



ÉCOLE
CENTRALE LYON

Atelier Scientifique et Technique :

De la physique, de la chimie pour la santé !

AXE-4 du projet : Utilisation de nanoparticules d'or (Initié par V. Monnier de l'école centrale de Lyon)

- Comment synthétiser des nanoparticules d'or ?
- Comment contrôler la taille des nanoparticules fabriquées ?
- Découvrir comment cibler des cellules cancéreuses grâce à des nanoparticules
- Découvrir comment traiter des cellules cancéreuses en exploitant l'effet plasmon



Nanoparticules d'or pour le biomédical

Virginie MONNIER

Maître de conférences

virginie.monnier@ec-lyon.fr

Ecole Centrale de Lyon

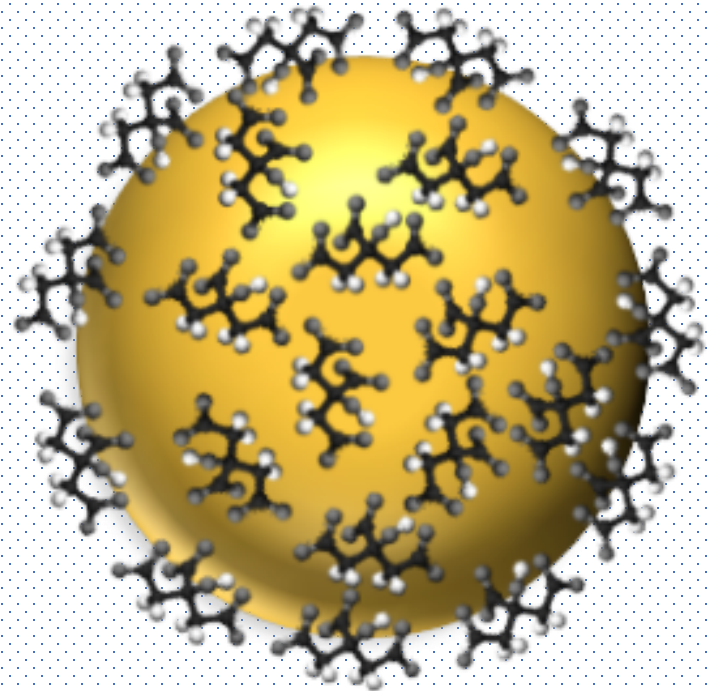
Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL)

Equipe Dispositifs pour la Santé et l'Environnement

Synthèse des nanoparticules d'or

C'est quoi ?

Elle est sujet à la recherche dans les domaines de la santé et de l'environnement. Cette synthèse permet de préparer des nanoparticules (15 à 150 nm) et son principe repose sur la réduction des ions auriques provenant de l'acide tétrachloroaurique HAuCl_4 par les ions citrate.



Nanoparticule d'or

Ce qui a été réalisé

Préparation de la solution HAuCl_4

Prélever à l'aide d'une pipette jaugée de 10 mL une solution mère HAuCl_4 et la diluer dans une fiole jaugée de 50 mL pour obtenir une solution fille de concentration 0,2 mmol.L

Chauffage de la solution

Introduire les 50 mL de solution fille dans un erlenmeyer qui sera maintenu par une pince au-dessus d'une plaque chauffante réglée à 150 °C.

Réduction des ions auriques

Après apparition de bulles mettre sous agitation magnétique avec le barreau aimanté, porter les lunettes et introduire avec la pipette pasteur 0,5 mL de citrate de sodium.

On observe la formation d'une solution grisâtre puis violacée puis bleutée et enfin rouge sous l'effet des ions citrates qui empêchent les nanoparticules d'avoir un très gros diamètre. On obtient finalement des nanoparticules de 20 nm de diamètre.

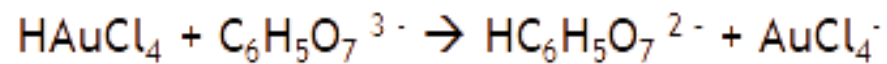


Comment ça marche ?

Comment obtient-t-on les nanoparticules ?

Les ions citrate empêchent les atomes d'or de former une assemblage atomique « de grand diamètre ». Ils permettent, suivant leur quantité, d'obtenir des « nanoparticules » d'or, formées d'atomes d'or de 20 à 100 nm de diamètre.

Quelle est l'équation de réaction ?



A quoi correspondent les couleurs ?

Les nanoparticules de 20 nm sont rouges rubis, celles de 80 nm sont bleues, celles de 100 nm sont violettes. Celles ayant un plus gros diamètre sont grises.



*Nanoparticules rouges de 20 nm
et violettes de 100 nm*

Le nombre de particules obtenues

Quelle est la quantité de matière d'or contenue dans la solution ?

La quantité de matière $n = C$ (concentration molaire) $\times V$ (Volume) soit $0,2 \cdot 10^{-3} \times 50 \cdot 10^{-3} = 1,0 \cdot 10^{-5}$ mol.

Combien y a-t-il d'atomes d'or dans la solution ?

Le nombre d'atomes est $n \times N_A$ (constante d'Avogadro) soit $1,0 \cdot 10^{-5} \times 6,022 \cdot 10^{23} = 6,0 \cdot 10^{18}$ atomes : 6 milliards de milliards d'atomes.

Combien de nanoparticules d'ors ont été synthétisées au cours de l'expérience ?

Dans la solution finale (rouge rubis) un amas de nanoparticule (cluster) contient approximativement 175000 atomes d'or donc $6,0 \cdot 10^{18} / 175000 = 3,4 \cdot 10^{13}$ nanoparticules d'or synthétisées !

Notre expérience

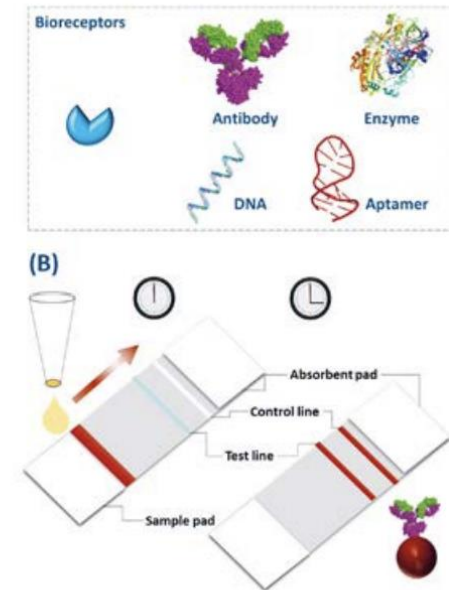
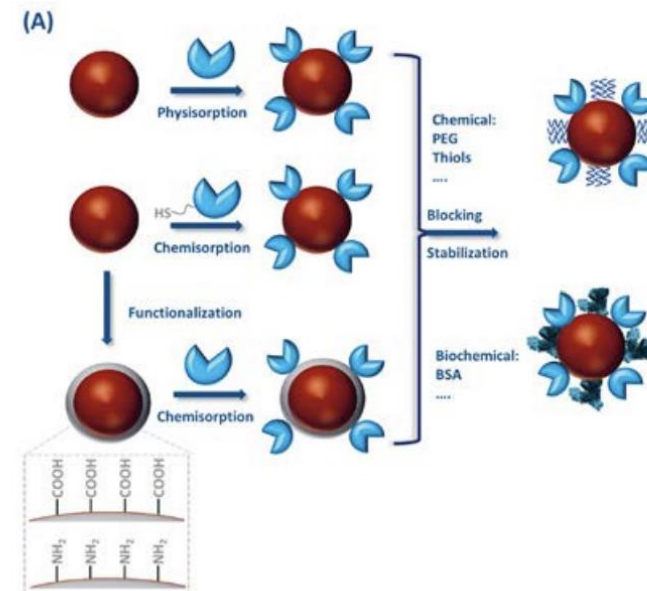
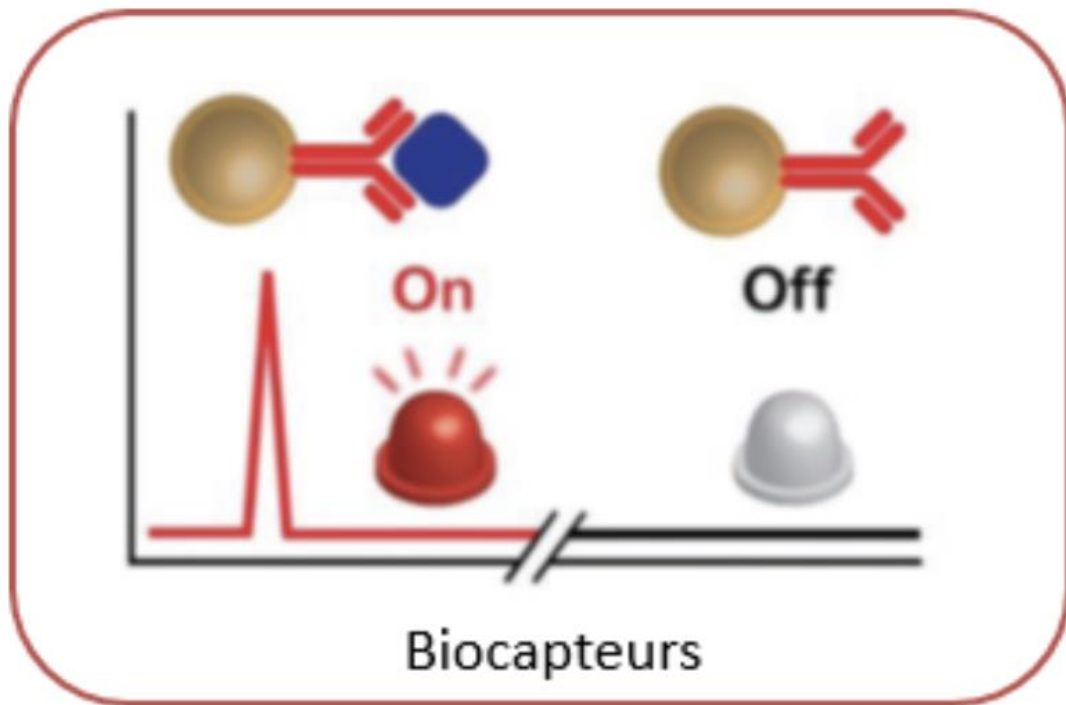


Vidéo de l'expérience des
nanoparticules d'or :
*changement de couleur (du
violet au rouge)*

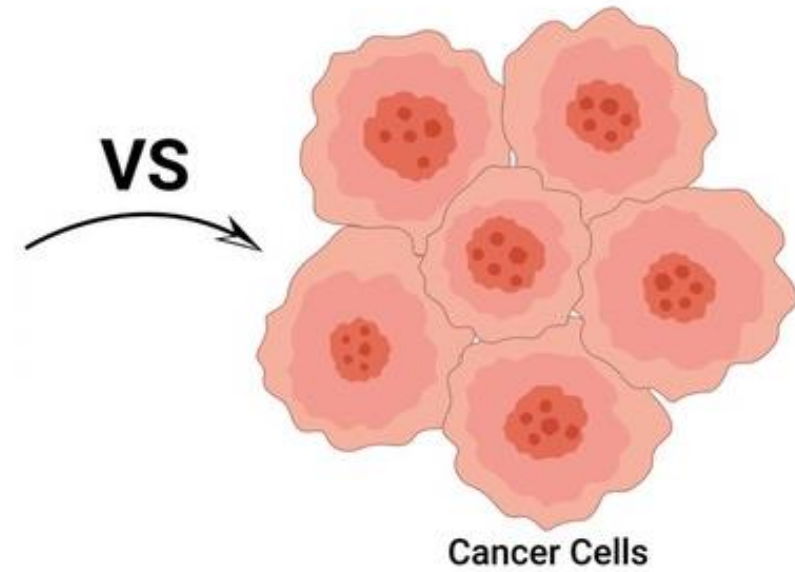
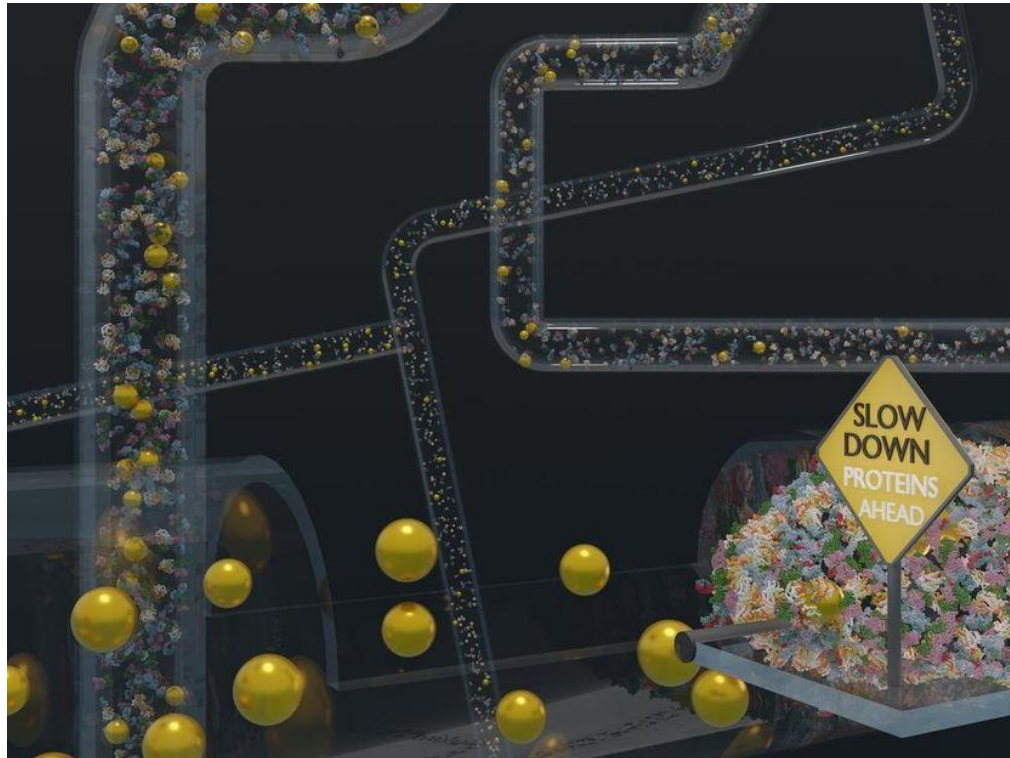


Vidéo de l'expérience des
nanoparticules d'or :
réduction de l'or

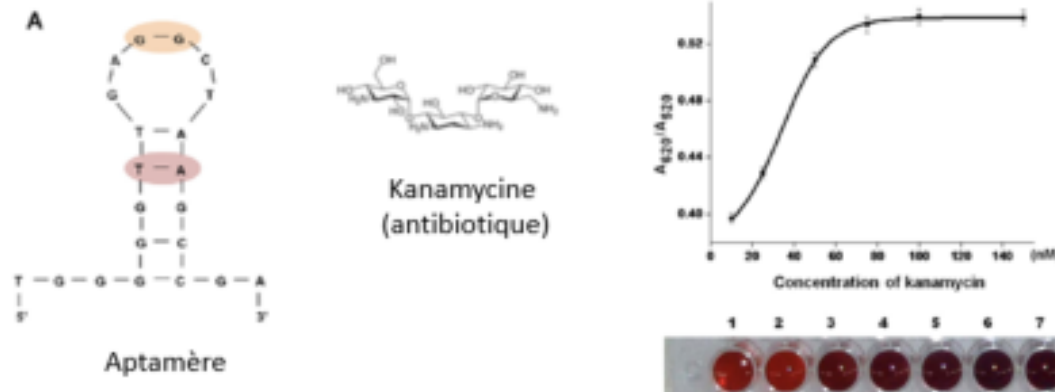
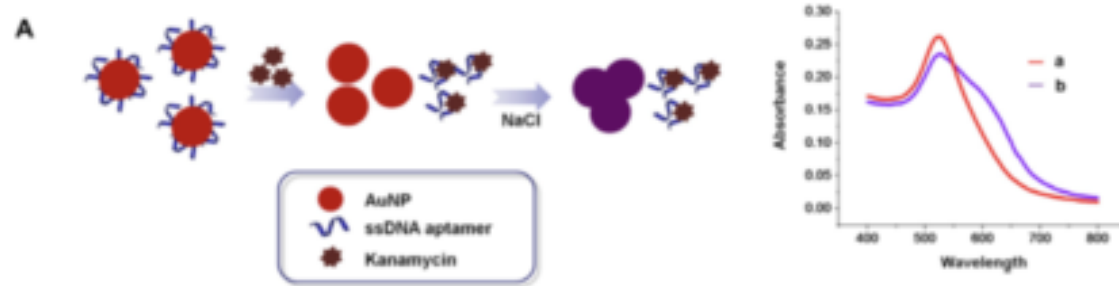
Fabriquer des biocapteurs avec des nanoparticules d'or :



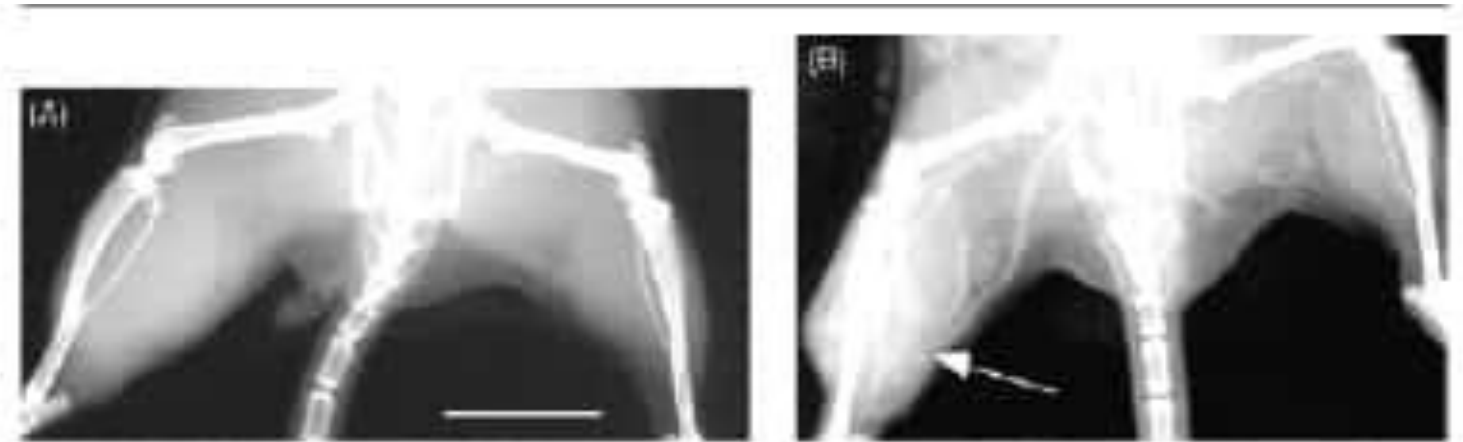
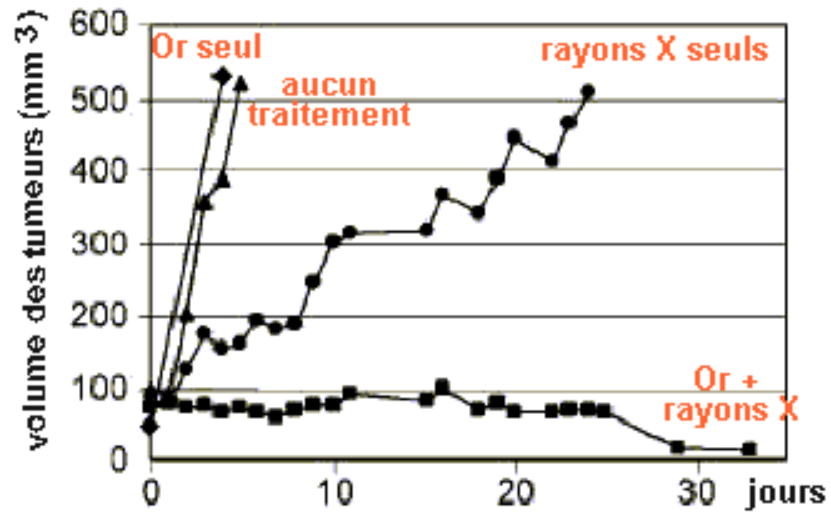
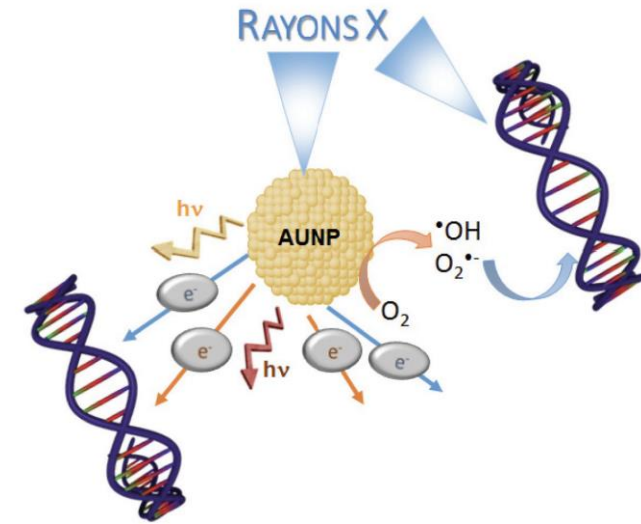
Déplacement des NP :



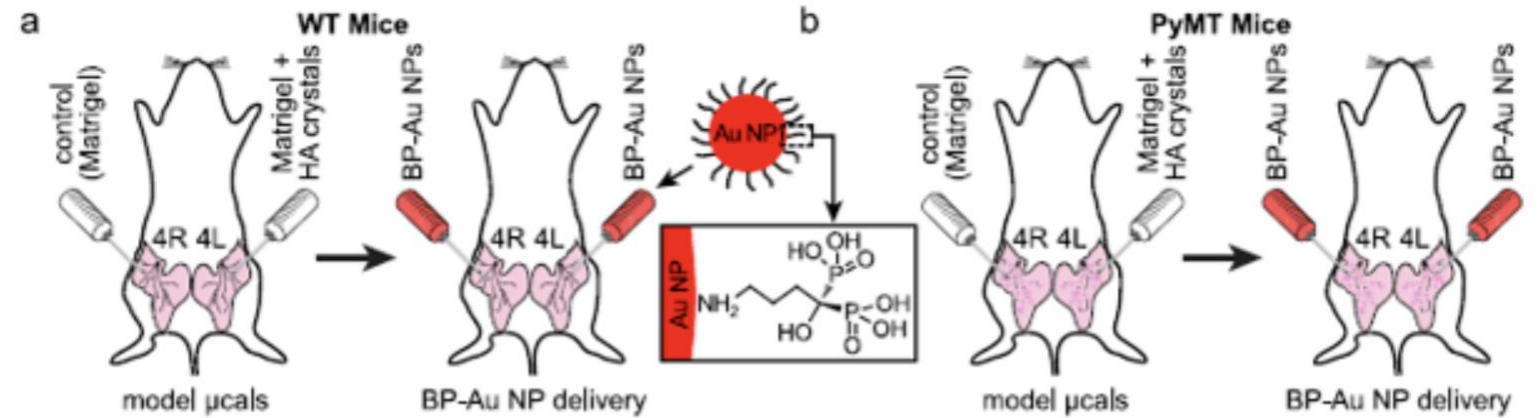
Détection colorimétrique par agrégation/séparation :



Absorption des RX par les NP d'or pour la radiographie :

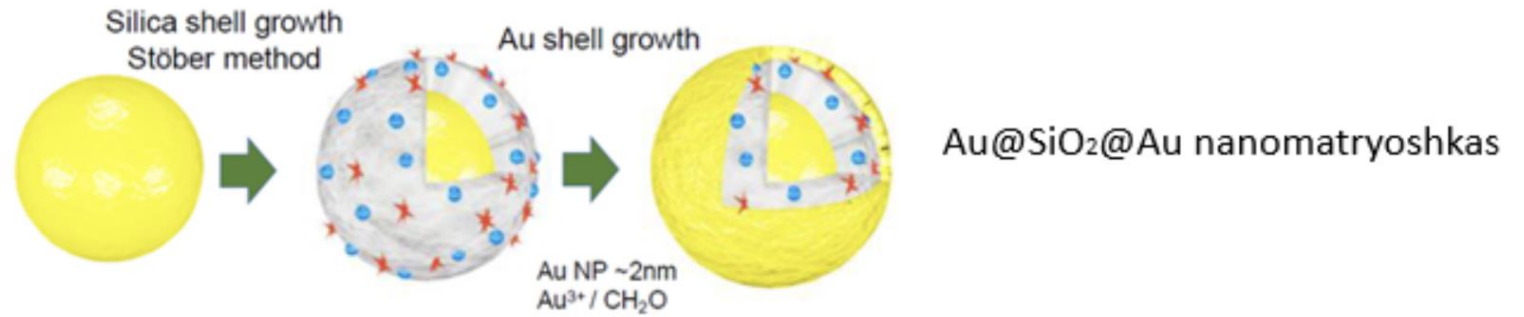


Ciblage et imagerie de microcalcifications dans les tissus mammaires :



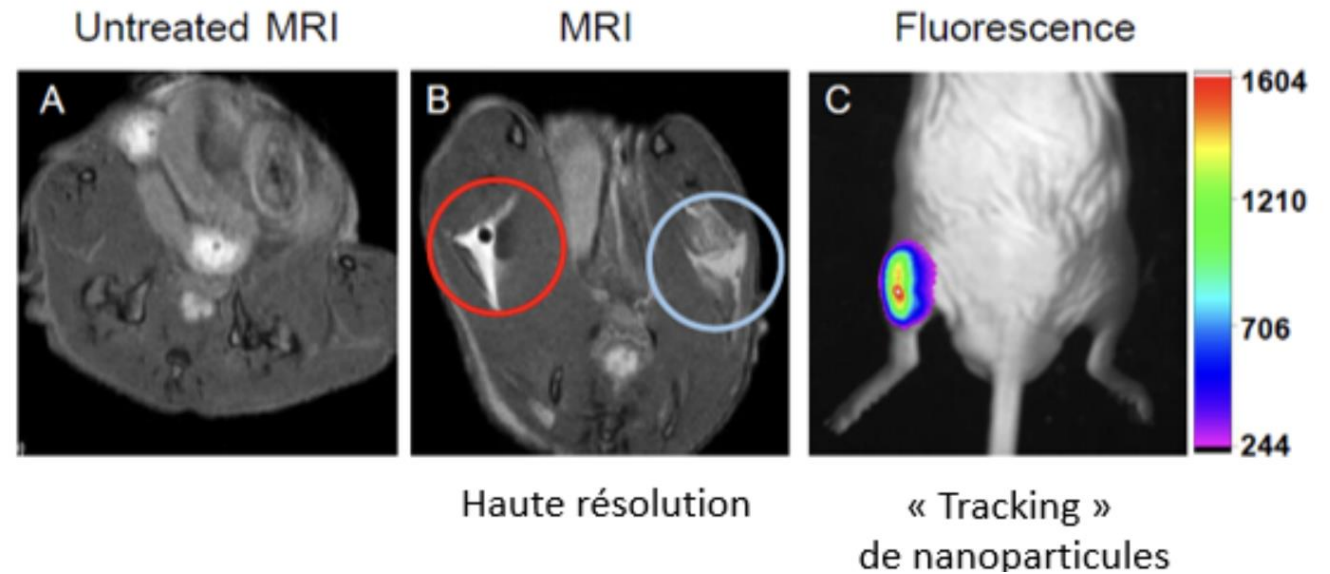
HA: cristaux d'hydroxyapatite (microcalcifications)

Combinent plusieurs fonctions d'imagerie :

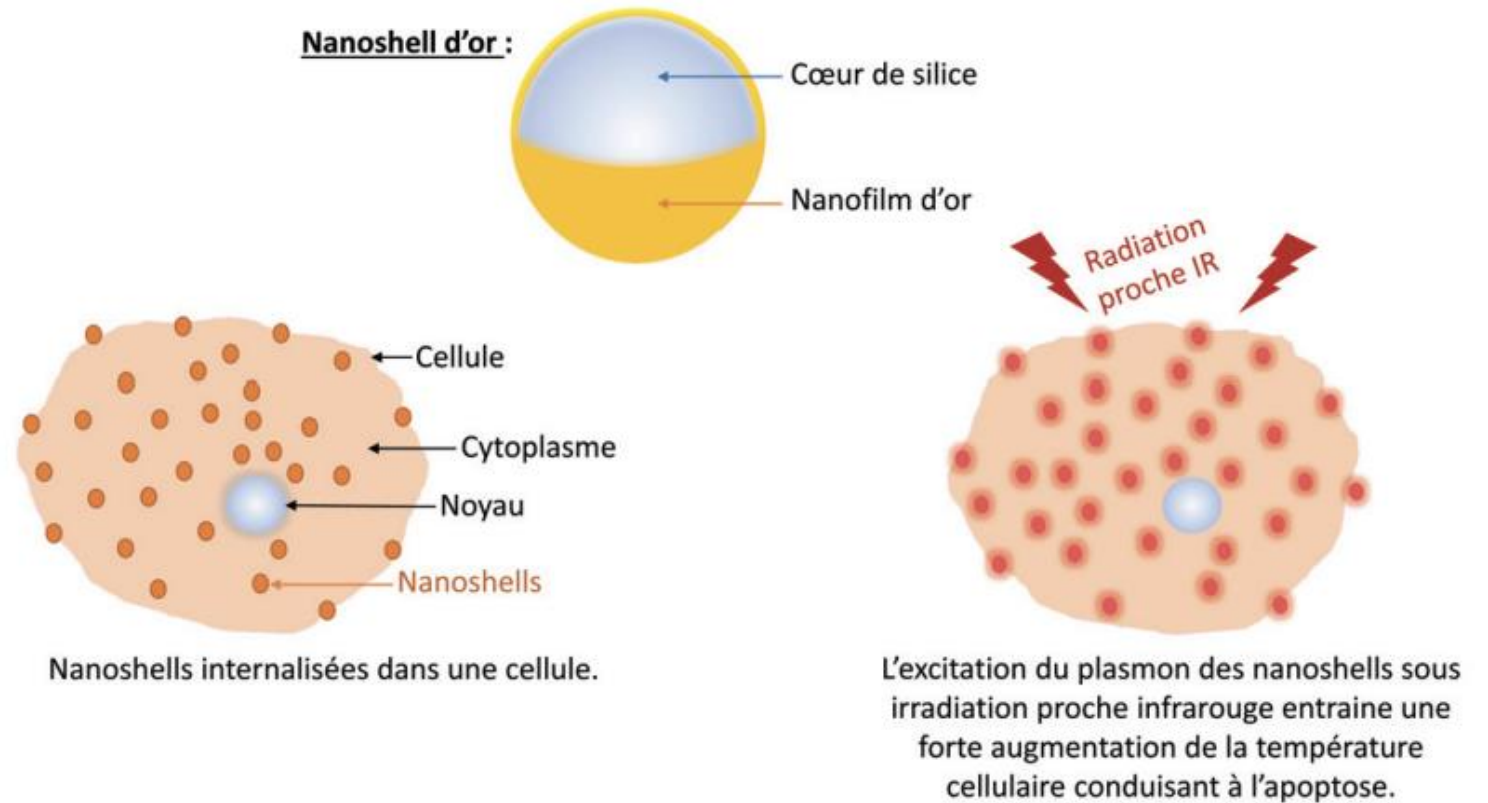


Au@SiO₂@Au nanomatryoshkas

- Me-SCN-DOTA → MRI contrast agent (FeIII)
- ★ Cy7-SCN → Fluorescent molecule



Photothérapie sur patients humains :



Nos partenaires pour les 3 autres axes de travail
(le cœur du projet)

... Sans oublier madame le Pennecc d'Arronax.



Manon Evin

- Doctorante en physique médicale sur la thématique des radiothérapies innovantes.
- 3 ans de licence physique + master en physique.
- Passage de doctorat + concours à l'école des physiciens médicaux.



- Qu'est-ce que l'effet FLASH ?
 - 1- Réduction de la toxicité aux tissus sains.
 - 2- Efficacité anti-tumorale similaire.
- Thèse : Étude de l'environnement dosimétrique pour la radiothérapie.

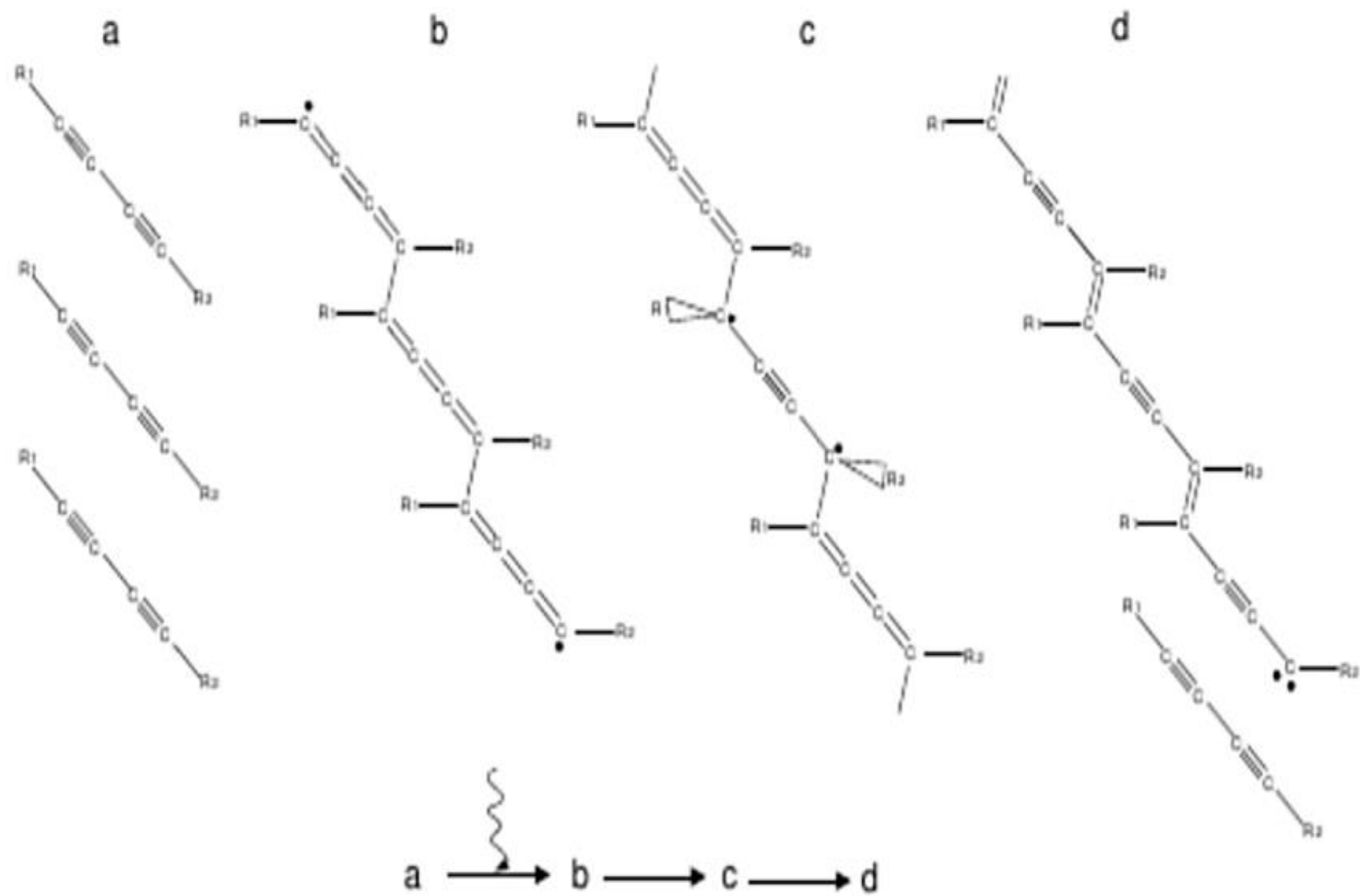
Film radiochromique

Les films radiochromiques sont des films translucides qui révèlent une couleur bleue après une irradiation. Suite à l'irradiation, les cristaux de diacétylène (monomères) (a) constituant le film reçoivent l'énergie nécessaire pour initier leur polymérisation en chaîne butatriène (b) ce qui donne la couleur bleue du film irradié.

Cette chaîne de polymères continue à s'allonger en passant en un état intermédiaire de réarrangement de structure (c), avant de finir par une structure acétylène (d) avec un carbène (atome carbone avec deux électrons non-liés) attaché à la fin de chacune des chaînes polymères. Il a été montré aussi que la phase de transition butatriène-acétylène prend ~4 heures à 100 K.

Il a été montré que plus l'irradiation est forte ou longue, plus il y aura formation de polymères longs qui, eux, absorberont la lumière et ainsi le filtre sera plus foncé. Ils sont bleutés car les polymères absorbent principalement le rouge et mes camarades détailleront ensuite le procédé de l'expérience les mettant en oeuvre.

Ces films présentent plusieurs avantages notamment en ce qui concerne la gamme de mesure de la dose de ces films qui peut aller de quelques Grays à quelques kilo Grays. Ils sont peu sensibles à la lumière du jour ce qui permet une facilité de manipulation et de préparation. Ils peuvent être coupés, immergés dans la cuve à eau pour le contrôle de qualité en radiothérapie par exemple.



Détermination d'une dose radioactive par utilisation de films radiochromiques

Les films radiochromiques présentent une teinte de plus en plus sombre si la dose radioactive (en Gray) est de plus en plus importante. Cela est dû à la polymérisation de monomères présents sur une couche dites « active » comme vu précédemment

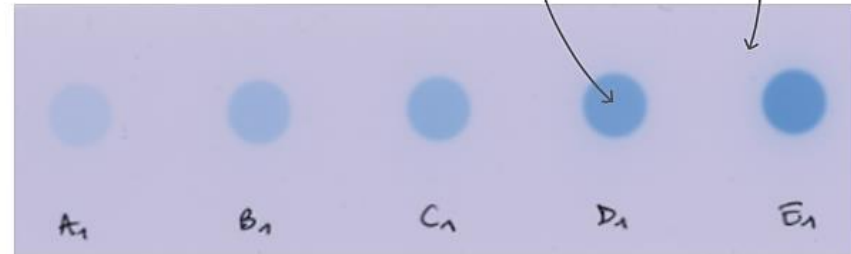
L'objectif est de tracer la courbe d'étalonnage netOD qui est une fonction dépendant de la teinte du film non irradié et de la teinte du film irradié en fonction de la dose en Gy.

Ensuite on exploite cette courbe pour découvrir la dose inconnue absorbée par deux films x et y.

PV_{nirr} : films non irradié (celui avec 0 Gy) Noircissement croissant avec la dose (2, 5, 10, 20, 40 Gy)

PV_{irr} : tous les autres sont irradiés.

$$netOD = \log_{10} \left(\frac{PV_{nirr}}{PV_{irr}} \right)$$



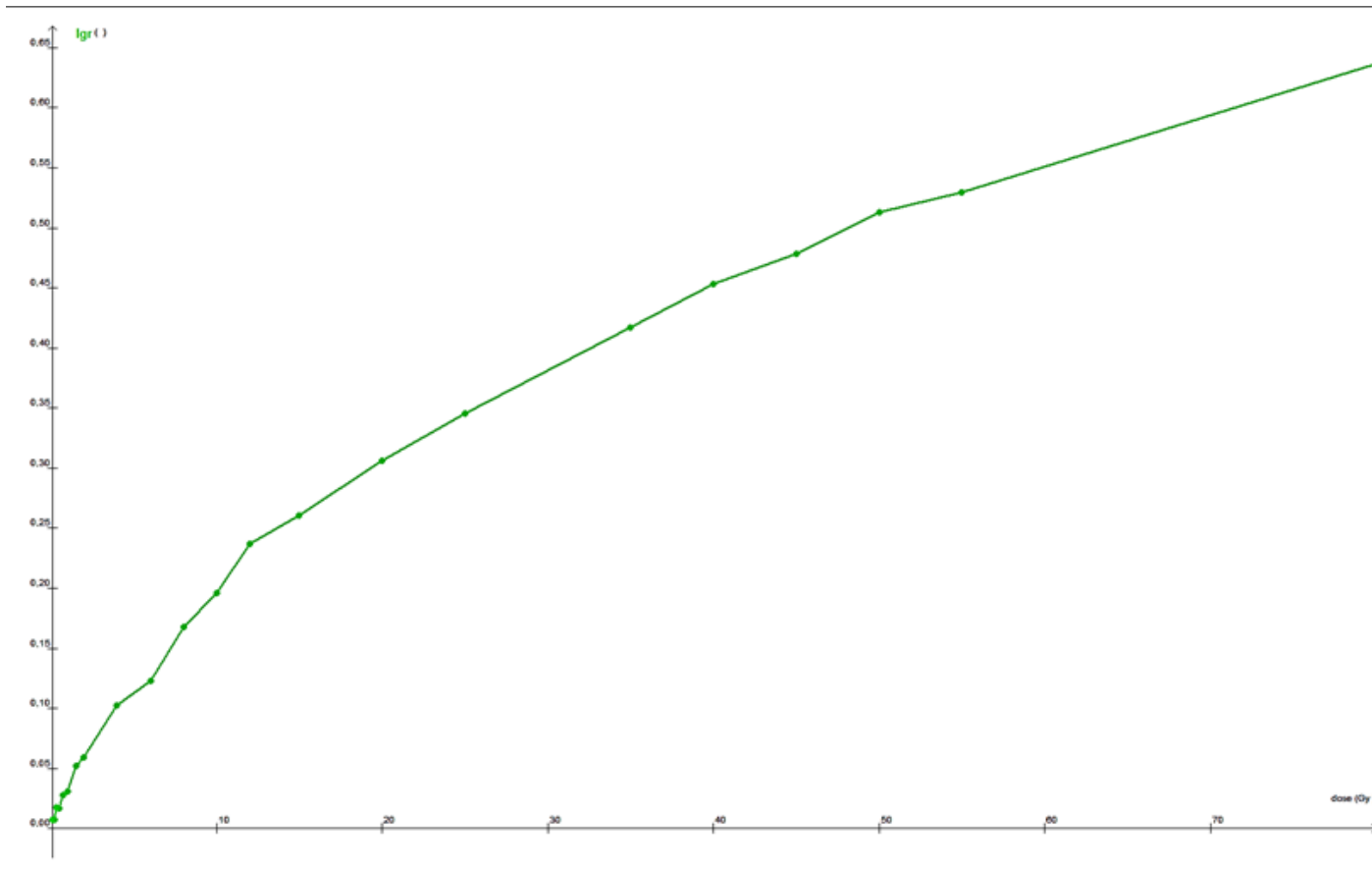
Dose

Résultats

Doses	PV		
		20	87.126
0 (nirr)	176.230	25	79.612
0.1	173.303	35	67.416
0.2	173.150	40	62.136
0.3	169.432	45	58.635
0.5	169.578	50	54.082
0.7	165.397	55	52.131
1	164.099	80	40.678
1.5	156.256	DoseA inconnue	148.448
2	153.755	DoseB inconnue	74.659
4	139.057		
6	132.775		
8	119.674		
10	112.322		
12	102.212		
15	96.779		

On trace $\log(PV_{nirr}/PV)$ en fonction de la dose puis on calcule le $\log(PV_{nirr}/PV)$ pour la dose A et la dose B : on voit par lecture graphique que «doseA » = 2,9 Gy et « doseB » = 29 Gy

En fait, ces doses étaient de 3 et 30 Gy (révélées par le professeur). L'incertitude relative sur la détermination de la dose est proche de 3 % ce qui semble conforter la démarche.



M. Guillaume BLAIN, ingénieur CNRS
Laboratoire Subatech-Cyclotron ARRONAX -Nantes
Extrait de la conférence de M. Blain au lycée :

UNE THÉMATIQUE, DEUX LABORATOIRES

Subatech



- Recherche fondamentale et appliquée
- Physique des particules
- Cosmologie
- Radiochimie
- Energie, santé et environnement
- Technologies associées

ARRONAX



- Production de radionucléides innovants
- Recherche appliquée
- Plateforme d'irradiation
- Santé, chimie, physique, détecteurs
- Spatial, histoire de l'art

Notre visite des laboratoires de Subatech



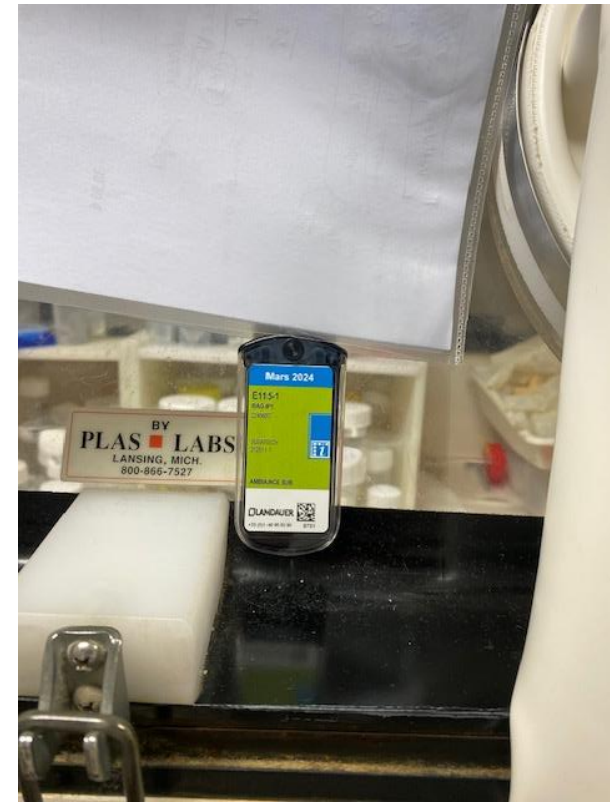
LABORATOIRE DE CHIMIE CLASSIQUE



Analyseur à pyrolyse 25



SALLE DE BOÎTES À GANTS

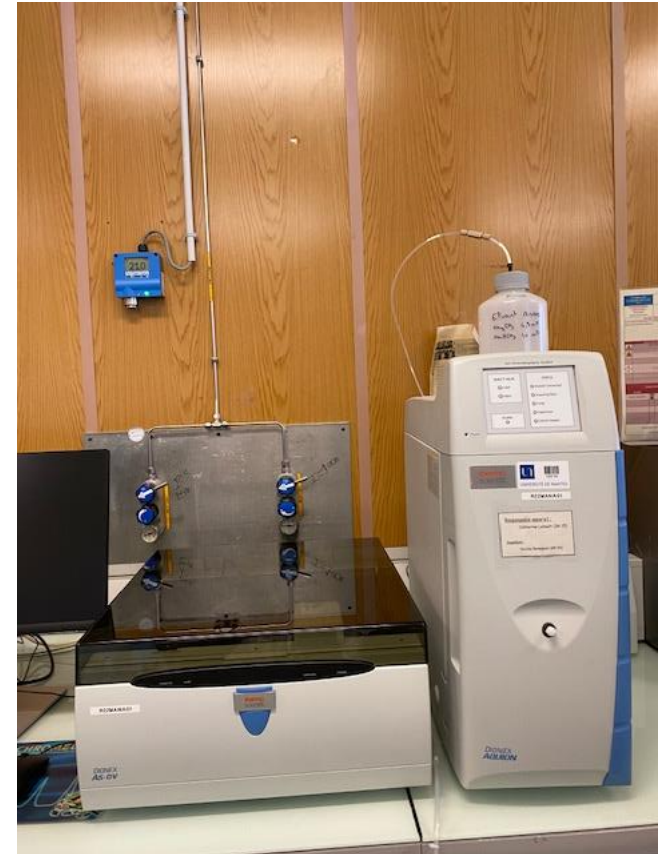




COMPTEUR GEIGER



SALLE D'ANALYSE



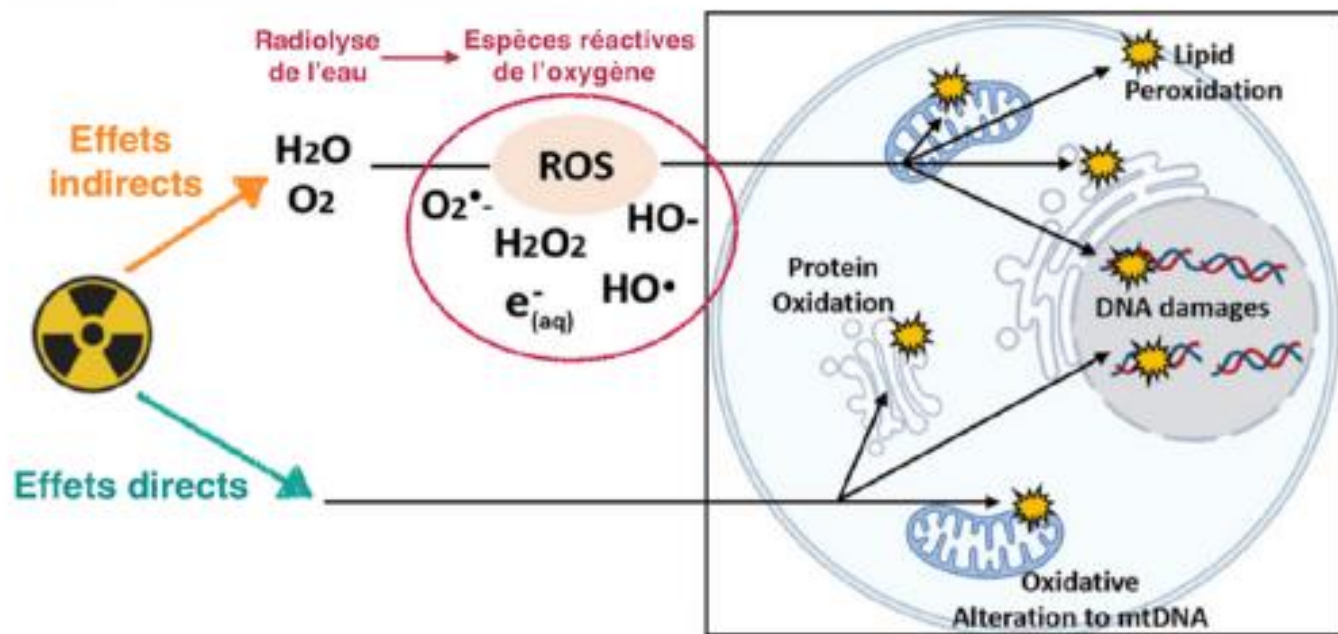


OBJET EN CRÉATION POUR ÉTUDIER
LES RAYONS COSMIQUES

Les rayonnements ionisants

Photons, électrons, neutrons, protons, ions.. dont l'énergie est suffisante pour créer des ions dans la matière (> quelques eV)

Effets biologiques

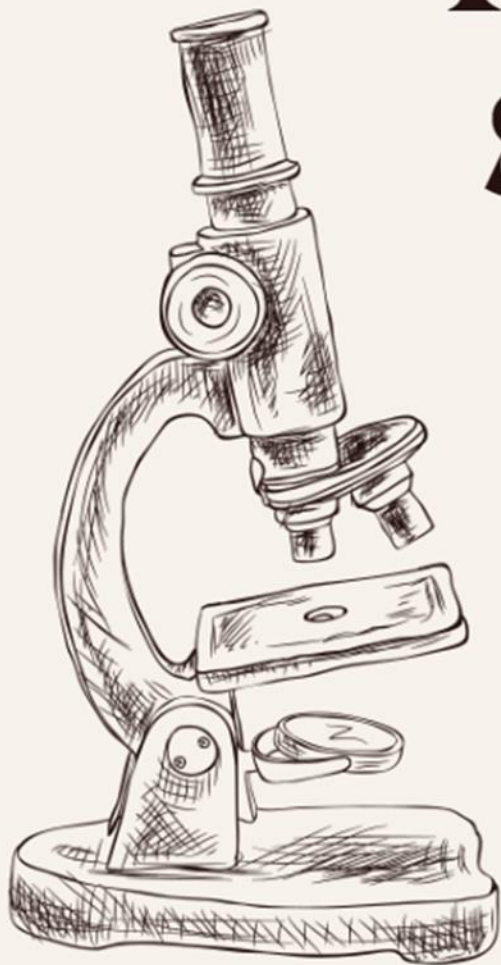


Unité de mesure de la dose : le Gray
1 Gy = 1 J/kg

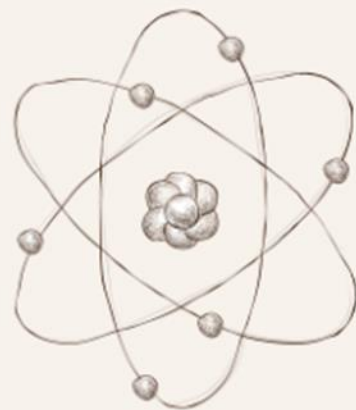
Capacité à endommager les
molécules du vivant et
d'induire la mort cellulaire

Figure 1 : Schéma de l'action des rayonnements ionisants [1].

PRÉCIPITATION SÉLECTIVE DU FER III



**Problème : comment obtenir une solution
contenant uniquement des ions Fe^{2+}**



Sommaire

01

Observations : réaction entre une solution contenant des ions Fe^{3+} et une solution de thiocyanate / solution contenant des ions Fe^{2+} et une solution de thiocyanate

02

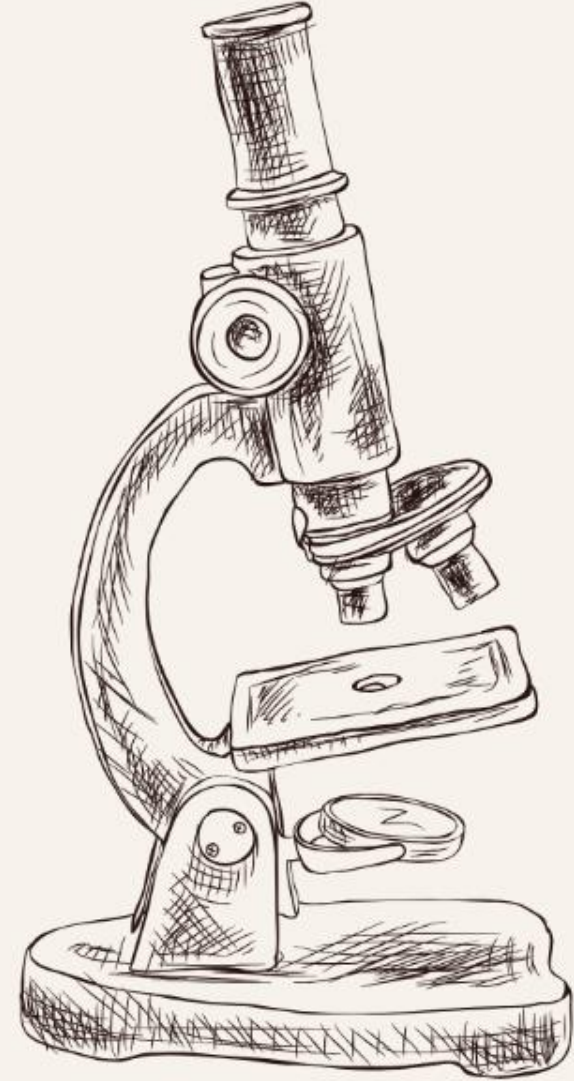
Calculs de HO^- pour chaque solution (Fe^{3+} et Fe^{2+})

03

Calculs des pH pour chaque solution

04

Protocole et expérience pour répondre au problème



Observations

solution contenant des ions Fe^{3+}
+ quelques gouttes de thiocyanate
= solution très rouge



solution contenant des
ions Fe^{2+}
+ quelques gouttes de
thiocyanate
= solution orangée

Déduction: le thiocyanate est un réactif d'identification des ions Fe^{3+}

Calculs d' HO^-

- Pour une solution contenant des ions Fe^{2+}

On cherche la concentration d' HO^- au début de la précipitation.

Sachant que :

- $[\text{Fe}^{2+}] \times [\text{HO}^-]^2 \geq 7,9 \times 10^{-16}$
- $[\text{Fe}^{2+}] = 0,1 \text{ mol/L}$

On en déduit que :

$$[\text{HO}^-] \geq 8,89 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$$

- Pour une solution contenant des ions Fe^{3+}

On cherche la concentration d' HO^- au début de la précipitation.

Sachant que :

- $[\text{Fe}^{3+}] \times [\text{HO}^-]^3 \geq 2,5 \times 10^{-38}$
- $[\text{Fe}^{3+}] = 0,1 \text{ mol/L}$

On en déduit que :

$$[\text{HO}^-] \geq 6,3 \times 10^{-13} \text{ mol/L}$$

Calculs du pH

A partir des calculs précédents, on cherche les pH correspondant à chaque solution.

Relation donnée :

$$[\text{OH}^-] \times [\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-14}$$

Pour Fe^{2+} : on calcule $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1,12 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$

Ainsi : $\text{pH} = 6,95$

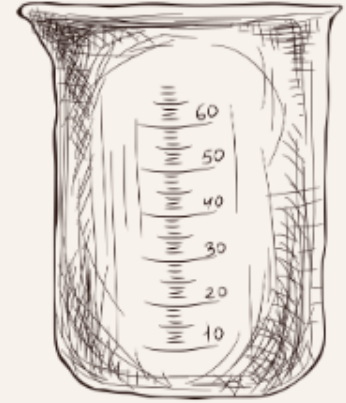
Pour Fe^{3+} : on calcule $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1,59 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$

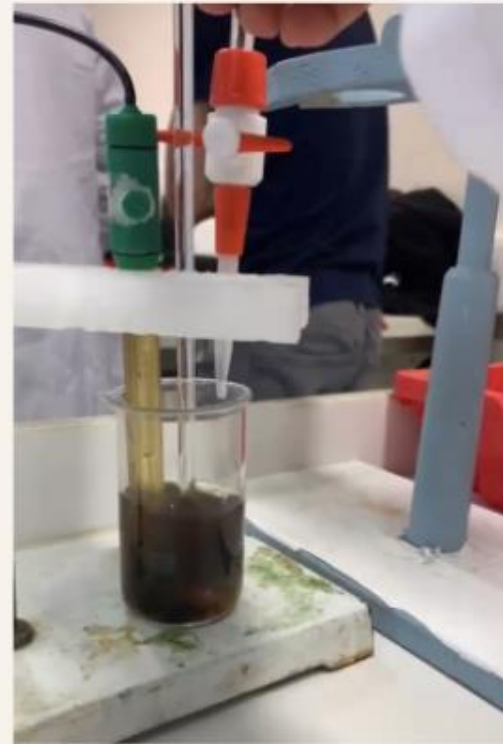
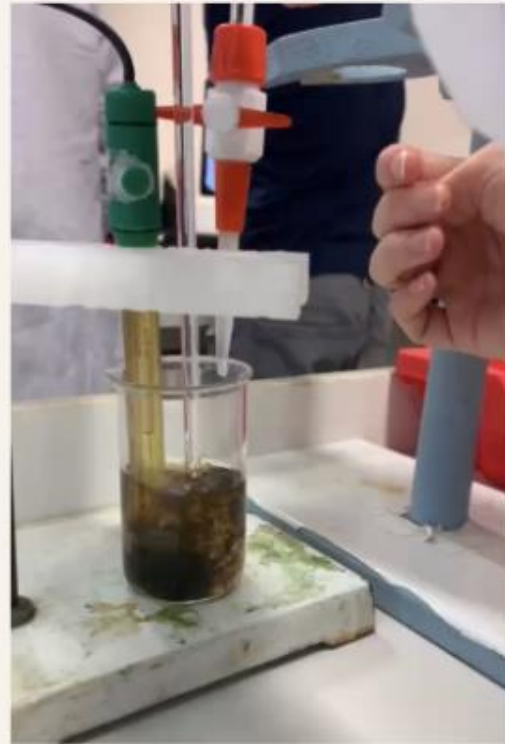
Ainsi : $\text{pH} = 1,80$



Protocole et expérience !!

- Préparer une solution de 10mL de Fe^{2+} et 10mL de Fe^{3+} .
- Mesurer le pH de la solution.
- Ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique afin d'obtenir un pH 1.
- A l'aide d'une burette graduée, ajouter de la soude et agiter jusqu'à un pH 5.





 Ajout de la sonde

- Filtrer la solution pour récupérer Fe^{3+} dans le filtre, et Fe^{2+} dans un bécher.



- Ajouter quelques gouttes de thiocyanate dans la solution filtrée.

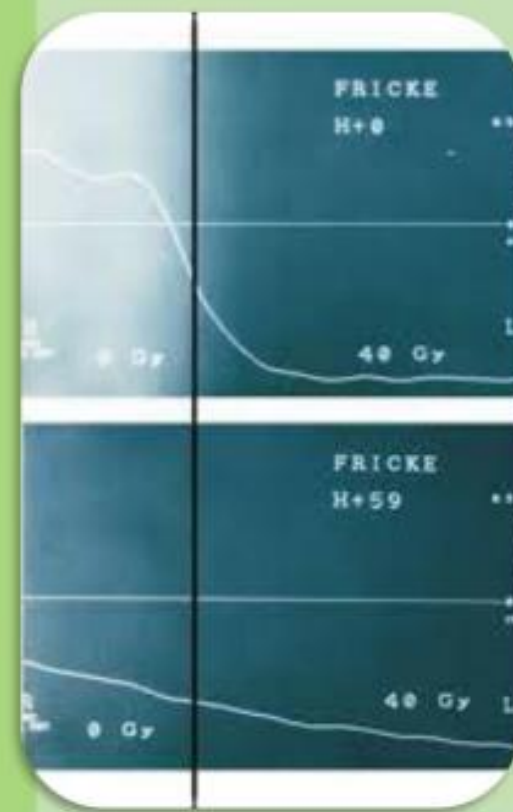


La solution ne réagit pas car elle ne change pas de couleur, il n'y a plus de Fe^{3+} dans la solution, l'expérience est réussie !!!

Maintenant, le titrage des ions Fer III mais ...
dans un laboratoire de recherche :

Mesurer la
radioactivité

Dosimétrie par la méthode de Fricke



L'utilité de ce dosage de Fricke

La dosimétrie de Fricke se base sur l'oxydation des Fe^{2+} .

Cette dosimétrie est une méthode très utilisée pour la radiothérapie. En effet pour éviter les effets négatifs de la chimiothérapie et la chirurgie on développe la radiothérapie car celle-ci permet l'irradiation d'un tissu tumoral, cancéreux sans toucher les tissus sains.

Les incertitudes de cette dosimétrie sont faibles, ce qui permet la fiabilité de cette technique.

Grâce à cette méthode on peut déterminer la dose radioactive que l'on va utiliser.

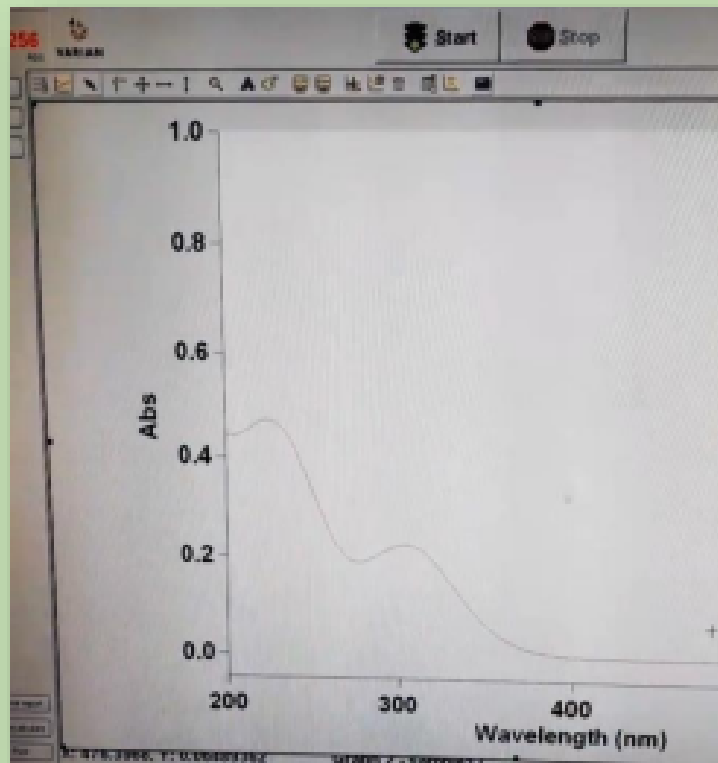


Protocole de la dosimétrie

- 1) Prélever à l'aider d'une micropipette une solution de dosimètre de Fricke
- 2) Verser ensuite le volume dans une cellule d'irradiation
- 3) Après bien avoir fermé la cellule, irradier la solution contenue dans la cellule grâce à un irradiateur.
- 4) Prélever après irradiation la solution et placer le prélèvement dans une cuve de spectro- absorption.
- 5) Placer la cuve remplie dans le spectromètre (cuve transparente pour l'absorption du Fe^{3+}).
- 6) A partir du spectre, on peut tracer l'absorbance en fonction des longueurs d'ondes.



Exploitations des résultats



Nous allons chercher à trouver la concentration en Fe^{3+} :

Grâce au graphique de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde, on peut observer à 304nm l'absorption de Fe^{3+} (grâce à sa bande spécifique). C'est la transformation de Fe^{2+} en Fe^{3+} .

En utilisant la loi de Beer- Lambert on peut retrouver la concentration de Fe^{3+} .

$$A = \epsilon \times l \times [Fe^{3+}]$$

Où le coefficient d'absorption molaire = $2160 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

et l'absorbance = 0,25 ; $l = 1\text{cm}$

$$\text{Ainsi } [Fe^{3+}] = A / \epsilon l \text{ donc } [Fe^{3+}] = 0,25 / 2160 \times 1 = 1,16 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$$

Calculer la dose radioactive

Dépendance en T.E.L. moyen

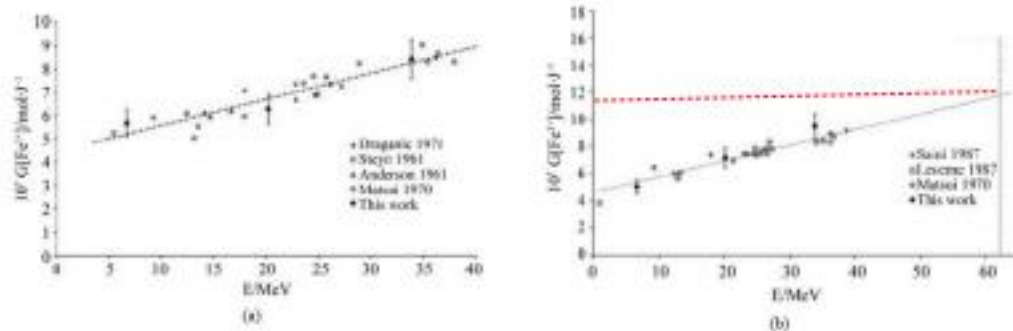


Figure 2. Dependence of $G(\text{Fe}^{3+})$ on particles energies for (a) Fricke and (b) super Fricke aerated solutions.

Pour γ Co^{60} : $G(\text{Fe}^{3+}) = 15.5 \text{ Molec}/100\text{eV}$

Pour super-Fricke et E_{α} de 62.1MeV : $G(\text{Fe}^{3+}) = 11.6 \text{ Molec}/100\text{eV} \pm 1.2$
 $(G(\text{Fe}^{3+}) = 11.6 \cdot 10^{-7} \text{ Mol}/\text{J})$

ATTENTION : Gray \neq Joule \leftarrow

* Chemical Dosimetry during Alpha irradiation: A Specific System for UV-Vis in Situ Measurement *
 Cédric Costa, Francis Cumières, Guillaume Blain, Johan Vandenberg, Messoud Fattah, American Journal of Analytical Chemistry, 2012, 3, 6-11

Le calcul de la dose radioactive permet de savoir la quantité de dose reçue. Ainsi ce calcul est très important pour garantir la sécurité (notamment celle de la personne qui reçoit la dose).

D'après ce document on sait que
 $G(\text{Fe}^{3+}) = 11,6 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{J}^{-1}$

$$\text{Dose} = [\text{Fe}^{3+}] / G(\text{Fe}^{3+}) \times \rho$$

$$\text{Donc Dose} = 1,16 \times 10^{-4} / (11,6 \times 10^{-7} \times 1,024) = 97,65 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1}$$

OU on sait que $A = \epsilon \times I \times [\text{Fe}^{3+}]$

$$\text{Donc Dose} = (A / \epsilon \times I) / G(\text{Fe}^{3+}) \times \rho$$

$$\text{Donc dose} = (0,25 \div 2160 \times 1) / (11,6 \times 10^{-7} \times 1,024) = 97,43 \text{ J} \cdot \text{kg}^{-1}$$

Dosage de H₂O₂ par la méthode de Ghormley

La Radiolyse produit notamment H₂O₂ : on cherche à le doser

Etape 1 : Production → irradier de l'eau ultra pure dans un contenant résistant aux irradiations et à toute la chimie induite, remplir le contenant de l'eau ultra pure (purifier par machine pour qu'il ne reste que de l'H₂O).

Etape 2 : Contrôle de la pureté de l'eau par la résistibilité de l'eau autour de 18.2 cm (contrat pure).

Etape 3 : Refermer la cellule d'irradiation.

Etape 4 : Irradier dans l'irradiateur gamma pendant quelques minutes. On obtient de l'eau et un peu d'eau oxygénée.

Etape 5 : Doser via le protocole de Ghormley, il est basé sur réaction de l'eau oxygénée avec le diiode. On obtient des ions I₃⁻.

Etape 6 : Dosés par spectrométrie d'absorption d'UV visible via l'appareil du laboratoire.

Etape 7 : Ajouter à la prise d'essai les réactifs, le premier un tampon qui maintient la solution dans le bon domaine de pH pour que la réaction puisse avoir lieu, le deuxième contient la source diiode et un catalyseur qui va accélérer la cinétique de la réaction.

ATTENTION il faut un flacon opaque en plastique pour protéger les liquides/solutions à l'intérieur, de la lumière

Etape 8 : Attendre une dizaine de minutes à l'abri de la lumière pour que la réaction soit totale.

Etape 9 : Insérer dans le spectromètre, on obtient la bande d'absorption sur ordinateur, typique des ions I₃⁻ en solution à 350 nm et l'absorbance correspondante via l'étalonnage avec des solutions étalonnées d'eau oxygénée.

Le titrage de H_2O_2 ... au lycée cette fois-ci !

On réalise un titrage de H_2O_2 à l'aide d'une solution de permanganate de potassium :



- Verser doucement la solution de permanganate de potassium dans l'erenmeyer jusqu'à l'équivalence

→ Noter $V_{2(eq)}$ le volume de la solution de permanganate de potassium versée à l'équivalence

Volume V_2 versé à l'équivalence : $V_2 = 18,2$ mL.

→ Déterminer la relation à l'équivalence entre C_1 , C_2 , V_1 et $V_2(eq)$

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_{2(eq)}$$

→ Exprimer puis calculer C_1 , la concentration en quantité de matière de peroxyde d'hydrogène dans la solution diluée.

$$C_1 = C_2 \times V_2 / V_1 \text{ et on sait que : } n[\text{H}_2\text{O}_2]/5 = n[\text{MnO}_4^-]/2 \text{ alors } C_1 = 5 \times C_2 \times V_2 / 2 \times V_1$$

$$C_1 = 5 \times 2,0 \times 10^{-2} \times 18,2 / 2 \times 10 = 0,63 \text{ mol.L}^{-1}$$

→ En déduire la valeur de C , la concentration en quantité de matière de peroxyde d'hydrogène dans la solution commerciale d'eau oxygénée

la solution ayant été diluée 10 fois C vaut alors : $C = C_1 \times 10$

$$C = 0,63 \times 10 = 0,63 \text{ mol.L}^{-1}$$

Evaluation des incertitudes

→ A l'aide des valeurs ci-dessous, déterminer l'incertitude liée à la concentration C_1 ; exprimer le résultat final de C_1 avec son incertitude.

$$(UL_1/C_1)^2 = (UL_2/L_2)^2 + (UV_1/V_1)^2 + (UV_{2(eq)}/V_2)^2$$

$$= 0,16 \text{ mol.L}^{-1}$$

$$C = 0,63 \pm 0,16 \text{ mol.L}^{-1}$$

$$V_1 = (10,00 \pm 0,04) \text{ mL}$$

$$C_2 = (2,000 \pm 0,008) \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$$