,” *Biomaterials*, vol. 34, no. 32, pp. 7884–7894, 2013.
- [63] S. Shigdar and M. L. O. Connor, “Inhibition of A / Human / Hubei / 3 / 2005 ( H3N2 ) influenza virus infection by silver nanoparticles in vitro and in vivo [ Corrigendum ],” p. 57432, 2013.
- [64] J. C. Trefry and D. P. Wooley, “Silver Nanoparticles Inhibit Vaccinia virus Infection by Preventing Viral Entry Through a Macropinocytosis-Dependent Mechanism,” vol. 9, no. 9, 2013.
- [65] L. Russo, S. Galdiero, and M. Galdiero, “Antiviral activity of mycosynthesized silver nanoparticles against herpes simplex virus and human parainfluenza virus type 3,” pp. 4303–4314, 2013.
- [66] M. I. Sriram, S. Barath, M. Kanth, K. Kalishwaralal, and S. Gurunathan, “Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton ’ s lymphoma ascites tumor model,” pp. 753–762, 2010.
- [67] S. Gurunathan, K. Lee, K. Kalishwaralal, S. Sheikpranbabu, R. Vaidyanathan, and S. Hyun, “Biomaterials Antiangiogenic properties of silver nanoparticles,” *Biomaterials*, vol. 30, no. 31, pp. 6341–6350, 2009.
- [68] R. De Lima, B. Seabra, and N. Durán, “Silver nanoparticles : a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles,” no. March, 2012.
- [69] A. Pratsinis, P. Hervella, J. Leroux, and S. E. Pratsinis, “Toxicity of Silver Nanoparticles in Macrophages,” pp. 1–9, 2013.
- [70] W. H. De Jong *et al.*, “Biomaterials Systemic and immunotoxicity of silver nanoparticles in an intravenous 28 days repeated dose toxicity study in rats q,” *Biomaterials*, pp. 1–11, 2013.
- [71] J. H. Lee, J. Mun, J. D. Park, and I. J. Yu, “A health surveillance case study on workers who manufacture silver nanomaterials,” vol. 6, no. September, pp. 667–669, 2012.
- [72] S. A. Blaser, M. Scheringer, M. Macleod, and K. Hungerbühler, “Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver : Contribution of nano-functionalized plastics and textiles,” vol. 0, 2007.

- [73] M. A. Larkin *et al.*, “Clustal W and Clustal X version 2.0,” *Bioinformatics*, vol. 23, no. 21, pp. 2947–2948, 2007.
- [74] R. Y. Chiao, “Conceptual tensions between quantum mechanics and general relativity: Are there experimental consequences, e.g., superconducting transducers between electromagnetic and gravitational radiation?,” vol. 100, pp. 57–70, 2002.
- [75] K. Sasaki *et al.*, “Relative survival in patients with chronic-phase chronic myeloid leukaemia in the tyrosine-kinase inhibitor era: analysis of patient data from six prospective clinical trials,” *Lancet Haematol.*, vol. 2, no. 5, pp. e186–e193, 2015.
- [76] L. R. Teras, C. E. DeSantis, J. R. Cerhan, L. M. Morton, A. Jemal, and C. R. Flowers, “2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 66, no. 6, pp. 443–459, 2016.
- [77] B. H. Bartelink *et al.*, “Concomitant Radiotherapy and Chemotherapy Is Superior to Radiotherapy Alone in the Treatment of Locally Advanced Anal Cancer : Results of a Phase III Randomized Trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Radiotherapy and Gastr,” vol. 15, no. 5, pp. 2040–2049, 2016.
- [78] Grady D *et al.*, “Hormone Therapy To Prevent Disease and Prolong Life in Postmenopausal Women,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 117, no. 12, pp. 1016–1037, 1992.
- [79] J. Du, J. J. Cullen, and G. R. Buettner, “Biochimica et Biophysica Acta Ascorbic acid : Chemistry , biology and the treatment of cancer ☆,” *BBA - Rev. Cancer*, vol. 1826, no. 2, pp. 443–457, 2012.
- [80] Y. Niimura, “Evolution of Chemosensory Receptor Genes in Primates and Other Mammals,” vol. 269, no. 7, pp. 43–62, 2012.
- [81] J. C. Vera, C. I. Rivas, F. V. Velasquez, Rong Hua Zhang, I. I. Concha, and D. W. Golde, “Resolution of the facilitated transport of dehydroascorbic acid from its intracellular accumulation as ascorbic acid,” *J. Biol. Chem.*, vol. 270, no. 40, pp. 23706–23712, 1995.
- [82] R. W. Welch, P. Bergsten, J. D. Butler, and M. Levine, “Ascorbic acid accumulation and transport in human fibroblasts,” *Biochem. J.*, vol. 294, no. 2, pp. 505–510, 2015.
- [83] M. Sanmartin *et al.*, “Review Plant L -ascorbic acid : chemistry , function , metabolism , bioavailability and effects of processing,” vol. 860, no. December 1999, pp. 825–860, 2000.
- [84] H. Padh, “Cellular functions of ascorbic acid,” *Biochem. Cell Biol.*, vol. 68, no. 10, pp. 1166–1173, 2009.
- [85] A. T. Diplock *et al.*, “Functional food science and defence against reactive oxidative

- species,” vol. 44, 1998.
- [86] R. Douglas, E. Chalker, and B. Treacy, “Vitamin C for preventing and treating the common cold,” *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 2, 2003.
- [87] E. Cameron and L. Pauling, “Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 73, no. 10, pp. 3685–9, 1976.
- [88] E. Bright-See, “Vitamin C and cancer prevention.,” *Semin. Oncol.*, vol. 10, no. 3, pp. 294–8, 1983.
- [89] K. A. Naidu, “overview,” vol. 10, pp. 1–10, 2003.
- [90] Q. Chen *et al.*, “Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: Action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 102, no. 38, pp. 13604–13609, 2005.
- [91] S. Belin, F. Kaya, G. Duisit, S. Giacometti, J. Ciccolini, and M. Fontés, “Antiproliferative effect of ascorbic acid is associated with the inhibition of genes necessary to cell cycle progression,” *PLoS One*, vol. 4, no. 2, 2009.
- [92] J. Verrax, J. Stockis, A. Tison, H. S. Taper, and P. B. Calderon, “Oxidative stress by ascorbate/menadione association kills K562 human chronic myelogenous leukaemia cells and inhibits its tumour growth in nude mice,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 72, no. 6, pp. 671–680, 2006.
- [93] Q. Chen *et al.*, “ビタミンCが金属触媒により酸化されて出た電子で超酸化物作られ最終的に過酸化水素産生される。それが腫瘍に対する毒性発揮してる  
Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 105, no. 32, pp. 11105–11109, 2008.
- [94] M. G. Espey *et al.*, “Pharmacologic ascorbate synergizes with gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 50, no. 11, pp. 1610–1619, 2011.
- [95] J. Du *et al.*, “Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer,” *Clin. Cancer Res.*, vol. 16, no. 2, pp. 509–520, 2010.
- [96] J. Verrax and P. B. Calderon, “Pharmacologic concentrations of ascorbate are achieved by parenteral administration and exhibit antitumoral effects,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 47, no. 1, pp. 32–40, 2009.
- [97] S. Ohtani *et al.*, “Tumor suppressor 101F6 and ascorbate synergistically and selectively

- inhibit non-small cell lung cancer growth by caspase-independent apoptosis and autophagy,” *Cancer Res.*, vol. 67, no. 13, pp. 6293–6303, 2007.
- [98] Y. Takemura, M. Satoh, K. Satoh, H. Hamada, Y. Sekido, and S. Kubota, “High dose of ascorbic acid induces cell death in mesothelioma cells,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 394, no. 2, pp. 249–253, 2010.
- [99] S. Park *et al.*, “Proteomic analysis reveals upregulation of RKIP in S-180 implanted BALB/C mouse after treatment with ascorbic acid,” *J. Cell. Biochem.*, vol. 106, no. 6, pp. 1136–1145, 2009.
- [100] M. K. Wilson, B. C. Baguley, C. Wall, M. B. Jameson, and M. P. Findlay, “Review of high-dose intravenous vitamin C as an anticancer agent,” pp. 22–37, 2014.
- [101] C. Vollbracht, B. Schneider, V. Leendert, G. Weiss, L. Auerbach, and J. Beuth, “Intravenous vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemoVollbracht, C., Schneider, B., Leendert, V., Weiss, G., Auerbach, L., & Beuth, J. (2011). Intravenous vitamin C administration improves quality of life in ,” *In Vivo*, vol. 25, no. 6, pp. 983–90, 2011.
- [102] K. Shimpō, “I ;,” no. February, 2018.
- [103] K. P. Velikov, G. E. Zegers, and A. Van Blaaderen, “Synthesis and Characterization of Large Colloidal Silver Particles,” *Scanning*, no. 30, pp. 1384–1389, 2003.
- [104] K. Sekkoum, N. Belboukhari, A. Cheriti, N. Lahmer, and A. Naas, “PhytoChem & BioSub Journal,” *PCBS J.*, vol. 8, no. 1, pp. 51–58, 2014.
- [105] S. Matsumoto and Y. Takashima, “Droplet Size Distribution in Spray,” *Chem. Eng.*, vol. 33, no. 4, pp. 357-360,a1, 2011.
- [106] A. Sze, D. Erickson, L. Ren, and D. Li, “Zeta-potential measurement using the Smoluchowski equation and the slope of the current-time relationship in electroosmotic flow,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 261, no. 2, pp. 402–410, 2003.
- [107] R. January, M. Sharp, and W. Point, “I \,” vol. 75, no. 8, pp. 805–807, 1986.
- [108] Yannan Zhao, Xiaoxing Sun, Guannan Zhang, Brian G. Trewyn, Igor I. Slowing, and V. S.-Y. Lin, “Interaction of mesoporous silica nanoparticles with human red blood cell membranes size and surface effects,” *ACS Nano*, vol. 5, no. 2, pp. 1366–1375, 2011.
- [109] I. K. Sen, A. K. Mandal, S. Chakraborti, B. Dey, R. Chakraborty, and S. S. Islam, “Green synthesis of silver nanoparticles using glucan from mushroom and study of antibacterial activity,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 62, pp. 439–449, 2013.

