

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE FERHAT ABBAS –SETIF-1
UFAS-1 (ALGERIE)

THÈSE

Présentée à :
La Faculté de technologie
Département de Génie des Procédés
Pour l'obtention du Diplôme de

Doctorat

Domaine : Sciences et Technologies
Option : Génie des procédés pharmaceutiques

Par :

Mme BENGHANEM SAIDA

THÈME

***Oxydation de la carboxyméthylcellulose sodique,
couplage avec le chitosane et études biologiques.***

Présentée et soutenue le : 06/05/ 2017

Mr Salah CHAFAA	Professeur	UFAS-1	Président
Mme Meriem ELKOLLI MERBAH	Professeur	UFAS-1	Rapporteur
Mr Mahmoud BOUNEKHEL	Professeur	UFAS-1	Co-rapporteur
Mr Djallel BOUZID	Professeur	ENPT- Constantine	Examineur
Melle Amel DJEDOUANI	Professeur	ENS-Constantine	Examinatrice
Mr Abdenacer FLILISSA	M.C.A.	UFAS-1	Examineur

Remerciements

*Je dois tout d'abord remercier et me prosterner devant **ALLAH**, Dieu le tout Puissant, qui m'aide et m'offre tout ce que j'ai aujourd'hui.*

*Je tiens tout particulièrement à remercier **Madame La Professeure Elkolli Merbah Meriem** qui a dirigé cette thèse.*

Pour sa disponibilité, son soutien et ses conseils qui ont été nombreux et importants. Mme Elkolli Merbah Meriem a beaucoup œuvré pour la mise en valeur de mon travail. J'ai tant apprécié en sa présence l'environnement de notre équipe qui s'est solidifié. J'ai appris beaucoup de choses avec elle. Je lui adresse toute ma reconnaissance et mon affection.

*J'exprime mes vifs remerciements à **Monsieur Le Professeur Bounekhel Mahmoud** qui m'a toujours aidé sur tous les plans surtout scientifiques.*

Pour les qualités de ses orientations et de ses connaissances et pour sa sympathie qu'il m'a témoignées. Qu'il trouve ici la reconnaissance de ma profonde gratitude.

*Je remercie vivement aussi **Melle Chetouani Asma**, pour ses conseils, son aide, sa disponibilité et surtout son extrême gentillesse qu'elle m'a exprimé tout au long de la réalisation de cette thèse. Je la prie encore une fois de recevoir à travers ce travail mes sincères remerciements.*

*Je suis profondément sensible à l'honneur que **Monsieur Le Professeur Chafaa Salah** m'a fait en acceptant de présider mon jury de soutenance. Je lui transmets toutes les expressions de mes profonds respects et de mes distinguées considérations.*

*Je remercie **Monsieur Le Docteur Flilissa Abdenacer** d'avoir accepté de consacrer de son temps à juger cette thèse et de nous honorer par sa présence à ma soutenance en tant que membre de mon jury.*

*Je remercie **Monsieur Le Professeur Bouzid Djallel** d'avoir accepté avec bienveillance de se déplacer pour juger ce travail. Sa présence honore mon jury. Qu'il reçoive l'expression de mes sincères remerciements.*

*Je remercie **Mademoiselle La Professeure Djedouani Amel** d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Votre participation à mon jury de soutenance a été un grand honneur pour moi.*

*Je dois surtout exprimer mes remerciements à **tous les membres du LMPMP-UFAS de Sétif-1** et spécialement **Zohra** et **Khadidja** pour avoir partagé avec moi la route, parfois tortueuse, de cette thèse. Que ces années vécues ensemble laissent persister une amitié durable et solide.*

À la mémoire de mon père,

À ma mère,

À mon mari,

À mes chers frères et mes chères sœurs,

À mes ami(e)s,

À tous ceux qui me sont chers.

Sommaire

Remerciements.....	i
Dédicaces.....	ii
Sommaire.....	iii
Liste des abréviations.....	vii
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xiv
Introduction générale.....	1
 CHAPITRE I:.....	 5
REVUE GÉNÉRALE SUR LES POLYSACCHARIDES ET LEURS PRINCIPALES MODIFICATIONS CHIMIQUES.	
I.1.Les polysaccharides	6
I.1.1. L'alginate de sodium.....	7
I.1.2. Lacarraghénane.....	8
I.1.3. La gomme de xanthane.....	9
I.1.4. Le pullulane.....	10
I.1.5. Le chitosane.....	10
I.1.6. L'acide hyaluronique ou l'hyaluronate.....	11
I.1.7. L'amidon.....	12
I.1.7.1. L'amylose.....	12
I.1.7.2. L'amylopectine.....	13
I.1.8. La gomme de guar.....	13
I.1.9. La cellulose.....	14
I.1.10. La pectine.....	15
I.1.11. Le xylane.....	15
I.2. Les modifications chimiques des polysaccharides.....	16
I.2.1. La sulfatation.....	17
I.2.2. L'alkylation.....	19
I.2.3. La carboxyméthylation	20
I.2.4. L'acétylation.....	24
I.2.5. L'oxydation	26
I.2.6. L'amidation.....	32

I.2.7. La phosphorylation.....	34
CHAPITRE II:.....	37
PARTIE EXPÉRIMENTALE.	
II.1. Produits utilisés.....	38
II.2. Méthodes opératoires suivies.....	38
II.2.1. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par H ₂ O ₂	38
II.2.2. Préparation des films de chitosane/CMC et/ou chitosane/CMC oxydée.....	39
II.2.3. Amidation de la CMC par le chitosane en présence de NHS et de DCC.....	40
II.3. Identification et caractérisation.....	40
II.3.1. Dosages chimiques	40
II.3.1.1. Détermination de la teneur en aldéhyde.....	40
II.3.1.2. Détermination de la teneur en carboxyle.....	41
II.3.1.3. Détermination des amino-groupes libres	41
II.3.1.4. Titrations potentiométrique et conductométrique.....	42
II.3.2. Etudes structurales	42
II.3.2.1. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)	42
II.3.2.2. Spectrophotométrie UV-Vis.....	42
II.3.2.3. Radiocristallographie par diffraction des Rayons X.....	42
II.3.3. Analyse thermogravimétrique (ATG)	43
II.3.4. Test de gonflement.....	43
II.3.5. Etude morphologique par microscopie électronique à balayage (MEB).....	44
II.4. Etudes biologiques.....	44
II.4.1. Activité anti-oxydante.....	44
II.4.1.1. Activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH	44
II.4.1.2. Pouvoir réducteur	44
II.4.2. Biocompatibilité avec le sang humain.....	45
II.4.3. Activité anti-inflammatoire.....	45
II.4.4. Activité antibactérienne.....	46
CHAPITRE III:.....	47
RÉSULTATS ET DISCUSSION.	
III.1. Dosage chimique.....	48
III.1.1. Oxydation de la CMC par H ₂ O ₂ /CuSO ₄	48

III.1.1.1. Détermination de la teneur des groupements aldéhydes et carboxyles....	48
A. Effet de la concentration du catalyseur $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	48
B. Effet de la concentration de l'agent oxydant H_2O_2	49
C. Effet du temps	51
D. Effet de la température.....	51
E. Effet du pH.....	52
III.1.2. Détermination des amino-groupes libres.....	53
III.1.3. Titrations potentiométrique et conductométrique.....	54
• Chitosane.....	54
• CS/CMC1.....	55
• CS/CMC2.....	56
• CS/OCMC.....	57
• CS/CMC _{NHS/DCC}	57
III.2. Etudes structurales.....	58
III.2.1. Spectroscopie IR-TF	58
III.2.1.1. Spectroscopie IR-TF de la CMC, la CMC oxydée par H_2O_2 et la CMC oxydée par $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$	58
A. Effet de la concentration de l'agent oxydant (H_2O_2).....	60
B. Effet du temps.....	63
C. Effet de la température.....	64
III.2.1.2. Spectroscopie IR-TF du CS/CMC.....	65
• CS/CMC1.....	66
• CS/CMC2.....	67
III.2.1.3. Spectroscopie IR-TF du CS/OCMC.....	70
III.2.1.4. Spectroscopie IR-TF du CS/CMC _{NHS/DCC}	72
III.2.2. Spectroscopie UV-Vis.....	74
A. Effet de la concentration du CuSO_4	74
B. Effet de la concentration du peroxyde d'hydrogène.....	75
C. Effet de la température.....	75
III.2.3. Diffraction des rayons X(DRX).....	77
• CMC et CMC oxydée par H_2O_2	77
• Chitosane.....	79
• CS/CMC, chitosane/ CMC oxydée et chitosane/CMC _{NHS/DCC}	79

III.3. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	80
• CMC et CMC oxydée par H ₂ O ₂	81
• CS/CMC1 et CS/OCMC.....	82
III.4. Gonflement.....	83
III.5. Microscopie électronique à balayage.....	84
III.6. Etudes biologiques.....	84
III.6.1. Activité antioxydante	84
III.6.1.1. Activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH.....	85
III.6.1.2. Pouvoir réducteur	87
III.6.2. Biocompatibilité avec le sang humain.....	88
III.6.3. Activité anti-inflammatoire.....	89
III.6.4. Activité antibactérienne.....	90
Conclusion.....	92
Références bibliographiques.....	95
Annexes.....	115

LISTE DES ABRÉVIATIONS.

AH : Acide hyaluronique.

ATG : Analyses thermogravimétriques.

BMIMCl : Chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium.

CMC : carboxyméthylcellulose.

CS : Chitosane.

DCC : N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide.

DMF : *N,N*-Diméthylformamide.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH: 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DP : Degré de polymérisation.

DS : Degré de substitution.

EDC : Chlorhydrate du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide.

H₃PO₃ : Acide phosphorique.

IR-TF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

KIO₄ : Periodate de potassium.

KMnO₄ : Permanganate de potassium.

MCA : Acide monochloroacétique.

NaOCl : Hypochlorite de sodium.

NHS : N-hydroxysuccinimide.

OCMC: Carboxyméthylcellulose oxydée.

PBS : Buffer phosphate solution.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

TEMPO : Ion oxoammonium 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridine.

LISTE DES FIGURES.

Figure I.1.	Configurations des liaisons α -(1,4) et β -(1,4)-glucane.....	06
Figure I.2.	Structure moléculaire de l'alginate.	07
Figure I.3.	Motif répétitif de (a) λ -carraghénanes ($R = H$ ou SO_3^-), (b) τ carraghénanes ($R_1 = R_2 = SO_3^-$) et du k-carraghénane ($R = H$; $R_2 = SO_3^-$).	08
Figure I.4.	Structure chimique de l'unité de base de la gomme xanthane.....	09
Figure I.5.	Structure chimique du pullulane.	10
Figure I.6.	Structure chimique de chitosane.	11
Figure I.7.	Structure chimique de l'acide hyaluronique.	12
Figure I.8.	Représentation schématique de l'amylose.	12
Figure I.9.	Représentation schématique de l'amylopectine.	13
Figure I.10.	Structure de la gomme de guar.	14
Figure I.11.	Structure chimique de la cellulose.	14
Figure I.12.	Structure moléculaire de la pectine.	15
Figure I.13.	Structure chimique de xylane.	16
Figure I.14.	Réaction de sulfatation de l'alginate de sodium.	18
Figure I.15.	Réaction de sulfatation du chitosane.	18
Figure I.16.	Etapas intervenant dans la sulfatation de la cellulose par l'acide sulfurique.	19
Figure I.17.	N-Alkylation de du chitosane.	19
Figure I.18.	Réaction d'alkylation de l'alginate en présence d'alcool.....	20
Figure I.19.	Carboxyméthylcellulose sodique par réaction de Williamson.....	21
Figure I.20.	O-Carboxyméthylation du chitosane en position C_6	22
Figure I.21.	N-carboxyméthylation du chitosane.	22
Figure I.22.	Carboxyméthylation de l'amidon.	23
Figure I.23.	Carboxyméthylation de la gomme de guar.....	23
Figure I.24.	Carboxyméthylation en C_2 du pullulane.....	24
Figure I.25.	Réaction d'acétylation de la cellulose.....	24
Figure I.26.	Réaction d'acétylation du xanthane par l'anhydride acétique dans un solvant ionique, le BMIMCl.	25
Figure I.27.	Oxydation de l'alginate de sodium par le $NaIO_4$	26
Figure I.28.	Oxydation de la pectine par l'ion permanganate.....	27
Figure I.29.	Mécanisme d'oxydation de la carboxyméthylcellulose par le cérium (IV).	28

Figure I.30.	Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaClO/NaClO ₂ dans l'eau à pH 3,5-6,8.....	29
Figure I.31.	Oxydation du chitosane par le chlorite de sodium.....	30
Figure II.32.	Oxydation de la cellulose par le peroxyde d'hydrogène.....	31
Figure II.33.	Oxydation de la pectine par l'hypochlorite de sodium.....	31
Figure II.34.	Réaction d'amidation de l'alginate.	32
Figure II.35.	Amidation de la pectine.	32
Figure II.36.	Amidation de CMC.	33
Figure II.37.	Réaction entre l'acide lactobionique et le chitosane.	34
Figure II.38.	Phosphorylation des hydroxyles par H ₃ PO ₃ et P ₄ O ₁₀	35
Figure II.39.	Phosphorylation de chitosane.	36
Figure III.1.	Conversion oxydative proposée de l'hydroxyle en groupement aldéhyde de la CMC.....	49
Figure III.2.	Deux voies possibles de conversion de la CMC après oxydation par le H ₂ O ₂	50
Figure III.3.	Titration de pH du CS, CS/CMC1, CS/OCMC, CS/CMC2, CS/CMC _{NHS/DCC}	54
Figure III.4.	Variations de la conductivité électrique et du pH du chitosane.....	55
Figure III.5.	Variations de la conductivité électrique et du pH de CS/CMC1.....	56
Figure III.6.	Variations de la conductivité électrique et du pH du CS/CMC2.....	56
Figure III.7.	Variations de la conductivité électrique et du pH du CS/OCMC.....	57
Figure III.8.	Variations de la conductivité électrique et du pH de CS/CMC _{NHS/DCC} ...	58
Figure III.9.	Structure des deux unités adjacentes monomériques du sel CMC.....	59
Figure III.10.	Spectres IR-TF de la CMC (a) , des CMC oxydées à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%) (b) , H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) (c)	61
Figure III.11.	Spectres IR-TF de la CMC (a) , des CMC oxydées à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) (b) , H ₂ O ₂ (27,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) (c) , H ₂ O ₂ (42,5%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) (d)	62
Figure III.12.	Spectres IR-TF des CMC oxydées à T=55°C, pH=5,5.par H ₂ O ₂ (14,2%) et CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) à : t =1h (a) , t =3h (b) , t =5h (c) , t =24 h (d)	63

Figure III.13.	Spectres IR des CMC oxydées au pH=5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0.5%) à T=30°C (a) , T=60°C (b) , T=75°C (c)	64
Figure III.14.	Spectres IR du Chitosane.....	66
Figure III.15.	Interaction physique entre le chitosane et la carboxyméthylcellulose....	67
Figure III.16.	Spectres IR-TF de la CMC (a) , du chitosane (b) , et du CS/CMC1 (c)	68
Figure III.17.	Spectres IR-TF du chitosane (a) , de la CMC (b) et du CS/CMC2 (c)	69
Figure III.18.	Réactions les plus probables entre la carboxyméthylcellulose. oxydée par H ₂ O ₂ /CuSO ₄ et le chitosane.....	70
Figure III.19.	Spectres IR-TF de l'OCMC (a) , du chitosane (b) , du CS/OCMC (c)	71
Figure III.20.	Spectres IR-TF de la CMC (a) , le chitosane (b) , CS/CMC _{NHS/DCC} (c) ...	72
Figure III.21.	Etapes de la réaction d'amidation de la CMC par le chitosane.....	73
Figure III.22.	Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par H ₂ O ₂ (14,2%) à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h.....	74
Figure III.23.	Spectres UV-Vis de la CMC et des CMC oxydées à T=55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O en fonction de la concentration de CuSO ₄ .5H ₂ O.....	75
Figure III.24.	Spectres UV-Vis de CMC et des CMC oxydées à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h. par H ₂ O ₂ /CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) en fonction de la concentration de peroxyde d'hydrogène.....	76
Figure III.25.	Spectres UV-Vis de la CMC et des CMC oxydées au pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O(0,5%) selon la température.....	76
Figure III.26.	Représentation schématique d'un fragment de la Croscarmellose sodium.....	77
Figure III.27.	Diffractogrammes de la CMC et la CMC oxydée par H ₂ O ₂ (14,2%) à T =55°C, pH=5,5 et t=3 h.	78
Figure III.28.	Diffractogrammes de la CMC et des CMC oxydées à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h par le H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O en fonction de la concentration de CuSO ₄ .5H ₂ O.....	79
Figure III.29.	Diffractogrammes des différents matériaux préparés.....	80
Figure III.30.	Thermogrammes TG de la CMC et la CMC oxydée par le H ₂ O ₂ (14,2%) à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h.....	81

Figure III.31.	Thermogrammes TG de CMC et des CMC oxydée à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O en fonction de la concentration de CuSO ₄ .5H ₂ O.....	82
Figure III.32.	Thermogrammes TG de CS, du CS/CMC1 et du CS/OCMC.....	83
Figure III.33.	MEB des films de CS/CMC1 (a) et de CS/OCMC (b)	84
Figure III.34.	Structures du radical libre, le 2,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyle, et de sa forme réduite.....	85
Figure III.35.	IC ₅₀ (mg/ml) des matériaux étudiés et celle du BHT.....	86
Figure III.36.	Absorbances des composés testés à λ _{max} = 700 nm en fonction de la concentration (mg/ml).....	88
Figure III.37.	Essais de compatibilité avec le sang avant et après centrifugation : control négatif (a) , control positif (b) , la CMC (c)	89
Figure A.1.	Teneur en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à T=55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/ CuSO ₄ .5H ₂ O en fonction de la concentration de CuSO ₄ .5H ₂ O.....	120
Figure A.2.	Teneur en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydée à T=55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ /CuSO ₄ . 5H ₂ O (0,5%) en fonction de la concentration de H ₂ O ₂	121
Figure A.3.	Teneur en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à T =55°C, pH= 5,5 par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) en fonction du temps.	121
Figure A.4.	Teneur en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées au pH=5,5 et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) en fonction de la température.....	122
Figure A.5.	Teneur en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à T= 55°C et t=3 h par H ₂ O ₂ (14,2%) /CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) en fonction du pH.....	122
Figure A.6.	Spectres UV-VIS de la CMC et des CMC oxydées à T = 55°C et pH= 5,5 par H ₂ O ₂ (14,2%)/CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) en fonction de temps.....	123
Figure A.7.	Diffractogrammes des CMC oxydées à T = 55°C et pH= 5,5 par H ₂ O ₂ /CuSO ₄ .5H ₂ O (0,5%) en fonction de concentration de H ₂ O ₂	123
Figure A.8.	Variation du taux de gonflement (G%) des différents films à T _{amb} en fonction du temps.....	124
Figure A.9.	Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés.	125

LISTE DES TABLEAUX.

Tableau II.1.	Nombres de moles, masses et pourcentages de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ utilisés.....	38
Tableau II.2.	Volumes, nombres de moles, masses et pourcentages du peroxyde d'hydrogène/CMC utilisés.....	39
Tableau III.1.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par H_2O_2 (14,2%) en fonction du ratio de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à $T = 45^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 5,5$ et $t = 3$ h.	49
Tableau III.2.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle après oxydation de la CMC par H_2O_2 en présence de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (à 0,5%) à $T = 45^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 5,5$ et $t = 3$ h.....	51
Tableau III.3.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%) en fonction de t , à $T = 45^\circ\text{C}$ et $\text{pH} = 5,5$	51
Tableau III.4.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%) en fonction de la température à $\text{pH} = 5,5$ et $t = 3$ h.....	52
Tableau III.5.	Teneurs en carbonyle et en carboxyle de la CMC oxydée par H_2O_2 (14,2%) et de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%) en fonction du pH et à $T = 45^\circ\text{C}$ et $t = 3$ h.....	53
Tableau III.6.	Quantités des groupes NH_2 et $-\text{COO}^-$ dans les différents matériaux déterminées par titration potentiométrique et conductimétrique	58
Tableau III.7.	Valeurs des G_{max} des différents matériaux à base de chitosane et carboxyméthylcellulose pendant 4h à T_{amp}	84
Tableau III.8.	Les valeurs des IC_{50} (mg/ml) des différents matériaux	86
Tableau III.9.	Potentiel hémolytique des matériaux testés.....	89
Tableau III.10.	Effets anti-inflammatoires <i>in-vitro</i> des matériaux étudiés et du diclofénac sodique par la dénaturation de l'albumine de l'œuf.....	90
Tableau III.11.	Diamètres d'inhibition des matériaux testés après $t = 24$ h.....	91

INTRODUCTION GÉNÉRALE.

Au cours de ces dernières années, l'utilisation des polymères naturels et de leurs dérivés s'accroît dans de très nombreux domaines dans un souci de développement des ressources renouvelables et des procédés de chimie verte.

Ils sont regroupés en trois grandes classes : les protéines, les élastomères hydrocarbonés et les polysaccharides (**Liu et al., 2015**).

Ces derniers sont les plus connus pour la préparation de matériaux (nanoparticules, films, membranes ...). Ils sont non toxiques, biodégradables, biocompatibles (**Venkatesan et al., 2016**) et le coût de leur production est généralement faible.

Les polysaccharides sont des polymères constitués d'un enchainement de molécules dont les unités structurales de base sont des monomères de sucres. Ils sont généralement d'origine naturelle, végétale ou animale. Les polysaccharides d'origine végétale sont les plus valorisés.

Les polysaccharides peuvent être chargés ou neutres. L'existence de charges leur confère des propriétés physico-chimiques remarquables qui donnent lieu à de nombreuses applications dans les domaines de l'agro-alimentaire, de la médecine, de la pharmacie et des cosmétiques. Une large gamme de polysaccharides a déjà trouvé des applications dans la santé humaine, cas du chitosane, de la cellulose, des alginates, du dextrane, de l'amidon, de l'acide hyaluronique, de l'héparine, du κ -carraghénane, des pectines et de la gomme de guar (**Persinet et al., 2011**).

L'étude engagée dans le cadre de la réalisation de cette thèse de Doctorat repose essentiellement sur la modification chimique de la carboxyméthylcellulose sodique, la CMC, qui est un sel de sodium partiel d'un éther carboxyméthyle de cellulose.

La CMC est une poudre granuleuse ou fibreuse, blanche ou légèrement jaunâtre ou grisâtre, faiblement hygroscopique, inodore et insipide. Elle est tout compte fait le produit de la réaction d'un polysaccharide, la cellulose, partiellement O-alkylé en position 6 par un groupe acétate de sodium qui provient du dérivé halogéné correspondant.

Au début, nous nous sommes consacrés à l'oxydation de la carboxyméthylcellulose. L'agent d'oxydation est le peroxyde d'hydrogène. Différents paramètres sont investigués parmi lesquels nous avons mis en jeu l'intervention de l'effet catalytique du cuivre. Nous avons à cet effet utilisé le sulfate de cuivre. De disparates conversions des groupements hydroxyles en aldéhydes puis dans certains cas suivies de la transformation de ces aldéhydes nouvellement formés en groupements carboxyles qui sont aussi obtenus

directement *via* un enchainement de réactions à partir des hydroxyles portés par la molécule mère. Toutes ces fonctions organiques (alcools, carbonyles, carboxyles) sont quantifiées par des méthodes de dosages spécifiques et établies dans une bibliographie spécialisée dans le domaine traité.

Ensuite, suite à cette première étude, nous avons voulu rechercher et comprendre la potentialité d'interaction du chitosane avec ces CMC oxydées obtenues.

Nous avons, par ailleurs, pris aussi la CMC non modifiée et nous l'avons additionnée au chitosane. Là, nous avons ciblé l'obtention d'un réseau chimique entre la CMC et le chitosane suite à la formation d'amides entre les deux macromolécules. Réactions entre les amines primaires du chitosane et l'acide carboxylique porté par la CMC. Pour ce faire, deux intermédiaires chimiques, le NHS et le DCC, sont utilisés.

En revanche, il nous semble judicieux d'évoquer l'importance du choix du chitosane. C'est un polysaccharide dont l'intérêt est très attractif dans différents domaines, aussi bien en chimie qu'en biologie. Sa structure chimique est très intéressante. Il est porteur de groupements amines primaires réactifs avec les groupements électrophiles et les entités chargées négativement.

En outre et en plus des quantifications des groupements carbonyles et carboxyles, des caractérisations physico-chimiques par IR-TF et DRX, mécaniques par le test de gonflement, thermiques par ATG et morphologiques par MEB, une biologie assez diversifiée est mise au point. Nous avons élucidé le comportement de tous nos matériaux à l'égard du sang humain en se servant des tests d'hémocompatibilité. Nous avons recherché aussi leurs actions antimicrobiennes et notamment l'activité antibactérienne. L'activité anti-inflammatoire est mise au point en présence de l'albumine issu des œufs de poule. Les pouvoirs antioxydants par deux méthodes, celle du DPPH et du pouvoir réducteur sont abordées en détail.

Toutes ces études ainsi faites permettent ultérieurement de mieux situer le domaine d'application et d'utilisation de nos matériaux.

Notre manuscrit est alors conçu de la manière suivante :

- Une recherche bibliographique sur les polysaccharides est donnée au premier chapitre. Nous y trouvons aussi un éventail de réactions chimiques faites jusqu'à ce jour sur les polysaccharides et qui permettent de mieux comprendre leur réactivité et leur comportement selon les conditions opératoires et les réactifs utilisées.

- Les matériels utilisés et les méthodes suivies pour la réalisation expérimentale de notre thèse sont illustrés dans le second chapitre.
- Au troisième et dernier chapitre, nous avons donné nos résultats obtenus accompagnés d'interprétations qui sont le plus souvent argumentées par des références bibliographiques diverses.

CHAPITRE I :

REVUE GÉNÉRALE SUR LES POLYSACCHARIDES
ET
LEURS PRINCIPALES MODIFICATIONS CHIMIQUES.

Les polymères naturels sont aussi appelés biopolymères. Ils sont obtenus à partir de la biomasse, ressource renouvelable, de plantes, d'algues, de bactéries, d'animaux, de végétaux et/ou des champignons.

Ils sont regroupés en trois familles principales, les polysaccharides (amidon, cellulose, pectine, ...), les protéines (collagène, gélatine, ...) et la lignine.

Nous nous sommes particulièrement intéressés à mieux comprendre la notion des polysaccharides, tant en chimie qu'en biologie ainsi que leurs origines car ils représentent nos matrices polymériques étudiées dans le cadre de la réalisation de cette thèse de Doctorat.

I.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides dénommés aussi *polyosides* ou *glycanes* sont définis comme des polymères de haut poids moléculaire résultant d'une condensation d'un grand nombre d'oses liés entre eux par des liaisons glycosidiques. Ces liaisons ainsi formées peuvent avoir les configurations α ou β (Robyt, 1998).

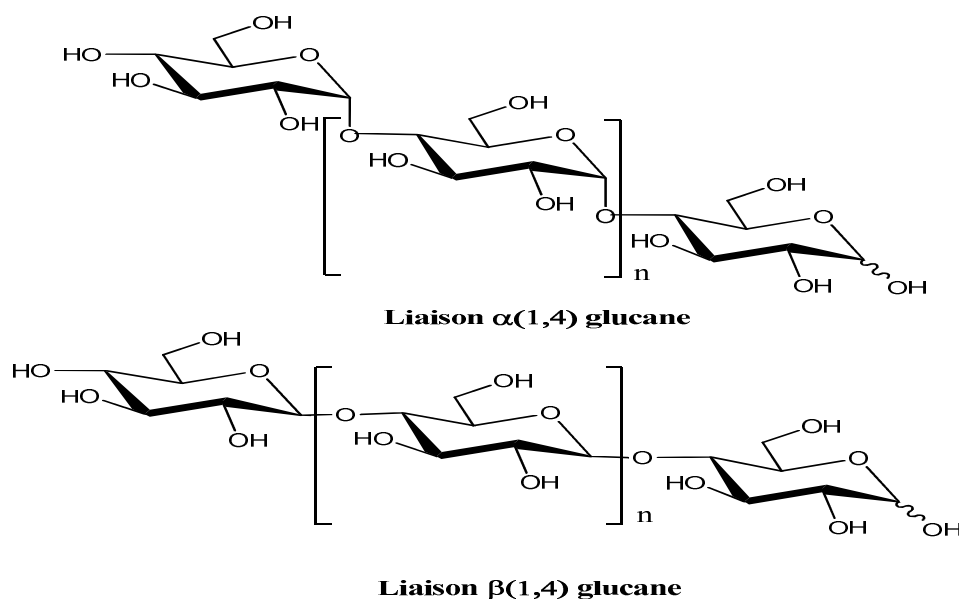


Figure I.1. Configurations des liaisons $\alpha(1,4)$ et $\beta(1,4)$ -glucane (Robyt, 1998).

Il existe dans la nature de nombreuses variétés de polysaccharides répertoriées auquel l'intérêt porté est proportionnel aux propriétés ou aux applications potentielles.

Les polysaccharides peuvent être classés sur la base de leur structure chimique, leur composition chimique, leur solubilité, leurs sources et leurs applications.

Suivant la composition chimique, les polysaccharides sont classés en deux types :

- Les *homopolysaccharides* ou les *homoglycane*s sont constitués d'un seul type de monosaccharide. Par exemple, la cellulose et le glycogène sont composés de glucose.
- Les *hétéropolysaccharides* ou les *hétéroglycane*s sont formés de plus d'un type de monosaccharides, tel que l'héparine constitué d'acide α -L-idopyranosyluronic 2-sulfate et 2-désoxy-2-sulfoamino- α -D-glucopyranose 6-sulfate.

Les polysaccharides peuvent également être classés selon la nature des molécules liées au glycane comme des *protéoglycane*s, des *glycoprotéine*s et des *glycolipide*s.

En se basant sur leurs origines, les polysaccharides peuvent être d'origine végétale, c'est le cas de l'amidon, de la cellulose, des pectines et des gommes. Ils peuvent également être issus des algues comme le alginate, le carraghénane, l'agar ou le fucane, ou encore être d'origine animale (héparine, chitosane, acide hyaluronique), ou microbienne (dextrane, xanthane).

I.1.1. L'alginate de sodium

Les alginates sont des polysaccharides anioniques extraits à partir des algues marines (algues brunes). Elles se composent de copolymères non ramifiés contenant des structures par bloc «**M**» de α -D-acide mannuronique et bloc «**G**» de β -L-acide guluronique. Les liaisons entre les différents monomères sont en position (1 $\rightarrow$ 4). Les résidus se trouvent dans divers arrangements et proportions (**Figure I.2**) (**Lee et Mooney, 2012**).

Ce type de polysaccharide existe sous forme de sels solubles en présence de cation monovalent tel que le Na^+ , et de gels ionotropiques avec des cations di, tri ou polyvalents (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Al^{3+}).

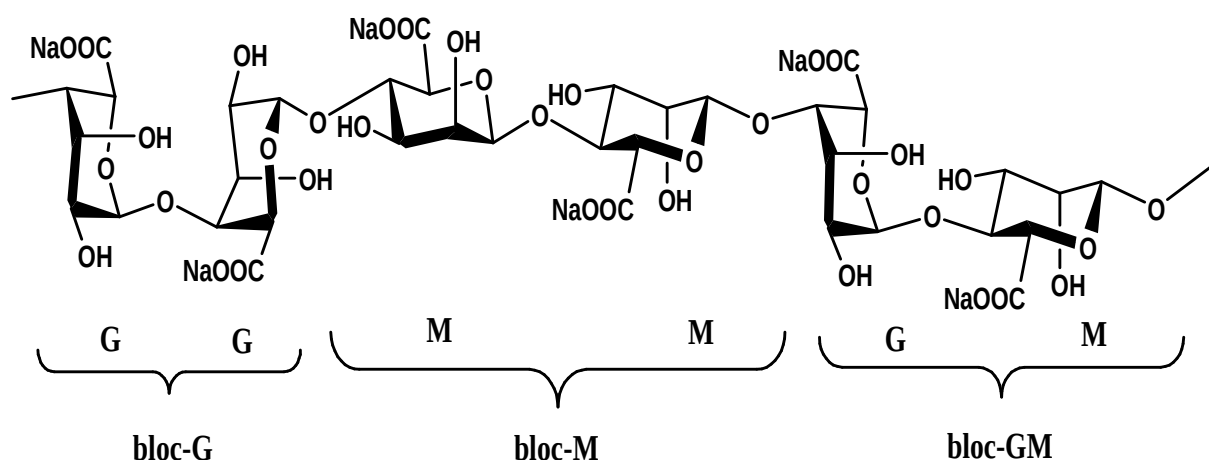


Figure I.2. Structure moléculaire de l'alginate (**Salisu et al., 2013**).

Durant ces dernières années, les alginates attirent l'attention de nombreux chercheurs pour leurs propriétés intéressantes, comme la biocompatibilité, la faible toxicité, la biodégradabilité et leur aptitude à former des hydrogels dans des conditions modérées, qui font d'eux des matériaux d'applications pharmaceutiques (**Dalmoro *et al.*, 2012**). Aussi, en raison de ses propriétés de gélification et stabilisation, il est utilisé en ingénierie tissulaire pour la régénération du cartilage (**Lee et Mooney, 2012**). Les hydrogels d'alginate sont connus pour leur efficacité dans la cicatrisation des plaies et la libération médicamenteuse (**Lee et Mooney, 2012**).

I.1.2. La carraghénane

Les carraghénanes sont des polysaccharides sulfatés qui composent la paroi cellulaire des algues rouges. Son nom dérive de celui du lichen Carageen (mousse d'Irlande), dont elles sont initialement extraites. Elles sont obtenues par traitement thermique en milieu alcalin, filtrées, précipitées dans l'alcool avant d'être récupérées sous forme de poudre (**Bourrier, 2006**). Leur squelette est composé de D-galactopyranoses reliés alternativement par des liaisons $\alpha(1-3)$ et $\beta(1-4)$ (**Figure I.3**). La structure des motifs disaccharidiques de répétition des carraghénanes varie par la position et le nombre des groupements sulfates.

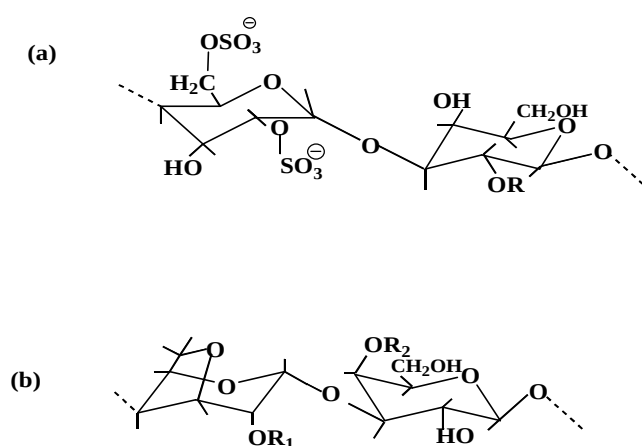


Figure I.3. Motif répétitif de (a) λ -carraghénanes ($R = H$ ou SO_3^-), (b) τ -carraghénanes ($R_1 = R_2 = SO_3^-$) et du κ -carraghénane ($R = H$, $R_2 = SO_3^-$) (**Lafargue, 2007**).

Les carraghénanes sont utilisées principalement pour leur capacité à former des gels réversibles en milieu aqueux, dans l'industrie alimentaire comme agents de texture. On les trouve également dans certaines applications cosmétiques ou pharmaceutiques pour stabiliser les émulsions ou les dispersions (**Lafargue, 2007**).

I.1.3. La gomme de xanthane

La gomme xanthane est un exo-polysaccharide hydrosoluble d'une espèce bactérienne GRAM négatif *Xanthomonas campestris* (Pseudomonaceae) produite industriellement par fermentation à partir d'une source de carbone (**Palaniraj et Jayaraman, 2011**). Cette gomme est un hétéropolysaccharide ayant une structure primaire constituée d'unités pentasaccharidiques répétées. La structure chimique de la chaîne principale est identique à celle de la cellulose (β -D-(1 $\rightarrow$ 4)-glucopyrannose) (**Figure I.4**). Les chaînes latérales trisaccharidiques contiennent une unité d'acide α -D-glucuronique entre deux unités D-mannose liées à la position 3 de tous les résidus de glucose de la chaîne principale. Près de la moitié des résidus D-mannose terminaux contient un résidu d'acide pyruvique lié aux positions 4 et 6, avec une distribution inconnue. Le D- mannose lié à la chaîne principale contient un groupe acétyle en position 6.

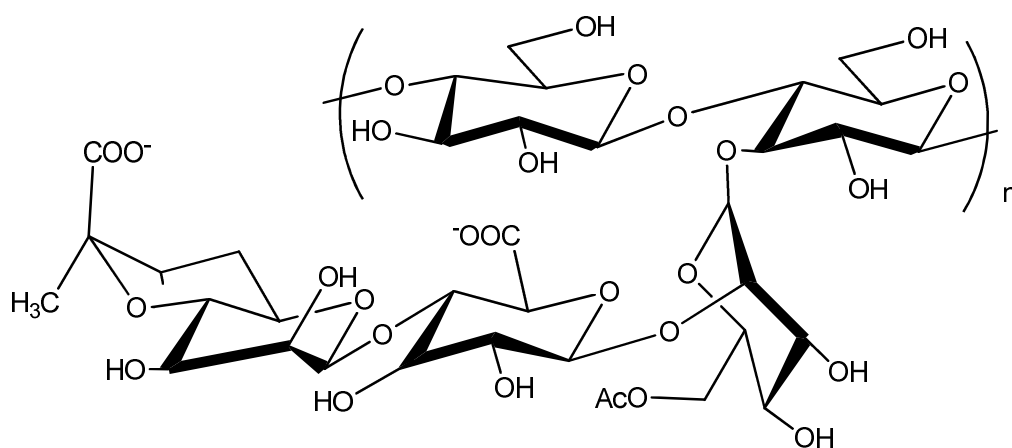


Figure I.4. Structure chimique de l'unité de base de la gomme xanthane
(**Endo et al., 2015**).

Ce polymère trouve ainsi des applications industrielles nombreuses et variées, notamment en agroalimentaire, en cosmétologie (à des concentrations de 0,7-1%) pour stabiliser des formules de shampooings ou de dentifrices et en pharmacie comme épaississant ou émulsifiant (concentrations de 0,1-0,5 %) (**Simon, 2001**). La gomme xanthane est utilisée comme une matrice hydrophile dans la libération contrôlée de drogues, comme la théophylline (**Parfitt, 1999 ; Raja et al., 2009**) et la céphalexine (**Kay et Alldred, 2003**).

I.1.4. Le pullulane

Le pullulane est un homopolysaccharide linéaire neutre dans lequel les unités de glucose sont polymérisées en des unités répétitives maltotriose (trois unités de α -1,4-molécules de glucose liées) (**Figure I.5**) (**Khachatourians, 1995**). La coexistence de liaisons glucosidiques $\alpha(1\rightarrow4)$ et $\alpha(1\rightarrow6)$ dans la structure de pullulane peut être souvent considérée comme un intermédiaire entre les structures d'amylose et de dextrane (**Singh et al., 2015**).

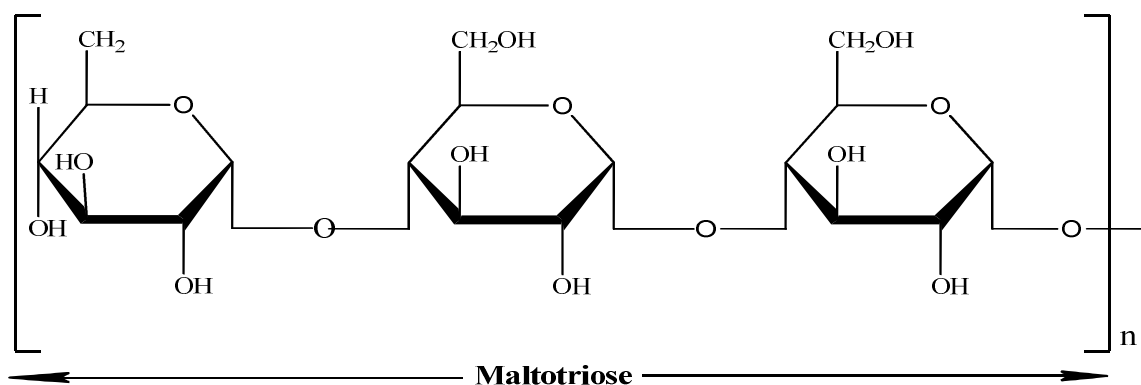


Figure I.5. Structure chimique du pullulane (**Khachatourians, 1995**).

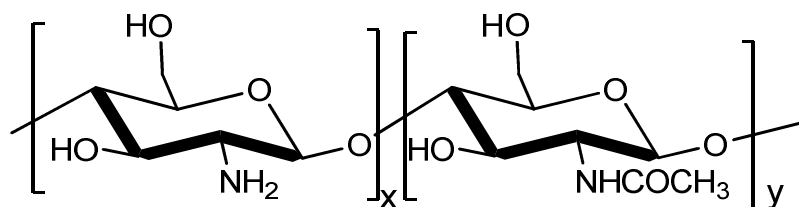
Les principaux avantages du pullulane sont ses caractères non ionique, hémocompatible, non toxique et biodégradable (**Fujii et al., 1986**). Il est actuellement largement utilisé dans l'industrie alimentaire comme additif alimentaire à faible teneur. Il possède la propriété barrière contre l'oxygène, une bonne rétention de l'humidité et aussi il inhibe la croissance des champignons (**Rekha et al., 2007**). Il représente également un intérêt pour ses applications biomédicales sous divers aspects, par exemple, dans la libération de médicaments et de gènes ciblés, dans l'ingénierie tissulaire, la guérison des plaies et même aussi dans l'imagerie diagnostique (**Rekha et al., 2007**).

I.1.5. Le chitosane

Le chitosane ou le chitosan est un polyside composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine lié en β -(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée) (**Figure I.6**).

Il est produit par désacétylation chimique (en milieu alcalin) ou enzymatique de la chitine. Il est le composant de l'exosquelette des arthropodes (crustacés) ou de l'endosquelette des céphalopodes (calmars...) ou encore de la paroi des champignons. C'est le deuxième

biopolymère naturel le plus abondant après la cellulose (**Shahidi et al., 1999**). Cette matière première est déminéralisée par traitement à l'acide chlorhydrique, puis déprotéinée en présence de la soude ou de la potasse ; et enfin, décolorée grâce à un agent oxydant (**Shahidi et al., 1991**).



Chitosane

Figure I.6. Structure chimique de chitosane (**Matute et al., 2013**).

Le chitosane a un certain nombre d'utilisations commerciales et biomédicales possibles. Il peut être utilisé en agriculture pour le traitement des semences et biopesticide, en aidant les plantes à lutter contre les infections fongiques. En vinification, il peut être utilisé comme agent de collage, aidant également à empêcher leur détérioration. Dans l'industrie, il peut être utilisé dans un revêtement de peinture en polyuréthane. En médecine, il se trouve dans les bandages pour réduire le saignement et il est aussi un agent antibactérien ; le chitosane a l'exceptionnelle particularité d'être chargé positivement (en milieu acide). Ce qui lui permet de réagir avec tous les composés biologiques chargés négativement (membranes des muqueuses, parois des bactéries, lipides...) et de les fixer solidement par liaison ionique, cette particularité lui confère de très nombreuses propriétés (bio-adhésion, agent filmogène...)((**Kumar, 2000**).

I.1.6. L'acide hyaluronique ou l'hyaluronate

L'acide hyaluronique (AH) est un polysaccharide linéaire composé d'un enchaînement d'unités disaccharides composées d'acide glucuronique et de N-acétyl-glucosamine reliées par une liaison $\alpha(1-4)$ (**Figure I.7**). C'est l'un des principaux composants de la matrice extracellulaire et du liquide synovial des articulations. L'immuno-neutralité de cet acide fait de lui un excellent matériau de construction des biomatériaux employés dans la médecine des tissus en raison de ses propriétés physico-chimiques et des interactions spécifiques avec les cellules et la matrice extracellulaire et dans les systèmes de libération des médicaments (**Onesippe, 2005**).

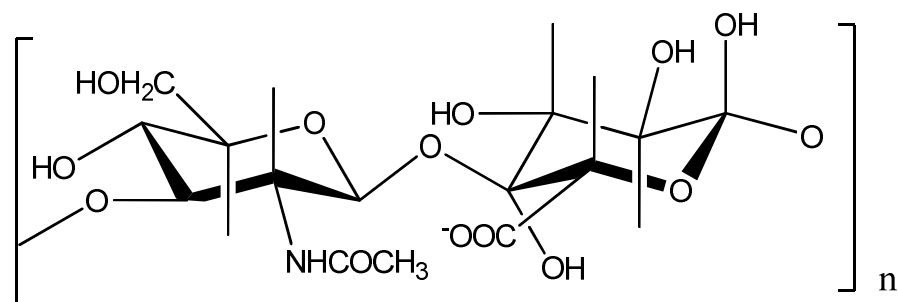


Figure I.7. Structure chimique de l'acide hyaluronique (Onesippe, 2005).

I.1.7. L'amidon

L'amidon est la principale réserve glucidique des végétaux. C'est l'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il peut présenter jusqu'à 30 ou 60 % du poids sec d'un tissu végétal. Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répandu dans certaines cellules végétales.

L'hydrolyse enzymatique de l'amidon par l'amylase conduit à la formation du maltose. L'amidon est donc un polymère d' α -glucose. Les unités répétitives sont liées selon les positions respectives 1 $\rightarrow$ 4.

L'étude des propriétés de l'amidon ont permis de mettre en évidence deux constituants : L'amylose et l'amylopectine (Berrada, 2009).

I.1.7.1. L'amylose

L'amylose est formée de chaînes de 250 à 600 résidus d' α -glucose associés par des liaisons osidiques 1 $\rightarrow$ 4. Cette chaîne possède une structure spatiale hélicoïdale (Figure I.8).

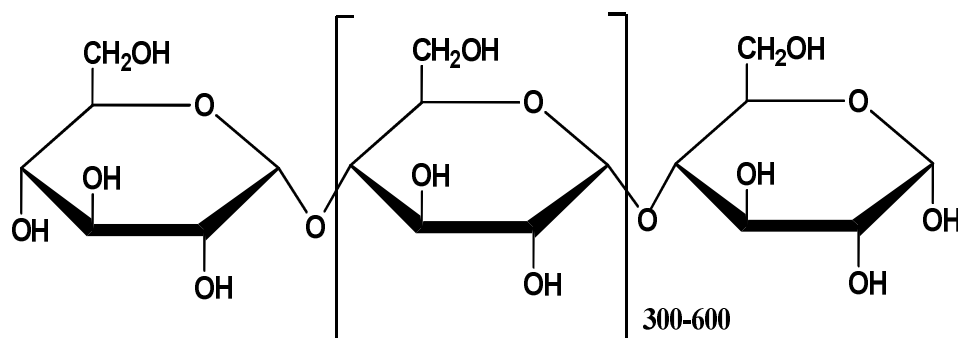


Figure I.8. Représentation schématique de l'amylose (Berrada, 2009).

I.1.7.2. L'amylopectine

L'amylopectine présente une structure ramifiée comportant environ 1000 à 2500 résidus de glucose groupés en chaînes de 20 à 25 résidus d' α -glucose reliés par des liaisons 1 $\rightarrow$ 4. Les chaînes sont unies les unes aux autres par des liaisons 1 $\rightarrow$ 6 (**Figure I.9**). La spiralisation des chaînes fournit à la macromolécule un aspect général buissonnant.

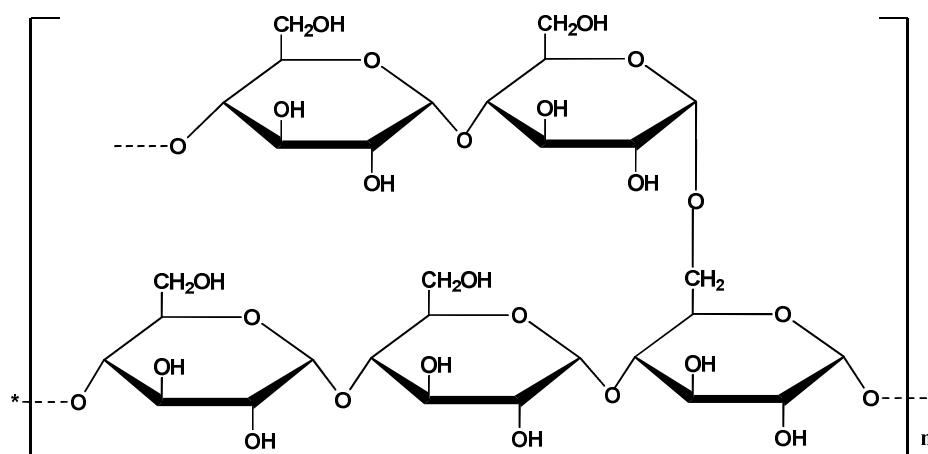


Figure I.9. Représentation schématique de l'amylopectine (**Berrada, 2009**).

Le grain d'amidon est formé par le mélange selon un ordre défini d'amylose et d'amylopectine auxquels s'ajoutent des traces de lipides, de phosphates, d'ions calcium et de potassium. Si l'amylopectine domine toujours (70 à 80 %), les proportions sont variables selon les espèces et il serait plus correct de parler des amidons plutôt que de l'amidon (**Berrada, 2009**). L'amidon est un excellent matériau pour des usages industriels en raison de sa non-toxicité et sa biodégradabilité (**Chi et al., 2008**).

I.1.8. La gomme de guar

La gomme de guar est composée principalement de galactomannane, une fibre végétale soluble et acalorique (**Dodi et al., 2011**).

Le galactomannane est un polymère linéaire composé d'une chaîne de monomères de mannose ((1,4)- β -D-mannopyranose) auxquelles sont ramifiées par un pont 1-6 une unité de galactose (**Figure I.10**).

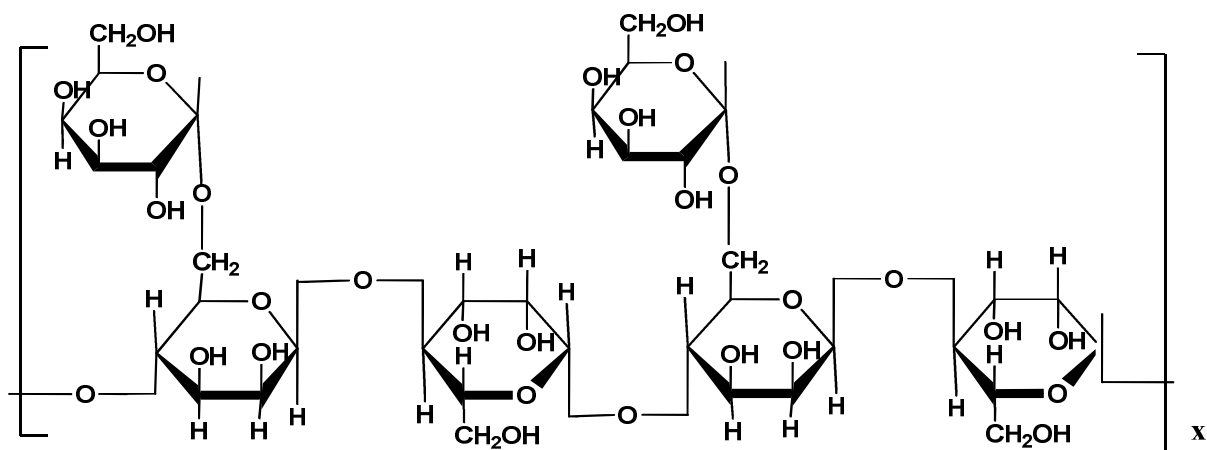


Figure I.10. Structure de la gomme de guar (Embuscado, 2009).

Elle est fréquemment utilisée, en particulier, dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique, comme épaississant, liant, émulsifiant et stabilisant, ainsi que comme adjuvant pour la libération contrôlée de médicaments. Elle est ajoutée à divers aliments tels que les céréales pour petit déjeuner, les produits laitiers, les sauces, les légumes préparés... (Embuscado, 2009).

I.1.9. La cellulose

La cellulose est le biopolymère naturel le plus abondant. C'est le constituant principal des différentes fibres naturelles comme le coton (Kamel *et al.*, 2008). C'est un homopolysaccharide à très longues chaînes, de masse molaire très élevée et de formule brute $(C_6(H_2O)_5)_n$ (Atalla *et al.*, 2010). Elle appartient à la famille des β -D-glucanes. Elle est constituée exclusivement d'unités β -D-glucose reliées entre elles par des liaisons de type $\beta(1-4)$, à chaque molécule de cellulose comportant trois groupes hydroxyles, à l'exception des extrémités terminales. L'unité répétitive composée de l'association de deux glucoses est appelée cellobiose (Figure I.11) (Atalla *et al.*, 2010). La cellulose est un hydrogel tridimensionnel hydrophile capable d'absorber et de créer des liaisons polaires avec les molécules d'eau par ses fonctions hydroxyles.

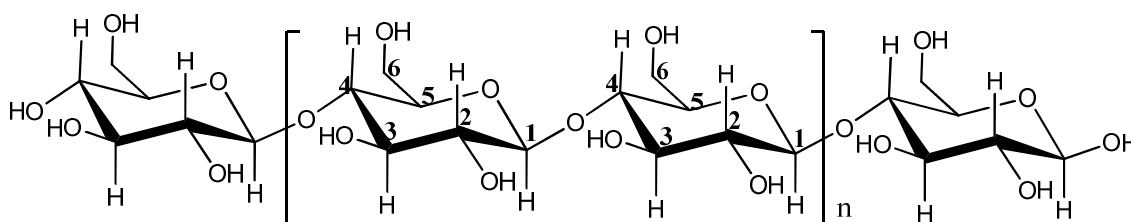


Figure I.11. Structure chimique de la cellulose (Khennaoui, 2009).

I.1.10. La pectine

Les pectines sont des substances d'origine végétale. Ce sont des polysaccharides complexes que l'on retrouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi primaire des plantes supérieures (**Ghuibet et al., 2007**). La pectine est généralement extraite à partir de sous-produits de fabrication de jus de citron et de pomme (**Gharsallaoui, 2008**). La structure chimique consiste en un enchainement linéaire de résidus de l'acide galacturonique liés en α (1-4) qui peuvent être intercalés par des molécules de rhamnoses. Des ramifications, principalement constituées par de courtes chaînes latérales de sucres neutres (galactanes, arabanes, xylanes...), sont rattachées à la chaîne principale (**Figure I.12**) (**Mkedder, 2013**). D'autres glucides sont présents dans les pectines, comme le β -D-galactose, le β -D-glucose, le β -L-arabinose, le β -D-xylose et le β -D-fucose (**Joly, 2003**).

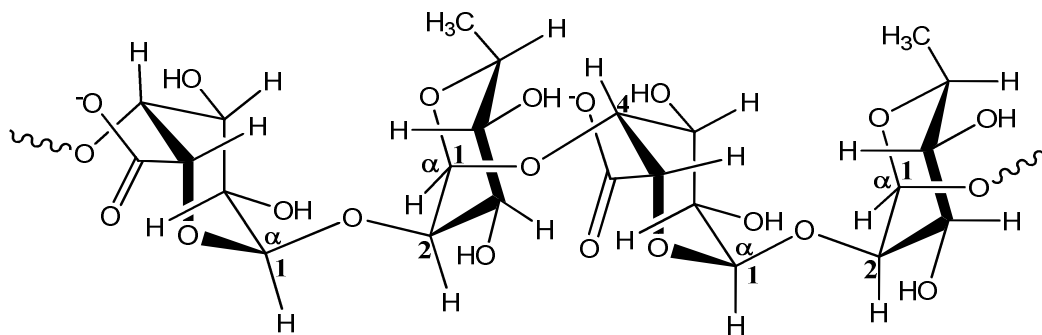


Figure I.12. Structure moléculaire de la pectine (**Fishman, 1986**).

En raison de leur capacité de s'associer par l'intermédiaire des ions calcium (Ca^{2+}), les pectines jouent un rôle capital dans l'architecture de la paroi où elles assurent sa rigidité, permettant l'adhésion cellulaire et participent au métabolisme cellulaire (**Mkedder, 2013**). Les hydrogels de pectine se trouvent dans les comprimés comme liant dans les formulations à libération contrôlée (**Sriamornsak, 2003**). La pectine s'est révélée aussi d'une action prometteuse dans les colites ulcéreuses, la maladie de crohn et du cancer du colon (**Srivastava et al., 2011**).

I.1.11. Le xylane

Les xylanes sont les polymères les plus abondants dans les végétaux et particulièrement dans les bois durs (**Gerois et al., 2000**). Ils représentent entre 20 à 30 % des parois cellulaires. Etant essentiellement des constituants de la paroi secondaire, ils sont associés à la lignine. La solubilité du xylane dépend non seulement de sa masse moléculaire mais aussi de la nature

des chaînes latérales. Généralement, ce substrat est plus soluble en milieu alcalin qu'en milieu neutre ou acide (**Mouranche et Costes, 1985**).

La structure de base des xylanes est un squelette linéaire d'unités de xylose reliées entre elles par des liaisons β -(1-4) et le degré de polymérisation se situe entre 100 à 200 unités de xylose (**Beguin et Aubert, 1992**). Ces liaisons portent la plupart du temps des ramifications monomériques de type D-xylose, L-arabinose, D-mannose, D-glucose, D-galactose et de l'acide glucuronique (**Figure I.13**).

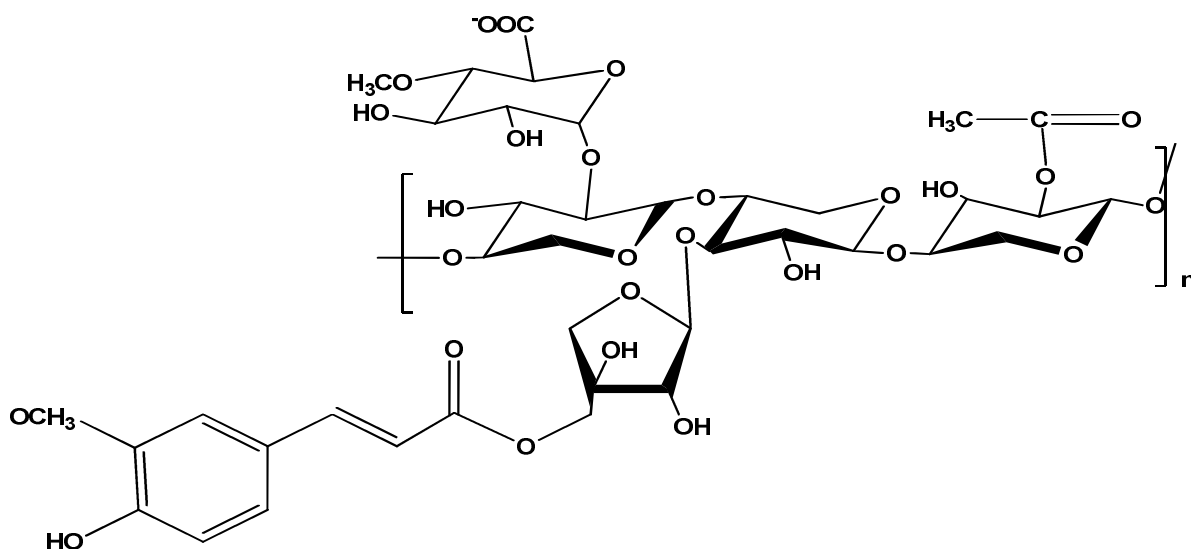


Figure I.13. Structure chimique de xylane (**Shallom et Shoham, 2003**).

Le xylane est utilisé dans les produits biomédicaux (**Li et al., 2011**) et aussi comme adhésif, épaississant et additif dans les matières plastiques afin d'augmenter leur résistance à l'étirement et à la rupture ainsi que leur susceptibilité à la biodégradation (**Ünlü et al., 2009**).

I.2. Les Modifications chimiques des polysaccharides

Les modifications chimiques des polysaccharides permettent d'aboutir à de nouvelles structures chimiques dans l'objectif d'améliorer les propriétés physico-chimiques et renforcer la bio-activité. Elles font appel à des méthodes communes de synthèse chimique. La détermination des structures s'avèrent par contre le plus souvent perplexe et difficile à déterminer. Mais, des investigations de différents procédés ont été menées et établies par un grand nombre de chercheurs (**Ma et al., 2012 ; Zhang et al., 2013 ; Jiang et al., 2015**). Suite à cette complexité et à cette diversité des groupements fonctionnels existants sur l'ossature des polysaccharides, il concevable que ces précurseurs sont des plaques tournantes pouvant selon les conditions opératoires utilisées à aboutir à de nouvelles et originales fonctions (**Delattre,**

2005). Parmi les modifications chimiques les plus évoquées dans la littérature pour leur intérêt pratique et surtout dans le domaine du vivant, nous nous sommes intéressés à résumer les réactions suivantes : - la sulfatation ; - l'alkylation ; - la carboxyméthylation ; - l'acétylation ; - l'oxydation ; - l'amidation et - la phosphorylation.

I.2.1. La Sulfatation

Les polysaccharides sulfatés peuvent être préparés en greffant des groupements sulfates à leurs hydroxyles. **Mizumoto et al., (1988)** ont introduit pour la première fois des groupes sulfates aux monosaccharides et ont trouvé que les polysaccharides sulfatés ont un pouvoir inhibiteur des virus T-lymphotropiques. Et à partir de cela, la sulfatation devient une orientation importante vers les modifications structurales des polysaccharides. On note aussi que la sulfatation peut avoir lieu sur le groupement carboxyle et amine et induit une nette amélioration de l'activité antivirale (**Li et al., 2016**).

Pour un grand nombre de polysaccharides sulfatés, une dé-sulfatation entraîne une chute de l'activité biologique et plus précisément de l'activité antivirale (**Li et al., 2016**).

L'introduction des sulfates dans la structure du polysaccharide augmente la quantité de charges négatives qui, par conséquent, peuvent se lier à des entités positives provenant d'autres molécules ou macromolécules. C'est le cas de leur combinaison avec l'inhibiteur de protéase de coagulation, l'antithrombine, où il est activé et l'activité anticoagulante est produite (**Melo et al., 2004**). C'est le cas de l'alginate après sulfatation. Le dérivé obtenu montre une compatibilité élevée avec le sang et un pouvoir anticoagulant élevé intervenant, en particulier, dans la voie intrinsèque de la coagulation (**Ronghua et al., 2003**). Il présente une similitude structurale avec l'héparine (**Alban et al., 2002**) (une molécule constituée principalement d'oses et qui fait partie des matrices extracellulaires des tissus conjonctifs) qui a été largement répondue dans la thérapie d'anticoagulants pendant plus de 60 années.

Les sulfates d'alginate sont préparés à partir de l'alginate de sodium par une réaction avec l'acide chlorosulfonique, le ClSO_3H , dans le formamide (**Figure I.14**). En général, la sulfatation est réalisée dans des solvants usuels (**Yang et al., 2013**) comme le formamide, le DMF, le DMSO et la pyridine mais à partir de polysaccharides de faibles poids moléculaires (**Suwan et al., 2009**).

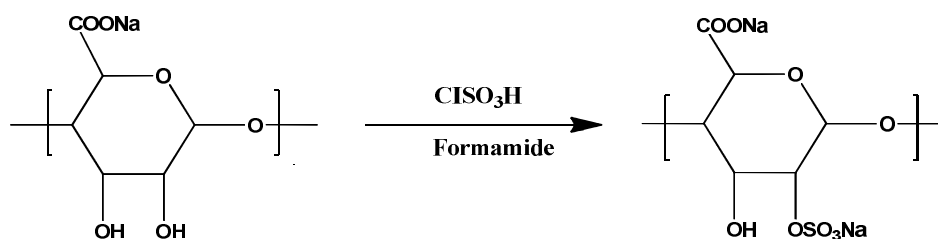


Figure I.14. Réaction de sulfatation de l'alginate de sodium (Yang *et al.*, 2011).

Les esters sulfatés de chitine et de chitosane sont préparés (Figure I.15) avec divers réactifs, par l'acide sulfurique concentré (Nagasawa *et al.*, 1971) ou le trioxyde de soufre (Hirano *et al.*, 1985). Après cette modification chimique, la capacité de former des liaisons hydrogène se trouve diminuer. La stabilité thermique du chitosane sulfaté est inférieure à celle du chitosane. Aussi, il a été décelé que la structure cristalline des polysaccharides est complètement perturbée (Zhang *et al.*, 2003). Parmi les intérêts majeurs de la chitine et du chitosane sulfatés, leurs applications en tant qu'analogues à l'héparine et aussi en tant que nouveaux biomatériaux (Jayakumar *et al.*, 2007).

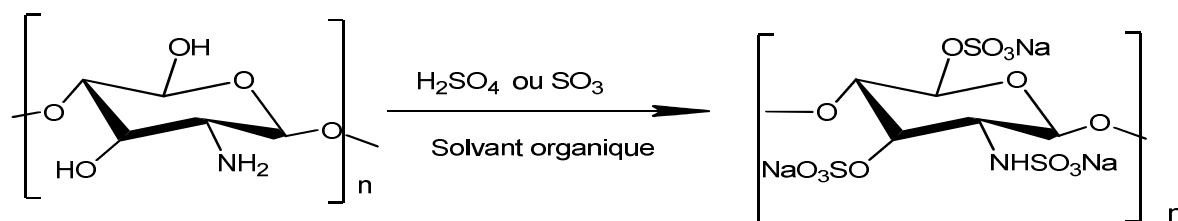


Figure I.15. : Réaction de sulfatation du chitosane (Chopin *et al.*, 2014).

La sulfatation de l' α -cellulose par l'acide sulfurique (34,2N) dans un milieu hétérogène (à 0°C, 60 min) conduit à un dérivé ayant un DS de ~0,392. Les étapes des réactions intervenant dans ce processus sont données ci-après (Figure I.16). Le produit obtenu est soluble dans l'eau à chaud et donne une solution claire dans les milieux aqueux (Bhatt *et al.*, 2007).

Pour ce qui est de la sulfatation du pullulane par le SO_3 dans des solvants tels que la pyridine et le DMF, différents DS (allant de 0,08 jusqu'à 1,45) sont obtenus et dépendent du temps et de la température de la réaction. La réactivité des groupements OH dans le système SO_3 /Pyridine dans l'ordre suivant $\text{C}_6 > \text{C}_3 > \text{C}_2 > \text{C}_4$ a été déterminée par spectroscopie RMN- ^{13}C (Mähner *et al.*, 2001).

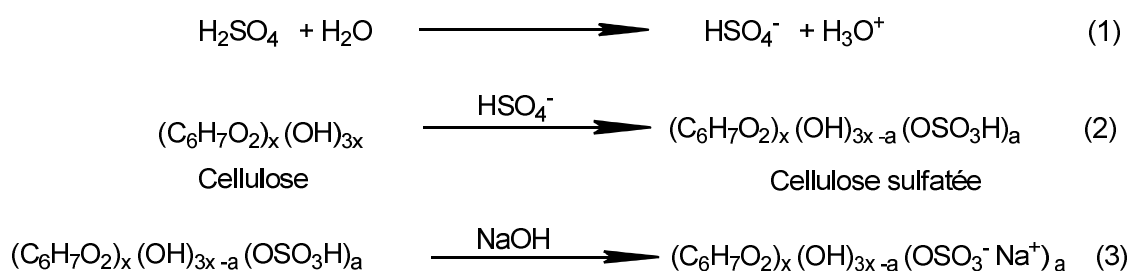


Figure I.16. Etapes intervenant dans la sulfatation de la cellulose par l'acide sulfurique (**Bhatt et al., 2007**).

I.2.2. L'alkylation

La modification par alkylation des polysaccharides concerne l'introduction d'alkyles dans les extrémités terminales des chaînes principales des macromolécules. Ce qui entraîne la réduction de la viscosité, une propriété propice à l'augmentation de la bio-activité (**Li et al., 2016**). Les alkylations sont, selon une bibliographie exhaustive, principalement appliquées sur le chitosane (**Sashiwa et al., 2004**) et la cellulose (**Petruš et al., 1995**). Les propriétés biologiques du chitosane N-alkylé se montrent d'un intérêt exceptionnel dans des applications spécifiques médicales et en tant qu'agent anti-bactérien (**Martins et al., 2014**).

La N-alkylation du chitosane peut être réalisée en deux étapes (**Figure I.17**). La première étape fait appel à la formation de la base de Schiff, réaction de condensation de l'amine avec un aldehyde ou une cétone provenant d'une autre molécule pour former une imine qui est ensuite réduite dans la seconde étape de cette modification en amine par des hydrures issus du borohydrure de sodium (NaBH_4) ou du cyanoborohydrure de sodium (NaBH_3CN) (**Aranaz et al., 2010**). Il est, par contre, peu répandu que la N-alkylation est réalisable directement par action des halogénures d'alkyles notamment par les iodures et les bromures d'alkyles (**Nudga, 1973 ; Liu et al., 2003**).

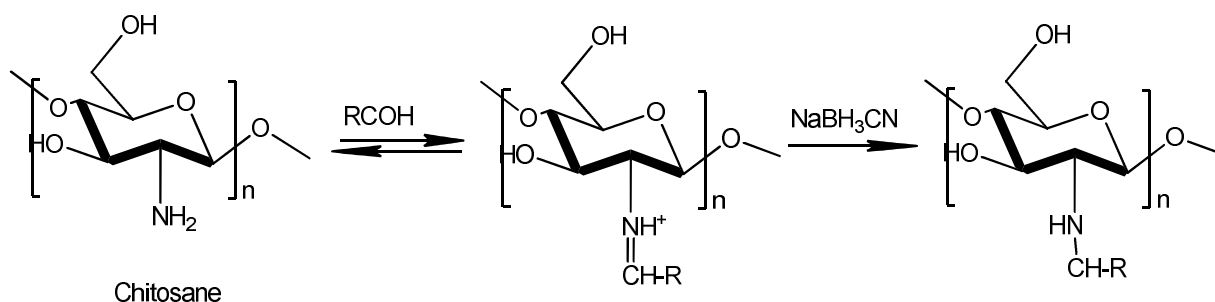


Figure I.17. N-Alkylation de du chitosane (**Philippova et Korchagina, 2012**).

Les conditions de la réaction d'alkylation telles que le temps de la réaction, température et concentration des réactifs, affectent le degré de désacétylation, le degré de substitution, la viscosité et le poids moléculaire du chitosane (**Chopin et al., 2014**). **Lin et al., (2007)** ont montré que l'alkylation dans le cas du pullulane donne des résultats opposés à ceux obtenus avec le chitosane dont l'alkylation de ce dernier le rend hydrosoluble alors que le pullulane alkylé par exemple par le bromure de n-butyle devient complètement insoluble. Aussi, pour rendre l'alginate non hydrosoluble, des réactions d'alkylation ont été menées avec succès (**Pelletier et al., 2001; Leonard et al., 2004**). Mais, cette O-alkylation est orientée sur le groupement carboxylate (**Figure I.18**) (**Chopin et al., 2014**). Ce n'est en fait qu'une réaction d'estérification qui est également obtenue par action d'alcools ayant différentes chaînes alkyles. Dans ce cas, des catalyseurs sont additionnés. Durant ces dernières années, les agents d'alkylation ou d'estérification de l'alginate les plus attractifs sont les dérivés du propylène oxyde (**Carre et al., 1991**).

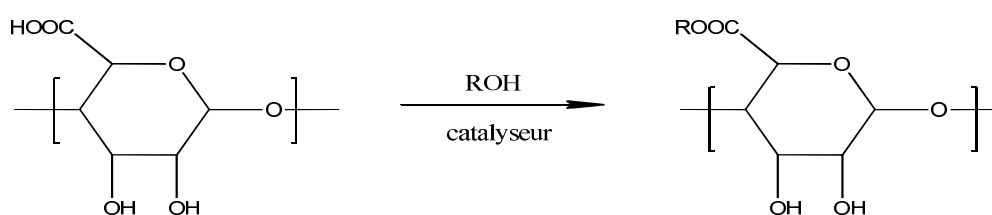


Figure I.18. Réaction d'alkylation de l'alginate en présence d'alcool (**Yang et al., 2011**).

Les alkylations de l'acide hyaluronique, de structure analogue à l'alginate par le groupement carboxyle, sont effectuées en présence d'halogénures (chlorure, bromure ou iodure) d'alkyles, de diazométhane et d'époxydes (**Schanté et al., 2011**). Ce qui augmente les propriétés hydrophobes de l'acide hyaluronique tout en conservant le caractère biodégradable et biocompatible du matériau (**Benedetti et al., 1993**).

I.2.3. La carboxymethylation

Plusieurs dérivés des polysaccharides ont été préparés par des réactions de carboxymethylation en utilisant comme des matières premières, la cellulose (**Zeller et al., 1991 ; Chen et al., 2009**), l'amidon (**Kooijman et al., 2003**), la chitine (**Kurita et al., 2001**), le scleroglucan (**de Nooy et al., 2000**) et le pullulane (**Picton et al., 1995**).

Les dérivés obtenus sont le plus souvent des polyélectrolytes pouvant être sollicités dans divers domaines d'application dans les industries cosmétique, pharmaceutique, alimentaire et chimique (Silva *et al.*, 2004).

Les procédés permettant la production des agents carboxyméthylés ne sont pas coûteux et sont faciles à réaliser. Tous les réactifs utilisés sont accessibles de point de vue prix et ne sont pas toxiques (Verraest *et al.*, 1995).

Takahashi *et al.*, (2014) ont trouvé que l'activité antioxydante des polysaccharides carboxyméthylés à partir de l'*Auriculaire auricularia* est approximativement deux fois plus élevée que celle des polysaccharides natifs.

La carboxyméthylation des polysaccharides est basée sur la synthèse de Williamson où le alkoxyde (polysaccharidique dans un milieu basique) réagit avec de l'acide monochloroacétique (MCA) et les groupes hydroxyles primaires ou secondaires sont substitués par des groupes carboxyméthylés (Ege, 1989).

Des solvants inertes comme l'alcool isopropylique ou l'alcool *t*-butylique sont utilisés. De cette façon, un meilleur degré de substitution est obtenu. Ce qui améliore la solubilité de la macromolécule dans l'eau (Reguant *et al.*, 1999).

Le dérivé le plus important de cette série est la carboxyméthylcellulose (CMC). Il est largement utilisé dans les industries, du papier, du textile, des détergeants, des papiers, comme épaississant dans l'alimentation et dans les formulations pharmaceutiques (Verraest *et al.*, 1995). Il est non toxique, biocompatible et biodégradable (Yang *et al.*, 2007).

La CMC est obtenue en milieu basique à partir de la cellulose (Figure I.19). Dans ces conditions les ponts hydrogène responsables de la cohésion des chaînes polymériques se rompent en commençant par les zones amorphes (Bousba, 2015). Le pKa de la molécule obtenue se situe entre 4,2 et 3,4. Les degrés de substitution (DS) sont de l'ordre de 0,4 à 1,4 et ceux de polymérisation (DP) vont de 20 à 100 (Keller, 1986).

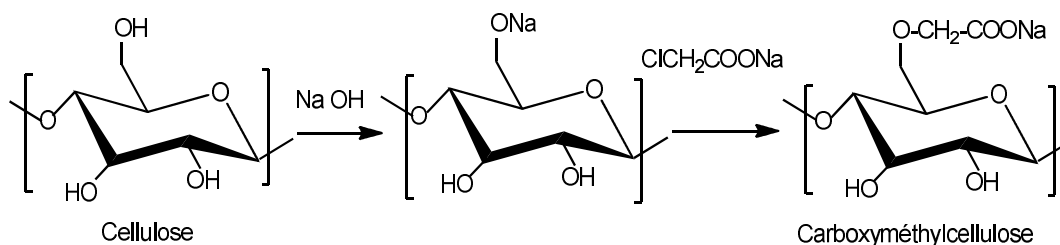


Figure I.19. Carboxyméthylcellulose sodique obtenue par la réaction de Williamson (Fontanille, 2002).

Le chitosane est O-carboxyméthylé en position C₃ et/ou C₆ (**Figure I.20**). Ce qui augmente considérablement sa solubilité dans les solutions neutres ou alcalines. Il a été trouvé que le O-carboxyméthylchitosane améliore la biocompatibilité des surfaces des films d'acide polylactique ainsi que l'adhésion cellulaire et leur prolifération par rapport au matériau non modifié (**Alves et Mano, 2008**).

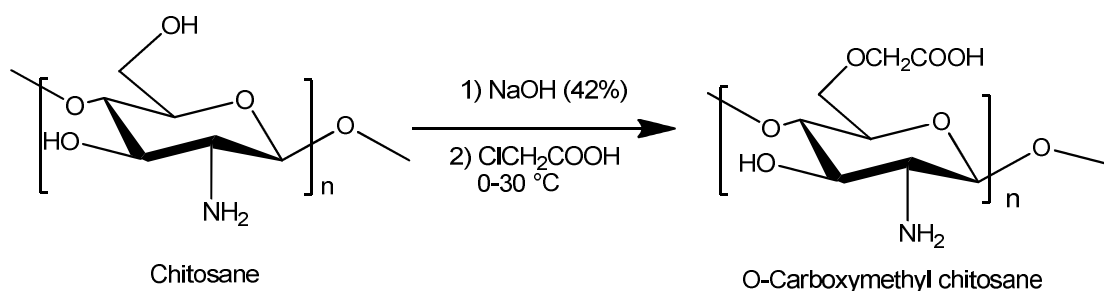


Figure I.20. O-Carboxyméthylation du chitosane en position C₆ (**Fan et al., 2012**).

Il y a aussi la N-carboxyméthylation du chitosane. Là, seuls les groupes amines du chitosane sont alkylés (**Figure I.21**). Cette transformation se fait avec l'acide glyoxylique en milieu acide formant ainsi la base de Schiff qui est convertie ensuite en N-carboxyméthylchitosane par réduction au cyanoborohydrure de sodium (NaCNBH₃) (**Kurita, 2001**).

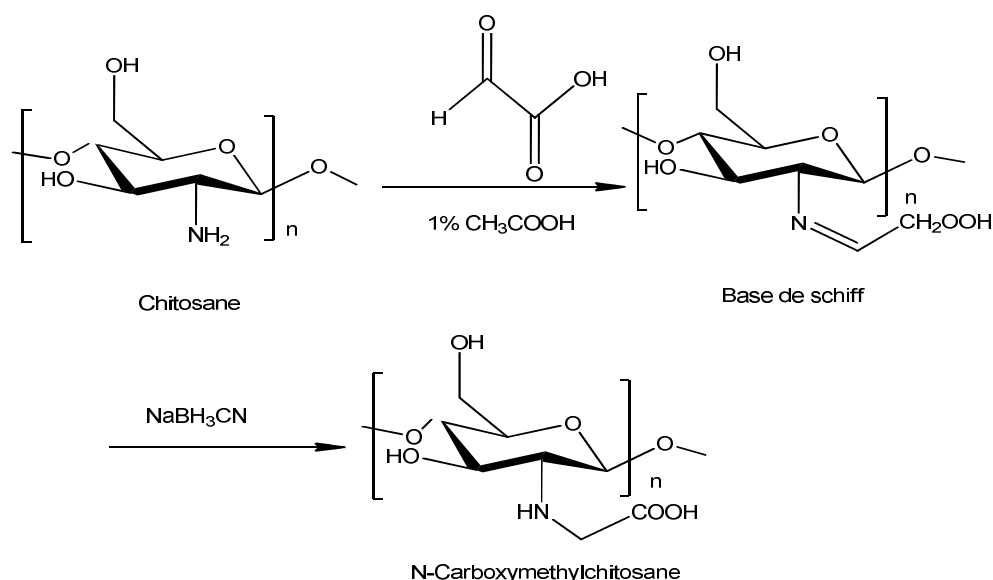


Figure I.21. N-carboxyméthylation du chitosane (**Kurita, 2001**).

Pour ce qui de l'amidon, le dérivé correspondant représente un des plus importants produits d'amidons modifiés. Il est largement utilisé dans les industries du textile, du pétrole,

du papier, alimentaire et pharmaceutique (**Zhang et Wu, 1992**). La réaction de carboxyméthylation implique deux étapes successives en accord avec l'éthérification de *Williamson* (**Figure I.22**). La carboxyméthylation en plus de la position C₆ peut également avoir lieu en C₂ et C₃.

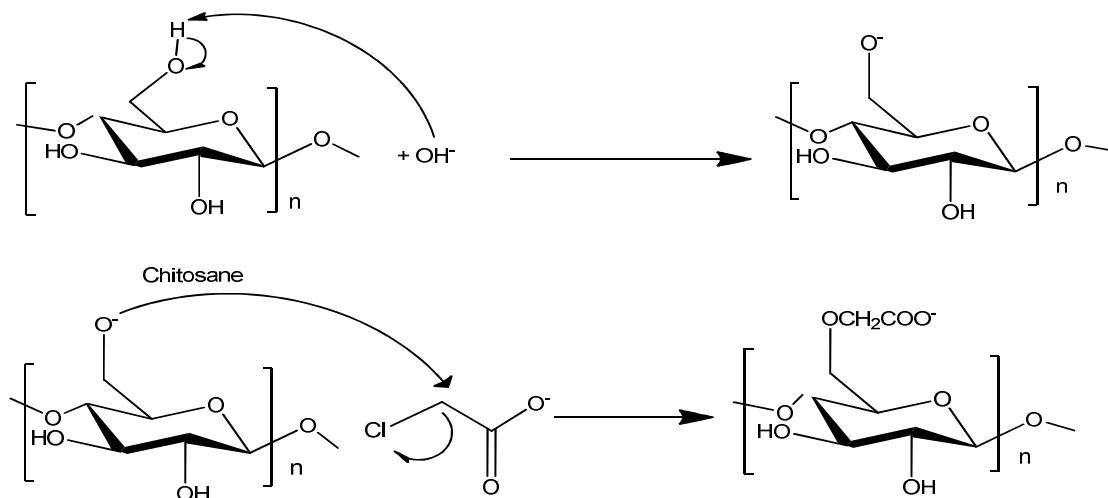


Figure I.22. Carboxyméthylation de l'amidon (**Barrios *et al.*, 2013**)

En outre, **Dodi *et al.*, (2011)**, après obtention du dérivé carboxyméthylé de la gomme de guar (**Figure I.23**), ont montré l'utilisation potentielle dans la libération orale des molécules hydrophiles de ce dernier.

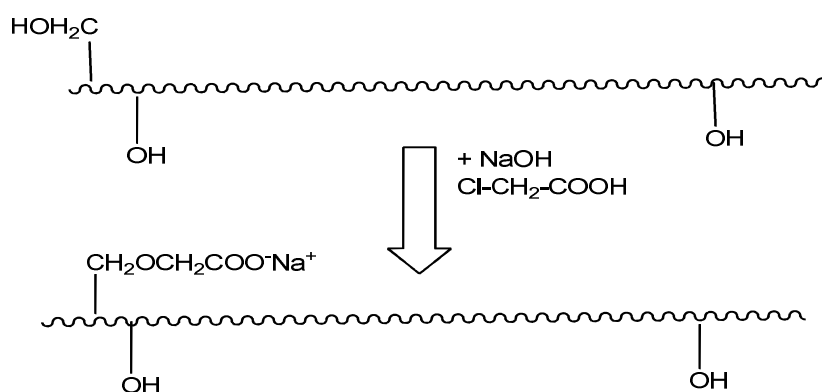


Figure I.23. Carboxyméthylation de la gomme de guar (**Dodi *et al.*, 2011**).

Pour ce qui du pullulane, son dérivé anionique le carboxyméthylpullulane (CMP) (**Figure I.24**) est fabriqué par réaction du pullulane dans l'alcool isopropylique par action chloroacetate de Na. Il ressort ici suite à l'étude par RMN à haute résolution que la réactivité

des hydroxyles du pullulane se trouve dans l'ordre suivant: $\text{OH}_2 > \text{OH}_4 > \text{OH}_6 > \text{OH}_3$ (Pereira, 2013).

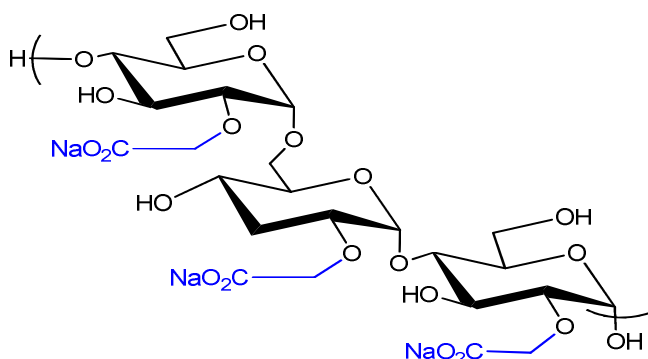


Figure I.24. Carboxyméthylation en C_2 du pullalane (Pereira, 2013).

I.2.4. L'acétylation

L'acétylation des polysaccharides est connue depuis plusieurs décennies (Edgar *et al.*, 2001) surtout celles de la cellulose (Wu *et al.*, 2004) et de l'amidon (Wolff *et al.*, 1951) qui se font en présence de l'acide acétique et l'anhydride acétique (Larock, 2001).

Le groupement acétyle entraîne des changements directionnels et horizontaux dans la structure du polysaccharide provoquant ainsi des altérations des arrangements spatiaux et des extensions des chaines du sucre, et qui aident par contre à augmenter la solubilité dans l'eau (Duand *et al.*, 2014) et les activités des polysaccharides cas de l'activité antioxydante (Zhang *et al.*, 2014) et l'activité immuno-modulation (Li *et al.*, 2016).

L'acétylation consiste, en général, en une attaque électrophile par le carbonyle de l'anhydride les groupes nucléophiles portés par le polysaccharide comme l'oxygène et l'azote. La O-acétylation des carbohydrates est largement utilisée non seulement pour la protection des groupes hydroxyles mais aussi pour la purification et l'élucidation structurale des produits naturels (Abbott *et al.*, 2005). L'acétylation de la cellulose par l'anhydride acétique est illustrée dans la figure suivante (Figure I.25) (El Seoud *et al.*, 2013).

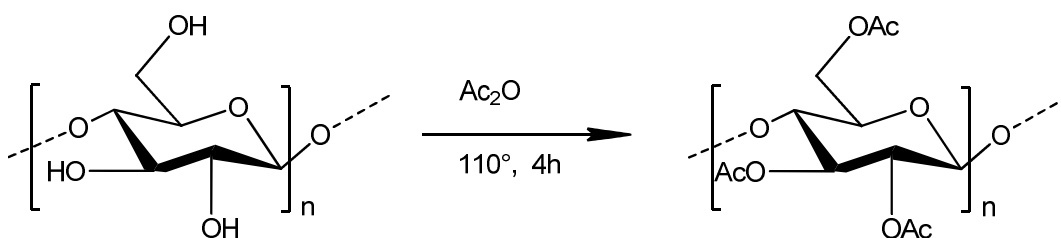


Figure I.25. Réaction d'acétylation de la cellulose (El Seoud *et al.*, 2013).

Dicke (2004) a préparé des esters d'amidon en positions C₃ et C₆ en présence de l'anhydride acétique et comme catalyseurs, le NaOH (**Babić et al., 2009**) ou le H₂SO₄ (**Babić et al., 2007**). Les acétates d'amidon avec des degrés de substitution élevés interviennent dans de nombreuses applications industrielles, dans le domaine alimentaire, en pharmacutique comme liant dans la fabrication des comprimés, dans les filtres des cigarettes, dans les matériaux d'emballage biodégradables, dans les revêtements, dans les adhésifs.....(**Ačkar et al., 2015**).

Récemment et avec l'orientation de la recherche scientifique vers la chimie verte, l'investigation de l'acétylation du xanthane a été réalisée dans un solvant ionique, le chlorure de 1-butyl-3-méthylimidazolium (BMIMCl) à des températures élevées en utilisant l'anhydride acétique (**Figure I.26**). La structure du xanthane acétylé est confirmée par RMN-¹H et IR-TF. Le degré d'acétylation augmente avec la température de la réaction (**Endo et al., 2015**).

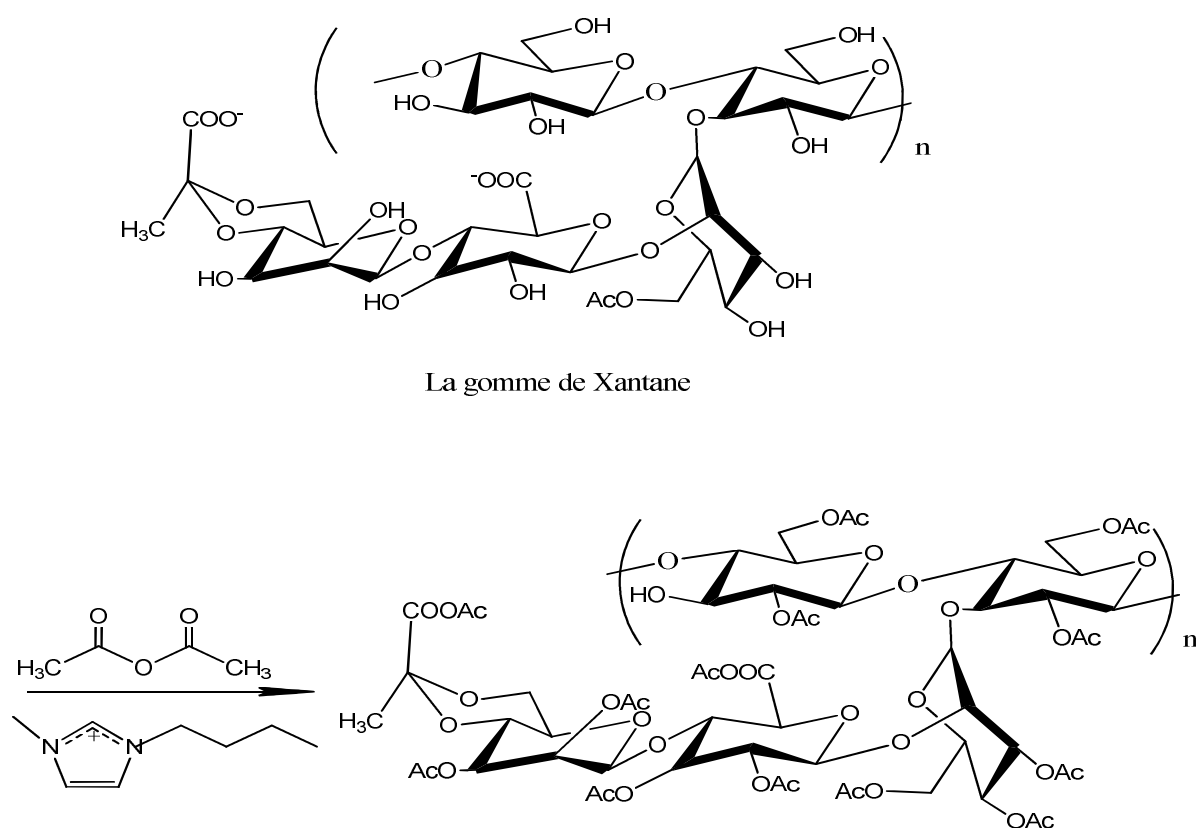


Figure I.26. Réaction d'acétylation du xanthane par l'anhydride acétique dans un solvant ionique, le BMIMCl (**Endo et al., 2015**).

Il est, en revanche, intéressant de préciser selon **Jung et al., (2003)** que le pullulane est acétylé dans l'anhydride acétique/formamide et dans la pyridine comme catalyseur. Le

pullulane acétylé présente une bonne solubilité dans les solvants organiques, le DMSO, le DMF, le tétrahydrofurane, le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétone et le 1,4-dioxane (**Pereira, 2013**). Selon son degré d'acétylation et son aptitude à former des nanosphères, il est d'après **Jung et al., (2003)** un bon substrat d'encapsulation du clonazepam.

I.2.5. L'oxydation

Parmi les réactions chimiques susceptibles de modifier les polysaccharides, il y a l'oxydation par des agents possédant des capacités oxydantes, comme le KIO_4 , le KMnO_4 , le TEMPO, le chlorite de sodium, le peroxyde d'hydrogène et pouvant affecter les différents groupements fonctionnels y compris la structure du polysaccharide.

Ce type de réaction conduit de manière sélective, ciblée, contrôlée ou aléatoire à des oligo- et/ou à des nouveaux polysaccharides oxydés dont leurs usages se diversifient et s'est intensifié ces deux dernières décennies (**Vignon et al., 2006**).

Il est rapporté que l'oxydation par le periodate est largement utilisée comme une méthode pour l'élucidation des structures complexes en glucides et ses premières applications ont aidé à interpréter les structures fondamentales de nombreux polysaccharides tels que la cellulose, l'amidon et le glycogène (**Tang et al., 2005 ; Gosselink et al., 2011**). L'ion periodate « IO_4^- » attaque les diols vicinaux pour cliver la liaison carbone-carbone conduisant à la formation d'un dialdéhyde (**Figure I.27**) (**Teotia, 2012**).

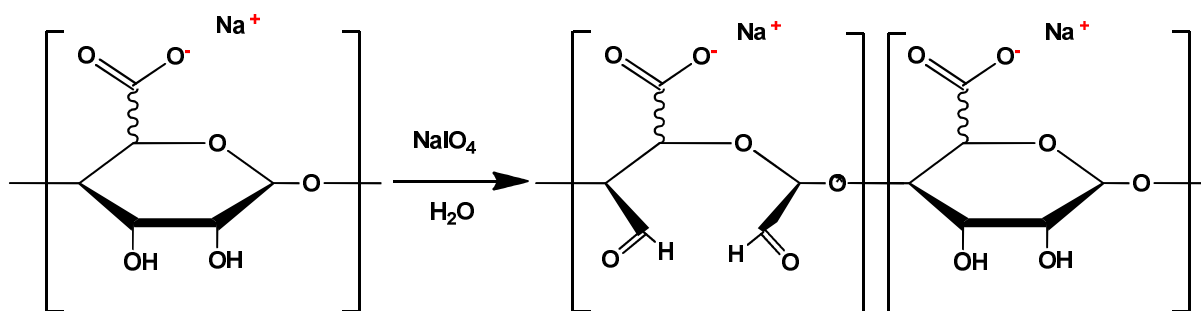


Figure I.27. Oxydation de l'alginate de sodium par le NaIO_4 (**Gomez et al., 2007**).

Par ailleurs, l'ion permanganate est lui aussi un oxydant puissant pour de nombreux composés organiques et inorganiques mais il n'a pas reçu beaucoup d'attention dans le cas de l'oxydation des polysaccharides. En revanche, **Hassan et al., (1993)** ont étudié les cinétiques d'oxydation des alginates, des pectates, des polyalcool vinyliques et des macromolécules polyélectrolytes par les ions permanganates dans des solutions alcalines (pH=12). Ils ont

trouvé que les procédés d'oxydation passent par la formation de complexes intermédiaires de manganate (VI) «l'espèce transitoire», suivie d'une décomposition lente de ces produits intermédiaires pour aboutir aux dérivés oxydés (**Figure I.28**).

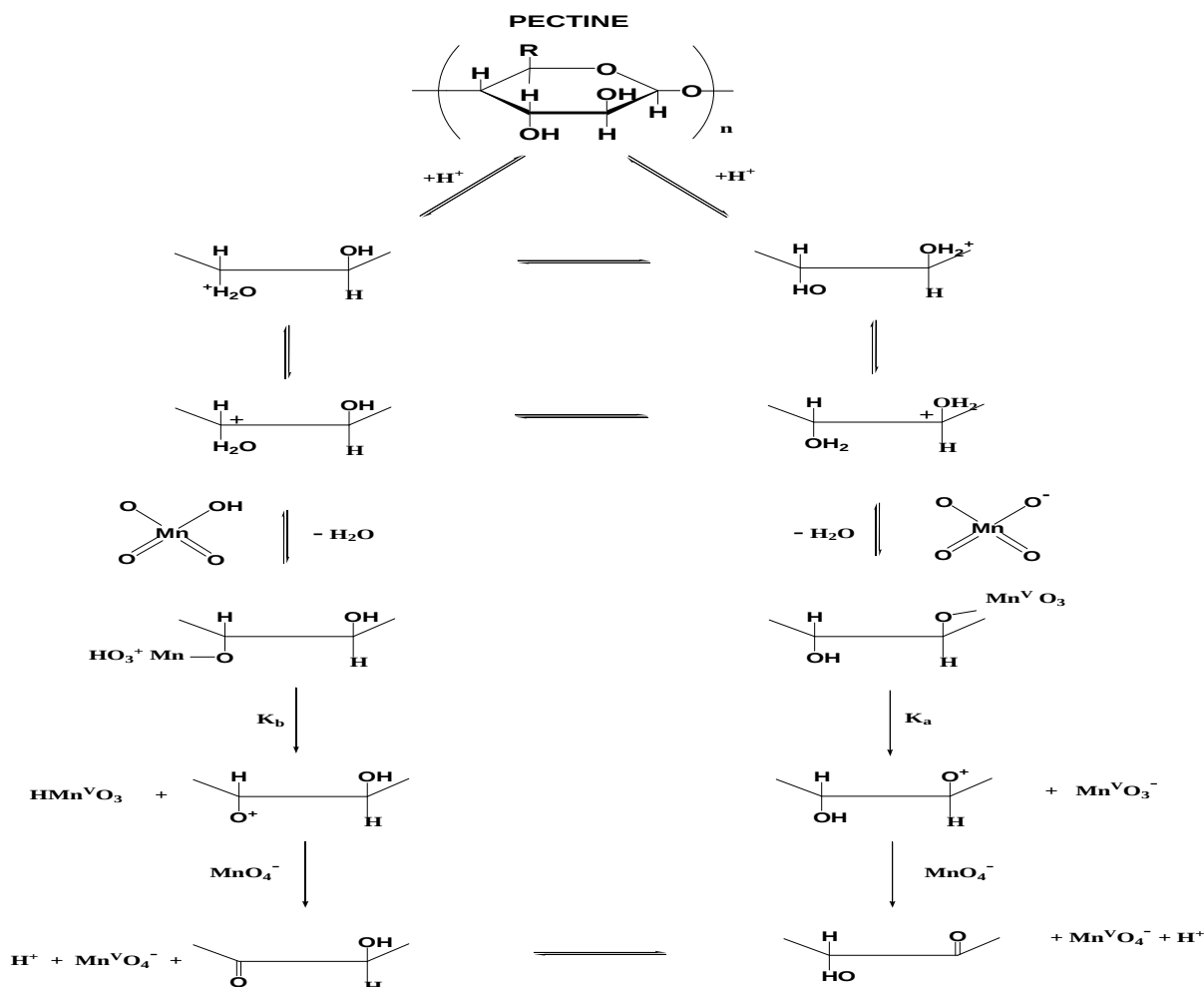


Figure I.28. Oxydation de la pectine par l'ion permanganate (**Khairou, 2003**).

Un autre agent d'oxydation utilisé est l'acide perchlorique, le HClO_4 , en présence du cérium. L'étude de la réaction d'oxydo-réduction entre l'ion cérium et les polysaccharides en milieu non complexant d'acide perchlorique a été menée par **Hassen et al., (2014)**. Il s'est révélé que l'oxydation se déroule sans formation de complexes intermédiaires (**Figure I.29**) et que le produit récupéré transforme ses deux hydroxyles adjacents en deux cétones (**Hassen et al., 2014**).

La **figure I.30** illustre le schéma réactionnel de ce type d'oxydation. Le NaOCl oxyde le TEMPO en formant l'ion N-oxoammonium qui oxyde rapidement à son tour l'hydroxyle primaire en aldéhyde en milieu acide ou neutre, formant l'hydroxylamine. L'aldéhyde est oxydé en un groupe carboxyle par l'oxydant primaire le NaClO₂, formant le NaOCl. L'hydroxylamine est oxydée en ion N-oxoammonium à nouveau par le NaOCl ainsi généré. Il ne reste pas de groupes aldéhydes dans les produits oxydés. La dépolymérisation des chaînes cas de la cellulose causée par β-élimination est évitée (**Hirota et al., 2009**).

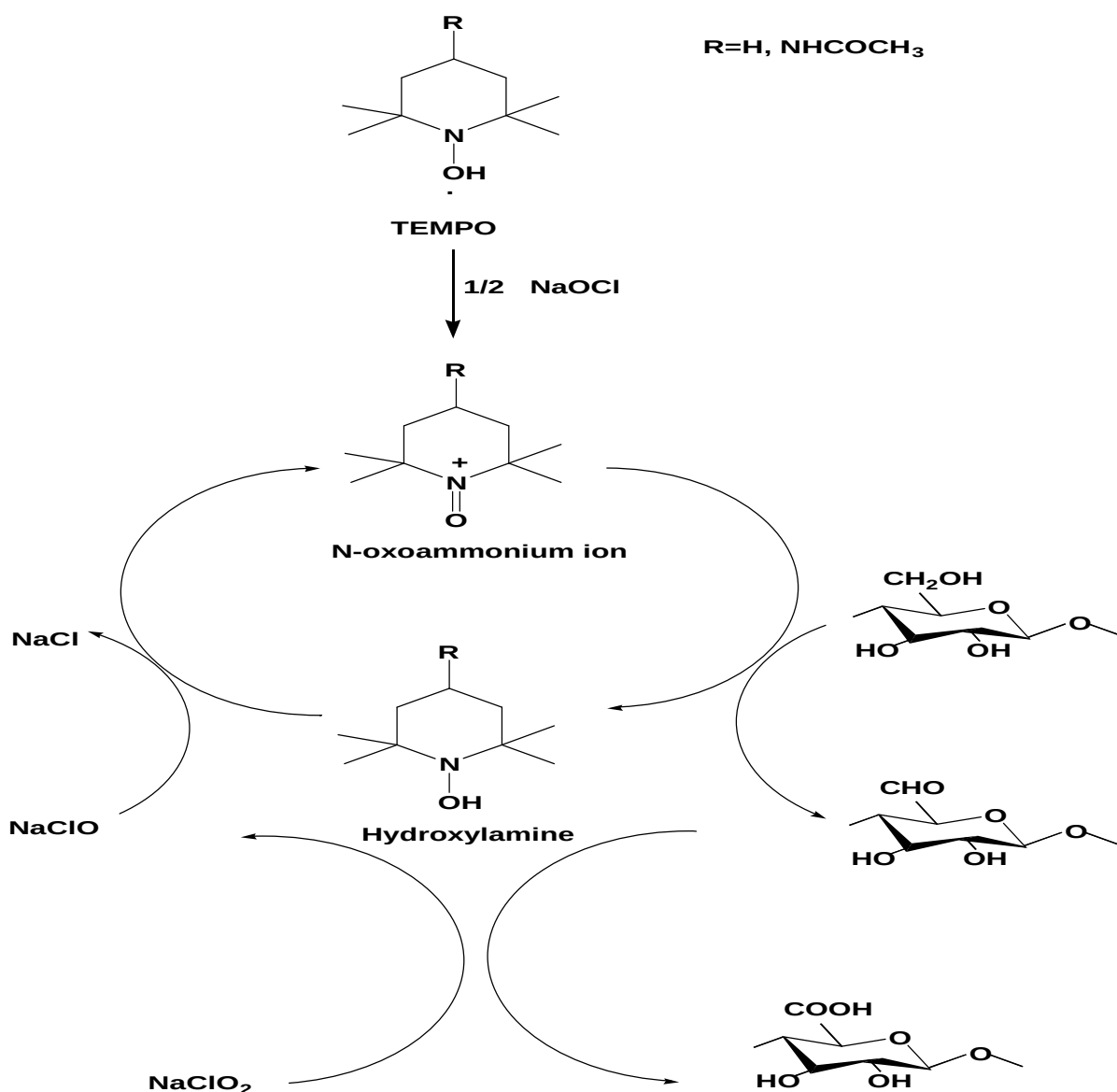


Figure I.30. Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaClO/NaClO₂ dans l'eau à pH 3,5-6,8 (**Hirota et al., 2009**).

Aussi, le chlorite de sodium, le NaClO_2 , est un autre agent oxydant. La réaction du chitosane avec le NaOCl_2 en milieu homogène à un $\text{pH}=4,5$ implique une décomposition par oxydation simultanée des groupes alcools primaires CH_2OH en carboxyles (**Figure I.31**). Par contre, l'oxydation hétérogène du chitosane par le chlorite de sodium à $\text{pH}=6,4$ conduit à la formation de liaisons covalentes entre l'atome d'azote du groupe amino et un atome de carbone du groupe carboxyle (**Murinov et al., 2010**).

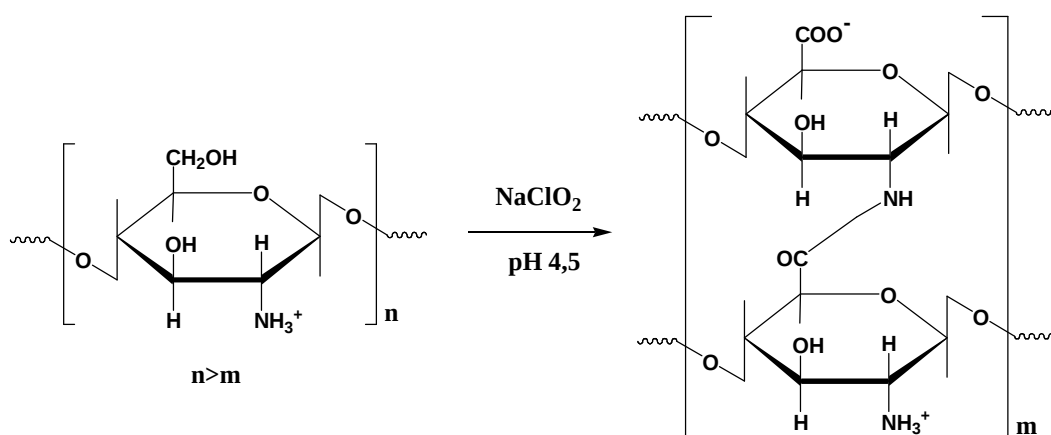


Figure I.31. Oxydation du chitosane par le chlorite de sodium (**Murinov et al., 2010**).

Lewin et Ettinger (1969) ont établi une étude approfondie de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et la cellulose sous forme de fibres de coton purifié. Ce dernier contient une petite quantité de fer. Si le fer est extrait du coton purifié avec HCl ($0,1 \text{ M}$), la décomposition sera relativement forte tandis que l'oxydation restera lente. L'oxydation a formé principalement des groupes cétoniques, ces groupes fonctionnels ont eu lieu principalement en C3 (**Figure I.32**) qui sont quasiment inactifs et ne provoquent pas de scission de chaîne du polysaccharide (**Haskins et al., 1950**).

Pour ce qui est de l'hypochlorite de sodium, de formule chimique NaOCl , il est connu sous le nom d'eau de javel, il est utilisé dans la désinfection et le blanchiment du coton. Il est doté d'un bon pouvoir oxydant dont le mécanisme réactionnel sur les polysaccharides reste incertain. Cela est en partie dû à sa nature complexe en solution aqueuse (**Floor et al., 1989**). Toutefois, trois réactions possibles sont suggérées. Il y a l'oxydation des hydroxyles en carbonyles puis en carboxyles (**Figure I.33**) et qui est également susceptible d'être accompagnée d'une dépolymérisation qui n'est en fait qu'une dégradation du polysaccharide. **Rodrigue (2008)** a démontré après son étude sur la cellulose que les attaques des ions hypochlorite sont non sélectives mais peuvent surgir en position 1,2 et/ou 2,3.

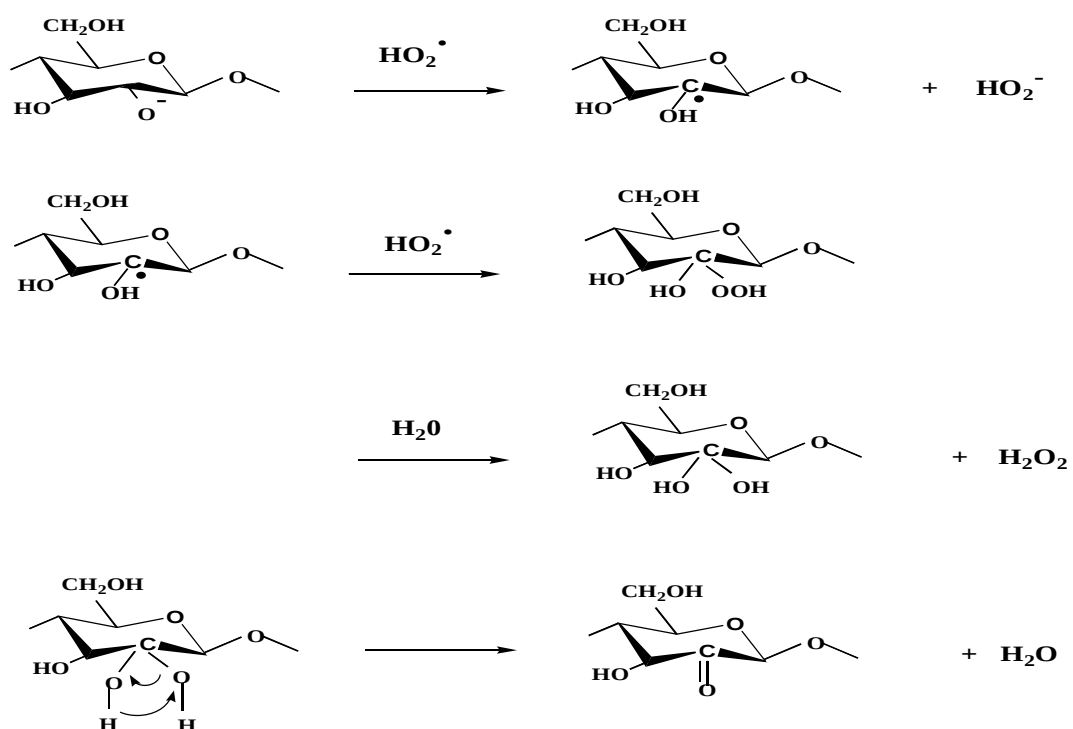


Figure I.32. Oxydation de la cellulose par le peroxyde d'hydrogène (Haskins *et al.*, 1950).

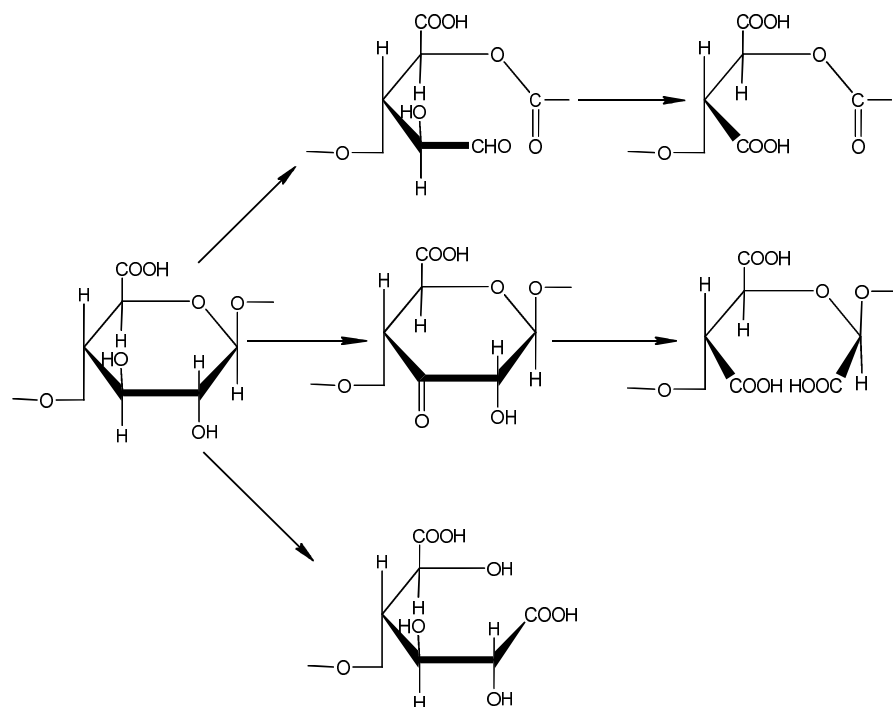


Figure I.33. Oxydation de la pectine par l'hypochlorite de sodium (Chetouani *et al.*, 2014).

I.2.6. L'amidation

La réaction d'amidation nécessite la présence d'acides carboxyliques comme électrophiles et d'amines libres comme nucléophiles. Cette réaction fournit, dans des conditions douces de courtes durées et à température ambiante, des rendements élevés en produits de type amide (Yang *et al.*, 2007).

L'amidation des groupements carboxylates de l'alginate par des composés amines se fait en présence du chlorhydrate du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC) (Figure I.34) (Galant *et al.*, 2006). Cette réaction a été minutieusement investiguée par différents chercheurs (Yang *et al.*, 2002, Zhu *et al.*, 2002, Polyak *et al.*, 2004).

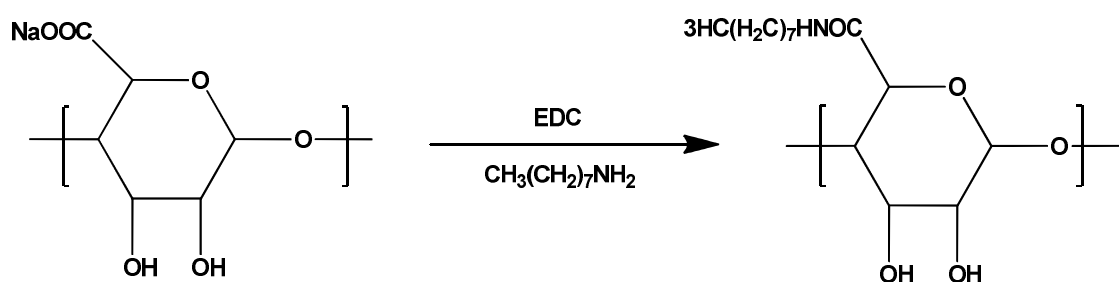


Figure I.34. Réaction d'amidation de l'alginate (Yang *et al.*, 2011).

De nouveaux groupements amides peuvent être obtenus par des réactions de transamidation. Des groupements amines sont libérés et de nouvelles amines sont greffées. Les esters, eux aussi, peuvent réagir directement avec les amines pour donner des amides (Figure I.35). La pectine fortement méthylée (esters méthyliques de pectine avec DS=0,73) en est un exemple. Elle a été soumise à des amidations avec divers alkylamines (du n-butylamine jusqu'au n-octadécylamine) dans le DMF dans des conditions hétérogènes (8°C, 25°C ou 45°C), et les amides correspondants ont été isolés avec des $DS_{\text{en amide}} = 0,4 \text{ à } 0,55$ (Synytsya *et al.*, 2003 ; Synytsya *et al.*, 2004).

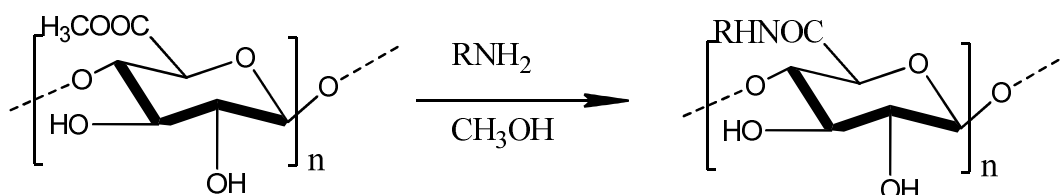


Figure I.35. Amidation de la pectine (Sinitsya *et al.*, 2000).

La CMC a aussi été modifiée en phase homogène par amidation par de longues chaînes amines RNH_2 (**Figure I.36**). Les produits ainsi obtenus sont des polymères ayant des propriétés hydrophobes (**Khennaoui, 2009**).

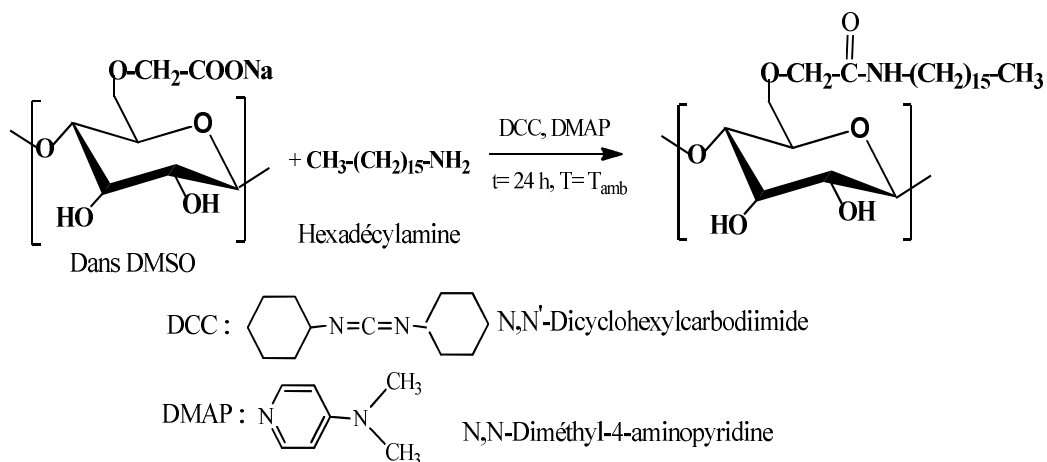


Figure I.36. Amidation de la CMC selon **Charpentier et al., (1997)**.

Aussi, le chitosane après son amidation par l'acide lactobionique (**Figure I.37**) se trouve impliqué dans d'intéressantes applications, dans le domaine de la libération médicamenteuse des peptides et des gènes de faible poids moléculaire (**Gao et al., 2003 ; Zhang et al., 2011**). Il est également une matrice extracellulaire synthétique qui se lie aux hépatocytes (**Chung et al., 2002 ; Park et al., 2003**) et une matrice de stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer (**Bahadur et al., 2009**). Par ailleurs, différentes études ont été menées sur ce matériau prouvant sa non toxicité (**Jain et Jain, 2010**) et son utilisation prometteuse dans le domaine alimentaire (**Matute et al., 2013**). Cependant, peu de travaux sur l'activité antioxydante ont été recensés jusqu'à ce jour.

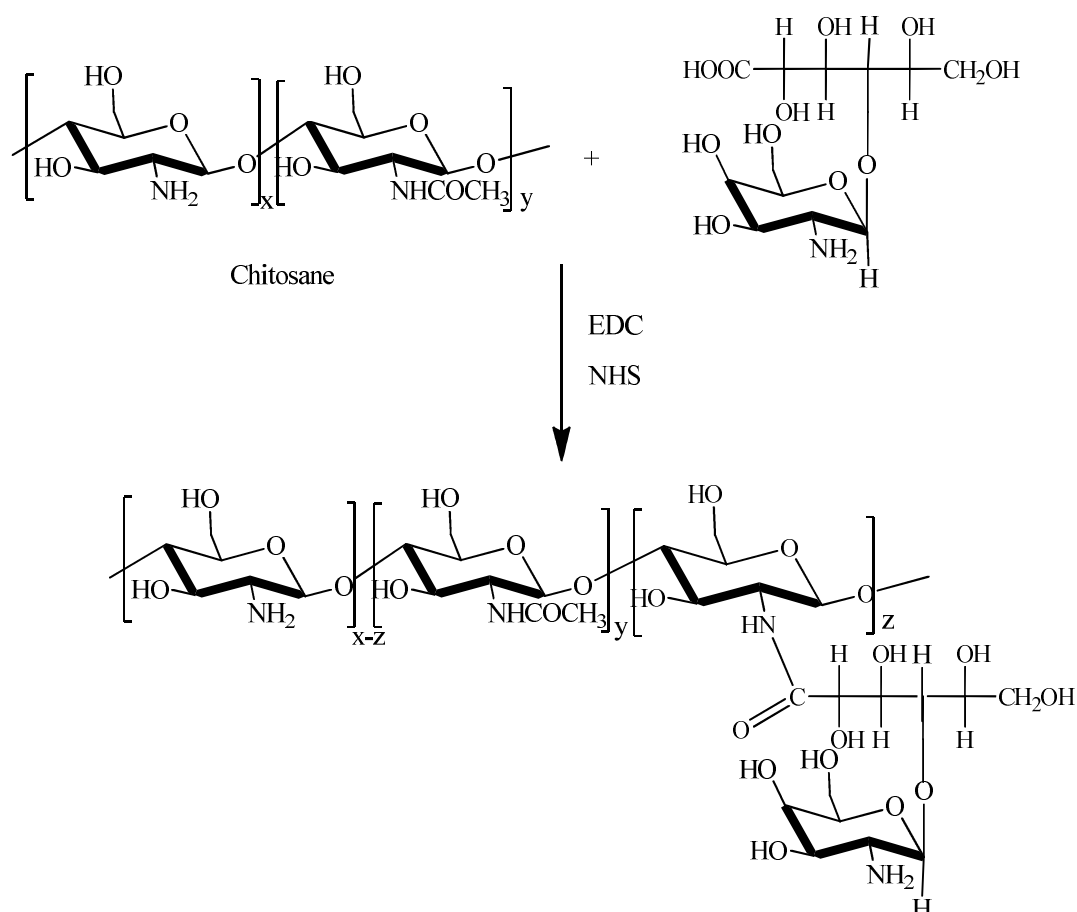


Figure I.37. Réaction entre l'acide lactobionique et le chitosane (**Matute et al., 2013**).

I.2.7. La phosphorylation

Les polymères contenant du phosphore dans leur structure sont d'une grande proportion dans le domaine biomédical. Ils sont souvent biocompatibles, hémocompatibles et résistants à l'adsorption des protéines (**Monge et al., 2011**). Le curdlane phosphorylé est revendiqué par différents auteurs (**Williams et al., 1991 ; Williams et al., 2004**) comme un modifiant intéressant de la réponse biologique lui permettant d'être appliqué en cliniques.

Le carraghénane, le xylane et le fucoidane tous phosphorylés exhibent quant à eux d'excellentes propriétés anticoagulantes (**Dace et al., 1997**). Il a aussi été rapporté (**Chen et al., 2009 ; Huang et Zhang., 2011**) que le curdlane et le α -D-glucane phosphatés sont hydrosolubles et possèdent des propriétés anti-tumorales alors que les polysaccharides natifs correspondants peuvent être non hydrosolubles et dépourvus de bioactivité.

Par ailleurs, les propriétés antioxydants du carraghénane sont obtenues après réaction de ce dernier dans le mélange pyridine/formamide en présence POCl₃ (**Yuan et al., 2005**).

Il est aussi important de citer que le dérivé du chitosan, le 2-(α -arylamino-phosphate)chitosane, est un antifongique remarquable (Illy *et al.*, 2015) et que les polysaccharides phosphorylés, en général, sont de bons matériaux candidats pouvant être utilisés selon des usages spécifiques comme scaffold dans le génie tissulaire (Illy *et al.*, 2015).

La cellulose phosphorylée avec un DS de 1,0 (Suflet *et al.*, 2006) présente une bonne hydrosolubilité et un pouvoir considérable à former des films qui sont non toxiques et favorisent la croissance cellulaire (Petreus *et al.*, 2014).

Quand aux chitosane, chitine et fibres de coton phosphorylés, ils ont tous révélé qu'ils sont des substrats favorables de croissances des phosphates de calcium (Yokogawa *et al.*, 1997). Les films imprégnés de phosphate de calcium améliore le processus de biominéralisation ; et par conséquent, l'ostéo-intégration.

Parmi les réactions de phosphorylation (Figure I.38), il existe celles où l'anhydride phosphorique (P_4O_{10}) ou l'acide phosphorique (H_3PO_4) sont utilisés.

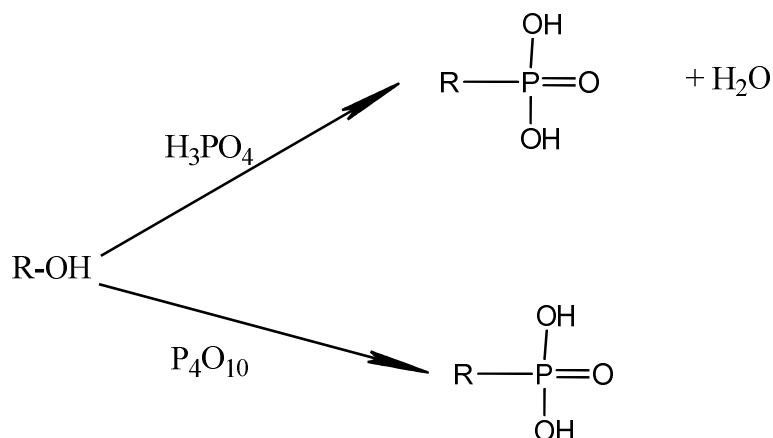


Figure I.38. Phosphorylation des hydroxyles par H_3PO_4 et/ou P_4O_{10} (Illy *et al.*, 2015).

D'autres réactifs peuvent être additionnés, exemple, l'urée dans le DMF en présence de l'acide phosphorique.

La phosphorylation des groupes hydroxyles de chitosane a été réalisée, en revanche, selon deux voies d'accès (Figure I.39). La première voie utilise le pentoxyde de phosphore (P_2O_5) avec l'acide méthane sulfonique (Nishi *et al.*, 1986), et la seconde l'acide phosphorique (H_3PO_4) en présence de l'urée (Sakaguchi *et al.*, 1981).

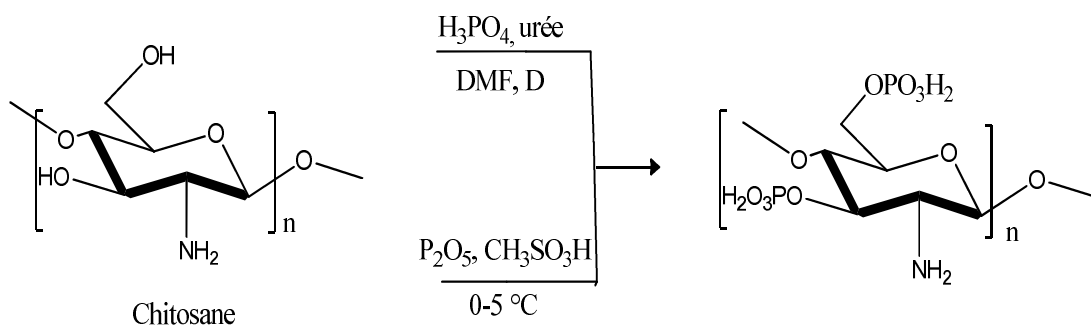


Figure I.39. Phosphorylation de chitosane (**Chopin *et al.*, 2014**).

Le formaldéhyde peut aussi être utilisé en milieu acide successivement ou simultanément à la réaction faite dans le H_3PO_3 sur le chitosane. Ici, le N-mono et N-di-phosphonicmethylène de chitosane sont isolés et sont hydrosolubles (**Heras *et al.*, 2001**; **Matevosyan *et al.*, 2003**).

Pour l'alginate, sa phosphorylation par addition du phosphate/urée est régiosélective déterminé par RMN. Cette réaction en milieu fortement acide diminue désormais son poids moléculaire ; et aussi, elle réduit sa capacité à former des hydrogels avec le calcium. Mais, ce dérivé alginaté est intéressant pour sa capacité à induire la nucléation et la croissance d'hydroxyapatite (**Coleman *et al.*, 2011**).

CHAPITRE II :
PARTIE EXPÉRIMENTALE.

II.1. Produits utilisés

Carboxyméthylcellulose de sodium en poudre (CMC) (Le poids moléculaire est de 250 g/mol ; Son degré de substitution est 0,7, c'est-à-dire 7 groupes de carboxyméthyle par 10 unités d'anhydroglucose ; Le degré de polymérisation est de 1100 ; La teneur en Na est approximativement de 8% par poids ; La viscosité moyenne d'une solution à 2% dans l'eau à 25°C est de 400–800 cps) ; Chitosane avec un degré de N-désacetylation de 65% ; H₂O₂ (à 30%) ; DCC (N,N'-dicyclohexylcarbodiimide) ; NHS (N-hydroxysuccinimide) sont fournis de chez Sigma-Aldrich (USA). Tous les autres produits chimiques utilisés lors de la réalisation de ces études sont de grade analytique.

II.2. Méthodes opératoires suivies

II.2.1. Oxydation de la carboxyméthylcellulose par H₂O₂

L'oxydation de la carboxyméthylcellulose par le peroxyde d'hydrogène est menée selon la méthode décrite par **Zhang *et al.*, (2012)**. Dans un ballon de 100mL, 2g de CMC sont ajoutés à 20mL d'eau distillée. Le contenu du ballon est maintenu à 80°C sous faible agitation pendant 30min.

Ensuite, le CuSO₄.5H₂O est dissous dans un minimum d'eau distillée pour qu'il soit ajouté à la CMC préalablement gélatinisée dans le ballon de 100mL. Les concentrations utilisées sont résumées dans le **tableau II.1**.

Tableau II.1. Nombres de moles, masses et pourcentages de CuSO₄.5H₂O/CMC utilisés.

Nombre de moles de CuSO ₄ .5H ₂ O (mmoles)	Masse de CuSO ₄ .5H ₂ O (mg)	Masse de CuSO ₄ (mg)	Masse de CuSO ₄ (g)/ 2g de CMC (%)	Masse de CuSO ₄ .5H ₂ O (g)/ 2g de CMC (%)
0,02	5,11	3,27	0,16	0,25
0,03	9,27	5,93	0,29	0,50
0,06	15,15	9,69	0,48	0,75
0,08	20,46	13,09	0,65	1,00

Au bout de 50 min (après addition de CuSO₄), l'addition du peroxyde d'hydrogène se fait goutte à goutte pendant 30 min.

La réaction est maintenue pendant des temps variables. Nous avons choisi pour cette étude t=1h, 3h, 5h et 24h.

Les volumes de H_2O_2 , leur nombre de moles ainsi que leur pourcentage par rapport à la masse de CMC sont donnés dans le **tableau II.2**.

Tableau II.2. Volumes, nombres de moles, masses et pourcentages du peroxyde d'hydrogène utilisés.

Volume de H_2O_2 (ml)	Nombre de moles de H_2O_2 (mmoles)	Masse de H_2O_2 (g)	Masse $\text{H}_2\text{O}_2(\text{g})$ / 2g de CMC (%)
0,82	8,37	0,284	14,20
1,64	16,00	0,544	27,20
2,56	25,00	0,850	42,50
3,48	34,00	1,156	57,80

Lorsque la réaction est stoppée, le contenu du ballon est additionné à de l'éthanol (95%) ($V \approx 30$ ml). Un gel se forme. Il est isolé par centrifugation puis laissé sécher pendant 48 h à l'air libre. Enfin, le solide obtenu est broyé à l'aide d'un mortier en porcelaine.

On doit préciser que cette réaction d'oxydation est menée en fonction des concentrations du catalyseur (CuSO_4), de l'agent oxydant (H_2O_2), du temps, de la température et du pH.

Les températures choisies sont 30°C, 55°C, 60°C, 75°C. Les pH sont fixés à 4, 5,5, 9, 11.

II.2.2. Préparation des films de chitosane/CMC et/ou chitosane/CMC oxydée

1% (m/m) de CMC est solubilisé dans l'eau distillée à 70°C alors que 1%(m/m) de chitosane est dissous dans l'eau distillée acidifiée avec HCl (0,1N) à pH =3,5 et $T = 60^\circ\text{C}$.

Ensuite, 20 ml de chacune de ces solutions sont mélangés et maintenus au pH de 3,5 pendant 6 h à 55°C. Puis, la solution de chitosane/CMC (CS/CMC1) est versée dans une boîte de Pétri en polystyrène (9,5 cm de diamètre) et est laissée sécher à l'air libre pendant 3 à 4 jours. L'épaisseur des films avant et après le séchage sont 0,6 mm et 0,12 mm, respectivement.

La même procédure opératoire est appliquée pour la préparation du chitosane/CMC oxydée (CS/OCMC). L'épaisseur de films humides et secs sont de 0,6 mm et 0,1 mm, respectivement. La CMC oxydée choisie pour cette étude est la formulation préparée à partir de l'oxydation à 14,2% H_2O_2 , 1% CuSO_4 , $T = 55^\circ\text{C}$, pH 5,5 et $t = 3\text{h}$.

II.2.3. Amidation de la CMC par le chitosane en présence de NHS et de DCC

L'amidation de la CMC par le chitosane est réalisée selon la méthode décrite par **Matute et al., (2013)**. Dans un bécher de 200 ml, 1 g de chitosane est solubilisé dans 100 ml d'acide acétique aqueux (1%) sous agitation pendant 24h. Le pH de la solution est ajusté à 6,5 par NaOH (0,1 M). D'un autre côté, on mélange successivement, dans un bécher de 50 ml, 10mL de CMC aqueuse (0.15g/mL), 5mL de NHS (0,18g /mL) et 5mL DCC (0.3 g /mL). Le contenu de ce dernier bécher est gardé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante. Puis, il est additionné progressivement à la solution du chitosane. La réaction est menée sous agitation pendant 72 heures à température ambiante. L'hydrogel (CS/CMC_{NHS/DCC}) est précipité et lavé par mélange éthanol/eau (70/30) (V/V). Ensuite, il est isolé par centrifugation (300rpm/mn) pendant 10 min, puis laissé sécher à l'air libre pendant trois jours. Un film blanc opaque est récupéré.

La même procédure est appliquée pour la préparation du chitosane/CMC (CS/CMC2) sans NHS et DCC.

II.3. Identification et caractérisation

II.3.1. Dosages chimiques

II.3.1.1. Détermination de la teneur en aldéhyde

La teneur en aldéhydes est déterminée en suivant la méthode décrite par **Li et al., (2011)**. Pour ce faire, dans un bécher de 100 mL enveloppé dans du papier en aluminium, 0,5g de la CMC oxydée sont dissous dans 25mL d'eau distillée. Le pH est ajusté à 5 avec NaOH (1,0M). Puis, 20mL d'une solution aqueuse de chlorhydrate d'hydroxylamine (0,72 M) ajustés par NaOH à pH=5 sont ajoutés à la solution précédente de la CMC oxydée. L'agitation est laissée pendant t=4h à T=40°C. Le titrage d'acide chlorhydrique est suivi avec du NaOH (1,0 M). La consommation de la solution de NaOH est enregistrée en tant que **V_c**.

La même procédure est reproduite sur la CMC comme témoin et la consommation de la solution alcaline est enregistrée comme **V_b**. La quantité d'aldéhyde dans la CMC oxydée est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Teneur en aldéhyde (\%)} = \frac{M_{\text{NaOH}}(V_c - V_b)}{m/211} \times 100$$

Avec :

$$C_{\text{NaOH}} = 1,0 \text{ M,}$$

m: est la masse à l'état sec de la CMC oxydée (g),
 211: est la masse molaire de l'unité répétitive de la CMC oxydée.

II.3.1.2. Détermination de la teneur en carboxyle

La teneur en carboxyle de la CMC oxydée est déterminée selon un mode opératoire proposé par **Kumar et Yang (1999)** en utilisant de la phénolphthaléine comme indicateur coloré.

Dans un bécher de 100 ml, 0,5 g de CMC oxydée sont solubilisés dans 50 ml d'acétate de calcium (à 2%) pendant 30 minutes. La solution est ensuite titrée avec une solution de NaOH (0,1 N). Les volumes de NaOH consommés sont notés **V_c**. Un essai à blanc de la CMC native pour déterminer le volume de NaOH (**V_b**) est aussi réalisé.

La teneur des groupements carboxyliques portés par les CMC oxydées est déterminée par la relation suivante :

$$Teneur\ en\ carboxyle(\%) = \frac{N \cdot (V_c - V_b) \cdot M_{COOH}}{m(mg)} \cdot 100$$

Avec :

N : La normalité de NaOH,

m : La masse de l'échantillon à l'état sec avant le titrage.

II.3.1.3. Détermination des amino-groupes libres

Les nombres des groupes amines portés par le chitosane natif et les composés (chitosane/CMC), (chitosane/OCMC) et (chitosane/CMC/(NHS/DCC)) sont quantifiés par le titrage pH métrique suivant la méthode décrite par **Gómez-Mascaraque et al., (2014)**.

Au départ, 12,5 mL d'une solution de HCl (0,1N) sont ajoutés à 0,1 g du produit à étudier. L'agitation est maintenue ensuite pendant 24 h. Puis, la solution est titrée avec une solution de NaOH (0,1N). Le pH est mesuré avant et après addition de NaOH. L'agitation est au moins laissée pendant de 2minutes après addition de NaOH pour s'assurer de la déprotonation des -NH₃⁺ lié au chitosane. Le pourcentage de groupes amino est calculé en utilisant l'équation suivante établie par **Hoffmann et al., (2009)** :

$$NH_2 = \left[M_{NaOH}(V_2 - V_1) \cdot \frac{161}{m} \right] \cdot 100$$

Avec:

M_{NaOH} : La molarité de la solution de NaOH,

V₁ et **V₂** : Les volumes pour neutralisation l'excès de HCl et la protonation de groupes amine,

161 : Le poids moléculaire de l'unité monomère du chitosane,
m : La masse de l'échantillon à l'état sec.

II.3.1.4. Titrations potentiométrique et conductométrique

Les teneurs de $-OCH_2COOH$ et $-NH_2$ dans le chitosane, CS/CMC, CS/CMCO et CS/CMC (NHS/DCC) sont déterminées selon le mode opératoire établi par **Dhar et al., (2012)**.

Au départ, le pH des différentes solutions des composés testés (à 1% (m/V), soit 0,25g de matière préalablement solubilisée dans 25mL d'acide acétique aqueux à 1% est ajusté à 11 par le NaOH (0,1M). Ensuite, la solution est titrée goutte à goutte par HCl (0.1M). Le pH et la conductivité électrique ont été mesurés simultanément jusqu'à ce que le pH de la solution soit proche de 2. Toutes les mesures sont faites à T_{amb} sous faible agitation.

Le nombre d'équivalents des groupes d'acide réagi avec $-OCH_2COO^-$ et NH_2 a été calculé en utilisant la formule suivante (**Raymond et al., 1993**) :

$$[HCl]_{\left(\frac{meq}{g}\right)} = \frac{(M * V) \text{ de titrant}}{m}$$

Avec :

M: la concentration de l'HCl (mol/l),

V: Le volume de l'HCl nécessaire pour protoner $-OCH_2COO^-$ et NH_2 (ml),

m: La masse de l'échantillon.

II.3.2. Etudes structurales

II.3.2.1. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre à transformée de fourrier (FTIR) de type SHIMADZU 84005. Les spectres sont directement enregistrés à partir des films préparés alors que les poudres sont dissoutes à 3% (p/p) dans le KBr.

II.3.2.2. La spectrophotométrie UV-Vis

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre UV-Vis à doubles faisceaux de type UNICAN. 5 mg de la carboxyméthylcellulose ou de carboxyméthylcellulose oxydée sont dissous dans 4 ml d'eau distillée.

II.3.2.3. Radiocristallographie par diffraction des Rayons X (DRX)

L'appareil utilisé est un diffractomètre de type D 8-ADVANCE-BRUKER-AXS. Les Rayons X sont produits par une anticathode de cuivre alimentée sous 40KV et 40mA. La

radiation $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$) séparée au moyen d'un monochromateur arrière en graphite courbé. Les fentes de divergence et d'antidiffusion sont programmables. Le diagramme des échantillons est enregistré sur un domaine angulaire compris: $5-60^\circ$ (2θ) par pas de $0,02$. Le temps de comptage est de 1 seconde par pas. Le goniomètre vertical $\theta-2\theta$ en géométrie *Bragg Brentano*. Le détecteur est à scintillation. La loi de *Bragg* établit la condition essentielle à la diffraction, à savoir : deux rayons diffusés par un cristal sont en phase et s'additionnent si la différence entre leurs chemins parcourus au sein du cristal est égale à n fois (n = nombre entier) leur longueur d'onde :

$$2 d_{hkl} \cdot \sin\theta = n\lambda$$

Avec :

λ : la longueur d'onde du rayonnement utilisé,

θ : l'angle de réflexion,

d : la distance réticulaire entre deux plans atomiques adjacents d'une même famille,

n : l'ordre de réflexion.

II.3.3. Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les mesures thermogravimétriques (ATG) sont réalisées à l'aide d'un appareil de type TGA 4000 Perkin Elmer couvrant une gamme de température allant de la température ambiante à 500°C . Un balayage de gaz inerte est assuré dans l'enceinte expérimentale qui comprend une nacelle en platine de $20 \mu\text{L}$. La vitesse de chauffage appliquée est $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

II.3.4. Test de gonflement

Les tests de gonflement sont réalisés dans des béchers de 25 ml. 80 mg (m_0) de chaque film préparé sont immergés dans 20 ml d'eau distillée. Les mesures du poids se font en fonction du temps à $T=25^\circ\text{C}$.

Le taux de gonflement exprimé en pourcentage massique "G" est calculé à partir de l'expression suivante :

$$G\% = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100\%$$

Avec :

M_t : La masse du film gonflé pendant un temps t ,

M_0 : La masse initiale de film (à $t=0$).

II.3.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les films secs sont recouverts par une couche mince de carbone et leurs morphologies de surface sont observées par microscopie électronique à balayage (SEM) en utilisant un instrument JEOL JSM-840 à une tension d'accélération de 5,01V.

II.4. Etudes biologiques

II.4.1. Activité anti-oxydante

II.4.1.1. Activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH

L'activité antioxydante de nos matériaux est évaluée en utilisant le test au DPPH décrit par **Yamaguchi *et al.*, (1998)**. 5 mg de la matrice polymérique (CMC ou OCMC) sont dissous dans 1 ml d'eau. Par contre, le chitosane (5 mg) est solubilisé quant à lui dans 1 ml d'acide acétique (1%). Un volume de 0,03 ml de chacune des solutions est ajouté à 0,1 ml de la solution méthanolique au DPPH (0,1mM). Les mélanges sont vigoureusement mélangés avec un vortex et mis à l'abri de la lumière à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance de la solution obtenue est mesurée par rapport au méthanol (contrôle) à $\lambda = 517$ nm. Le BHT est utilisé comme référence.

L'effet inhibiteur du radical DPPH[•] est calculé en se servant de l'équation suivante :

$$IC\% = \left[1 - \left(\frac{\text{absorbance d'échantillon}}{\text{absorbance de control}} \right) \right] \times 100\%$$

Avec :

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH[•]. La IC₅₀ est déterminée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés. Les pourcentages d'inhibition dépendent des différentes concentrations des échantillons.

II.4.1.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des échantillons est déterminé en utilisant la méthode décrite par **Yen et Chen (1995)**. 1 mL de chaque échantillon avec différentes concentrations (0.25-2 mg/mL) est ajouté à 2,5 ml de la solution tampon (0,2 M, pH= 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆, 1%). Le mélange est laissé dans un bain marie sans agitation à 50°C pendant 20 minutes. Après retours à la température ambiante, 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA, 10 % dans l'eau distillée) sont additionnés. Le mélange est centrifugé pendant 10 min à 1000 rpm. Ensuite, dans un tube à essai, on introduit 2,5 ml du surnageant du mélange

précédemment centrifugé, 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution de FeCl₃ aqueux (0,1%). L'absorbance est déterminée à 700 nm (**Oyaizu, 1986**).

L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme référence.

II.4.2. Biocompatibilité avec le sang humain

Le potentiel hémolytique est la mesure de l'hémolyse qui peut être causée par le matériau quand il entre en contact avec le sang. Le potentiel hémolytique des échantillons est déterminé selon **Fan et al., (2012)**. 0,1 ml du sang humain anti-coagulé par le citrate de Na sont ajoutés à 7,5 ml de PBS (pH 7) contenant 0,15 g de l'échantillon dans différents tubes à essai. Un control positif (100% hémolysé induit par remplacement du PBS (pH 7) avec 7,5 ml de solution Na₂CO₃ à 0,1%) et un autre négatif (0% d'hémolyse, PBS (pH 7) sans ajout de l'échantillon) ont également été mis. Tous les tubes à essai contenant les échantillons et les témoins sont mis à l'abri de la lumière pendant 1 heure à 37°C. Ensuite, les tubes sont centrifugés à 300 rpm pendant 10 min. Les expériences sont réalisées en deux fois. Le pourcentage d'hémolyse est calculé en mesurant la densité optique (DO) du surnageant de la solution à 545 nm selon la formule suivante :

$$Hémolyse(\%) = \left(\frac{DO \text{ de l'échantillon} - DO \text{ du control négatif}}{DO \text{ du control positif}} \right) \times 100\%$$

II.4.3. Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est estimée par la méthode de la dénaturation des protéines déjà décrite par **Alhakmani et al., (2013)**. Le Diclofenac de sodium, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien puissant, est employé comme médicament témoin. Dans des tubes à essai, 2 ml du composé à analyser sont ajoutés à 2,8 ml de PBS (pH 6,4) et 2 ml de l'albumine d'œuf (de l'œuf de poule frais). Les deux concentrations étudiées de nos échantillons sont 100 µg/ml et 200 µg/ml. Le diclofenac sodique (aux concentrations des composées utilisées) subit le même traitement. Tous les tubes contenant les échantillons et le témoin sont placés dans un bain d'eau à 27°C pendant 15 min à l'abri de la lumière. La dénaturation est induite en maintenant le mélange réactionnel à 70°C dans un bain marie pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est lue à 660 nm en employant l'eau distillée comme un blanc. 2 ml de l'albumine de l'œuf mélangés à 2,8 ml de solution de PBS (pH 6,4) sont utilisés comme test témoin.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine est calculé en employant la formule suivante trouvée par **Alhakmani et al., (2013)** :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{A_t - A_c}{A_c} * 100$$

Avec :

A_t : l'absorbance de l'échantillon à tester,

A_c : l'absorbance du témoin.

II.4.4. Activité antibactérienne

Quatre souches bactériennes sont utilisées : deux à Gram positif (*Bacillus subtilis* ATCC 21332, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et deux à Gram négatifs (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

Le milieu de culture utilisé est la gélose Muller–Hinton. La préparation du milieu de culture se fait selon **Benzeggouta (2005)**. On met en suspension 38 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. On porte lentement le milieu à ébullition sous agitation constante jusqu'à l'obtention d'une solution qui est ensuite répartie dans des flacons. La stérilisation se fait à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes. La solution est versée dans des boîtes de Pétri de telle façon à obtenir une couche de 4 mm d'épaisseur.

Les bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur divers milieux de culture solides et liquides. La concentration minimale des bactéries utilisées est de 10⁶.

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET DISCUSSION.

III.1. Dosages chimiques

III.1.1. Oxydation de la CMC par H₂O₂/CuSO₄

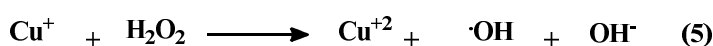
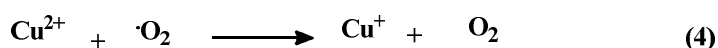
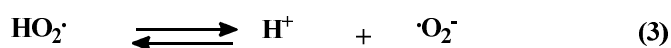
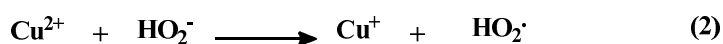
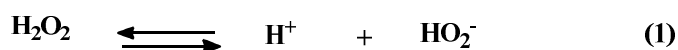
III.1.1.1. Détermination de la teneur des groupements aldéhydes et carboxyles

A. Effet de la concentration du catalyseur CuSO₄.5H₂O

Le mécanisme de la réaction d'oxydation de la carboxyméthylcellulose par le peroxyde d'hydrogène est très complexe. Il a été démontré d'après les différentes études sur la cellulose (**Zeronian et al., 1995 ; Neevel, 2002**) que la réaction est radicalaire. Le **tableau III.1** indique que le teneur en aldéhyde et celle en carboxyle suite à la réaction de H₂O₂ utilisé seul sont égales respectivement à 0,97% et 3,6%.

La réaction conduit à la production d'entités radicalaires comme les OH[•]. La méthode usuelle d'activation de ces derniers est l'utilisation des sels ou d'oxydes métalliques qui catalysent la réaction de décomposition. Ils sont à base de fer ou de cuivre (**Roques, 1990**).

Toutefois, le couple H₂O₂/Fe²⁺ est appelé *réactif de Fenton*. Lors de notre travail, nous avons utilisé comme catalyseur, le cuivre. Et selon la bibliographie (**Lu et al., 2013 ; Millero et al., 1991**), les principales réactions mises en jeu sont :



Le **tableau III.1** montre l'effet de la variation de la concentration du catalyseur, le CuSO₄.5H₂O, sur les teneurs en aldéhyde et en carboxyle (%).

On observe que les teneurs en aldéhyde et en carboxyle augmentent avec la concentration de CuSO₄.5H₂O pour atteindre à 1% de CuSO₄.5H₂O des teneurs élevées avec des valeurs égales à 5,31% et 35.1%, respectivement. La concentration du peroxyde d'hydrogène est dans ce cas maintenue à 14,2%.

Tableau III.1. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par H₂O₂ (14,2%) en fonction du ratio de CuSO₄.5H₂O à T =55°C, pH= 5,5 et t=3 h.

Masse de CuSO ₄ .5H ₂ O(g)/2g CMC (%)	0	0,25	0,5	0,75	1
Teneur en aldéhyde (%)	0,97	2,12	3,19	4,68	5,31
Teneur en carboxyle(%)	3,6	4,5	8,1	17,1	35,1

B. Effet de la concentration de l'agent oxydant H₂O₂

En présence de cuivre et notamment du sulfate de cuivre pentahydraté, le peroxyde d'hydrogène se décompose rapidement pour donner des radicaux hydroxyles libres OH[•].



Les radicaux hydroxyles (OH[•]) sont déjà connus pour leur grande réactivité en tant que radicaux libres. Ils oxydent l'unité du glucopyranose en arrachant l'hydrogène à partir du C-H appartenant au cycle du sucre. Le radical qui se forme ensuite (R[•]CHOH) réagit avec l'ion métallique ou le peroxyde d'hydrogène pour donner des groupements carbonyles selon la réaction donnée ci-après.

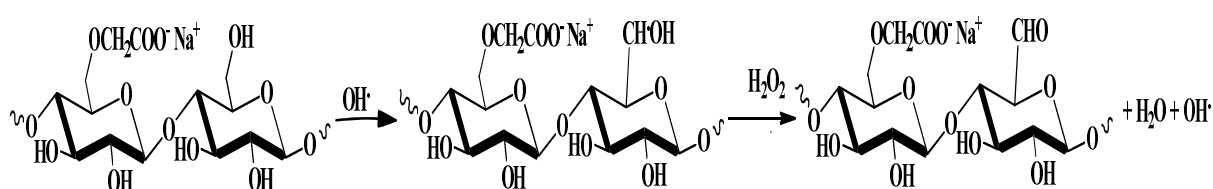


Figure III.1 Conversion oxydative proposée de l'hydroxyle en groupements aldéhydes de la CMC.

En outre, les espèces peroxygénées H₂O₂ peuvent à leur tour facilement oxyder les aldéhydes en groupes carboxyliques.

Par ailleurs, **Jones et al., (1999)** proposent deux mécanismes faisant intervenir deux voies distinctes possibles de transformation (**Figure III.2**) : l'oxydation en groupe carboxylique en passant par des réactions de réarrangement où le groupement formate (HCOO⁻) en position 6 se libère et le composé hydroxylé correspondant avec moins d'atome de carbone à sa structure se

forme, mais cette voie est peu probable et faiblement rencontrée auparavant alors que la seconde voie implique par analogie à la première voie un intermédiaire hydroxyperoxy commun qui se convertit en dérivé carboxylé. Dans les deux cas, un réarrangement se fait et il est dû au haut pouvoir migratoire des groupements qui y sont liés.

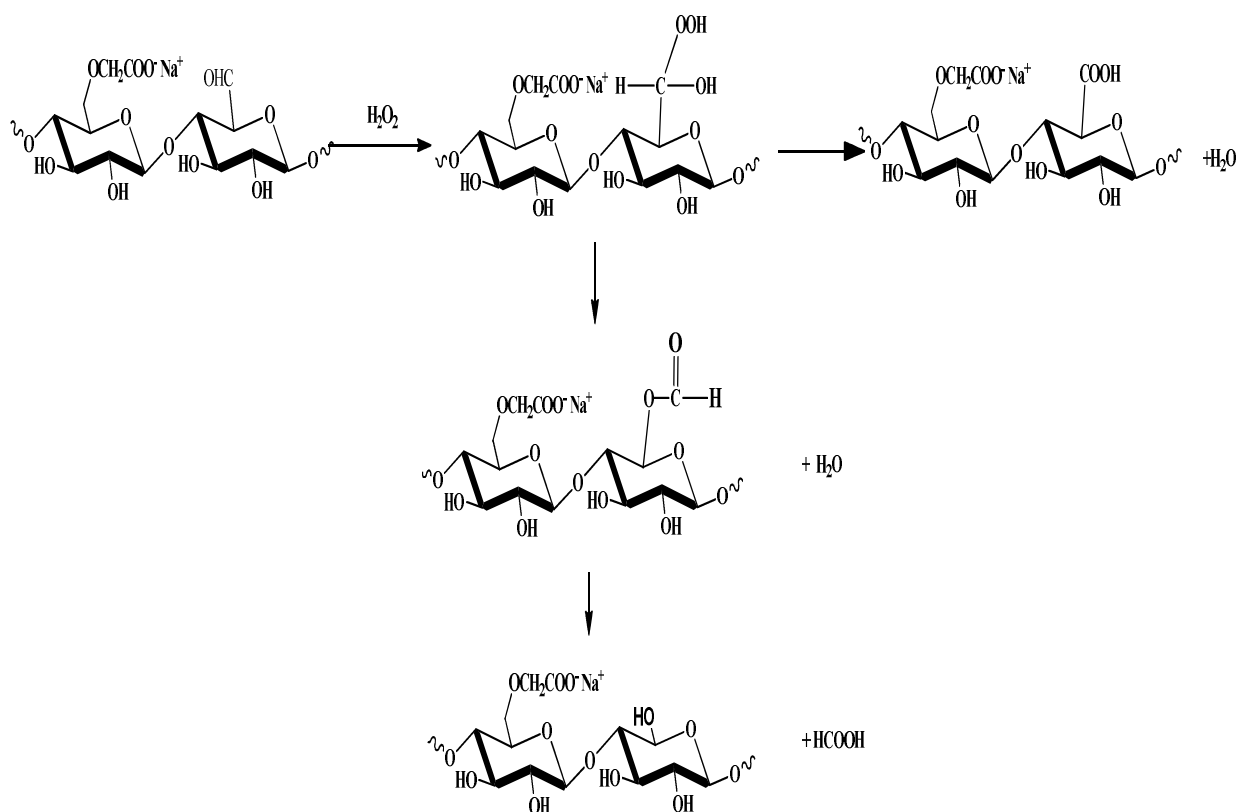


Figure III.2. Deux voies de conversion possibles de la CMC après son oxydation par le H_2O_2 .

Les résultats obtenus après étude de l'effet de la concentration de H_2O_2 sur la CMC sont donnés dans le tableau suivant.

Lorsque les quantités de l'agent oxydant passent de 14,2% à 57,8 %, les teneurs en aldéhyde et en carboxyle obtenues augmentent respectivement de 3,19% et 8,1% à 4,89% et 18,21%.

Tableau III.2. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle après oxydation de la CMC par H₂O₂ en présence de CuSO₄.5H₂O (0,5%) à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h.

Masse de H ₂ O ₂ (g)/2g CMC (%)	14,2	27,2	42,5	57,8
Teneur en aldéhyde (%)	3,19	3,72	4,68	4,89
Teneur en carboxyle(%)	8,10	10,67	17,43	18,21

C. Effet du temps

D'après le **tableau III.3**, les teneurs en aldéhyde et en carboxyle augmentent avec le temps de la réaction. Elles vont de 1,12% et 3,03% à 4,16% et 14,08% respectivement pour des temps de la réaction s'étendant de 1h à 24h. Les quantités du peroxyde d'hydrogène et de sulfate de cuivre sont maintenues constantes. On peut conclure que dans les conditions opératoires étudiées, les teneurs en aldéhyde et en carboxyle évoluent avec le temps.

Tableau III.3. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par H₂O₂ (14,2%)/CuSO₄.5H₂O (0.5%) en fonction de t, à T = 55°C et pH= 5,5.

Temps	1h	3h	5h	24h
Teneur en aldéhyde (%)	1,12	3,19	3,98	4,16
Teneur en carboxyle(%)	3,03	8,1	13,56	14,08

D. Effet de la température

Le **tableau III.4** représente la variation de la teneur en aldéhyde et en carboxyle avec la température. Quand la température de la réaction augmente de 30°C à 60°C, les teneurs en carbonyle et carboxyle évoluent respectivement de 3,11% et 4,22% à 4,16% et 14,07%.

Par contre, quand la température de la réaction atteint 75°C, les teneurs en aldéhyde et carboxyle diminuent. Ceci est dû probablement à plusieurs phénomènes. Par exemple, une augmentation de la température aura comme conséquence l'évolution de l'activité du peroxyde d'hydrogène qui entraîne la dégradation de la macromolécule. Ce qui a été démontré par **Isbeell et al., (1981)** qu'une contribution d'une réaction en chaîne pour la décomposition de H₂O₂ augmente avec la température. La réaction, par contre, peut être initiée par des traces d'un catalyseur.

Tableau III.4. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par H₂O₂ (14,2%)/ CuSO₄.5H₂O (0,5%) en fonction de la température à pH= 5,5 et t=3 h.

Température	30°C	55°C	60°C	75°C
Teneur en aldéhyde(%)	3,11	3,19	4,16	3,98
Teneur en carboxyle(%)	4,22	8,1	14,07	13,57

E. Effet du pH

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous. Quand le milieu est à pH=4, les teneurs en aldéhyde et en carboxyle sont les plus faibles et sont égales à 1,07% et 3,78% respectivement. Elles augmentent progressivement jusqu'au pH= 9. Puis, à des valeurs supérieures à ce dernier, ces teneurs diminuent.

Cette diminution peut être expliquée comme suit:

En milieu basique, le H₂O₂ réagit avec l'ion hydroxyle pour donner un ion perhydroxyde OOH⁻ selon le schéma suivant :



L'anion perhydroxyde, très réactif, réagit spontanément avec une autre molécule de peroxyde en absence d'autres réactifs selon la réaction ci dessous :



D'autres réactions sont aussi possibles :



Ces réactions expliquent donc l'instabilité toujours observée en milieu basique ainsi que le dégagement d'oxygène.

Il apparait d'après les résultats obtenus que le pH a un effet important dans la réaction d'oxydation de la CMC en présence de H₂O₂ et CuSO₄.5H₂O.

Tableau III.5. Teneurs en carbonyle et en carboxyle de la CMC oxydée par H₂O₂ (14,2%) et de CuSO₄·5H₂O (0,5%) en fonction du pH et à T = 55°C et t=3 h.

pH	4	5,5	9	11
Teneur en aldéhyde(%)	1,07	3,19	6,81	4,92
Teneur en carboxyle(%)	3,78	8,1	35,22	21,48

III.1.2. Détermination des amino-groupes libres

La teneur des groupements amines libres dans le chitosane avant et après réticulation avec la carboxyméthylcellulose est estimée en employant la méthode de titration du pH (**Gómez-Mascaraque *et al.*, 2014**).

Les résultats sont montrés dans **la figure III.3** L'addition du NaOH augmente les valeurs du pH. La première augmentation (entre les volumes de 0 mL et 2,5mL de NaOH(à 0,1N)) sur la courbe du chitosane seul est due à un excès de HCl dans le milieu réactionnel. Ici, nous sommes dans la forme protonée du chitosane.

Dans l'intervalle des volumes de NaOH entre 2,5 mL et 6,8mL, sur la courbe du chitosane, les amino libres sont estimés à 69,23%.

Après addition au chitosane des CMC (CMCnatif, ou des OCMC), CMC/CS, CS/CMC_{NHS/DCC}, les différentes courbes (sous forme d'un S) ne montrent aucun nouveau plateau ni déviation entre le premier palier aux pH faibles et le second palier aux pH élevés. C'est une indication que les amino-libres du chitosane ont interagi avec les groupes présents dans les différentes CMC et CMCO. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Hoffmann *et al.*, (2009)**.

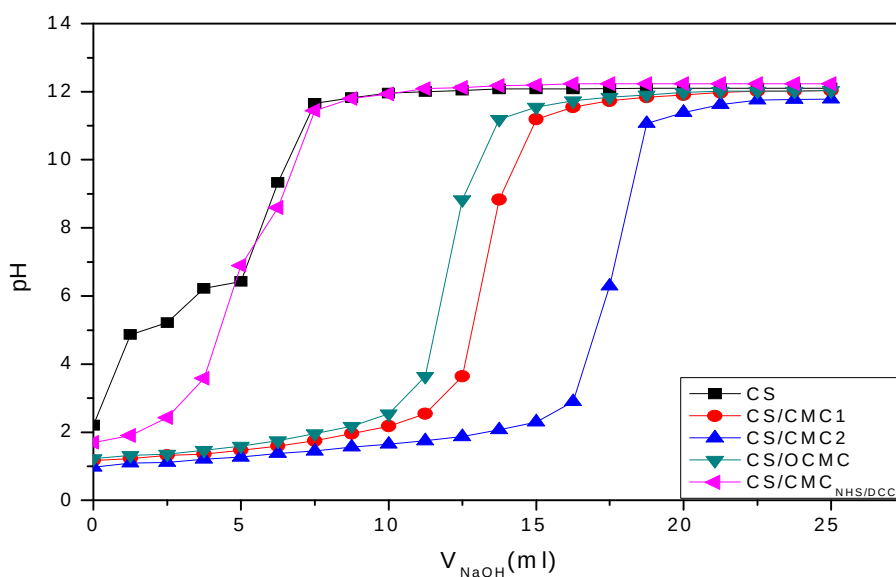


Figure III.3. Titration de pH du CS, CS/CMC1, CS/OCMC, CS/CMC2, CS/CM_{CNHS/DCC}.

III.1.3. Titrations potentiométrique et conductométrique

La conductimétrie est la mesure de la conductance d'une solution. Pendant le titrage conductométrique, la conductivité électrique de la solution est constamment mesurée en même temps que les réactions chimiques se produisent. Les ions H^+ et OH^- contribuent dans la conductibilité de la solution car ce sont les ions les plus conducteurs.

- **Chitosane.**

Les variations du pH et de la conductivité électrique dans le cas de du chitosane sont présentées dans la **figure III.4**. On observe l'existence de trois régions distinctes. À partir de pH= 11, la première zone correspond à la neutralisation de l'excès de NaOH. La deuxième région entre les pH 7,2 et 4,5 correspond à la protonation de groupes NH_2 en $-NH_3^+$ du chitosane et la quantité de $-NH_2$ est estimée à 1,4 meq/g. Finalement, la quatrième région représente l'excès d'acide dans la solution.

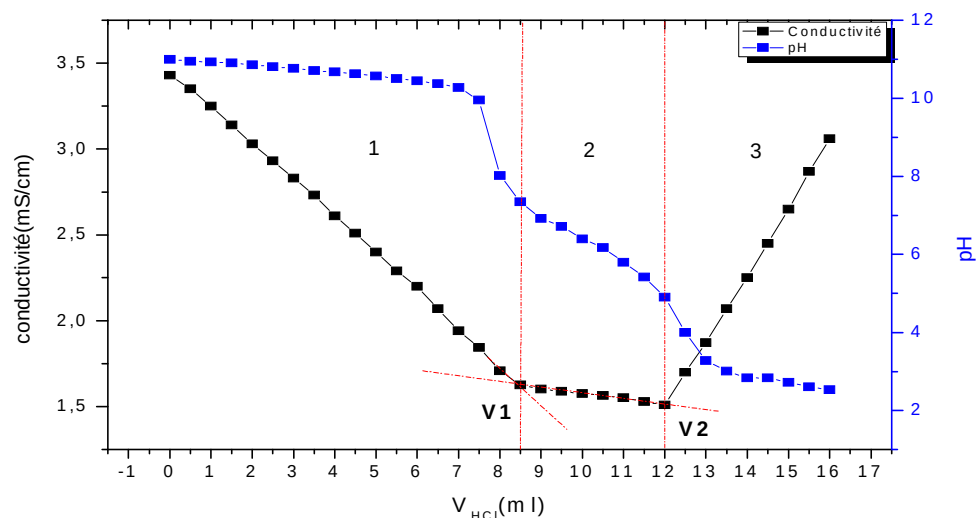


Figure III.4. Variations de la conductivité électrique et du pH du chitosane.

- **CS/CMC1.**

D'après la **figure III.5**, la courbe obtenue présente quatre régions distinctes. La première aux pH entre 11 et 3,32 correspond à la neutralisation de l'excès en NaOH. La seconde zone à pH compris entre 3,32 et 2,56 est attribuée à la protonation des groupes $-\text{OCH}_2\text{COO}^-$ en $-\text{OCH}_2\text{COOH}$ de la CMC. La troisième région aux pH entre 2,56 et 2,23 correspond à la protonation des groupes NH_2 en NH_3^+ appartenant au chitosane. Et enfin, la dernière région aux pH compris entre 2,23 et 2 représente l'excès d'acide chlorhydrique. Les quantités des protons issus de HCl qui ont réagi avec les groupements $-\text{OCH}_2\text{COO}^-$ calculées à partir de la seconde région sont 0,29 meq/g alors que les quantités de protons qui ont réagi avec les $-\text{NH}_2$ du chitosane calculées à partir de la troisième région sont 0,64 meq/g.

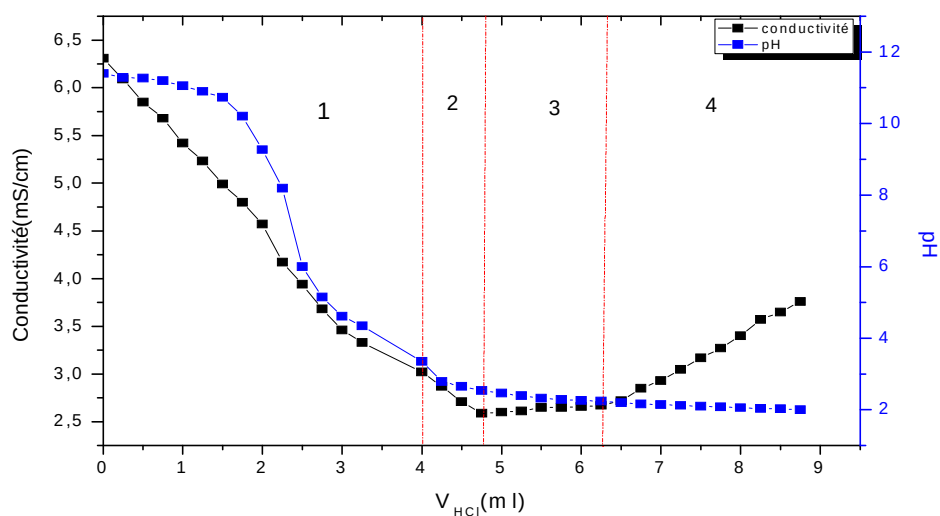


Figure III.5. Variations de la conductivité électrique et du pH de CS/CMC1.

- **CS/CMC2.**

D'après la **figure III.6**, la courbe obtenue présente quatre régions distinctes. Les quantités des protons issus de HCl qui ont réagi avec les groupements $-\text{OCH}_2\text{COO}^-$ calculées à partir de la seconde région sont 0,33 meq/g alors que les quantités de protons qui ont réagi avec les $-\text{NH}_2$ du chitosane calculées à partir de la troisième région sont 0,83 meq/g.

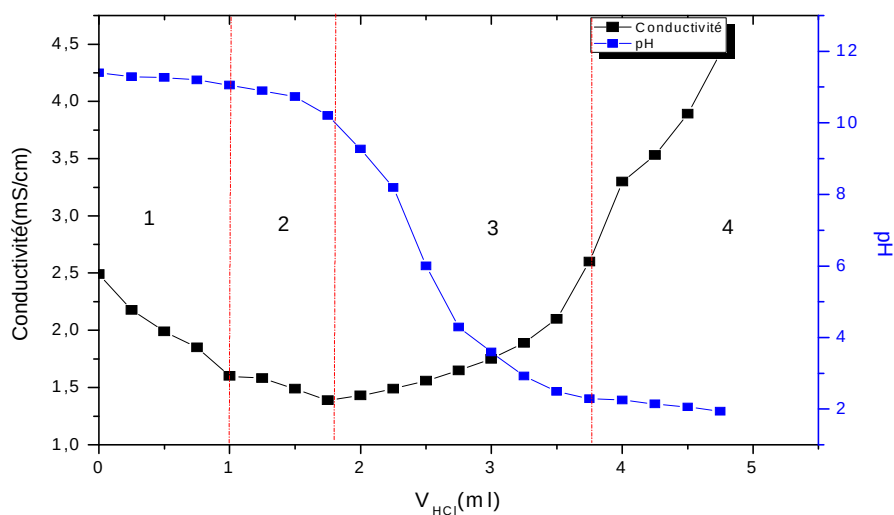


Figure III.6. Variations de la conductivité électrique et du pH du CS/CMC2.

- **CS/OCMC.**

D'après la **figure III.7**, la courbe tracée montre quatre régions distinctes. Les quantités de $\text{-OCH}_2\text{COO}^-$ (protonés par HCl) calculées à partir de la deuxième région sont 0,3 meq/g alors que celles de -NH_2 à partir de la troisième région sont de 0,6 meq/g.

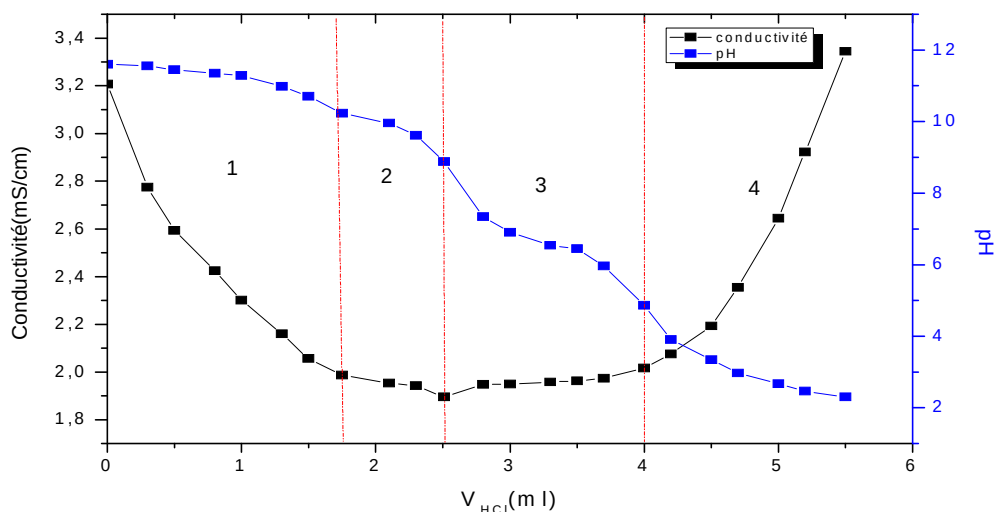


Figure III.7. Variations de la conductivité électrique et du pH du CS/OCMC.

- **CS/CMC_{NHS/DCC}.**

La **figure III.8** montre aussi quatre régions différentes. Les quantités calculées de $\text{-OCH}_2\text{COO}^-$ à partir de la deuxième zone et -NH_2 à partir de la troisième zone, suite à l'action de HCl, sont respectivement 0,25 meq/g et 0,78 meq/g.

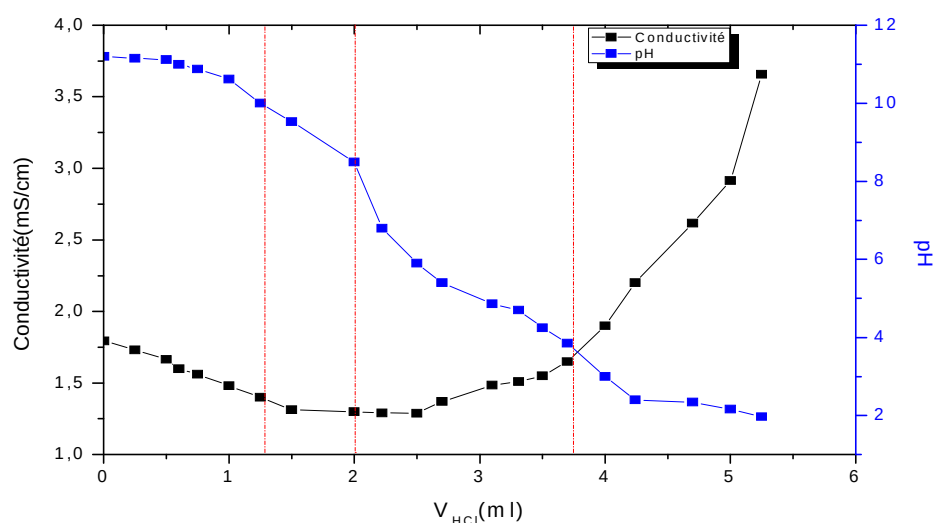


Figure III.8. Variations de la conductivité électrique et du pH de CS/CMC_{NHS/DCC}.

Nous pouvons, alors, illustrer tous nos résultats dans le tableau suivant (**Tableau II.6**). Nous remarquons que les NH₂ diminuent suite à l'addition des différentes CMC et au fur et à mesure que ces derniers ont tendance à travers les fonctions organiques qu'ils comportent à former des réseaux chimiques stables.

Tableau III.6. Quantités des groupes NH₂ et -COO⁻ dans les différents matériaux déterminées par titrations potentiométrique et conductimétrique.

Matériau	CS	CS/CMC1	CS/CMC2	CS/OCMC	CS/CMC _{DCC/NHS}
Groupe NH ₂ (meq/g)	1,4	0,64	0,83	0,6	0,78
Groupe -COO ⁻ (meq/g)		0,29	0,33	0,3	0,25

III.2. Etude structurale

III.2.1. Spectroscopie IR-TF

III.2.1.1. Spectroscopie IR-TF de la CMC, la CMC oxydée par H₂O₂ et la CMC oxydée par H₂O₂/CuSO₄

La **figure III.10** illustre les spectres IR-TF des composés cités ci dessus.

La carboxyméthylcellulose (**Figure III.9**) manifeste une bande forte et large à 3441cm^{-1} qui correspond aux vibrations d'élongation des O-H, deux pics moyens à 2925 cm^{-1} et 2845 cm^{-1} dus respectivement aux vibrations d'élongation asymétrique et symétrique des C-H aliphatiques, et une forte absorption à 1600 cm^{-1} attribuée directement aux vibrations d'élongation asymétriques des groupements carboxylates de la CMC (**Muzzarelli, 1982**). Quant à 1418 cm^{-1} , le pic correspondant est assigné à la vibration d'élongation symétrique de COO^- (**Liuyun et al., 2009**) alors qu'à 1078 cm^{-1} , différents auteurs (**Park, 2004 ; Suflet et al., 2006 ; Ren et al., 2008**) font correspondre cette absorption aux vibrations de déformation des groupements latéraux glycosidique d'éther (C-O-C). Il est aussi signalé (**Wang et Somasundaran, 2005**) que la bande aux alentours de 770 cm^{-1} est due aux déformations et aux étirements du cycle dans les positions $\alpha\text{-D-(1-4)}$ et $\alpha\text{-D-(1-6)}$.

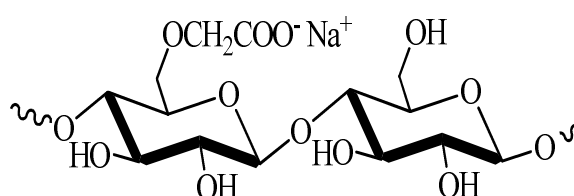


Figure III.9. Structure des deux unités adjacentes monomériques du sel CMC.

Après oxydation de la CMC par le peroxyde d'hydrogène, il y a apparition d'un nouveau pic à 1728 cm^{-1} qui est caractéristique de l'étirement des groupes C=O (**Li et al., 2011 ; Anjali, 2012**) et qui selon **Anjali (2012)**, c'est une confirmation sans ambiguïté de l'oxydation de la carboxyméthylcellulose. Il est rapporté aussi dans les différents ouvrages d'analyse par spectroscopie IR (**Selverstain, 1998**) que le C=O existant dans cette région peut appartenir soit à un dérivé comportant un formate, soit à un aldéhyde ou en encore à acide carboxylique dans la forme dimère.

Il est à noter que l'ajout du catalyseur, le sulfate de cuivre, au peroxyde d'hydrogène entraîne une amplification de tous les pics en comparaison au spectre du composé oxydé sans catalyseur. L'allure du spectre se trouve conserver à l'exception dans la région inférieure à 596 cm^{-1} . Par ailleurs, nous devons citer qu'après oxydation (en présence ou en l'absence du catalyseur), la région entre $850\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ se trouve complètement changer. Il y a apparition de trois pics à 800 cm^{-1} , 706 cm^{-1} et 596 cm^{-1} .

Pour ce qui est de l'intensification assez visible à 888 cm^{-1} , elle est assignée aux hémiacétales, formes hydratées des aldéhydes ou des cétones de la cellulose (**Kuniak *et al.*, 1969**).

Le pic à 2925 cm^{-1} préalablement attribué aux vibrations d'élongation des C-H aliphatiques des méthylènes subit un déplacement avec une augmentation de son intensité vers 2917 cm^{-1} . Ce qui indique que le nombre des C-H aliphatiques a augmenté suite à l'oxydation de la CMC.

Aussi, nous avons remarqué que le sommet de la bande à 3445 cm^{-1} (vibration d'élongation des OH) s'est déplacé vers 3393 cm^{-1} .

En regardant de près les trois différents spectres, il apparaît clairement que la bande à 1078 cm^{-1} dépasse en intensité celle à 1600 cm^{-1} dans le cas de la CMC non oxydée, alors qu'après oxydation par la H_2O_2 , le pic à 1078 cm^{-1} diminue progressivement et surtout en présence de CuSO_4 .

Le pic à 1325 cm^{-1} lui aussi est d'une importance à ne pas négliger dans le cas des acides carboxyliques. Il augmente en intensité après oxydation. Il est plausible qu'il corresponde aux vibrations d'élongation de C-O puisque le pic qui doit impérativement l'accompagner existe à 1409 cm^{-1} appartenant dans ce cas de figure aux vibrations de déformation des O-H du groupe acide carboxylique. Aussi, l'absorption à cette fréquence est un moyen qui permet de mettre en évidence la présence de groupement aldéhydes.

A. Effet de la concentration de l'agent oxydant (H_2O_2)

L'augmentation de la concentration de H_2O_2 affecte visiblement les deux pics à 1409 cm^{-1} et 1325 cm^{-1} qui s'intensifient progressivement avec la quantité de H_2O_2 (**Figure III.11**).

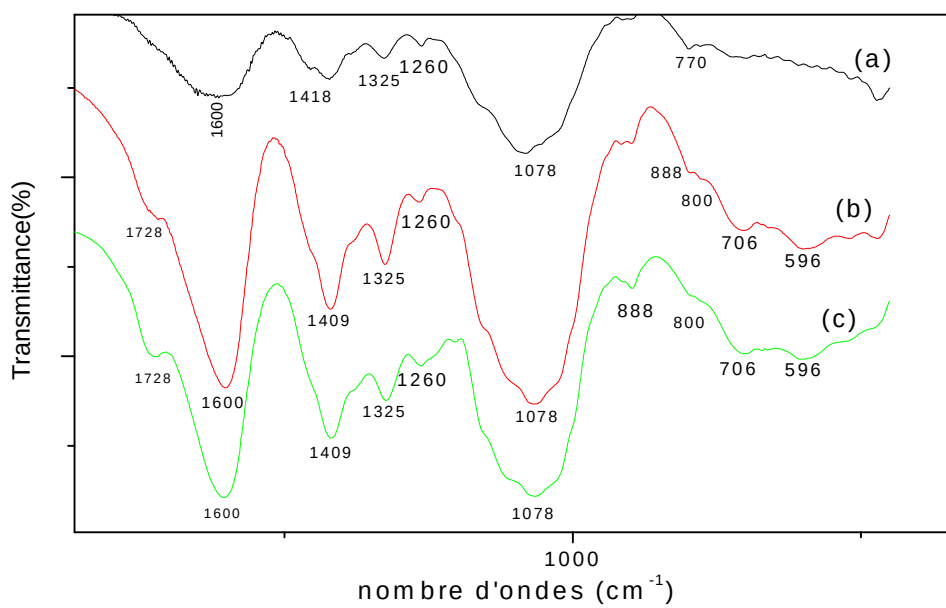
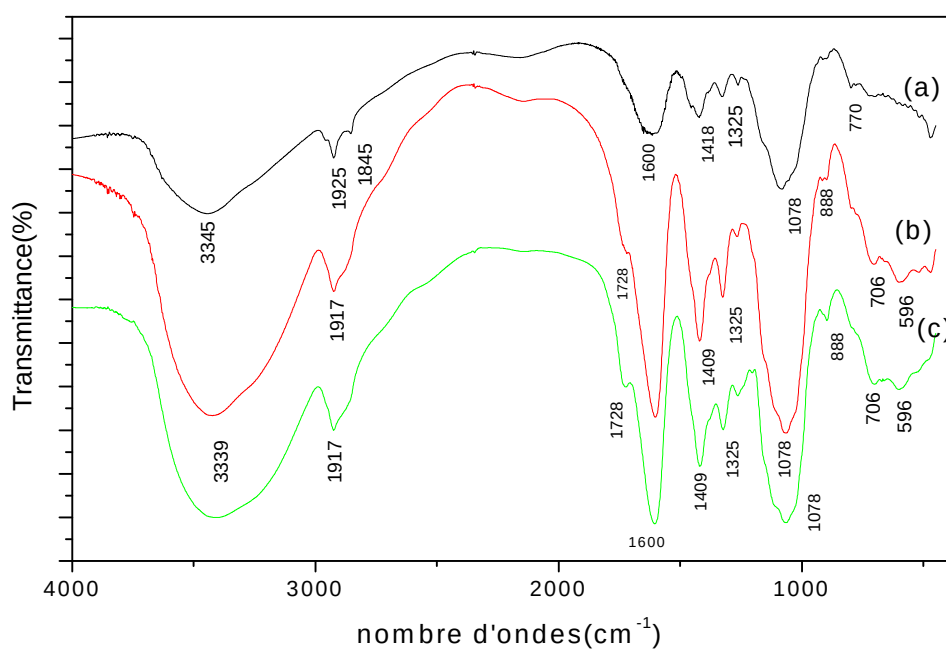


Figure III.10. Spectres IR-TF de la CMC (a), des CMC oxydées à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h par H₂O₂ (14,2%) (b), H₂O₂ (14,2%)/CuSO₄·5H₂O (0,5%) (c).

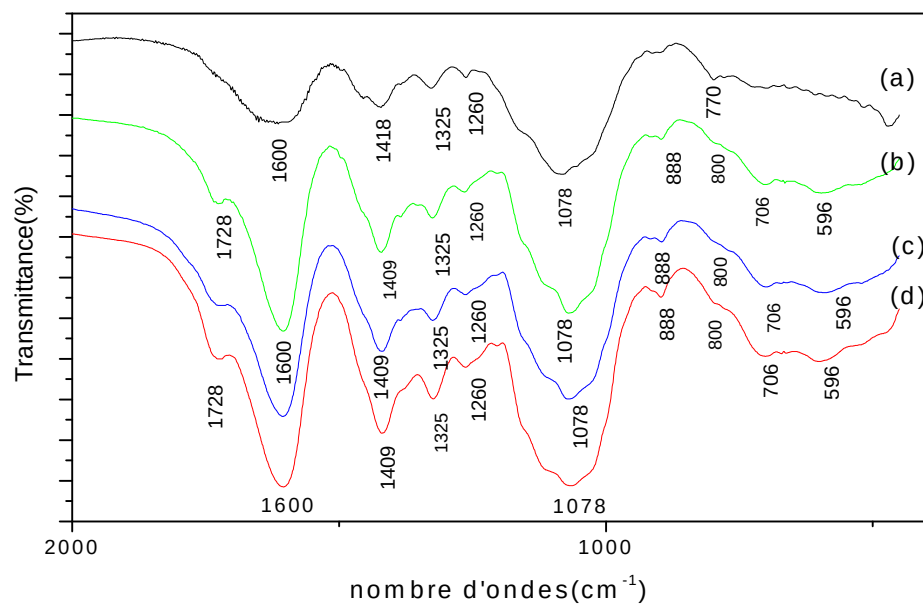
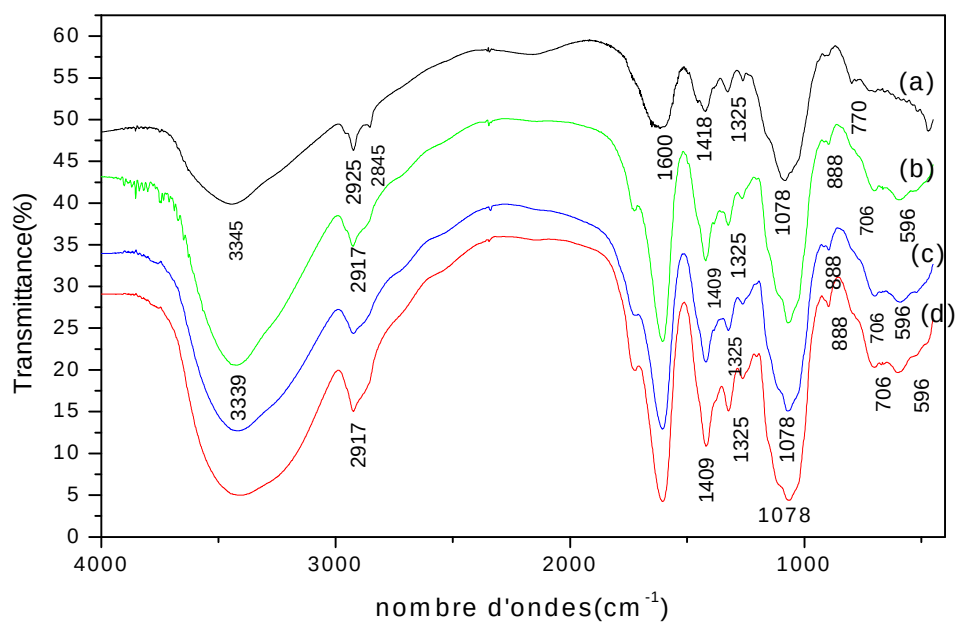


Figure III.11. Spectres IR-TF de la CMC (a), des CMC oxydées à T = 55°C, pH= 5,5 et t=3 h. par H₂O₂ (14,2%)/CuSO₄.5H₂O (0,5%) (b), H₂O₂ (27,2%)/CuSO₄.5H₂O (0,5%) (c), H₂O₂ (42,5%)/CuSO₄.5H₂O (0,5%) (d).

B. Effet du temps

D'après la **figure III.12**, nous avons en plus des pics caractéristiques des groupements carbonyles C=O à 1728 cm^{-1} et 888 cm^{-1} (pic attribué à la forme hydratée des aldéhydes et cétone) qui deviennent plus intenses avec le temps de la réaction d'oxydation, la balance (en intensité) entre les deux bandes à 1600 cm^{-1} et 1078 cm^{-1} change en faveur de celui à 1600 cm^{-1} jusqu'à ce que ce dernier se met au même niveau avec le pic à 1078 cm^{-1} .

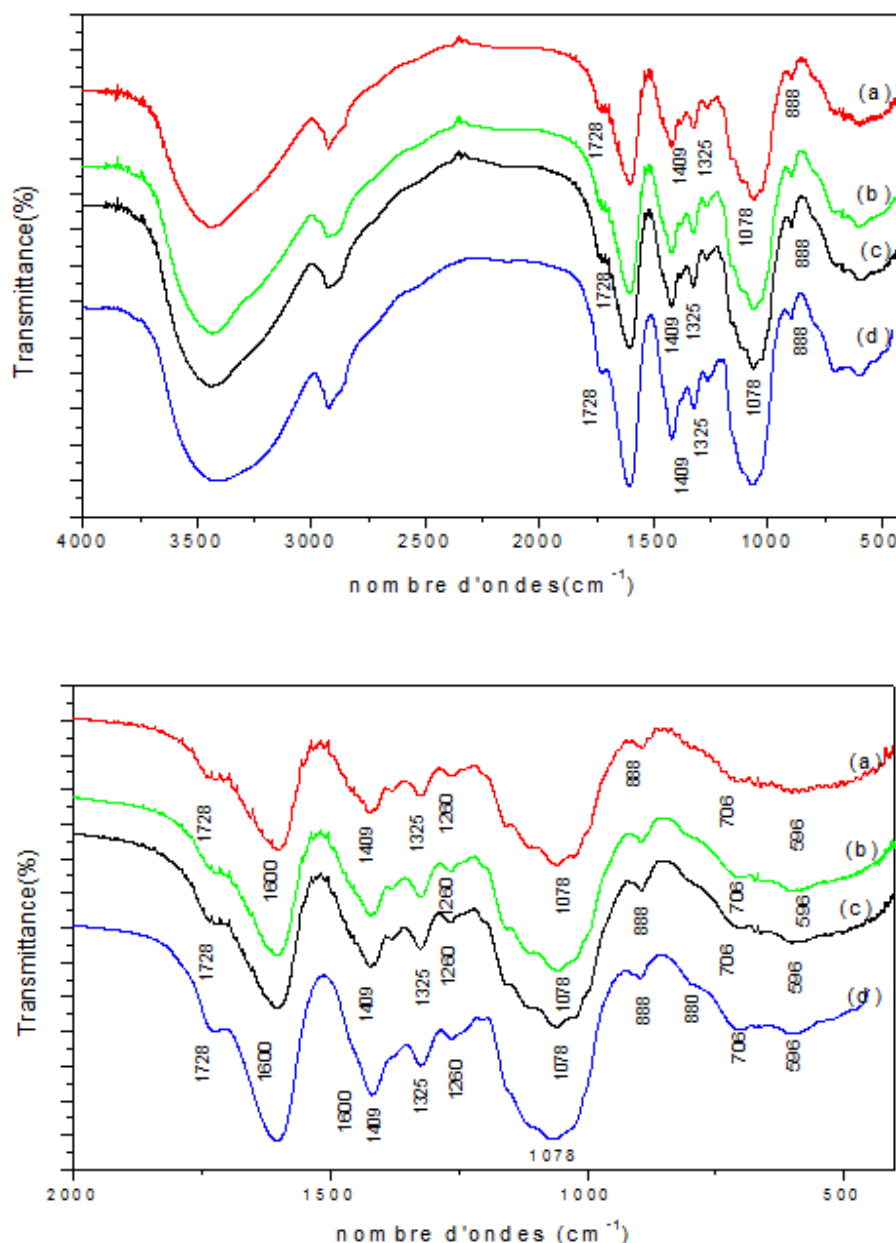


Figure III.12. Spectres IR-TF des CMC oxydées à $T=55^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5,5$ par H_2O_2 (14,2%) / $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%) à : $t=1\text{h}$ (a), $t=3\text{h}$ (b), $t=5\text{h}$ (c), $t=24\text{h}$ (d).

C. Effet de la température

La température a un effet important sur la réaction d'oxydation de la CMC en présence de H_2O_2 (14,2%) / $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%). Lorsque la température augmente de 30°C jusqu'à 60°C , le sommet de la bande à 3345 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation des OH se déplace vers 3393 cm^{-1} (**Figure III.13**). Aussi, la bande à 1078 cm^{-1} s'est intensifiée et devient de plus en plus large.

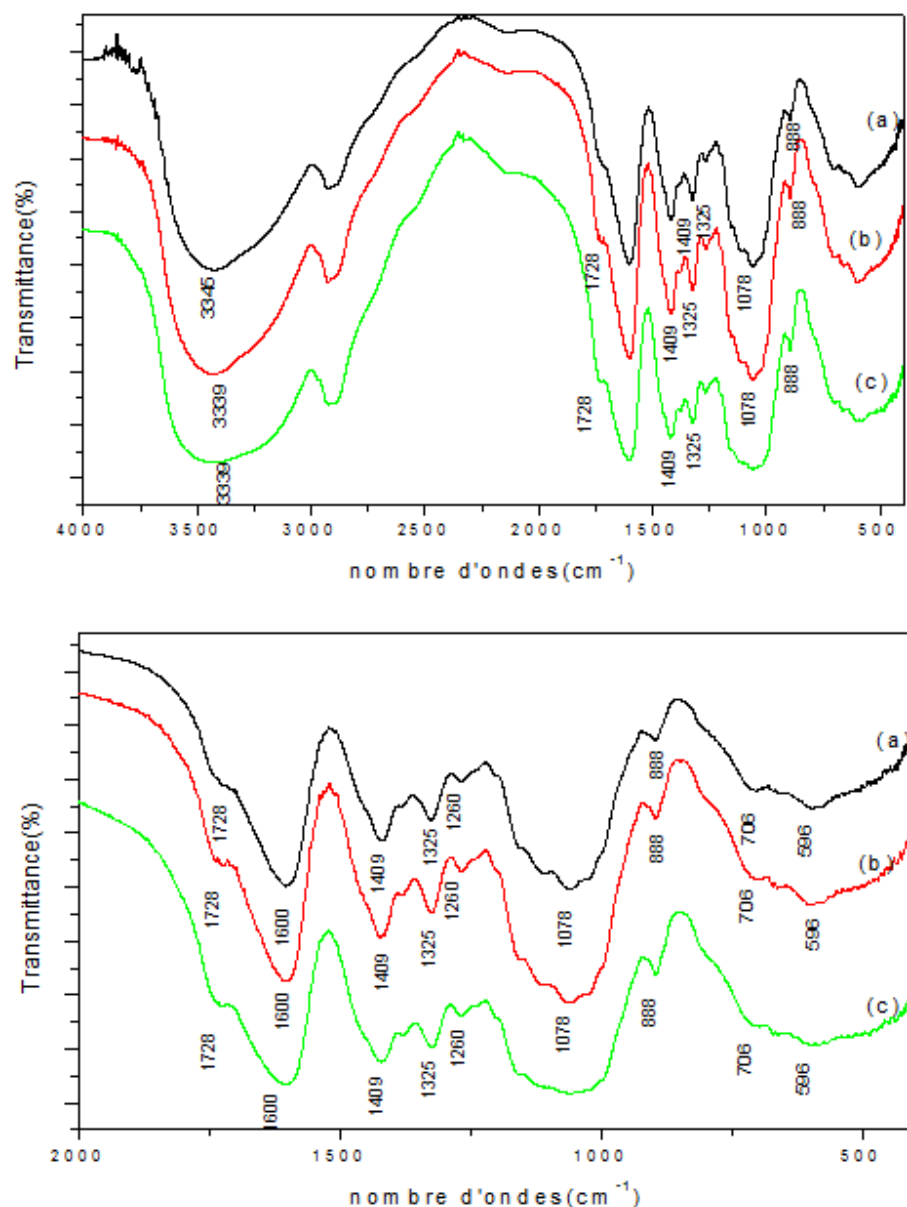


Figure III.13. Spectres IR des CMC oxydées au pH=5,5 et $t=3\text{ h}$ par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.5%) à $T=30^\circ\text{C}$ (a), $T=60^\circ\text{C}$ (b), $T=75^\circ\text{C}$ (c).

III.2.1.2. Spectroscopie IR-TF du CS/CMC

Au départ, à partir de la **figure III.14**, nous avons interprété les pics caractéristiques du chitosane en absence de la carboxyméthylcellulose.

La large bande à 3440 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des groupes N-H et O-H (**Al-Sagheer et al., 2014**). Les bandes à 2917 cm^{-1} , 2848 cm^{-1} et 1376 cm^{-1} correspondent aux C-H aliphatiques (**Prabhu et Meenakshi, 2014**). Le pic à 1650 cm^{-1} est assigné aux carbonyles des amides secondaires (**Dumont et al., 2016**). La bande à 1564 cm^{-1} est due à la vibration de N-H de l'amine primaire désacylée. En outre, le pic à 1076 cm^{-1} indique la vibration d'élongation C-O du chitosane. La bande de C-N apparait aux environs de 895 cm^{-1} (**Ibrahim et al., 2010**).

Pour l'étude antibactérienne, nous avons déterminé le degré de désacétylation (DDA) qui est calculé en utilisant l'équation de la ligne de base à 1650 cm^{-1} et 3450 cm^{-1} (**Abdulwadud et al., 2013**).

$$\text{DDA}\% = (100 - A_{1650\text{ cm}^{-1}} / A_{3450\text{ cm}^{-1}}) \times 115 = 60,66\%.$$

Avec :

$$A_{1650\text{ cm}^{-1}} = -\log\left(\frac{\text{Transmittance } 1650\text{ cm}^{-1}}{100}\right),$$

$$A_{3440\text{ cm}^{-1}} = -\log\left(\frac{\text{Transmittance } 3440\text{ cm}^{-1}}{100}\right),$$

115 : Coefficient de correction de la ligne de base.

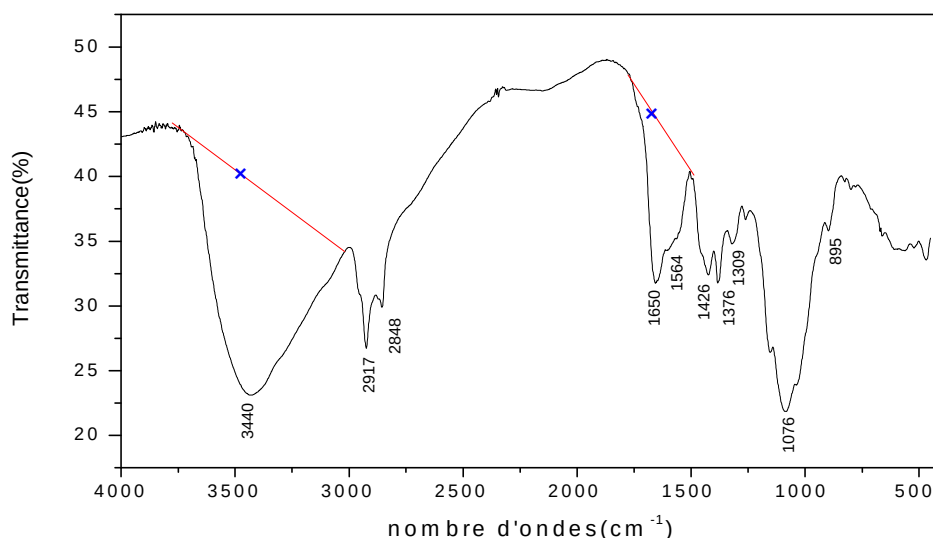


Figure III.14. Spectre IR du Chitosane.

- **CS/CMC1**

D'après la **figure III.16**, l'ajout du chitosane à la CMC selon la première étude dont le milieu de la préparation du complexe CS/CMC1 était acide (pH=3,5), le spectre obtenu est analogue à celui enregistré par **Rosca et al., (2005)**. Les pics à 1633cm^{-1} , 1525cm^{-1} , 1368cm^{-1} sont attribués respectivement aux amides I, $-\text{NH}_2$ et amide II alors qu'à 1157cm^{-1} , 1068cm^{-1} , 1032cm^{-1} sont propres aux vibrations du squelette des polysaccharides.

Notons que le spectre correspondant nous affiche indubitablement la présence de sels d'amines $-\text{NH}_3^+ \text{Cl}^-$ sous forme d'un pic large à 2054cm^{-1} qui est attribué selon **Silverstein (1998)** à une combinaison de la déformation angulaire symétrique du groupe NH_3^+ avec l'oscillation de torsion de ce même groupe. L'oscillation de torsion apparait selon la bibliographie vers 500cm^{-1} . Elle est dans notre cas visible à 559cm^{-1} . Et aussi une absorption du carbonyle est observée à 1735cm^{-1} des hydrochlorures d'acides aminés qui n'est autre dans notre cas que le groupe $-\text{NH}_3^+ \text{Cl}^- \text{HOOC}-$ issus du CS et CMC respectivement.

Aussi, la bande à 1633cm^{-1} correspond à la déformation angulaire asymétrique du groupe $-\text{NH}_3^+$ accompagnée de la déformation angulaire symétrique à 1525cm^{-1} (**Silverstein, 1998**).

La présence du pic à 1633cm^{-1} est surtout attribuée (**Rosca et al., 2005**) à la formation du complexe intermoléculaire qui est formé suite aux interactions électrostatiques entre les groupes

cationiques provenant des $\text{CS-NH}_3^+ \text{Cl}^-$ et les groupes anioniques de la $\text{CMC-COO}^- \text{Na}^+$. La réaction est schématisée ci après. Elle est réversible (**Figure III.15**).

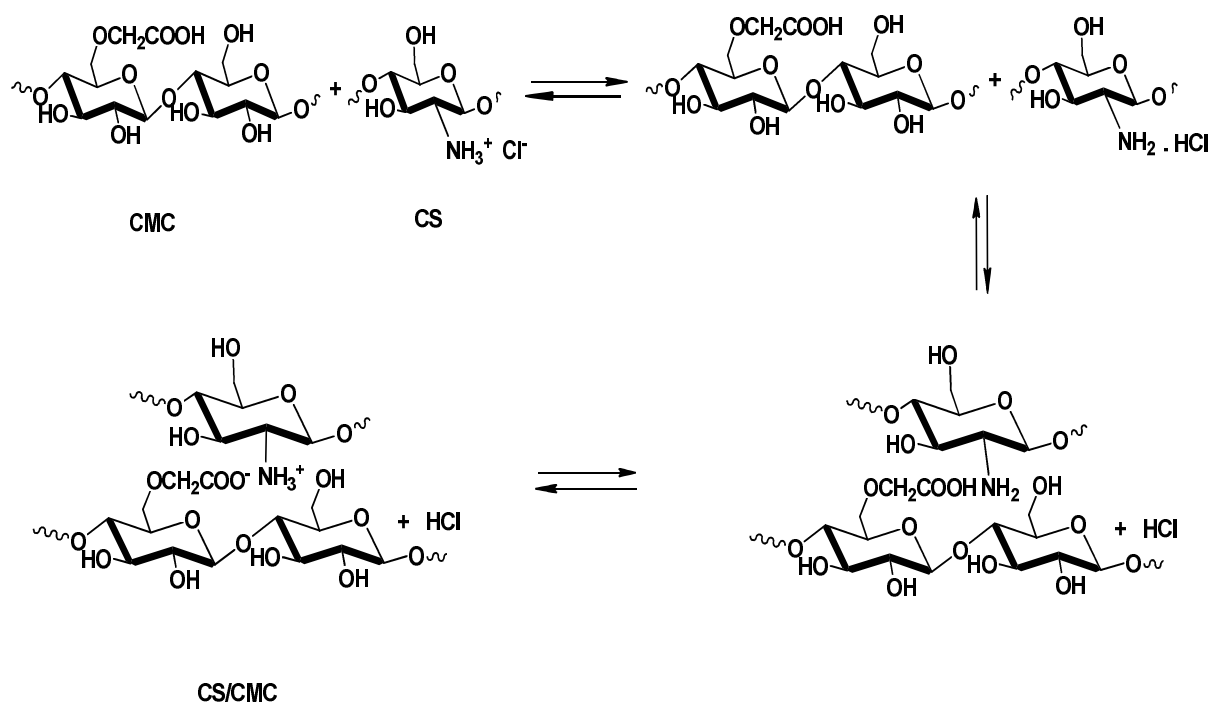


Figure III.15. Interactions physiques entre le chitosane et la carboxyméthylcellulose.

- **CS/CMC2**

Cependant, les spectres enregistrés, selon le mode opératoire 2, indiquent que la matrice obtenue se compose des ions carboxylates COO^- qui absorbe fortement à 1600cm^{-1} et plus faiblement à 1418cm^{-1} (**Figure III.17**).

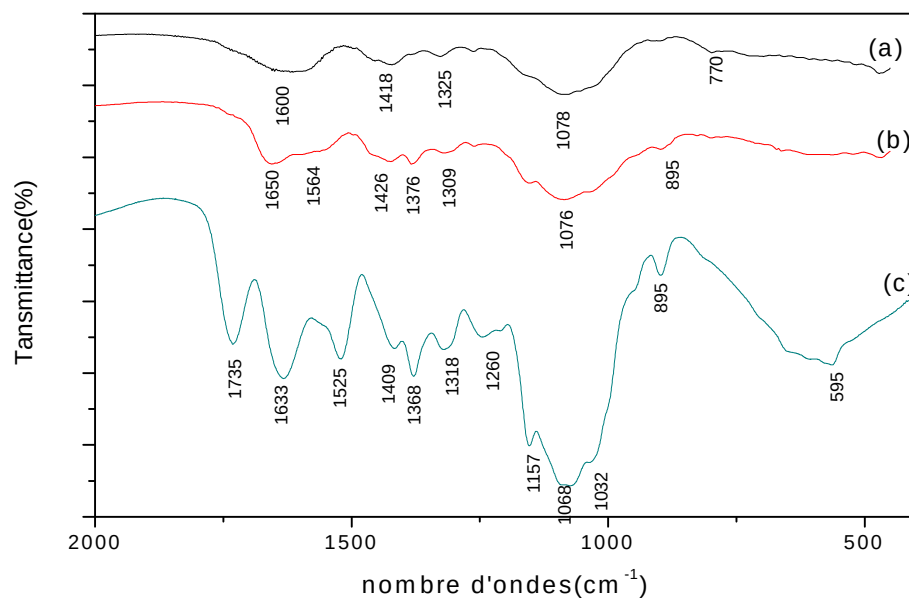
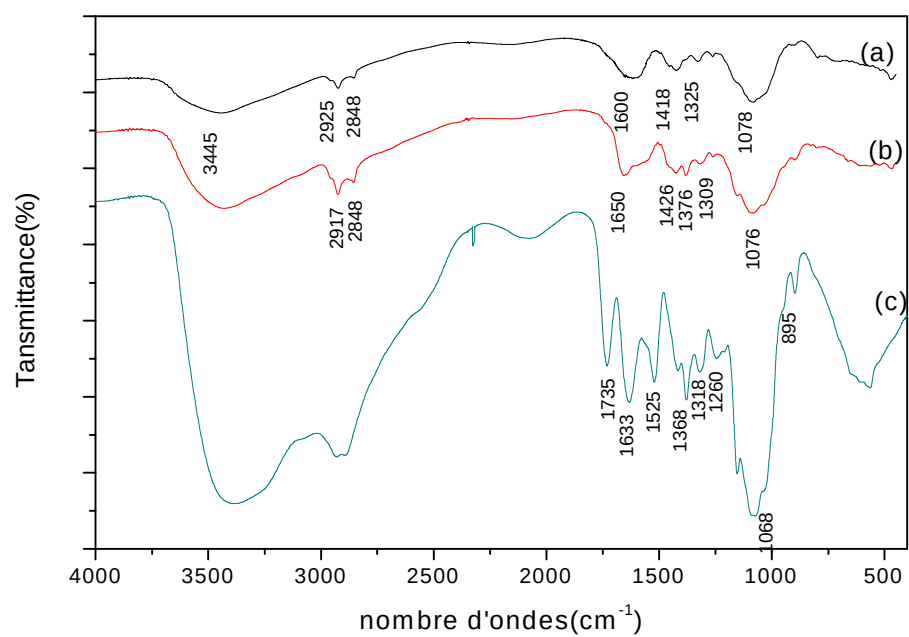


Figure III.16. Spectres IR-TF de la CMC (a), du chitosane (b), et CS/CMC1(c).

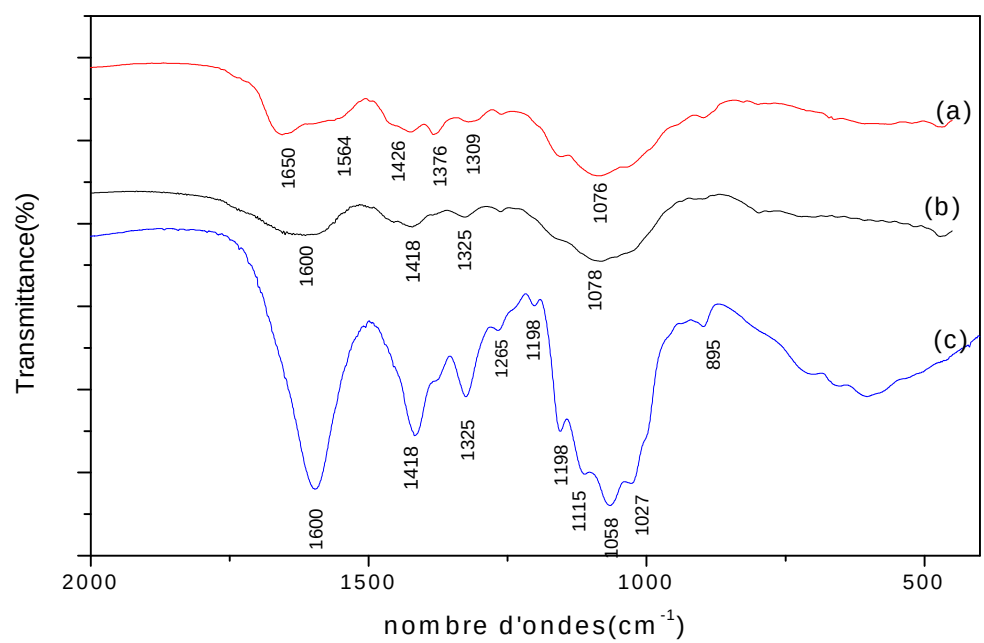
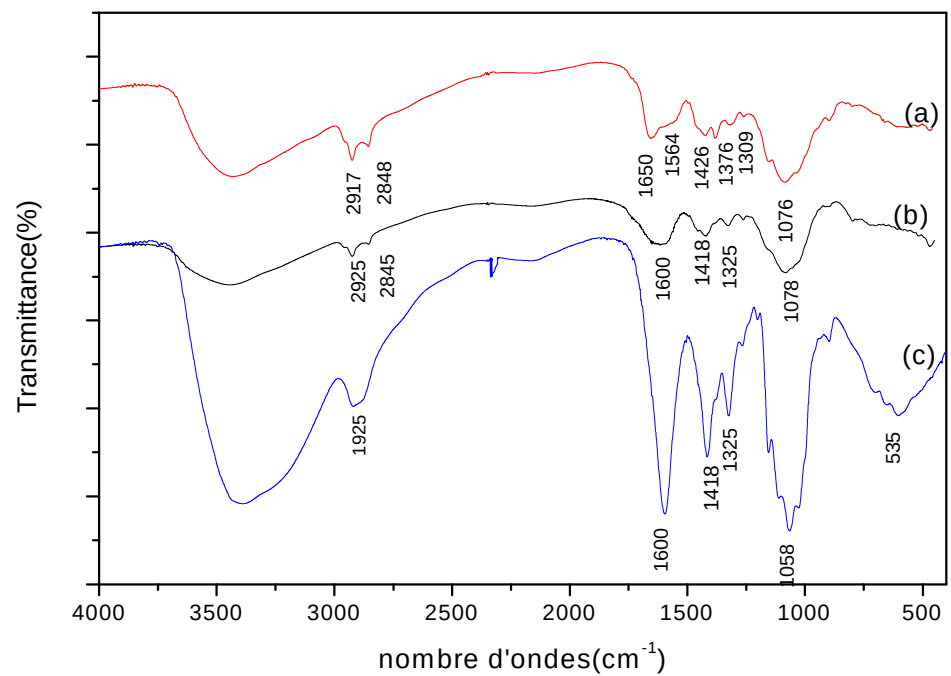


Figure III.17. Spectres IR-TF du chitosane (a), de la CMC (b) et du CS/CMC2 (c).

III.2.1.3. Spectroscopie IR-TF du CS/OCMC

Le spectre du complexe chitosane/OCMC montre une bande fine à 1733 cm^{-1} au lieu de 1728 cm^{-1} dans le cas de la CMC oxydée (**Figure III.19**). Ce déplacement est le résultat de la formation de nouveaux groupements tels que l'imine ou l'amide, ou encore à un réseau physique, type ammonium carboxylate.

Le spectre révèle aussi une absorption large et intense entre 1683 et 1608 cm^{-1} dont le sommet se situe aux environs de 1625 cm^{-1} .

Les réactions possibles entre la chitosane et la carboxyméthylcellulose oxydée peuvent être schématisées comme suit (**Figure III.18**)

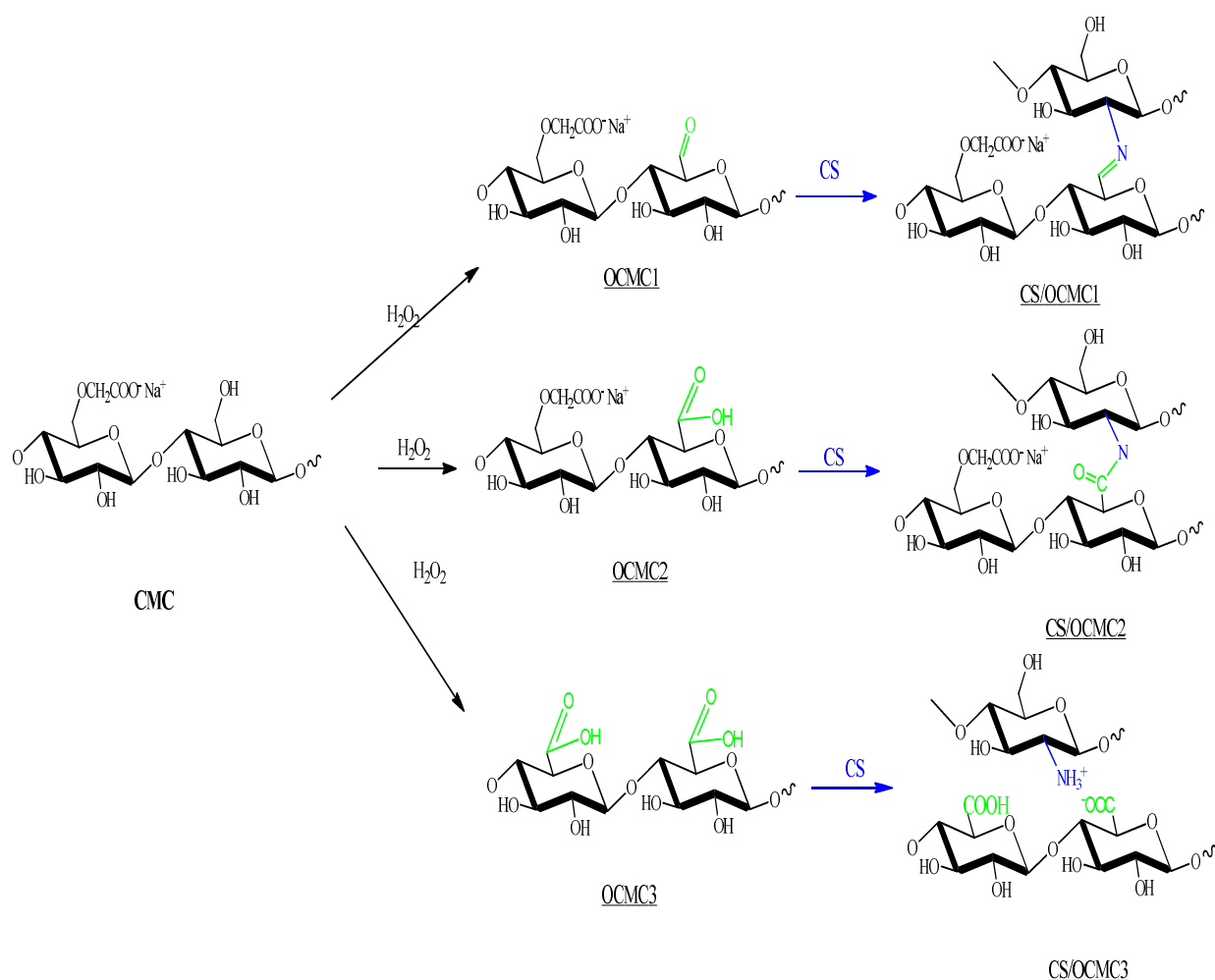


Figure III.18. Réactions les plus probables entre la carboxyméthylcellulose oxydée par $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CuSO}_4$ et le chitosane.

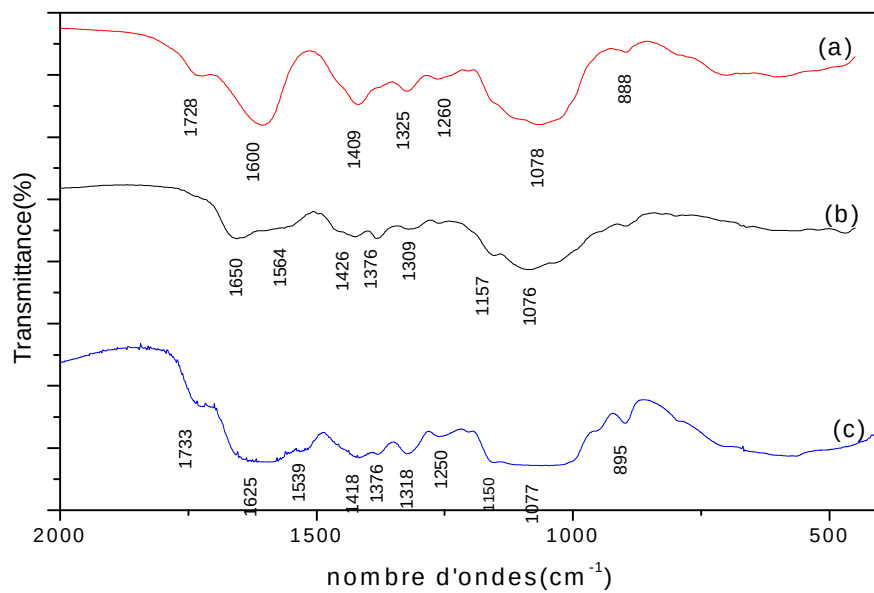
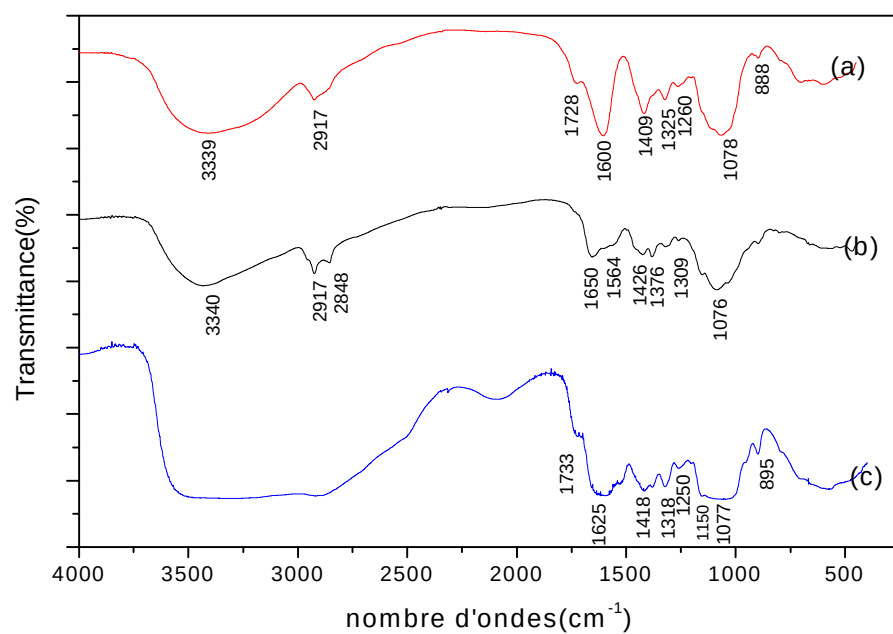


Figure III.19. Spectres IR-TF de l'OCMC (a), du chitosane (b), du CS/OCMC (c).

III.2.1.4. Spectroscopie IR-TF du CS/CMC_{NHS/DCC}

Le spectre IR-TF du CS/CMC_{NHS/DCC} est donné dans la **figure III.20**. Il montre des pics fins et bien résolus. À 1625 cm^{-1} et 1571 cm^{-1} , il existe deux pics distincts qui sont assignés respectivement à la vibration de la bande I et II des amides (**El-Sherbiny, 2009**). Tous les amides présentent une bande d'absorption carbonyle connue sous le nom de la bande I des amides. Sa position dépend du degré de ponts hydrogène formés et de l'état physique du composé. Pour ce qui est de la bande II des amides, elle est due à la déformation angulaire des NH. Cette absorption implique le couplage entre la déformation angulaire du lien NH et d'autres vibrations fondamentales et nécessite une géométrie trans.

Le balancement hors du plan du lien N-H, appartenant à RCONHR, est responsable d'une large bande d'intensité moyenne dont le sommet se trouve dans notre cas à 631 cm^{-1} . En plus, des fréquences d'élongation, d'intensité moyenne, du lien N-H correspondant aux vibrations d'élongation asymétrique et symétrique apparaît à 3322 cm^{-1} . Cette bande est observée, dans les spectres solides, dans cette région à cause des ponts hydrogène (**Bidgoli et al., 2010**). Le détail de la réaction d'amidation entre le chitosane et la CMC par le NHS et le DCC est exprimé dans la **figure III.21**.

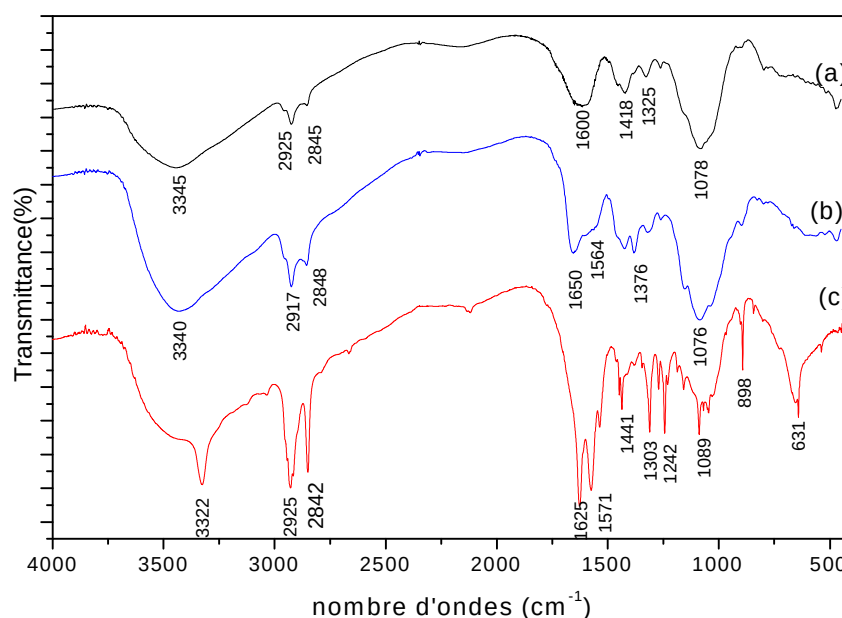


Figure III.20. Spectres IR-TF de la CMC (a), le chitosane (b), CS/CMC_{NHS/DCC} (c) (voir la suite en page suivante).

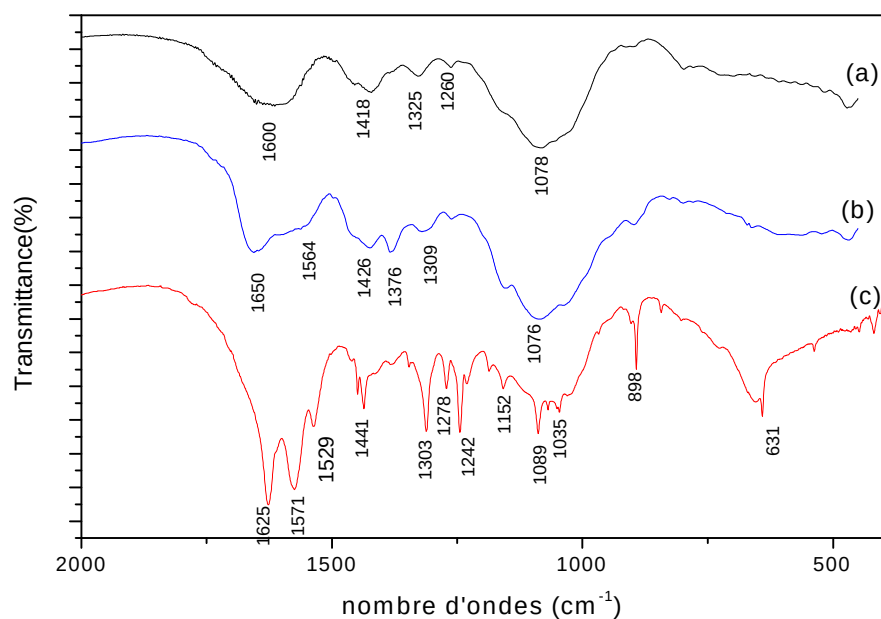


Figure III.20. Spectres IR-TF de la CMC **(a)**, le chitosane **(b)**, CS/CMC_{NHS/DCC} **(c)**.

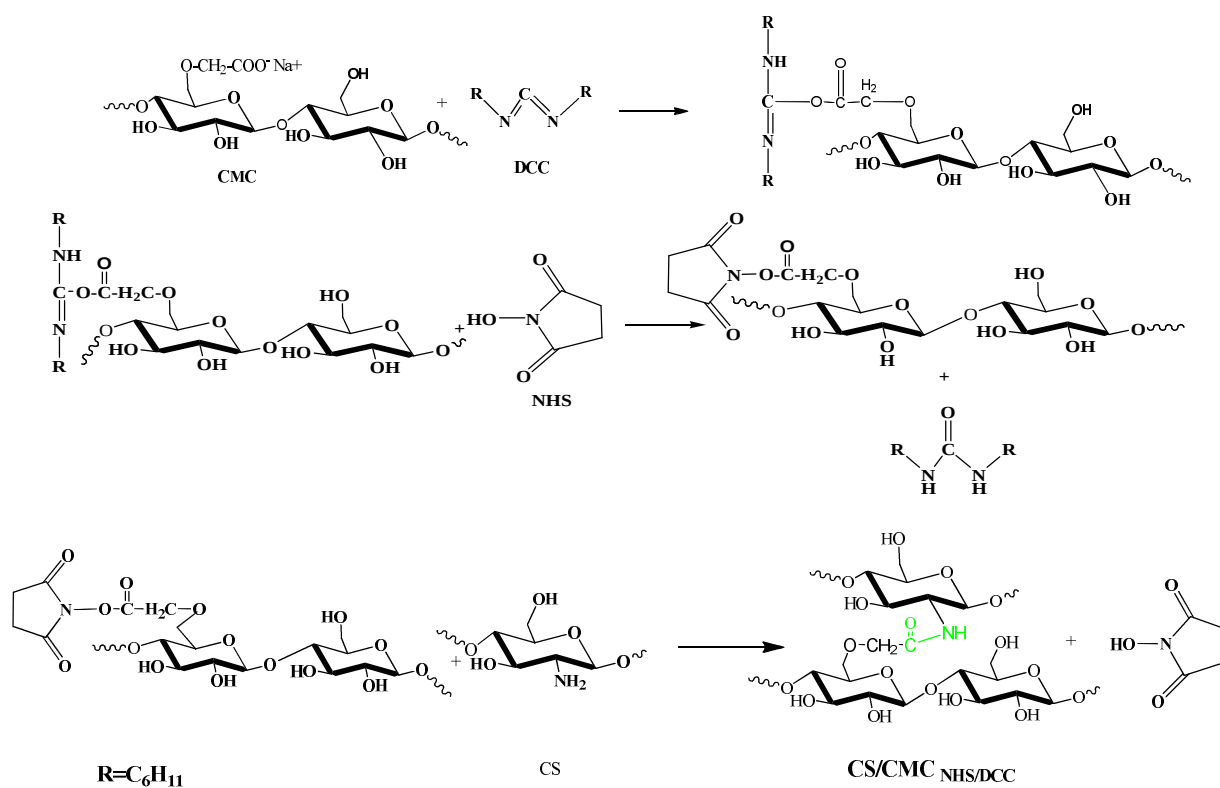


Figure III.21. Etapes de la réaction d'amidation de la CMC par le chitosane.

III.2.2. Spectroscopie UV-Vis

La spectroscopie UV-Vis peut être une méthode intéressante pour l'analyse qualitative et le suivi des réactions chimiques.

La figure III.22 montre que la carboxyméthylcellulose ne présente aucune bande d'absorption dans les spectres UV-Vis.

Après oxydation par le peroxyde d'hydrogène, on observe l'apparition d'une nouvelle bande située entre 270nm et 280nm qui correspond à la transition de $n-\pi^*$ du groupement C=O de l'aldéhyde ou d'une cétone (**Silverstein, 1998 ; Technique de l'ingénieur**).

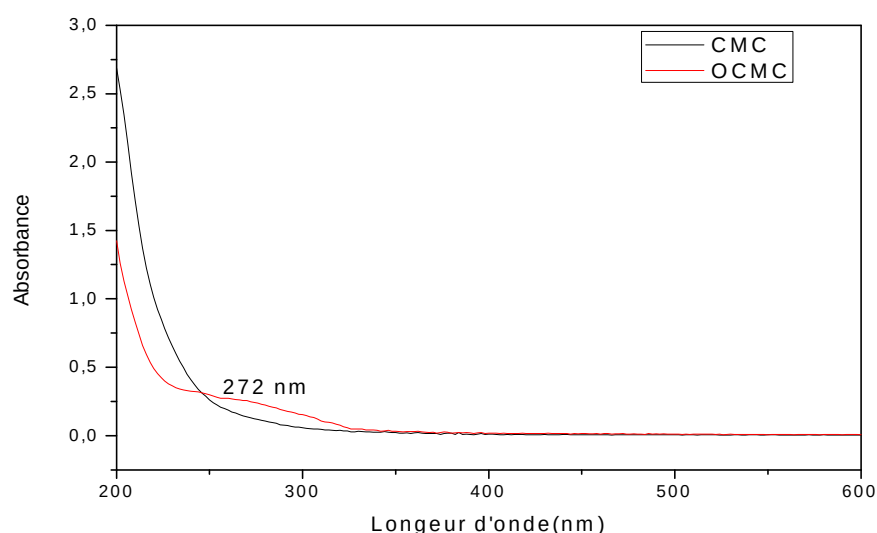


Figure III.22. Spectres UV-Vis de la CMC et la CMC oxydée par H_2O_2 (14,2%) à $T = 55^\circ C$, $pH = 5,5$ et $t = 3$ h.

A. Effet de la concentration du $CuSO_4$

De même, après oxydation par le peroxyde d'hydrogène et le sulfate de cuivre (**Figure III.23**), on constate que plus la concentration du $CuSO_4$ augmente de 0,25 à 1%, plus l'intensité du nouveau pic augmente. Mais, il s'avère aussi que les sommets de ce pic subissent des déplacements vers les faibles longueurs d'ondes (272nm, 264nm, 262nm) avec apparition d'un pic à 203nm dans le cas où la concentration en $CuSO_4$ utilisée est de 1%. Ce qui est attribué à la présence de nouveaux groupements acides carboxyliques $COOH$ (**Silverstein, 1998**).

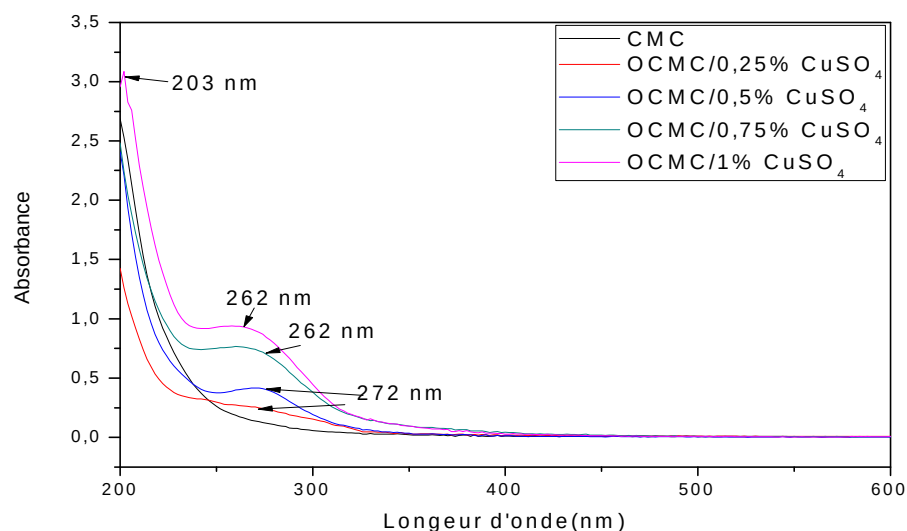


Figure III.23. Spectres UV-Vis de la CMC et CMC oxydées à $T = 55^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 5,5$ et $t = 3 \text{ h}$ par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en fonction de la concentration de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

B. Effet de la concentration du peroxyde d'hydrogène

Quand la concentration du peroxyde d'hydrogène est augmentée et celle de CuSO_4 est maintenue constante (à 0,5%), les spectres UV sont affectés (**Figure III.24**). Le shifting des pics sera alors de 272nm à 262nm et l'absorption à 203nm est aussi observée.

C. Effet de la température

L'augmentation de la température de la réaction d'oxydation par le peroxyde d'hydrogène en présence du sulfate de cuivre de 30°C à 60°C , entraîne une augmentation de l'intensité du pic aux alentours de 270nm (**Figure III.25**). Les mêmes remarques données *en supra* sont aussi observées. Sauf, à $T = 75^{\circ}\text{C}$, l'intensité du pic ($\sim 272\text{nm}$) se trouve diminuer par rapport à celui du matériau préparé à 60°C . Aussi, aux environs des 230nm, un épaulements apparaît et augmente avec la température de la réaction. Ce qui traduit la formation des nouveaux groupes fonctionnels menant à une transformation de la macromolécule.

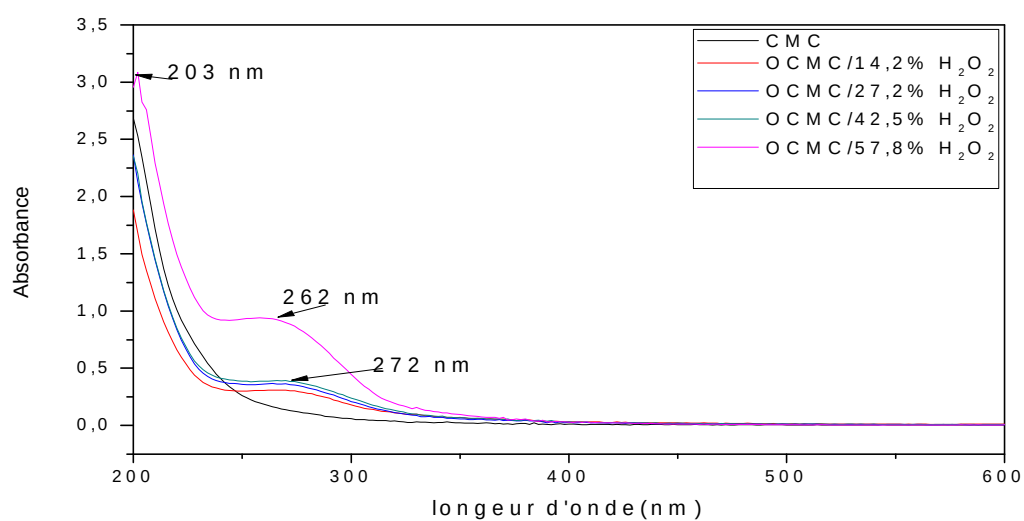


Figure III.24. Spectres UV-Vis de la CMC et CMC oxydées à T=55°C, pH=5,5 et t=3 h par H₂O₂ /CuSO₄.5H₂O (0,5%) en fonction de la concentration du peroxyde d'hydrogène.

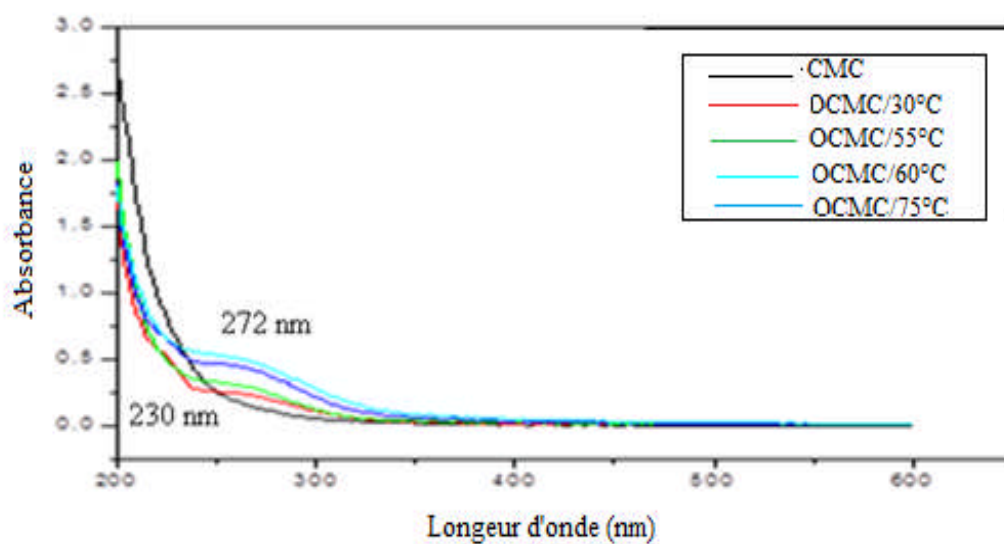


Figure III.25. Spectres UV-Vis de la CMC et des CMC oxydées au pH= 5,5 et t=3 h par H₂O₂ (14,2%)/CuSO₄.5H₂O (0,5%) selon la température.

Il est intéressant de rappeler dans le cas ci présent que la carboxyméthylcellulose sodique suite à un traitement thermique (en fonction de la température) donne un excipient très utilisé en pharmacie galénique qui est un superdésintégrant et un émulsifiant dans le domaine alimentaire : la Croscarmellose de sodium. Ce traitement thermique conduit à une réticulation des chaînes de la macromolécule (**Figure III.26**). Il y a, par conséquent, des esters qui sont générés surtout entre les O-H liés au C6 et les acides carboxyliques du groupe carboxyméthylé de la CMC (<http://www.dfepharma.com>).

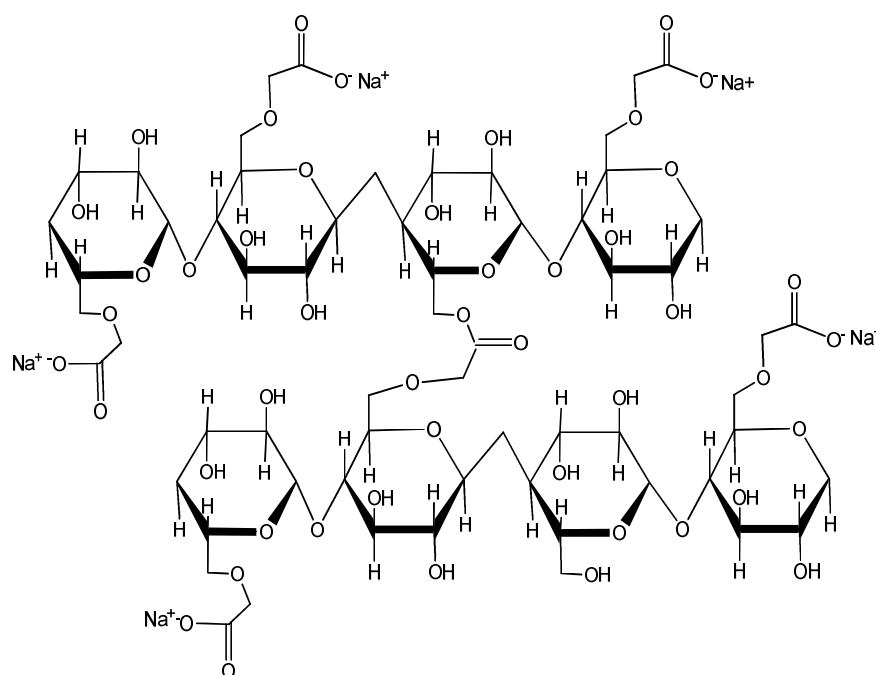


Figure III.26. Représentation schématique d'un fragment de la Croscarmellose sodium (<http://www.dfepharma.com>).

III.2.3. Diffraction des Rayons X

- CMC et CMC oxydée par H_2O_2

Selon les différents travaux menés par **Rangelova *et al.*, (2014)** et **Zhao *et al.*, (2009)**, le diffractogramme des rayons X de la carboxyméthylcellulose montre la présence d'un pic à $2\theta=20^\circ$. Ce qui indique la nature semi-cristalline de la CMC. Cette semi-cristallinité de la CMC est principalement attribuée aux ponts hydrogène intra- et inter-moléculaires (**Veerapur *et al.*, 2007**).

L'oxydation entraîne une modification de la structure cristalline de la carboxyméthylcellulose (**Figure III.27**). Il y a une diminution de l'intensité du pic à 20° et apparition d'un nouveau pic à $21,7^\circ$. On peut dire alors que l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène réduit et modifie la cristallinité initiale de la CMC qui peut être provoquée par l'ouverture des cycles de glucopyranose (**Teotia et al., 2012**).

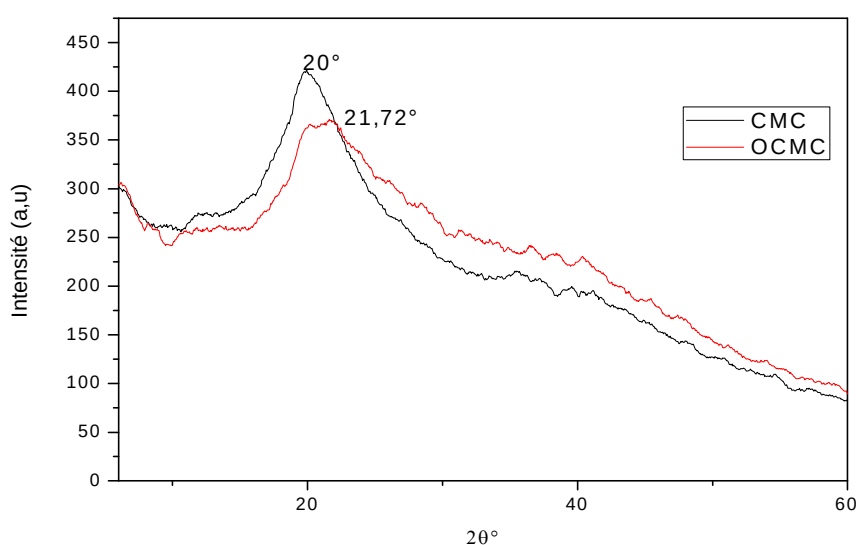


Figure III.27. Diffractogrammes de la CMC et la CMC oxydée par H_2O_2 (14,2%) à $T = 55^\circ C$, $pH = 5,5$ et $t = 3$ h.

Après ajout du catalyseur, le sulfate de cuivre, l'intensité du pic à $2\theta = 20^\circ$ diminue progressivement jusqu'à sa disparition presque totale quand la concentration du catalyseur atteint 1% (**Figure III.28**). Il faut préciser quant à l'allure des différents diffractogrammes des différentes CMC oxydées, elle est la même quelque soit la concentration du catalyseur.

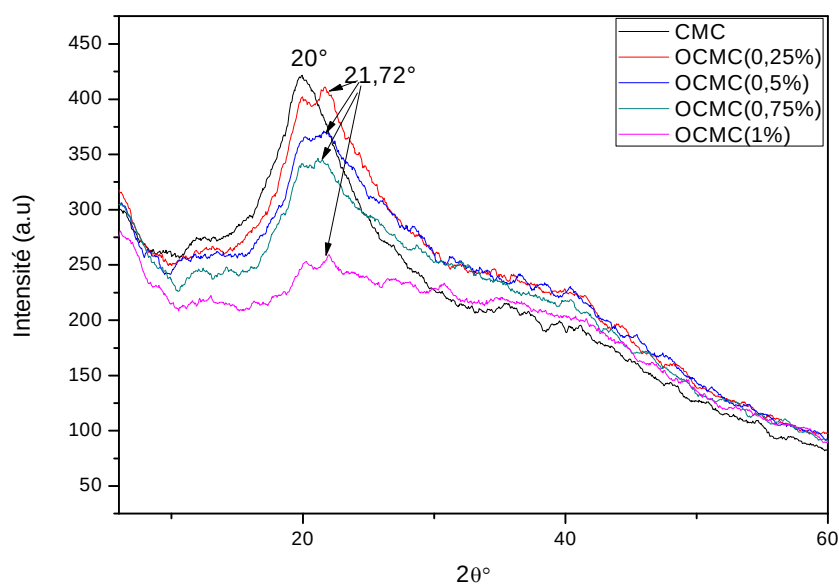


Figure III.28. Diffractogrammes de la CMC et des CMC oxydées à $T = 55^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 5,5$ et $t = 3 \text{ h}$ par le H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en fonction de la concentration de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

- **Chitosane**

Le diffractogramme des rayons X du chitosane exhibe un pic large de diffraction à $2\theta = 19,97^{\circ}$ (**Figure III.30**) alors que, selon **Islem et al., (2011)**, le chitosane présente deux pics caractéristiques à $9,9^{\circ}$ - $10,7^{\circ}$ et $19,8^{\circ}$ - $20,7^{\circ}$ qui sont attribués (**Yang et al., 2016**) à deux formes cristallines distinctes, forme I et forme II.

- **CS/CMC1, CS/ OCMC et CS/CMC_{NHS/DCC}**

L'addition de la carboxyméthylcellulose au chitosane (**Figures III.29.a-b**) entraîne une chute remarquable de la cristallinité des deux matériaux de départ alors que le film de la CS/CMC oxydée conduit à l'apparition de nouveaux pics à $22,74^{\circ}$ et 35° (**Figure III.29.c**).

De même, après réaction en présence de NHS/DCC, le diffractogramme correspondant montre que le nouveau matériau possède aussi une nouvelle structure cristalline qui est traduite par l'émergence un pic à 20° dont le sommet se distingue clairement de celui du chitosane.

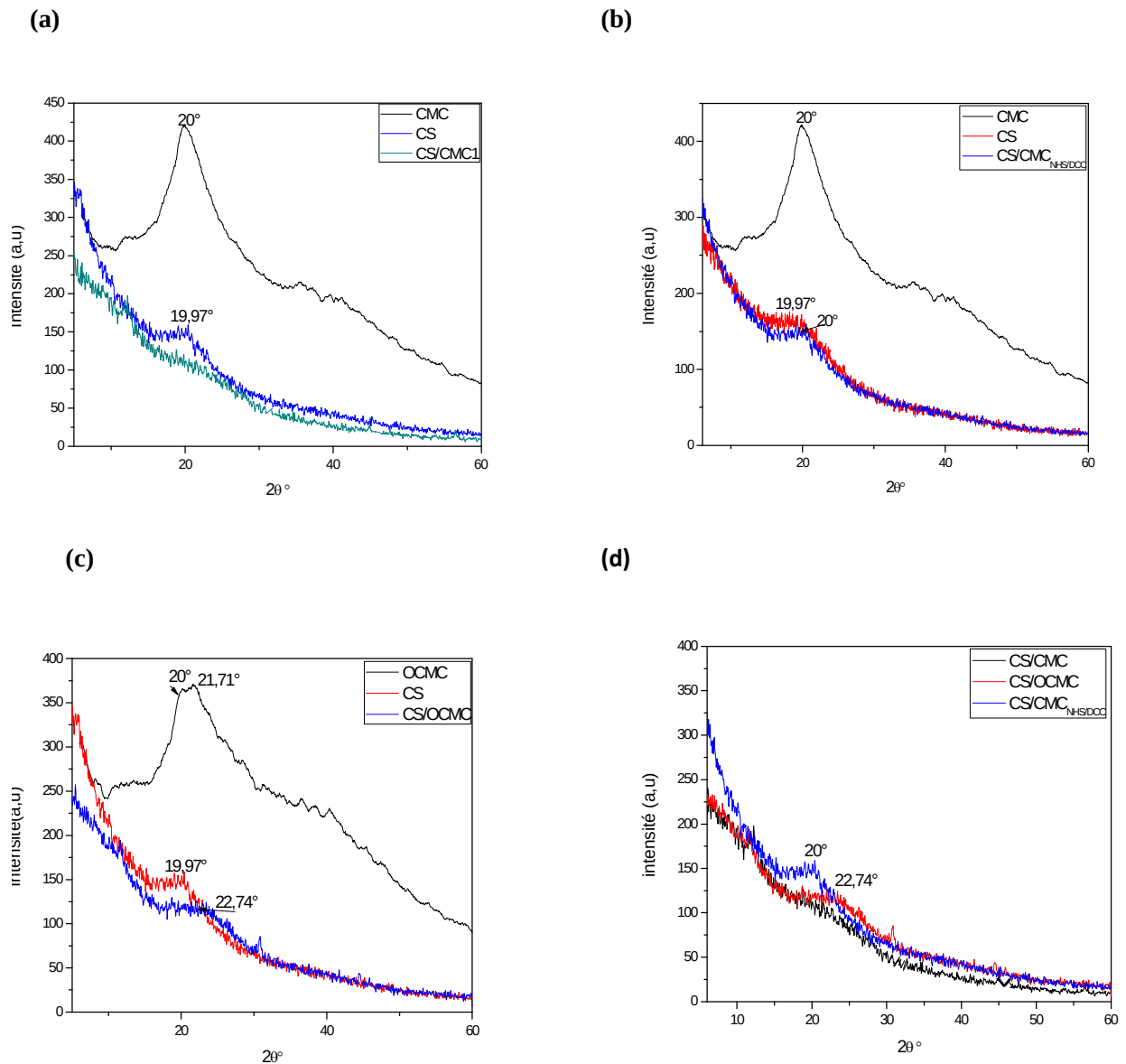


Figure III.29. Diffractogrammes des différents matériaux préparés.

III.3. Analyse thermogravimétrique (ATG)

La thermogravimétrie est une méthode d'analyse thermique qui permet de suivre la variation de masse d'un échantillon en fonction du temps ou de la température dans une atmosphère contrôlée.

- **CMC et CMC oxydée par H_2O_2**

Les thermogrammes de la CMC et de la CMC oxydée par le peroxyde d'hydrogène (14,2%) sont présentés dans la **figure III.30**.

Dans le cas de la CMC, deux étapes distinctes de perte de masse sont observées. La première se produit entre 30°C et 110°C. Elle correspond à une perte de masse de 9,30 % suite à l'évaporation de l'eau liée à la macromolécule. La deuxième à 278°C est due aux échappements de CO_2 libérés par la CMC (**Shukla et Sharma, 1987 ; Li et al., 2009 & 2011**).

Toutefois, au cours du chauffage de la CMC oxydée, deux étapes sont également observées. La première est liée à la quantité d'humidité évaporée et la seconde à 178 °C à la décomposition du matériau. La vitesse de dégradation de la CMC oxydée s'avère plus rapide que celle de la CMC native.

Le poids résiduel de la CMC est de 43,95% comparé à celui de la CMC oxydée qui est estimé à 30,92%. La CMC est donc jugée possédant une stabilité thermique meilleure que celle la CMC oxydée.

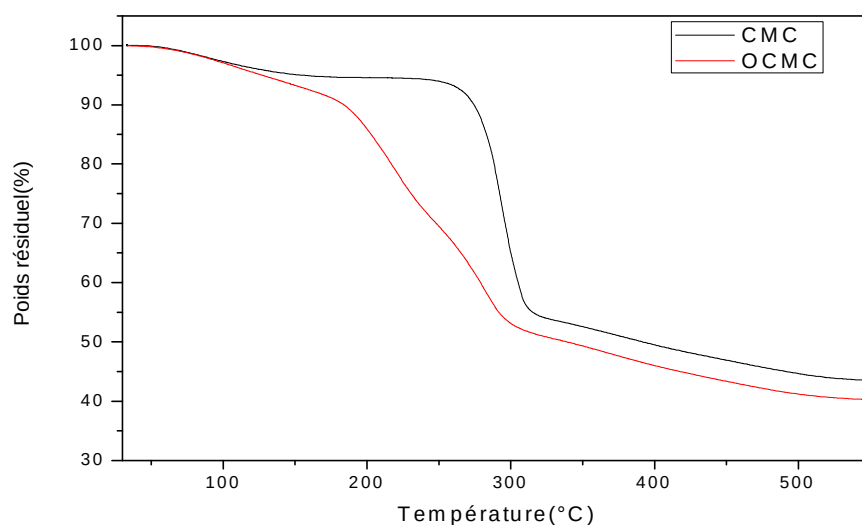


Figure III.30. Thermogrammes TG de la CMC et la CMC oxydée par le H_2O_2 (14,2%) à $T = 55^\circ C$, $pH = 5,5$ et $t = 3$ h.

Pour ce qui est de l'étude thermique en fonction de la concentration du catalyseur, le sulfate de cuivre, lors de la réaction d'oxydation, la stabilité thermique diminue avec l'augmentation de $CuSO_4$ (**Figure III.31**).

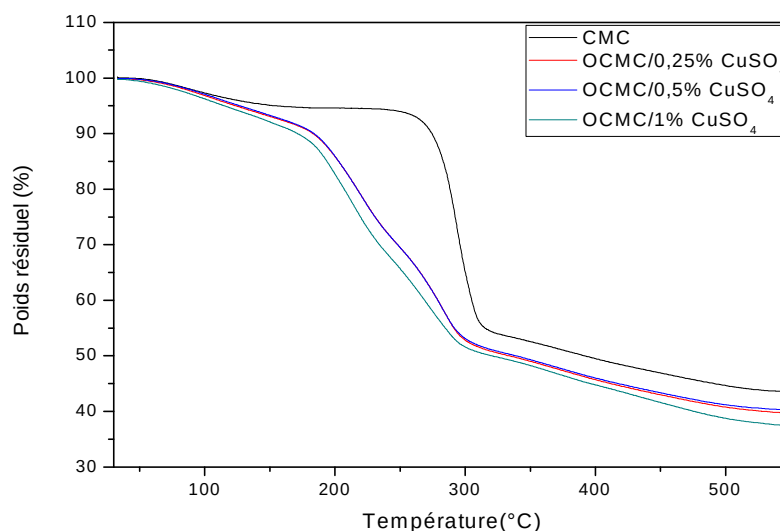


Figure III.32. Thermogrammes TG de CMC et des CMC oxydées à $T = 55^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 5,5$ et $t = 3 \text{ h}$ par le H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en fonction de la concentration de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

- **CS/CMC1 et CS/OCMC**

Les thermogrammes du chitosane, du CS/CMC1 et du CS/CMCO sont présentés dans la **figure III.32**.

Deux pertes de masse sont observées dans la courbe TG du chitosane natif. La première étape se situe entre 30°C et 142°C . Ce qui montre environ 9 % de la perte de poids. Ceci est probablement dû à l'évaporation de l'eau. La deuxième perte de poids égale à 51% commence à environ 150°C , elle est attribuée à la décomposition des unités acétylés ou désacétylés du chitosane (**Gao et al., 2010**). Le poids résiduel de l'échantillon à environ 500°C est de 20%. C'est la conséquence de l'évaporation des produits volatils suite à la dégradation thermique de ce polymère.

Quand on ajoute la CMC ou la CMCO au chitosane, les thermogrammes montrent des pertes de masse de 6 % jusqu'à 270°C pour le CS/CMC1 et 12,81% à 275°C pour le CS/OCMC, alors qu'à une température de 550°C , les poids résiduels sont respectivement d'environ 41,1 % et 30% pour CS/CMC1 et CS/OCMC.

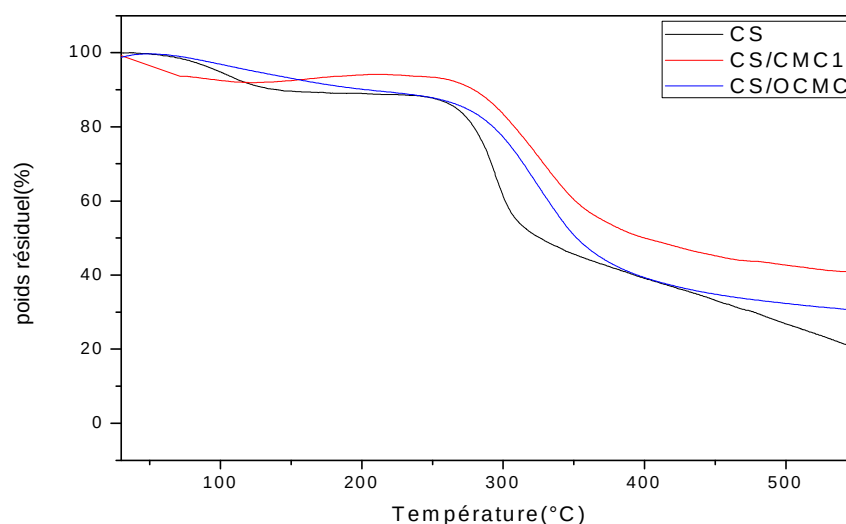


Figure III.32. Thermogrammes TG du CS, du CS/CMC1 et du CS/OCMC.

III.4. Gonflement

A l'exception des deux matrices CMC et CS/CMC_{NHS/DCC} qui présentent des courbes continues avec des G_{max} respectifs à l'équilibre dans l'eau de 925% et 677%, toutes les autres courbes montrent une augmentation rapide suivie d'une chute vers des plateaux à partir desquels les G_{max} sont donnés dans **le tableau III.7** et dans **la figure A.9 (en annexe)**. Ce qui exprime à partir des deux premiers cas que les matériaux sont des réseaux continus et que surtout dans le second cas, la réaction qui a eu lieu en présence du DCC/NHS donne naissance à des liaisons chimiques covalentes. Pour ce qui est des autres systèmes, ils sont considérés thermodynamiquement instables.

Tableau III.7. Valeurs des G_{max} des différents matériaux étudiés à base de chitosane et carboxyméthylcellulose pendant 4h à T_{amb}.

composition	Taux de gonflement (%)					
	CS	CMC	CS/CMC1	CS/CMC2	CS/OCMC	CS/CMC _{NHS/DCC}
G _{max} (%)	1186	925	583	542,5	900	677

III.5. Microscopie électronique à balayage

Les photographies faites par le MEB sont représentées dans la **figure III.33**. Elles montrent que la matrice de CS/CMC présente des agrégats alors que celui de CS/CMC oxydée une surface plus ou moins homogène.

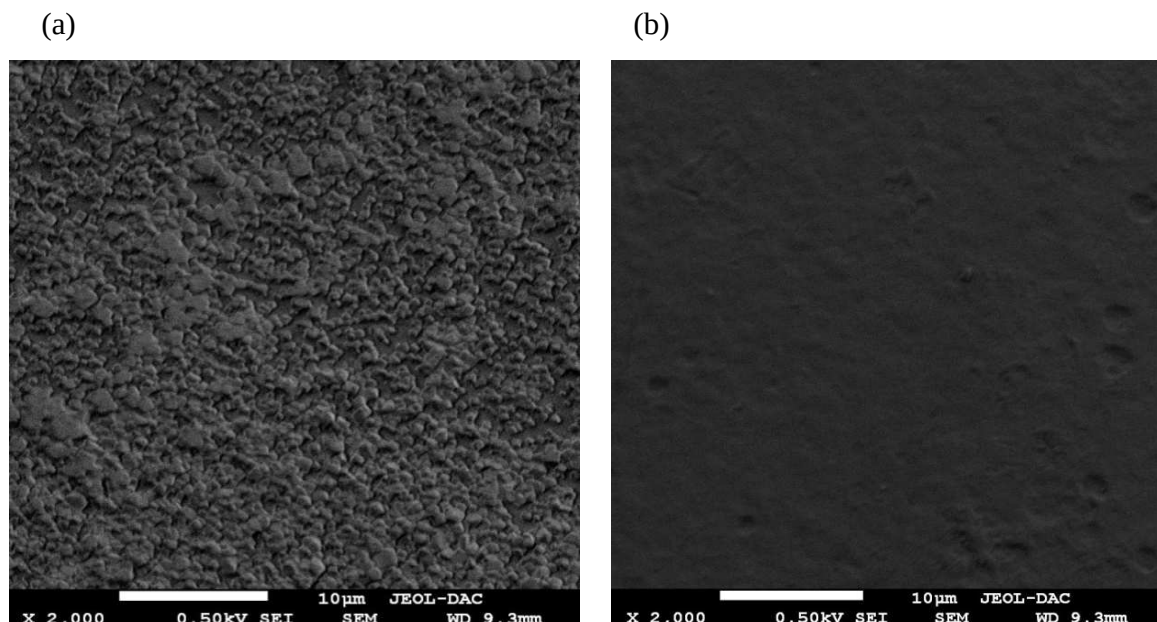


Figure III.33. MEB des films de CS/CMC1 (a) et de CS/OCMC (b).

III.6. Etudes biologiques

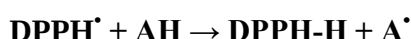
III.6.1. Activité antioxydante

Au cours de ces dernières années, les polysaccharides pourvus d'un pouvoir antioxydant ont attiré une attention qui ne cesse d'accroître pour leurs applications dans les domaines alimentaire et pharmaceutique (Paquet *et al.*, 2010 ; Elboutachfaiti *et al.*, 2011 ; Yan *et al.*, 2014). Il est prouvé que les groupes spécifiques tels que les sulfates, les amines, les hydroxyles et les carboxyles octroient aux polysaccharides des effets antioxydants (Elboutachfaiti *et al.*, 2011 ; Sun *et al.*, 2011). Néanmoins, suite aux recherches antérieures, l'activité antioxydante est due non seulement à la présence de ces groupes fonctionnels mais aussi aux poids moléculaires (Chen *et al.*, 2009), aux différentes procédures d'extraction, aux types des liens glycosidiques et aux différentes conformations des polysaccharides (Wang *et al.*, 2015).

III.6.1.1. Activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH

La méthode la plus courante pour l'évaluation du piégeage des radicaux libres issus des polysaccharides est l'utilisation du DPPH[•] (Elboutachfati *et al.*, 2011 ; Yan *et al.*, 2014). Cette méthode est basée sur la capacité de DPPH, un radical libre stable, d'être capté, coloré et en présence d'antioxydants (AH) entraînant une réduction des valeurs des d'absorbances (Enayat et Banerjee, 2009).

la réaction est la suivante :



Dans le test au DPPH, l'antioxydant réduit le radical DPPH en composé coloré en jaune, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (Figure III.34).

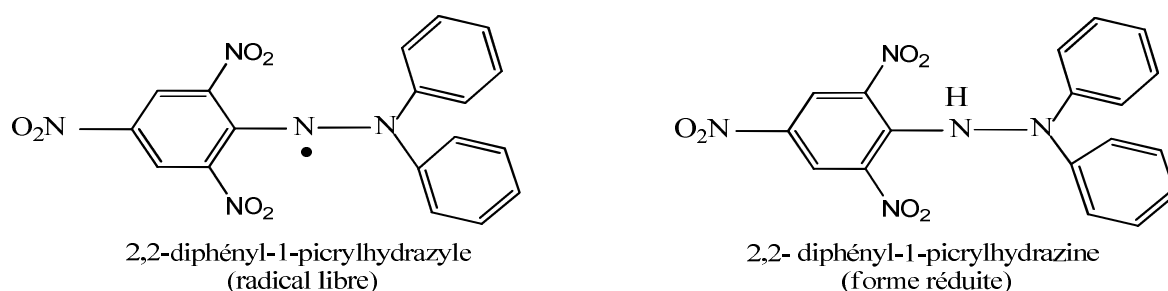


Figure III.34. Structures du radical libre, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, et de sa forme réduite.

Il est bien établi que le piégeage des radicaux DPPH[•] par les antioxydants tels que les polysaccharides dépend de la capacité de ces derniers à donner de l'hydrogène (Dellatre *et al.*, 2015).

Afin de déterminer le pouvoir anti-radicalaire des films à base de chitosane, de CMC et de composé de référence, le BHT, nous avons tracé les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration massique (mg/ml) (Voir figures A.10 en annexe). À partir de ces droites, nous avons pu calculer les valeurs des IC₅₀ de chaque composés (Tableau III.8 ; Figure III.35).

Tableau III.8. Les valeurs des IC₅₀ (mg/ml) des différents matériaux étudiés.

Echantillons	CS	CMC	OCMC	CS/CMC1	CS/CMC2	CS/OCMC	CS/CMC _(NHS/DCC)	BHT
IC ₅₀ (mg/ml)	3,6	9,86	10,73	4,15	4,37	4,40	9,78	0,086

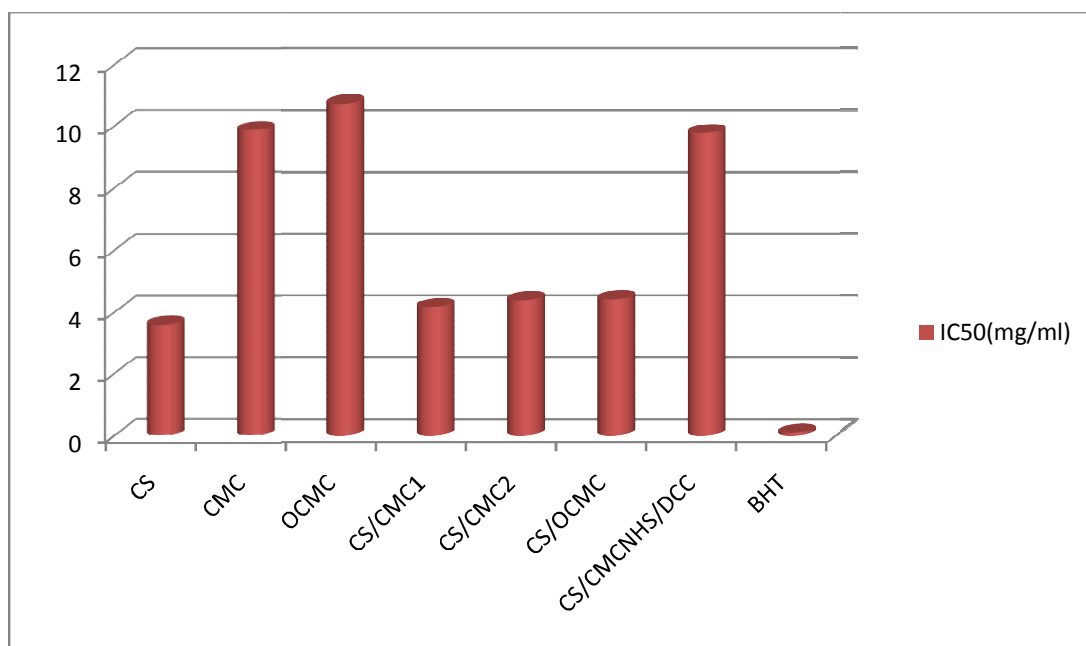


Figure III.35. IC₅₀(mg/ml) des matériaux étudiés et celle du BHT.

On remarque d'après résultats obtenus que l'activité anti-radicalaire de la CMC (IC₅₀=9,6 mg/l) est supérieure à celle de la CMC oxydée (IC₅₀=10,73 mg/l). Donc, cette activité est due à la présence des groupements hydroxylés dans la CMC et leur diminution suite à la réaction d'oxydation réduit l'effet antioxydant du composé de départ.

Nous rappelons que plus la valeur de IC₅₀ est faible plus le produit est puissant vis-à-vis des radicaux libres (**Haddaoui, 2007**). Il faut noter ici que le chitosane est le matériau qui possède une activité anti-radicalaire la plus élevée et que l'ajout de la CMC ou de la CMC oxydée au CS réduit l'action de ce dernier. Cette activité inhibitrice provoquée par le chitosane est expliquée d'après **Park et al., (2004)** et **Yen et al., (2008)** par l'aptitude du radical libre DPPH[•] à réagir avec les groupes (NH₃⁺) du chitosane par arrachement d'ion d'hydrogène dans la solution.

Tous les échantillons montrent par contre une capacité anti-radicalaire moins considérable que celle du composé de référence, le BHT (son IC_{50} est 0,068 mg/ml).

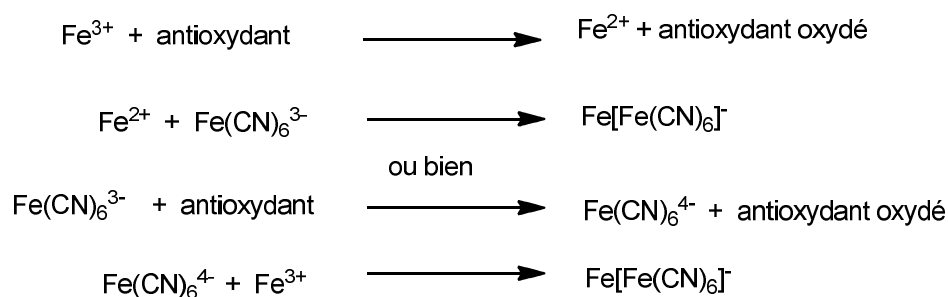
III.6.1.2. Pouvoir réducteur

Il a été rapporté que l'activité antioxydante possède une corrélation positive et directe avec le pouvoir réducteur (**Osman et al., 2004**). Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des échantillons à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet, le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton.

La présence des réductants dans les films testés provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, des Fe^{2+} peuvent être évalués en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à $\lambda=700nm$ (**Chung et al., 2002**).

Le pouvoir réducteur des échantillons dépend de la concentration. A la concentration de 2 mg/ml, les pouvoirs réducteurs de l'ion $[Fe(CN)_6]^{3-}$ en $[Fe(CN)_6]^{4-}$ sont 0,64 pour la CMC et pour le CS, et respectivement 0,6, 0,58, 0,57, 0,60 et 0,53 pour la CMC oxydée, CS/CMC1, CS/CMC2, CS/OCMC et CS/CMC_{NHS/DCC}. Mais, ils sont nettement inférieurs à celui de l'acide ascorbique, qui est la référence et le composé le moins toxique de tous les antioxydants (**Figure III.36**) (**Caesar, 2007**). Le pouvoir réducteur de nos échantillons est dû à la présence des groupements hydroxyles dans les chaînes du polysaccharide. Ils peuvent servir de donneurs d'électrons. Aussi, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Les réactions mises en jeu lors de cette étude sont :



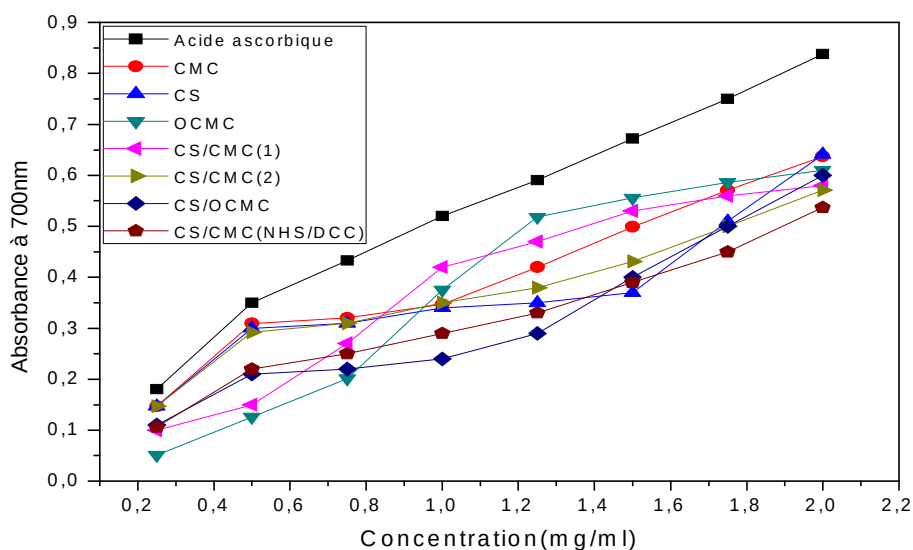


Figure III.36. Absorbances des composés testés à $\lambda_{\text{max}} = 700 \text{ nm}$ en fonction de la concentration (mg/ml).

III.6.2. Biocompatibilité avec le sang humain

Le potentiel hémolytique du matériau est défini par la mesure du degré d'hémolyse qui peut être causé par la matière quand il entre en contact avec le sang (**Dameshek et Schwartz, 1959**). Le **tableau III.9** montre le pourcentage d'hémolyse du sang en contact avec les différents échantillons à 37°C pendant 1h. Tous les échantillons sont jugés non-hémolytiques dans la nature (**Figure III.37**).

Cependant, l'activité hémolytique observée est inférieure à 10%. Ce qui exprime la marge de biocompatibilité avec le sang (**Lee et al., 2004**).

La CMC montre un effet hémolytique négligeable (inférieure à 2%). Cela est dû probablement à sa charge négative (portée par les $-\text{COO}^-$) qui pourrait éviter l'interaction électrostatique (répulsive) avec la membrane cellulaire.

Il a été trouvé antérieurement (**Crini et al., 2007**) que l'hémocompatibilité du chitosane se manifeste par son caractère anti-thrombogène. Il trouve de ce fait des applications en tant que revêtement de matériaux mis en contact avec le sang comme les prothèses vasculaires ou les valves cardiaques.

Tableau III.9. Potentiel hémolytique des matériaux testés.

Echantillon	CS	CMC	OCMC	CS/CMC1	CS/CMC2	CS/OCMC	CS/CMC _{NHS/DCC}
Hémolyse (%)	5	0,3	3,125	4,85	4,85	4,9	4,35

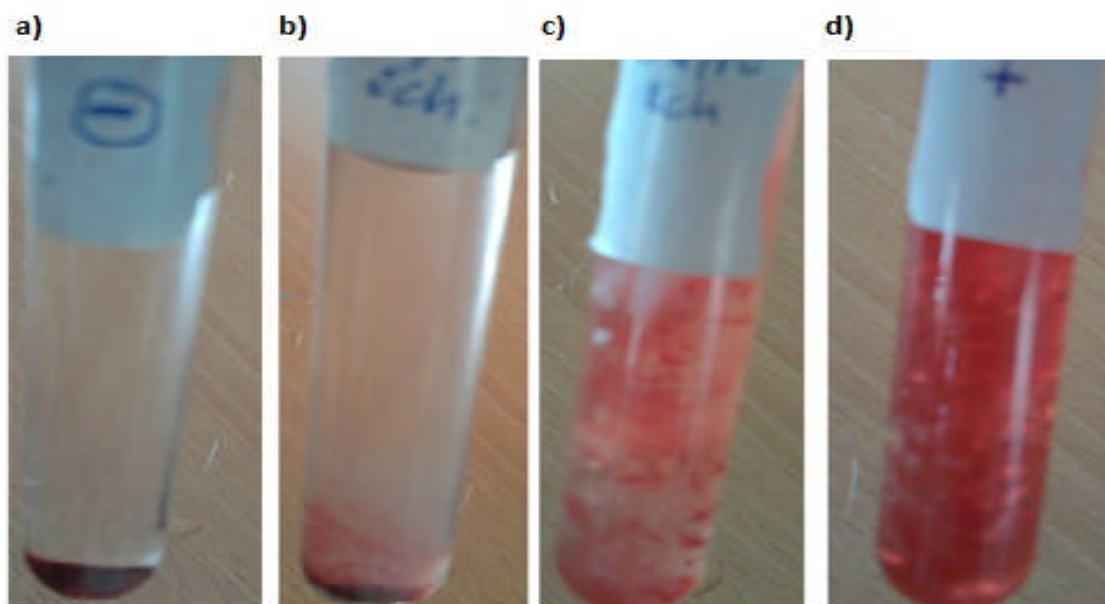


Figure III.37. Essais de compatibilité avec le sang : control négatif après centrifugation **(a)** CMC après centrifugation **(b)**, CMC avant centrifugation **(c)**, control positif après centrifugation **(d)**.

III.6.3. Activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures secondaire et tertiaire par l'application de stress externe, composés tels que les acides ou bases fortes et des sels inorganiques ou la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines est une cause bien documentée dans le processus inflammatoire. Le mécanisme de dénaturation implique probablement une altération de liaisons hydrogènes, électrostatiques et hydrophobes (**Bagad, 2011**).

Le **tableau III.10** présente le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'œuf par le matériau testé et le diclofénac sodique (la référence) (aux deux concentrations de 100 µg/mL et 200 µg/mL). Il a été observé que le pourcentage d'inhibition augmente avec la

concentration. Celui de la CMC atteint 20,58% pour une concentration 200 µg/ml qui est probablement dû au groupement carboxyle.

On peut prédire que, après des tests supplémentaires *in vivo*, nos matériaux peuvent manifester une activité anti-inflammatoire intéressante lors de leurs usages par voie topique voire aussi systémique sur le tissu vivant lésé.

Tableau III.10. Effets anti-inflammatoires *In-vitro* des matériaux étudiés et du diclofénac sodique par la dénaturation de l'albumine de l'œuf.

Matériau testé	% inhibition (100 µg/ml)	% inhibition (200 µg/ml)
CMC	16,3	20,58
OCMC	10,62	14,95
CS	6,2	6,81
CS/CMC1	3,65	5,01
CS/CMC2	3,1	4,75
CS/OCMC	2,99	3,66
CS/CMC_{NHS/DCC}	2,23	2,38
Diclofenac sodique	50,8	81

III.6.4. Activité antibactérienne

Des travaux antérieurs menés par **Raafat *et al.*, (2008)** ont révélé que le chitosane possède une activité antimicrobienne qui dépend de plusieurs facteurs à savoir le poids moléculaire, le pH et le degré de désacétylation. A ce propos, le degré de désacétylation élevé entraîne une action antibactérienne notamment sur *E. coli* (**Liu *et al.*, 2006**). En l'occurrence, à 75% de désacétylation, le chitosane manifeste une meilleure inhibition aussi bien des Grams positifs que Grams négatifs par rapport à ceux désacétylés (**Park *et al.*, 2004**).

De plus, il a été démontré que l'activité antimicrobienne progresse avec le poids moléculaire du chitosane, d'une part.

D'autre part, la présence d'un agents antibactériens dans le chitosane améliore leur activité et notamment par rapport à ceux portés par la κ-carraghénane et la méthylcellulose (**Cha *et al.*, 2003**).

Le mécanisme d'action antimicrobien du chitosane n'est pas encore bien connu mais différentes hypothèses ont été proposées (**Sudarshan *et al.*, 1992**). Les charges positives du chitosane peuvent interagir avec la charge négative des membranes de la cellule microbienne. Ce qui induit la libération du matériel protéique et les autres constituants intracellulaires.

Les résultats de l'activité antibactérienne des matériaux testés sont résumés dans le **tableau III.11** à partir desquels nous remarquons que les diamètres d'inhibition du mélange CS/CMC vis-à-vis du *Pseudomonas aeruginosa* et du *Staphylococcus aureus* sont inférieurs à celui du chitosane et de la carboxyméthylcellulose. Par contre, ce diamètre augmente en présence du CS/CMC oxydée. On observe aussi que l'activité antibactérienne dépend de la nature du microorganisme et de l'hydrogel ; dans le cas de CS/CMC, le diamètre d'inhibition est égal à 10 mm à l'égard de *Bacillus subtilis*.

Tableau III.11. Diamètres d'inhibition des matériaux testés après t=24 h.

microorganisme Matériau testé	Diamètre d'inhibition (mm)			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
CS	12	11	10	11
CMC	11	18	10	13
CS/CMC1	7	10	10	11
CS/CMC2	13	10	9	9
CS/OCMC	15	16	10	14
CS/CMC_(NHS/DCC)	11	12	9	11
Amoxicilline	-	32		-
Gentamicine	-	-	18	-

CONCLUSION.

L'ensemble des travaux que nous avons réalisés concerne, dans un premier temps, l'étude de l'oxydation de la carboxyméthylcellulose par le peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 , en l'absence ou en présence d'un catalyseur, le sulfate de cuivre pentahydraté ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Des tentatives de couplage des hydrogels obtenus avec le chitosane sont également étudiées. Une autre réaction selon des conditions opératoires différentes a aussi été menée sur la carboxyméthylcellulose en présence du chitosane. Nous nous sommes servis dans ce cas de deux réactifs intermédiaires utilisés dans les réactions d'amidation ou d'estérification, le DCC et le NHS.

Le dosage après oxydation de la CMC par le $H_2O_2/CuSO_4$ montre que les teneurs en carbonyles et carboxyles augmentent avec la concentration de l'agent oxydant, la quantité du catalyseur, le temps, la température et le pH. Mais, concernant ces deux derniers paramètres, les nombres en carbonyle et carboxyle connaissent des diminutions quand la température de la réaction atteint $75^\circ C$ ou bien au pH du milieu égal à 11. Ce qui traduit le changement dans la structure de la macromolécule. On note aussi que le taux en carbonyles générés lors de ce type de réaction est toujours inférieur à celui des carboxyles.

Par ailleurs, les dosages des groupements amine révèlent l'existence des interactions entre les groupements portés par la CMC tels que les carboxylates et les groupements amines du chitosane. Cela est observé à travers les courbes obtenues où le plateau intermédiaire des amines préalablement identifiable disparaît complètement après addition des CMC.

Cependant, les titrations par pHmétrie et conductimétrie nous informent clairement que d'une part les amines du chitosane baissent en nombre sous l'action de toutes les CMC utilisées ; et d'autre part, que la réaction entre l'amine du CS et le carboxyle de la CMC en présence de NHS/DCC conduit à un amide. Là, des hypothèses d'un réseau chimique entre le CS et la CMC commencent à se concrétiser.

Nous constatons, d'ailleurs, que le milieu 1 (relativement acide à $pH=3,5$) par rapport au milieu 2 ($pH=6,5$) favorise l'interaction électrostatique entre les deux macromolécules. Donc, nous pouvons conclure que les formes les plus plausibles dans le composé CS/CMC1 sont de type $CS-NH_3^+ \text{ } ^-OOC-CMC$ alors que dans CS/CMC2, nous avons la forme suivante : $CS-NH_2 \text{ } Na^+ \text{ } ^-OOC-CMC$.

En outre, les résultats obtenus par spectroscopie infrarouge dévoilent que la carboxyméthylcellulose s'est bien oxydée. Les principaux pics caractéristiques de cette oxydation sont ceux qui apparaissent surtout à 1728 cm^{-1} et 888 cm^{-1} .

L'addition au chitosane des CMC avant et après oxydation affiche la formation de nouvelles matrices polymériques. Avant oxydation (en absence de NHS/DCC), les interactions

physiques (de natures ioniques) se confirment entre le CS et la CMC dans le CS/CMC1 et le CS/CMC2 ; par contre, l'effet du système NHS/DCC mène avec succès à l'amide correspondant. Nous ne devons pas oublier d'évoquer que la CMC oxydée en présence du chitosane est susceptible de former des liaisons comme l'amide, l'imine et des liaisons ioniques (entre les ions carboxylates et les ammoniums).

Les résultats de l'analyse par spectroscopie UV-Vis sont en harmonie avec ceux déjà obtenus par les dosages chimiques. Il y a apparition après oxydation de la CMC d'un pic à 272 nm qui correspond aux transitions électroniques des groupements carbonyles. Ce pic évolue en intensité selon les conditions suivies puis diminue quand la température est à 75°C.

Le test du gonflement nous indique que les $G_{\max}$ des différentes formulations sont inférieurs à celui du chitosane seul et que le réseau formé CS/CMC_{DCC/NHS} est continu et stable chimiquement.

Les diffractogrammes des rayons X affichent quand à eux que l'oxydation de la CMC affecte la structure cristalline de la macromolécule ainsi que celle du chitosane. La cristallinité diminue en effet avec l'addition des CMC (CMC, CMC oxydée, CS/CMC_{NHS/DCC}).

Les thermogrammes obtenus par ATG révèlent que l'oxydation réduit la stabilité thermique de la CMC, que l'effet des CMC améliore celle du CS mais que le CS/OCMC possède une stabilité inférieure à celle de son analogue non oxydé, le CS/CMC1.

La microscopie électronique à balayage (MEB) exhibent que les films de CS/OCMC présentent des surfaces plus homogènes que celle du CS/CMC.

Les études biologiques faites jusqu'à l'heure dans le cadre de cette thèse sont prometteuses pour que nos matériaux soient appliqués dans le futur en ingénierie tissulaire. Ils se montrent nettement dotés d'un pouvoir antioxydant remarquable comparé à celui du chitosane qui est déjà connu pour ses vertus dans ce domaine. Ils sont tous hémocompatibles puisque les tests *in vitro* l'affirment. L'activité anti-inflammatoire réalisée à travers un test préliminaire sur l'albumine de l'œuf indique aussi que nos composants sont des dispositifs ayant une aptitude inhibitrice de la dénaturation de la protéine qui est impliquée dans le processus inflammatoire *in vivo*. Enfin, Ils ont tous manifesté d'une manière erratique une activité antibactérienne à l'égard des quatre souches bactériennes étudiées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

A

- Aaen, R. **(2015)**. Characterization of Sulfated Alginate Hybrid Gels for Tissue Engineering (*Master's thesis, NTNU*).
- Abdulkarim, A., Isa, M. T., Abdulsalam, S., Muhammad, A. J., & Ameh, A. O. **(2013)**. Extraction and characterisation of chitin and chitosan from mussel shell. *Extraction*, 3(2), 108-114.
- Abbott, A. P., Bell, T. J., Handa, S., & Stoddart, B. **(2005)**. O-Acetylation of cellulose and monosaccharides using a zinc based ionic liquid. *Green Chemistry*, 7(10), 705-707.
- Ačkar, Đ., Babić, J., Jozinović, A., Miličević, B., Jokić, S., Miličević, R., & Šubarić, D. **(2015)**. Starch Modification by Organic Acids and Their Derivatives: A Review. *Molecules*, 20(10), 19554-19570.
- Aiba, S. I. **(1992)**. Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially N-acetylated chitosans. *International journal of biological macromolecules*, 14(4), 225-228.
- Alban, S., Schauerte, A., & Franz, G. **(2002)**. Anticoagulant sulfated polysaccharides: Part I. Synthesis and structure–activity relationships of new pullulan sulfates. *Carbohydrate Polymers*, 47(3), 267-276.
- Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A. **(2013)**. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(8), 623-627.
- Alves, N. M., & Mano, J. F. **(2008)**. Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. *International journal of biological macromolecules*, 43(5), 401-414.
- Al-Sagheer, F. A., Ibrahim, E. I., & Khalil, K. D. **(2014)**. Crystallinity, antimicrobial activity and dyeing properties of chitosan-g-poly (N-acryloyl morpholine) copolymer. *European Polymer Journal*, 58, 164-172.
- Anjali, T. **(2012)**. Modification of carboxymethyl cellulose through oxidation. *Carbohydrate polymers*, 87(1), 457-460.
- Atalla R. H., Isogai A., **(2010)**. Celluloses., *Comprehensive Natural Products II* 6(16), 493-539.
- Aranaz, I., Harris, R., & Heras, A. **(2010)**. Chitosan amphiphilic derivatives. Chemistry and applications. *Current Organic Chemistry*, 14(3), 308.

B

- Babić, J., Šubarić, D., Ačkar, Đ., Kovačević, D., Piližota, V., & Kopjar, M. **(2007)**. Preparation and characterization of acetylated tapioca starches. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 103(12), 580-585.

- Babic, J., Subaric, D., Ackar, D., Kopjar, M., & Tiban, N. N. **(2009)**. Acetylation and characterisation of corn starch. *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, 46(5), 423-426.
- Bacon, A., Makin, J., Sizer, P. J., Jabbal-Gill, I., Hinchcliffe, M., Illum, L., & Roberts, M. **(2000)**. Carbohydrate biopolymers enhance antibody responses to mucosally delivered vaccine antigens. *Infection and immunity*, 68(10), 5764-5770.
- Bagad, Y. **(2011)**. Investigation of anti-inflammatory and analgesic activity of *Bridelia airyshawii* (Euphorbiaceae). *Journal of Pharmacy Research*, 1(4), 1326-1328.
- Barrios, S. E., Contreras, J. M., López-Carrasquero, F., & Müller, A. J. **(2013)**. Chemical modification of cassava starch by carboxymethylation reactions using sodium monochloro acetate as modifying agent/ *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 27(2), 97-105.
- BeMiller, J. N., & Whistler, R. L. **(2009)**. Starch: chemistry and technology. *Academic Press*.
- Benzeggouta N. **(2005)**. Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. *Mémoire de Magister*. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
- Benedetti, L., Cortivo, R., Berti, T., Berti, A., Pea, F., Mazzo, M., Moras, M., & Abatangelo, G. **(1993)**. Biocompatibility and biodegradation of different hyaluronan derivatives (Hyaff) implanted in rats. *Biomaterials*, 14(15), 1154–1160.
- Berrada S. **(2009)**. Les glucides : structure, propriétés et applications technologiques. *biochimie appliquée PLP Biotechnologies* disponible sur : http://sti.acmontpellier.fr/IMG/pdf/Glucides_SBSSA.pdf. Consulté le: 20-11-2016.
- Bhatt, N., Gupta, P. K., & Naithani, S. **(2008)**. Preparation of cellulose sulfate from α -cellulose isolated from *Lantana camara* by the direct esterification method. *Journal of applied polymer science*, 108(5), 2895-2901.
- Bidgoli, H., Zamani, A., & Taherzadeh, M. J. **(2010)**. Effect of carboxymethylation conditions on the water-binding capacity of chitosan-based superabsorbents. *Carbohydrate research*, 345(18), 2683-2689.
- Bird, A. R., Conlon, M. A., Christophersen, C. T., & Topping, D. L. **(2010)**. Resistant starch, large bowel fermentation and a broader perspective of prebiotics and probiotics. *Beneficial Microbes*, 1(4), 423–431.
- Blondin, C., & de Agostiniz, A. **(1995)**. Biological activities of polysaccharides from marine algae. *Drugs Fut*, 20, 1237-1249.
- Bourrier, T. **(2006)**. Intolérances et allergies aux colorants et additifs. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46(2), 68-79.
- Bousba, S. **(2015)**. Etudes spectrale et microscopique du système gelatine/ carboxyméthylcellulose sodique en absence et en présence de NaCl, CaCl₂ et du glucose dans le domaine alimentaire. *Thèse de doctorat*, Université de Sétif, Algérie.

Bulpitt, P., & Aeschlimann, D. **(1999)**. New strategy for chemical modification of hyaluronic acid: preparation of functionalized derivatives and their use in the formation of novel biocompatible hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 47(2), 152-169.

C

Carre, M. C., Delestre, C., Hubert, P., & Dellacherie, E. **(1991)**. Covalent coupling of a short polyether on sodium alginate: synthesis and characterization of the resulting amphiphilic derivative. *Carbohydrate polymers*, 16(4), 367-379.

Caesar L. N., **(2007)**. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de deux plantes utilisées en médecine traditionnelle gabonaise : *Terminalia catappa* L. (*Combretaceae*) ET *Kalanchoe crenata* (Andr.) Haw. (*Crassulaceae*). *Thèse de doctorat*. Université de bamako.179.

Charpentier, D., Mocanu, G., Carpov, A., Chapelle, S., Merle, L., & Müller, G. **(1997)**. New hydrophobically modified carboxymethylcellulose derivatives. *Carbohydrate polymers*, 33(2), 177-186.

Chawla, R., & Patil, G. R. **(2010)**. Soluble dietary fiber. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(2), 178–196.

Chen, X. G., & Park, H. J. **(2003)**. Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 355-359.

Chen, X., Xu, X., Zhang, L., & Zeng, F. **(2009)**. Chain conformation and anti-tumor activities of phosphorylated (1→3)- β -d-glucan from *Poria cocos*. *Carbohydrate Polymers*, 78(3), 581-587.

Chen, S. K., Tsai, M. L., Huang, J. R., & Chen, R. H. **(2009)**. *In vitro* antioxidant activities of low-molecular-weight polysaccharides with various functional groups. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 57, 2699–2704.

Chen, S., Zou, Y., Yan, Z., Shen, W., Shi, S., Zhang, X., & Wang, H. **(2009)**. Carboxymethylated-bacterial cellulose for copper and lead ion removal. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2), 1355-1359.

Chetouani, A., Elkolli, M., Bounekhel, M., & Benachour, D. **(2014)**. Characterization and Bioevaluation of New Class of Hydrogels Based on Oxidized Pectin Crosslinked to Gelatin. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 4(6), 465-470.

Chetouani, A., Elkolli, M., Bounekhel, M., & Benachour, D. **(2014)**. Synthesis and properties of novel hydrogels from oxidized pectin crosslinked gelatin for biomedical applications. *Polymer bulletin*, 71(9), 2303-2316.

Chi, H., Xu, K., Wu, X., Chen, Q., Xue, D., Song, C., & Wang, P. **(2008)**. Effect of acetylation on the properties of corn starch. *Food Chemistry*, 106(3), 923-928.

Chopin, N., Guillory, X., Weiss, P., Bideau, J. L., & Collic-Jouault, S. **(2014)**. Design polysaccharides of marine origin: chemical modifications to reach advanced versatile compounds. *Current Organic Chemistry*, 18(7), 867-895.

Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., & Chou, S. T. **(2002)**. Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2454-2458.

Chung, T. W., Yang, J., Akaike, T., Cho, K. Y., Nah, J. W., Kim, S. I., & Cho, C. S. **(2002)**. Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment. *Biomaterials*, 23(14), 2827-2834.

Coleman, R. J., Lawrie, G., Lambert, L. K., Whittaker, M., Jack, K. S., & Grøndahl, L. **(2011)**. Phosphorylation of alginate: synthesis, characterization, and evaluation of in vitro mineralization capacity. *Biomacromolecules*, 12(4), 889-897.

Collic-Jouault, S., Zanchetta, P., Helley, D., Ratiskol, J., Siquin, C., Fischer, A. M., & Guezennec, J. **(2004)**. Les polysaccharides microbiens d'origine marine et leur potentiel en thérapeutique humaine. *Pathologie Biologie*, 52(3), 127-130.

Crini, G., Badot, P. M., & Guibal, E. **(2009)**. Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application. *Presses Univ. Franche-Comté*.26

D

Dace, R., McBride, E., Brooks, K., Gander, J., Buszko, M., & Doctor, V. M. **(1997)**. Comparison of the anticoagulant action of sulfated and phosphorylated polysaccharides. *Thrombosis research*, 87(1), 113-121.

Dalmoro, A., Barba, A. A., Lamberti, G., Grassi, M., & d'Amore, M. **(2012)**. Pharmaceutical applications of biocompatible polymer blends containing sodium alginate. *Advances in Polymer Technology*, 31(3), 219-230.

Dameshek, W., & Schwartz, R. **(1959)**. Hemolytic mechanisms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 77(3), 589-614.

Delattre, C., Pierre, G., Gardarin, C., Traikia, M., Elboutachfai, R., Isogai, A., & Michaud, P. **(2015)**. Antioxidant activities of a polyglucuronic acid sodium salt obtained from TEMPO-mediated oxidation of xanthan. *Carbohydrate polymers*, 116, 34-41.

Delattre, C. **(2005)**. Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. (*Doctoral dissertation, Amiens*).

De Nooy, A. E. J., Rori, V., Masci, G., Dentini, M., & Crescenzi, V. **(2000)**. Synthesis and preliminary characterisation of charged derivatives and hydrogels from scleroglucan. *Carbohydrate Research*, 324, 116-126.

Dhar, N., Akhlaghi, S. P., & Tam, K. C. **(2012)**. Biodegradable and biocompatible polyampholyte microgels derived from chitosan, carboxymethyl cellulose and modified methyl cellulose. *Carbohydrate polymers*, 87(1), 101-109.

Dicke, R. **(2004)**. A straight way to regioselectively functionalized polysaccharide esters. *Cellulose*, 11(2), 255-263.

Digenis, G. A., Gold, T. B., & Shah, V. P. **(1994)**. Cross-linking of gelatin capsules and its relevance to their in vitro-in vivo performance. *Journal of pharmaceutical sciences*, 83(7), 915-921.

Dodi, G., Hritcu, D., & Popa, M. I. **(2011)**. Carboxymethylation of guar gum: Synthesis and characterization. *Cellulose chemistry and technology*, 45(3), 171.

Dumont, V. C., Mansur, A. A., Carvalho, S. M., Borsagli, F. G. M., Pereira, M. M., & Mansur, H. S. **(2016)**. Chitosan and carboxymethyl-chitosan capping ligands: Effects on the nucleation and growth of hydroxyapatite nanoparticles for producing biocomposite membranes. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 265-277.

E

Edgar, K. J., Buchanan, C. M., Debenham, J. S., Rundquist, P. A., Seiler, B. D., Shelton, M. C., & Tindall, D. **(2001)**. Advances in cellulose ester performance and application. *Progress in Polymer Science*, 26(9), 1605-1688.

Ege, S. N. **(1989)**. Organic chemistry 2nd ed. Lexington, MA, DC: *Heath and Company*. 446–447.

El-Sherbiny, I. M. **(2009)**. Synthesis, characterization and metal uptake capacity of a new carboxymethyl chitosan derivative. *European Polymer Journal*, 45(1), 199-210.

El Seoud, O. A., Nawaz, H., & Arêas, E. P. **(2013)**. Chemistry and applications of polysaccharide solutions in strong electrolytes/dipolar aprotic solvents: An overview. *Molecules*, 18(1), 1270-1313.

Elboutachfaiti, R., Petit, E., Pillon, M., Courtois, B., Courtois, J., & Delattre, C. **(2011)**. Evaluation of antioxidant capacity of ulvan-like polymer obtained by regioselective oxidation of gellan exopolysaccharide. *Food Chemistry*, 127, 976–983.

Embuscado, M. E., & Huber, K. C. **(2009)**. Edible films and coatings for food applications. *Dordrecht. The Netherlands: springer*. 295-314.

Enayat, S., & Banerjee, S. **(2009)**. Comparative antioxidant activity of extracts from leaves, bark and catkins of *Salix aegyptiaca* sp. *Food Chemistry*, 116(1), 23-28.

Endo, R., Setoyama, M., Yamamoto, K., & Kadokawa, J. I. **(2015)**. Acetylation of Xanthan Gum in Ionic Liquid. *Journal of Polymers and the Environment*, 23(2), 199-205.

F

Fan, L., Sun, Y., Xie, W., Zheng, H., & Liu, S. **(2012)**. Oxidized pectin cross-linked carboxymethyl chitosan: a new class of hydrogels. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 23(16), 2119-2132.

Fishman, M. L., & Jen, J. J. **(1986)**. Chemistry and function of pectins. *American Chemical Society*.

Floor, M., Kieboom, A. P. G., & Van Bekkum, H. **(1989)**. Preparation and calcium complexation of oxidized polysaccharides. Part I: Oxidation of maltodextrins and starch with alkaline sodium hypochlorite. *Starch-Stärke*, 41(9), 348-354.

Fontanille G. Y. **(2002)**. Chimie et Physico-chimie des Polymères. *Cycles. Ecoles d'Ingénieur*, 2. 466-473.

Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E., & Pérez-Alvarez, J. A. **(2010)**. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4), 931–942.

Fujii, N., & Shinohara, S. **(1986)**. Polysaccharides produced by *Aureobasidium pullulans*. *FERM-P4257 II, Toxicity test and anti-tumour effect, Kenkyu Hokoku-Miyazaki Daigaku Nogakubu*, 33, 243-248.

G

Galant, C., Kjøniksen, A. L., Nguyen, G. T., Knudsen, K. D., & Nyström, B. **(2006)**. Altering associations in aqueous solutions of a hydrophobically modified alginate in the presence of β -cyclodextrin monomers. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(1), 190-195.

Gao, S., Chen, J., Xu, X., Ding, Z., Yang, Y. H., Hua, Z., & Zhang, J. **(2003)**. Galactosylated low molecular weight chitosan as DNA carrier for hepatocyte-targeting. *International journal of pharmaceutics*, 255(1), 57-68.

Gharsallaoui A. **(2008)**. Microencapsulation d'un système lipidique par des macromolécules végétales (protéine de pois+pectine). *Thèse de Doctorat*. Université de Bourgogne. France.

Gómez-Mascaraque, L. G., Méndez, J. A., Fernández-Gutiérrez, M., Vázquez, B., & San Román, J. **(2014)**. Oxidized dextrans as alternative crosslinking agents for polysaccharides: Application to hydrogels of agarose–chitosan. *Acta biomaterialia*, 10(2), 798-811.

Gomez, C. G., Rinaudo, M., & Villar, M. A. **(2007)**. Oxidation of sodium alginate and characterization of the oxidized derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 67(3), 296-304.

Gosselink, R. J., van Dam, J. E., de Jong, E., Gellerstedt, G., Scott, E. L., & Sanders, J. P. **(2011)**. Effect of periodate on lignin for wood adhesive application. *Holzforschung*, 65(2), 155-162.

Guibet, M. (2007). Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique (*Doctoral dissertation*, Université de Bretagne Occidentale).

H

Hassan, R. M. (1993). Alginate polyelectrolyte ionotropic gels. XIV. Kinetics and mechanism of formation of intermediate complex during the oxidation of alginate polysaccharide by alkaline permanganate with a spectrophotometric evidence of manganate (VI) transient species. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 31(1), 51-59.

Hassan, R. M., Tirkistani, F. A., Zaaferany, I. A., Asghar, B. H., & Takagi, H. D. (2014). Oxidation of Some Anionic Polyelectrolytes. Kinetics and Mechanism of Oxidation of

Carboxymethyl Cellulose Polysaccharide by Cerium (IV) in Aqueous Perchlorate Solutions. *Current Advances in Chemistry Research.*, 1, 15-24.

Haskins, J. F., & Hogsed, M. J. **(1950)**. The alkaline oxidation of cellulose. I. Mechanism of the degradative oxidation of cellulose by hydrogen peroxide in presence of alkali. *The Journal of Organic Chemistry*, 15(6), 1264-1274.

Hirota, M., Tamura, N., Saito, T., & Isogai, A. **(2009)**. Oxidation of regenerated cellulose with NaClO₂ catalyzed by TEMPO and NaClO under acid-neutral conditions. *Carbohydrate polymers*, 78(2), 330-335.

Heras, A., Rodriguez, N. M., Ramos, V. M., & Agullo, E. **(2001)**. N-methylene phosphonic chitosan: a novel soluble derivative. *Carbohydrate Polymers*, 44(1), 1-8.

Hirano, S., Tanaka, Y., Hasegawa, M., Tobetto, K., & Nishioka, A. **(1985)**. Effect of sulfated derivatives of chitosan on some blood coagulant factors. *Carbohydrate research*, 137, 205-215.

Hoffmann, B., Seitz, D., Mencke, A., Kokott, A., & Ziegler, G. **(2009)**. Glutaraldehyde and oxidised dextran as crosslinker reagents for chitosan-based scaffolds for cartilage tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(7), 1495-1503.

Huang, Q., & Zhang, L. **(2011)**. Preparation, chain conformation and anti-tumor activities of water-soluble phosphated (1→ 3)- α -d-glucan from *Poria cocos* mycelia. *Carbohydrate polymers*, 83(3), 1363-1369

I

Ibrahim, M., Mahmoud, A. A., Osman, O., Refaat, A., & El-Sayed, E. S. M. **(2010)**. Molecular spectroscopic analysis of nano-chitosan blend as biosensor. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 77(4), 802-806.

Illy, N., Fache, M., Ménard, R., Negrell, C., Caillol, S., & David, G. **(2015)**. Phosphorylation of bio-based compounds: the state of the art. *Polym. Chem.*, 6(35), 6257-6291.

Isbell, H. S., Frush, H. L., Naves, R., & Soontrachoen, P. **(1981)**. Degradation of 2-deoxyaldoses by alkaline hydrogen peroxide. *Carbohydrate Research*, 90(1), 111-122.

Islam, M. M., Masum, S. M., Rahman, M. M., Molla, M. A. I., Shaikh, A. A., & Roy, S. K. **(2011)**. Preparation of chitosan from shrimp shell and investigation of its properties. *International Journal of Basic & Applied Sciences*, 11(1), 116-130.

J

Jain, N. K., & Jain, S. K. **(2010)**. Development and in vitro characterization of galactosylated low molecular weight chitosan nanoparticles bearing doxorubicin. *Aaps Pharmscitech*, 11(2), 686-697.

Jayakumar, R., Nwe, N., Tokura, S., & Tamura, H. **(2007)**. Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40(3), 175-181.

Jiang, C., Xiong, Q., Li, S., Zhao, X., & Zeng, X. **(2015)**. Structural characterization, sulfation and antitumor activity of a polysaccharide fraction from *Cyclina sinensis*. *Carbohydrate polymers*, 115, 200-206.

Joly, N. **(2003)**. Synthèse et caractérisation de nouveaux films plastiques obtenus par acylation et réticulation de la cellulose (*Doctoral dissertation, Limoges*).

Jones, C.W, Clark, J.H, Braithwaite, M.J. **(1999)**. Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives. *1st Edition Royal Society of Chemistry. Cambridge*.

Jumaa, M., Furkert, F. H., & Müller, B. W. **(2002)**. A new lipid emulsion formulation with high antimicrobial efficacy using chitosan. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53(1), 115-123.

Jung, S. W., Jeong, Y. I., & Kim, S. H. **(2003)**. Characterization of hydrophobized pullulan with various hydrophobicities. *International journal of pharmaceutics*, 254(2), 109-121.

K

Kamel, S., Ali, N., Jahangir, K., Shah, S. M., & El-Gendy, A. A. **(2008)**. Pharmaceutical significance of cellulose: a review. *Express Polymer Letters*, 2(11), 758-778.

Kay, A. E., & Alldred, A. **(2003)**. Rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Walker R., Edwards C.,(ed.)*, 791-807.

KC, R. B., Lee, S. M., Yoo, E. S., Choi, J. H., & Do Ghim, H. **(2009)**. Glycoconjugated chitosan stabilized iron oxide nanoparticles as a multifunctional nanoprobe. *Materials Science and Engineering: C*, 29(5), 1668-1673.

Keller, J. D. **(1986)**. Sodium Carboxymethylcellulose. *Food Hvdrocolloids*, CRC Press, Floride. 3, 45 -104.

Khachatourians, G. G. (Ed.). **(1995)**. Food biotechnology: microorganisms. *John Wiley & Sons*.

Khennaoui, B. **(2009)**. Etude, synthèse et obtention de matériaux Composites à partir de Cellulose de Polyacrylamide et de Polystyrène», *Mémoire de Magister*, Université Mentouri Constantine.

Khairou, K. S. **(2003)**. Kinetics and mechanism of decomposition of intermediate complex during oxidation of pectate polysaccharide by potassium permanganate in alkaline solutions. *International journal of chemical kinetics*, 35(2), 67-72.

Khotimchenko, Y. S. **(2010)**. The antitumor properties of nonstarch polysaccharides: carrageenans, alginates, and pectins. *Russian journal of marine biology*, 36(6), 401-412.

Kim, W. S., Mooney, D. J., Arany, P. R., Lee, K., Huebsch, N., & Kim, J. **(2012)**. Adipose tissue engineering using injectable, oxidized alginate hydrogels. *Tissue Engineering Part A*, 18(7-8), 737-743.

Kumar, V., & Yang, T. (1999). Analysis of carboxyl content in oxidized celluloses by solid-state ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopy. *International journal of pharmaceutics*, 184(2), 219-226.

Kooijman, L. M., Ganzeveld, K. J., Manurung, R. M., & Heeres, H. J. (2003). Experimental studies on the carboxymethylation of arrowroot starch in isopropanol–water media. *Starch-Starke*, 55, 495–503.

Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), 1-27.

Kuniak, L., Alince, B., Masura, V., & Alföldi, J. (1969). Changes in the fine structure of cellulose upon oxidation. *Svensk papperstidning*, 72(7), 205-208.

Kurita, K. (2001). Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Progress in Polymer Science*, 26, 1921–1971.

Kuzmenko, V., Hägg, D., Toriz, G., & Gatenholm, P. (2014). In situ forming spruce xylan-based hydrogel for cell immobilization. *Carbohydrate polymers*, 102, 862-868.

L

Lafargue, D. (2007). Etude et élaboration de films à base de polysaccharides pour la fabrication de gélules pharmaceutiques. (*Doctoral dissertation, Nantes*).

Larock, R. C. (2001). Comprehensive Organic Transformations, VCH, New York, 1989. *Search PubMed*, 966.

Lee, D. W., Powers, K., & Baney, R. (2004). Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 58(4), 371-377.

Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*, 37(1), 106-126.

Leonard, M., De Boisseson, M. R., Hubert, P., Dalencon, F., & Dellacherie, E. (2004). Hydrophobically modified alginate hydrogels as protein carriers with specific controlled release properties. *Journal of controlled release*, 98(3), 395-405.

Lewin, M., & Ettinger, A. (1969). Oxidation of cellulose by hydrogen peroxide. *Cellulose chemistry and technology*, 3(1), 9-20.

Li, J., & Mei, X. (2006). Applications of cellulose and cellulose derivatives in immediate release solid dosage. Polysaccharides for drug delivery and pharmaceutical applications. *American Chemical Society*, 934, 19–55.

Li, W., Sun, B., & Wu, P. (2009). Study on hydrogen bonds of carboxymethyl cellulose sodium film with two-dimensional correlation infrared spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 78(3), 454-461.

Li, H., Wu, B., Mu, C., & Lin, W. (2011). Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 84(3), 881-886.

Li, S. M., Jia, N., Ma, M. G., Zhang, Z., Liu, Q. H., & Sun, R. C. **(2011)**. Cellulose–silver nanocomposites: Microwave-assisted synthesis, characterization, their thermal stability, and antimicrobial property. *Carbohydrate Polymers*, 86(2), 441-447.

Li, X., Shi, X., Wang, M., & Du, Y. **(2011)**. Xylan chitosan conjugate-A potential food preservative. *Food Chemistry*, 126(2), 520-525.

Li, Y., Zhang, S., Meng, X., Chen, X., & Ren, G. **(2011)**. The preparation and characterization of a novel amphiphilic oleoyl-carboxymethyl chitosan self-assembled nanoparticles. *Carbohydrate polymers*, 83(1), 130-136.

Li, S., Xiong, Q., Lai, X., Li, X., Wan, M., Zhang, J., & Zhang, D. **(2016)**. Molecular Modification of Polysaccharides and Resulting Bioactivities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2), 237-250.

Li, C., Nie, H., Chen, Y., Xiang, Z. Y., & Li, J. B. **(2016)**. Amide pectin: A carrier material for colon-targeted controlled drug release. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(29).

Lin, X. Z., Luo, Z. M., Ma, X. L., & Chen, S. **(2007)**. Preparation and Properties of Alkylated Pullulan [J]. *Journal of Fujian Normal University (Natural Science Edition)*, 2, 014.

Liu, N., Chen, X. G., Park, H. J., Liu, C. G., Liu, C. S., Meng, X. H., & Yu, L. J. **(2006)**. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of Escherichia coli. *Carbohydrate polymers*, 64(1), 60-65.

Liu, W. G., Zhang, X., Sun, S. J., Sun, G. J., Yao, K. D., Liang, D. C., & Zhang, J. Y. (2003). N-alkylated chitosan as a potential nonviral vector for gene transfection. *Bioconjugate chemistry*, 14(4), 782-789.

Liu, W., Sun, S. J., Zhang, X., & De Yao, K. **(2003)**. Self-aggregation behavior of alkylated chitosan and its effect on the release of a hydrophobic drug. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 14(8), 851-859.

Liuyun, J., Yubao, L., & Chengdong, X. **(2009)**. Preparation and biological properties of a novel composite scaffold of nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethyl cellulose for bone tissue engineering. *Journal of biomedical science*, 16(1), 65.

Lu, Y., Kong, Q. M., Jing, R., Hu, X., & Zhu, P. X. **(2013)**. Solid state oxidation of polyvinyl alcohol by hydrogen peroxide-Cu (II). *Polymer degradation and stability*, 98(6), 1103-1109.

M

Ma, L., Chen, H., Zhang, Y., Zhang, N., & Fu, L. **(2012)**. Chemical modification and antioxidant activities of polysaccharide from mushroom *Inonotus obliquus*. *Carbohydrate polymers*, 89(2), 371-378.

Mähner, C., Lechner, M. D., & Nordmeier, E. **(2001)**. Synthesis and characterisation of dextran and pullulan sulphate. *Carbohydrate Research*, 331(2), 203-208.

- Martins, A. F., Facchi, S. P., Follmann, H. D., Pereira, A. G., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. **(2014)**. Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing N-quaternized moieties in its backbone: a review. *International journal of molecular sciences*, 15(11), 20800-20832.
- Matute, A. I. R., Cardelle-Cobas, A., García-Bermejo, A. B., Montilla, A., Olano, A., & Corzo, N. **(2013)**. Synthesis, characterization and functional properties of galactosylated derivatives of chitosan through amide formation. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 245-255.
- Millero, F. J., Sharma, V. K., & Karn, B. **(1991)**. The rate of reduction of copper (II) with hydrogen peroxide in seawater. *Marine chemistry*, 36(1-4), 71-83.
- Matevosyan, G. L., Yukha, Y. S., & Zavlin, P. M. **(2003)**. Phosphorylation of chitosan. *Russian journal of general chemistry*, 73(11), 1725-1728.
- Melo, F. R., Pereira, M. S., Foguel, D., & Mourão, P. A. **(2004)**. Antithrombin-mediated anticoagulant activity of sulfated polysaccharides different mechanisms for heparin and sulfated galactans. *Journal of Biological Chemistry*, 279(20), 20824-20835.
- Mizumoto, K., Sugawara, I., Ito, W., Kodama, T., Hayami, M., & Mori, S. **(1988)**. Sulfated homopolysaccharides with immunomodulating activities are more potent anti-HTLV-III agents than sulfated heteropolysaccharides. *The Japanese journal of experimental medicine*, 58(3), 145-151.
- Mkedder, I. **(2012)**. Modification et dégradation enzymatique de polysaccharides: investigation par imagerie et diffusion de rayonnement. (*thèse de doctorat, Université de Grenoble*).
- Monge, S., Canniccioni, B., Graillot, A., & Robin, J. J. **(2011)**. Phosphorus-containing polymers: a great opportunity for the biomedical field. *Biomacromolecules*, 12(6), 1973-1982.
- Mudgil, D., & Barak, S. **(2013)**. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International journal of biological macromolecules*, 61, 1-6.
- Murinov, K. Y., Kuramshina, A. R., Khisamutdinov, R. A., Murinov, Y. I., & Kabal'nova, N. N. **(2010)**. IR study on chitosan oxidation with sodium chlorite. *Russian Journal of General Chemistry*, 80(1), 23-26.
- Muzzarelli, R. A., Tanfani, F., Emanuelli, M., & Mariotti, S. **(1982)**. N-(carboxymethylidene) chitosans and N-(carboxymethyl) chitosans: novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. *Carbohydrate Research*, 107(2), 199-214.

N

- Nagasawa, K., Tohira, Y., Inoue, Y., & Tanoura, N. **(1971)**. Reaction between carbohydrates and sulfuric acid: Part I. Depolymerization and sulfation of polysaccharides by sulfuric acid. *Carbohydrate Research*, 18(1), 95-102.
- Nishi, N., Ebina, A., Nishimura, S. I., Tsutsumi, A., Hasegawa, O., & Tokura, S. **(1986)**. Highly phosphorylated derivatives of chitin, partially deacetylated chitin and chitosan as new

functional polymers: preparation and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 8(5), 311-317.

Nudga, L. A., Plisko, E. A., & Danilov, S. N. (1973). N-alkylation of chitosan. *Zhurnal Obshchei Khimii*, 43(12), 2756-2760.

O

Osman, H., Nasarudin, R., & Lee, S. L. (2004). Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potential. *Food Chemistry*, 86(1), 41-46.

Onesippe, C. (2005). Etude des systèmes polyélectrolytes/tensioactif en phase aqueuse et à l'interface liquide/gaz. Application à l'élaboration de micro-capsules (*thèse de doctorat, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc*).

Qyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

P

Palaniraj, A., & Jayaraman, V. (2011). Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*, 106(1), 1-12.

Paquet, E., Turgeon, S. L., & Lemieux, S. (2010). Effect of xanthan gum on the degradation of cereal -glucan by ascorbic acid. *Journal of Cereal Science*, 52, 260–262.

Parfitt, K. (1999). Analgesics, anti-inflammatory and antipyretics. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 32nd ed, Massachusetts, 1-12.

Park, I. K., Yang, J., Jeong, H. J., Bom, H. S., Harada, I., Akaike, T., & Cho, C. S. (2003). Galactosylated chitosan as a synthetic extracellular matrix for hepatocytes attachment. *Biomaterials*, 24(13), 2331-2337.

Park, H. M., Liang, X., Mohanty, A. K., Misra, M., & Drzal, L. T. (2004). Effect of compatibilizer on nanostructure of the biodegradable cellulose acetate/organoclay nanocomposites. *Macromolecules*, 37(24), 9076-9082.

Park, P. J., Je, J. Y., & Kim, S. K. (2004). Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers*, 55(1), 17-22.

Pawar, S. N., & Edgar, K. J. (2013). Alginate esters via chemoselective carboxyl group modification. *Carbohydrate polymers*, 98(2), 1288-1296.

Petit, E., Delattre, C., Papy-Garcia, D., & Michaud, P. (2005). Chondroitin sulfate lyases – Applications in analysis and glycobiology. *Advanced Pharmacology*, 53, 167–186.

Pelletier, S., Hubert, P., Payan, E., Marchal, P., Choplin, L., & Dellacherie, E. **(2001)**. Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate for cartilage repair: rheological properties. *Journal of biomedical materials research*, 54(1), 102-108.

Petreus, T., Stoica, B. A., Petreus, O., Goriuc, A., Cotrutz, C. E., Antoniac, I. V., & Barbu-Tudoran, L. **(2014)**. Preparation and cytocompatibility evaluation for hydrosoluble phosphorous acid-derivatized cellulose as tissue engineering scaffold material. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 25(4), 1115-1127.

Persin, Z., Stana-Kleinschek, K., Foster, T. J., Van Dam, J. E., Boeriu, C. G., & Navard, P. **(2011)**. Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 22-32.

Philippova, O. E., & Korchagina, E. V. **(2012)**. Chitosan and its hydrophobic derivatives: Preparation and aggregation in dilute aqueous solutions. *Polymer Science Series A*, 54(7), 552-572.

Picton, L., Mocanu, G., Mihai, D., Carpov, A., & Muller, G. **(1995)**. Chemically modified exopolysaccharide pullulans: Physico-chemical characteristics of ionic derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 28, 131–136.

Pires, N. R., Cunha, P. L., Maciel, J. S., Angelim, A. L., Melo, V. M., de Paula, R. C., & Feitosa, J. P. **(2013)**. Sulfated chitosan as tear substitute with no antimicrobial activity. *Carbohydrate polymers*, 91(1), 92-99.

Prabhu, S. M., & Meenakshi, S. **(2014)**. Enriched fluoride sorption using chitosan supported mixed metal oxides beads: Synthesis, characterization and mechanism. *Journal of Water Process Engineering*, 2, 96-104.

Pereira, J. M. **(2013)**. Synthesis of new pullulan derivatives for drug delivery. *Thèse de doctorat, Université de Blacksburg*.

Petruš, L., Gray, D. G., & BeMiller, J. N. **(1995)**. Homogeneous alkylation of cellulose in lithium chloride/dimethyl sulfoxide solvent with dimsyl sodium activation. A proposal for the mechanism of cellulose dissolution in LiCl/Me₂SO. *Carbohydrate research*, 268(2), 319-323.

Polyak, B., Geresh, S., & Marks, R. S. **(2004)**. Synthesis and characterization of a biotin-alginate conjugate and its application in a biosensor construction. *Biomacromolecules*, 5(2), 389-396.

R

Raafat, D., Von Bargen, K., Haas, A., & Sahl, H. G. **(2008)**. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied and environmental microbiology*, 74(12), 3764-3773.

Raja Sekharan, T., Palanichamy, S., Shanmuganathan, S., Karthikeyan, A., Senthilkumar, S. R., & Thanga Thirupathi, A. **(2009)**. Formulation and evaluation of theophylline controlled release matrix tablets using xanthan gum. *Der Pharmacia Lettre*, 1(2), 93-101.

Rangelova, N., Aleksandrov, L., Angelova, T., Georgieva, N., & Müller, R. **(2014)**. Preparation and characterization of SiO₂/CMC/Ag hybrids with antibacterial properties. *Carbohydrate polymers*, 101, 1166-1175.

Raymond, L., Morin, F. G., & Marchessault, R. H. (1993). Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. *Carbohydrate Research*, 246(1), 331-336.

Rekha, M. R., & Sharma, C. P. **(2007)**. Pullulan as a promising biomaterial for biomedical applications: a perspective. *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, 20(2), 116-121.

Reguant J. & Rinaudo M. **(1999)**. Etude bibliographique sur les matériaux issus de la biomasse végétale. *Recherche scientifique*, Université de France.

Ren, J. L., Sun, R. C., & Peng, F. **(2008)**. Carboxymethylation of hemicelluloses isolated from sugarcane bagasse. *Polymer Degradation and Stability*, 93(4), 786-793.

Richardson, S. W., Kolbe, H. J., & Duncan, R. **(1999)**. Potential of low molecular mass chitosan as a DNA delivery system: biocompatibility, body distribution and ability to complex and protect DNA. *International journal of pharmaceutics*, 178(2), 231-243.

Rodrigue, J. **(2008)**. Oxydation de materiel lignocellulosique par le systeme NaOCl/NiO (OH) (Vol. 2818). ProQuest.

Ronghua, H., Yumin, D., & Jianhong, Y. **(2003)**. Preparation and in vitro anticoagulant activities of alginate sulfate and its quaterized derivatives. *Carbohydrate polymers*, 52(1), 19-24.

Roques, H. **(1990)**. Fondements théoriques du traitement chimique des eaux.

Rosca, C., Popa, M. I., Lisa, G., & Chitanu, G. C. **(2005)**. Interaction of chitosan with natural or synthetic anionic polyelectrolytes. 1. The chitosan–carboxymethylcellulose complex. *Carbohydrate Polymers*, 62(1), 35-41.

Robyt, J. F. (1998). Polysaccharides I. In *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. Springer New York. 157-227

S

Sakaguchi, T., Horikoshi, T., & Nakajima, A. **(1981)**. Adsorption of uranium by chitin phosphate and chitosan phosphate. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(10), 2191-2195.

Salisu, A., Naim, A. A., & Sanagi, M. M. **(2013)**. Chemical modification of marine polysaccharide (alginate) by free-radical graft copolymerization—a short review. *IOSR-JAC*, 4(3), 39-44.

Sashiwa, H., & Aiba, S. I. (2004). Chemically modified chitin and chitosan as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 29(9), 887-908.

- Schante ´, C. E., Zuber, G., Herlin, C., & Vandamme, T. F. **(2011)**. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 85(3), 469–489.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y. J. **(1999)**. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in food science & technology*, 10(2), 37-51.
- Shallom, D. & Shoham, Y. **(2003)**. Microbial hemicellulases. *Current Opinion in Microbiology*. 6(3) , 219-228.
- Shimotoyodome, A., Suzuki, J., Kumamoto, Y., Hase, T., & Isogai, A. **(2011)**. Regulation of postprandial blood metabolic variables by TEMPO-oxidized cellulose nanofibers. *Biomacromolecules*, 12(10), 3812-3818.
- Siddhuraju, P., & Becker, K. **(2007)**. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), 10-19.
- Shukla, J. S., & Sharma, G. K. **(1987)**. Graft copolymerization of methyl methacrylate onto wool initiated by ceric ammonium nitrate–thioglycolic acid redox couple in presence of air. IV. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 25(2), 595-605.
- Silva, D. A., de Paula, R. C., Feitosa, J. P., de Brito, A. C., Maciel, J. S., & Paula, H. C. **(2004)**. Carboxymethylation of cashew tree exudate polysaccharide. *Carbohydrate Polymers*, 58(2), 163-171.
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., & Morrill, T. C. **(1998)**. Identification spectrométrique de composés organiques. *De Boeck Supérieur*. 142-158.
- Simoës, J. A., Citron, D. M., Aroutcheva, A., Anderson, R. A., Chany II, C. J., Waller, D. P., & Zaneveld, L. J. **(2002)**. Two novel vaginal microbicides (polystyrene sulfonate and cellulose sulfate) inhibit *Gardnerella vaginalis* and anaerobes commonly associated with bacterial vaginosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(8), 2692-2695.
- Simon, J. L. **(2001)**. Gomme xanthane: agent viscosant et stabilisant. *Techniques de l'ingénieur. Bioprocédés*, (F4300).
- Singh, R. S., Kaur, N., & Kennedy, J. F. **(2015)**. Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. *Carbohydrate polymers*, 123, 190-207.
- Sinitnya, A., Čopíková, J., Prutyanov, V., Skoblya, S., & Machovič, V. **(2000)**. Amidation of highly methoxylated citrus pectin with primary amines. *Carbohydrate Polymers*, 42(4), 359-368.
- Sriamornsak, P. **(2003)**. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. *Silpakorn University International Journal*, 3(1-2), 206-228.
- Srivastava, P., & Malviya, R. **(2011)**. Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry-An overview. *Indian journal of natural products and resources*, 2(1), 10-18.
- Sudarshan, N. R., Hoover, D. G., & Knorr, D. **(1992)**. Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnology*, 6(3), 257-272.

Suflet, D. M., Chitanu, G. C., & Popa, V. I. **(2006)**. Phosphorylation of polysaccharides: New results on synthesis and characterisation of phosphorylated cellulose. *Reactive and Functional Polymers*, 66(11), 1240-1249.

Suh, H. J., Yang, H. S., Ra, K. S., Noh, D. O., Kwon, K. H., Hwang, J. H., & Yu, K. W. **(2013)**. Peyer's patch-mediated intestinal immune system modulating activity of pectic-type polysaccharide from peel of Citrus unshiu. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1079–1086.

Sun, T., Zhu, Y., Xie, J., & Yin, X. H. **(2011)**. Antioxidant activity of N-acyl chitosan oligosaccharide with same substituting degree. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 198–800.

Synytsya, A., Copikova, J., Marounek, M., Mlcochova, P., Sihelnikova, L., Blafkova, P., & Havlicek, J. **(2003)**. Preparation of N-alkylamides of highly methylated (HM) citrus pectin. *Czech journal of food sciences*, 21(5), 162-166.

Suwan, J., Zhang, Z., Li, B., Vongchan, P., Meepowpan, P., Zhang, F., & Linhardt, R. J. **(2009)**. Sulfonation of papain-treated chitosan and its mechanism for anticoagulant activity. *Carbohydrate research*, 344(10), 1190-1196.

T

Takahashi, H., Yoshida, T., Matsumoto, T., Kameda, Y., Takano, Y., Tazo, Y., & Saegusa, M. **(2014)**. Frequent β -catenin gene mutations in atypical polypoid adenomyoma of the uterus. *Human pathology*, 45(1), 33-40.

Taubner, T., Synytsya, A., & Čopíková, J. **(2015)**. Preparation of amidated derivatives of carboxymethylcellulose. *International journal of biological macromolecules*, 72, 11-18.

Teotia, A., Ikram, S., & Gupta, B. **(2012)**. Structural characterization of chitosan and oxidized carboxymethyl cellulose based freeze-dried films. *Polymer bulletin*, 69(2), 175-188.

Tupa, M., Maldonado, L., Vázquez, A., & Foresti, M. L. **(2013)**. Simple organocatalytic route for the synthesis of starch esters. *Carbohydrate polymers*, 98(1), 349-357.

U

Ünlü, C. H., Günister, E., & Atıcı, O. **(2009)**. Synthesis and characterization of NaMt biocomposites with corn cob xylan in aqueous media. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 585-592.

V

Veerapur, R. S., Gudasi, K. B., & Aminabhavi, T. M. **(2007)**. Pervaporation dehydration of isopropanol using blend membranes of chitosan and hydroxypropyl cellulose. *Journal of Membrane Science*, 304(1), 102-111.

Verraest, D. L., Peters, J. A., Kuzee, H. C., Batelaan, J. G., & Van Bakkum, H. **(1995)**. Carboxymethylation of inulin. *Carbohydrate Research*, 271, 101–112.

Vignon, M., Montanari, S., Samain, D., & Condoret, J. S. **(2012)**. Method for the controlled oxidation of polysaccharides. *U.S. Patent No. 8,252,921*.

Vinsova, J., & Vavrikova, E. **(2011)**. Chitosan derivatives with antimicrobial, antitumour and antioxidant activities-a review. *Current pharmaceutical design*, 17(32), 3596-3607.

Viuda-Martos, M., López-Marcos, M. C., Fernández-López, J., Sendra, E., López-Vargas, J. H., & Pérez-Alvarez, J. A. **(2010)**. Role of fiber in cardiovascular diseases: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(2), 240–258.

W

Wang, J., & Somasundaran, P. **(2005)**. Adsorption and conformation of carboxymethyl cellulose at solid–liquid interfaces using spectroscopic, AFM and allied techniques. *Journal of Colloid and Interface Science*, 291(1), 75-83.

Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., & Xie, M. **(2015)**. Reviews on mechanisms of *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Whistler, R. L., & BeMiller, J. N. **(1993)**. Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives. San Diego: *Academic Press*.

Williams, D. L., McNamee, R. B., Jones, E. L., Pretus, H. A., Ensley, H. E., Browder, I. W., & Di Luzio, N. R. **(1991)**. A method for the solubilization of a (1→3)-β-D-glucan isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydrate Research*, 219, 203-213.

Williams, D. L., Li, C., Ha, T., Ozment-Skelton, T., Kalbfleisch, J. H., Preiszner, J., ... & Schweitzer, J. B. **(2004)**. Modulation of the phosphoinositide 3-kinase pathway alters innate resistance to polymicrobial sepsis. *The Journal of Immunology*, 172(1), 449-456.

Wolff, I. A., Olds, D. W., & Hilbert, G. E. **(1951)**. The acylation of corn starch, amylose and amylopectin. *Journal of the American Chemical Society*, 73(1), 346-349.

Wu, J., Zhang, J., Zhang, H., He, J., Ren, Q., & Guo, M. (2004). Homogeneous acetylation of cellulose in a new ionic liquid. *Biomacromolecules*, 5(2), 266-268.

www.dfepharm.com/en/downloads/pdf .Superdisintegrants: introduction to chemistry and performance. Consulté le: 22-12-2016.

www.fadim.com/fra/wp-content/uploads/2014/09/monographie.pdf. Nouvelle frontiere dans la cure des pathologies dentaires Rôle des produits naturels : Acide Hyaluronique, Huile d'arbre à thé et Méthyl-Sulfonyl-Méthane. Consulté le: 29-11-2016.

Y

Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., & Terao, J. **(1998)**. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(6), 1201-1204.

Yan, J. K., Ma, H. L., Cai, P. F., Zhang, H. N., Zhang, Q., Hu, N. Z., et al. **(2014)**. Structural characteristics and antioxidant activities of different families of 4-acetamidoTEMPO oxidised curdlan. *Food Chemistry*, 143, 530–535.

- Yang, J., Goto, M., Ise, H., Cho, C. S., & Akaike, T. **(2002)**. Galactosylated alginate as a scaffold for hepatocytes entrapment. *Biomaterials*, 23(2), 471-479.
- Yang, X. H., & Zhu, W. L. **(2007)**. Viscosity properties of sodium carboxymethylcellulose solutions. *Cellulose*, 14(5), 409-417.
- Yang, J. S., Xie, Y. J., & He, W. **(2011)**. Research progress on chemical modification of alginate: A review. *Carbohydrate polymers*, 84(1), 33-39.
- Yang, J. S., Ren, H. B., & Xie, Y. J. **(2011)**. Synthesis of amidic alginate derivatives and their application in microencapsulation of λ -cyhalothrin. *Biomacromolecules*, 12(8), 2982-2987.
- Yang, J., Luo, K., Li, D., Yu, S., Cai, J., Chen, L., & Du, Y. **(2013)**. Preparation, characterization and in vitro anticoagulant activity of highly sulfated chitosan. *International journal of biological macromolecules*, 52, 25-31.
- Yang, S., Dong, Q., Yang, H., Liu, X., Gu, S., Zhou, Y., & Xu, W. **(2016)**. N-carboxyethyl chitosan fibers prepared as potential use in tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 82, 1018-1022.
- Yen, G. C., & Chen, H. Y. **(1995)**. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 27-32.
- Yen, M. T., Yang, J. H., & Mau, J. L. **(2008)**. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 74(4), 840-844.
- Yoo, S. H., Lee, J. S., Park, S. Y., Kim, Y. S., Chang, P. S., & Lee, H. G. **(2005)**. Effects of selective oxidation of chitosan on physical and biological properties. *International journal of biological macromolecules*, 35(1), 27-31.
- Yu, K. W., Kiyohara, H., Matsumoto, T., Yang, H. C., & Yamada, H. **(2001)**. Characterization of pectic polysaccharides having intestinal immune system modulating activity from rhizomes of *Atractylodes lancea* DC. *Carbohydrate Polymers*, 46(2), 125-134.
- Yuan, H., Zhang, W., Li, X., Lü, X., Li, N., Gao, X., & Song, J. **(2005)**. Preparation and in vitro antioxidant activity of κ -carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives. *Carbohydrate Research*, 340(4), 685-692.
- Yokogawa, Y., Reyes, J. P., Mucalo, M. R., Toriyama, M., Kawamoto, Y., Suzuki, T., & Kamayama, T. **(1997)**. Growth of calcium phosphate on phosphorylated chitin fibres. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 8(7), 407-412.

Z

- Zeller, S. G., Greisgraber, G. W., & Gray, G. R. **(1991)**. Analysis of positions of substitution of O-carboxymethyl groups in partially O-carboxymethylated cellulose by the reductive-cleavage method. *Carbohydrate research*, 211(1), 41-45.
- Zhao, Q., Qian, J., An, Q., Gao, C., Gui, Z., & Jin, H. **(2009)**. Synthesis and characterization of soluble chitosan/sodium carboxymethyl cellulose polyelectrolyte complexes and the

pervaporation dehydration of their homogeneous membranes. *Journal of Membrane Science*, 333(1), 68-78.

Zhang, C., Ping, Q., Zhang, H., & Shen, J. **(2003)**. Preparation of N-alkyl-O-sulfate chitosan derivatives and micellar solubilization of taxol. *Carbohydrate Polymers*, 54(2), 137-141.

Zhang, J., Xia, W., Liu, P., Cheng, Q., Tahi, T., Gu, W., & Li, B. **(2010)**. Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications. *Marine drugs*, 8(7), 1962-1987.

Zhang, J., Li, C., Xue, Z. Y., Cheng, H. W., Huang, F. W., Zhuo, R. X., & Zhang, X. Z. **(2011)**. Fabrication of lactobionic-loaded chitosan microcapsules as potential drug carriers targeting the liver. *Acta biomaterialia*, 7(4), 1665-1673.

Zhang, Y. R., Wang, X. L., Zhao, G. M., & Wang, Y. Z. **(2012)**. Preparation and properties of oxidized starch with high degree of oxidation. *Carbohydrate Polymers*, 87(4), 2554-2562.

Zhang, N., Chen, H., Ma, L., & Zhang, Y. **(2013)**. Physical modifications of polysaccharide from *Inonotus obliquus* and the antioxidant properties. *International journal of biological macromolecules*, 54, 209-215.

Zhang, Z., Wang, X., Zhao, M., & Qi, H. **(2014)**. O-acetylation of low-molecular-weight polysaccharide from *Enteromorpha linza* with antioxidant activity. *International journal of biological macromolecules*, 69, 39-45.

Zhang, Q., Lin, D., & Yao, S. **(2015)**. Review on biomedical and bioengineering applications of cellulose sulfate. *Carbohydrate polymers*, 132, 311-322.

Zhu, H., Ji, J., Lin, R., Gao, C., Feng, L., & Shen, J. **(2002)**. Surface engineering of poly(DL-lactic acid) by entrapment of alginate–amino acid derivatives for promotion of chondrogenesis. *Biomaterials*, 23, 3141–3148.

Zeronian, S. H., & Inglesby, M. K. **(1995)**. Bleaching of cellulose by hydrogen peroxide. *Cellulose*, 2(4), 265-272.

ANNEXES.

Annexe 1 :
Activités et applications biologiques des polysaccharides et de leurs dérivés.

Polysaccharide	Type	Effets physiologiques	Domaines d'application	Références bibliographiques
Alginate	Non modifiée.	Antitumorale, anti-inflammatoire, ; anticoagulant, hémocompatible.	L'ingénierie tissulaire, l'immobilisation de la cellule, la libération des médicaments, la diminution de l'hyper-calciurie (contre la formation des lithiases urinaires) et dans le traitement de l'œsophagite, des blessures et des ulcères gastriques.	Khotimcheko(2010) Blondin et de Agostiniz (1995) Ronghua et al., (2003) Chouikhi (2013)
	Alkylée (par l'oxyde de propylène).		La dispersion des médicaments solides amorphes.	Pawar et Edgar (2013)
	Oxydée (par le periodate).		L'ingénierie tissulaire	Kim et al., (2012)
	Amidé(par le n-octylamine).		Micoencapsulation de λ –Cyhalothrin.	Yang et al., (2011)
	Sulfaté (par action du HClSO ₃).	Anticoagulant.	L'ingénierie tissulaire.	Aaen (2015)
Carraghénane	Non modifié	Antitumorale, anti-inflammatoire, antivirale.		Khotimchenko (2010) ; Blondin et de Agostiniz((1995)

Pectine	Non modifiée	Hypocholestérolémiant, antitumorale.	Dans la modulation du système immunitaire intestinal, la diminution de la vidange gastrique.	Mudgil et Barak (2013) ; Suh et al., (2013) ; Yu et al., (2001); Khotimchenko (2010). Chetouani et al., (2014) Li et al., (2016)
	Oxydée (par le periodate) et greffée à gélatine.	Hémocompatible	L'ingénierie tissulaire.	
	Amidée (avec l'isopropanolamine)		La libération contrôlée de médicaments du colon.	
Chitosane	Non modifié	Antioxydant, antivirale, antitumorale, antibactérien et fongicide		Vinsova et Vavrikova (2011). Bacon et al., (2000) ; Aiba (1992). Zhang et al., (2010). Gao et al., 2003 Pires et al., 2013
	Carboxyméthylé (O-carboxyméthylé et N-carboxyméthylé). Amidé (avec l'acide lactobionique).		La libération des médicaments, pansements hémostatiques. La libération médicamenteuse des peptides et des gènes de faible poids moléculaire.	
	Sulfaté (par action du HClSO_3)	Antibactérien	Usage potentiel dans les formulations des substituts de larmes.	
Acide hyaluronique	Non modifié	Réduit la réponse inflammatoire, régule l'homéostasie des fluides tissulaires. Il fonctionne comme barrière contre la diffusion de toxines ou d'agents		(http://www.fadim.com).

	Alkylé.	infectieux dans le tissu vivant.		Benedetti <i>et al.</i>, (1993).
	Amidé (par acide Dihydraside adipique, 2-aminoéthyl, lysine méthyl ester)	Transporteur des cellules dans les blessures de la peau.	Libération des biomolécules.	Bulpitt et Aeschlimann (1999)
Amidon	Non modifié	Hypocholestérolémiant, rôle de prébiotique, inhibiteur de l'accumulation de graisses, améliore l'absorption de minéraux.	Prévention du cancer du côlon et de l'hypoglycémie,	Bird <i>et al.</i>, (2010), Fuentes Zaragoza (2010)
	Acétylé (anhydride acétique, acide carboxylique)		Matrice dans les capsules et les comprimés.	Tupa <i>et al.</i>, (2013)
	Alkylé (par le méthyle, l'hydroxyéthyle, l'hydroxypropylméthyle, l'hydroxyéthylméthyle, le carboxyméthyle).		Excipient multifonctionnel pour des formes pharmaceutiques à administrations orales	BeMiller et Whistler (2009)
Les gommes (galactane,	Non modifiées	hypocholestérolémiants et hypotriglyceridémiques (effets sur la		Chawla et Patil (2010), Whistler et BeMiller (1993).

Xylane et autres)		glycémie postprandiale), ralentisseurs de la vidange gastrique.		
	Amidés (par la tyramine)		La culture cellulaire et l'ingénierie tissulaire.	Kuzmenko <i>et al.</i>, (2014).
Cellulose	Non modifiée	aide à réguler les mouvements intestinaux.	Application pharmaceutique et cosmétique.	Viuda-Martos <i>et al.</i>, (2010).
	Alkylée (par le méthyle, l'éthyle, l'hydroxyéthyle, l'hydroxypropyle, l'hydroxypropylméthyle, le carboxyméthyle).		Application pharmaceutique. Application pharmaceutique (transporteur des médicaments, stabilisant des suspensions).	Li <i>et al.</i> , (2006).
	Oxydée (par le TEMPO ou le periodate).		Libération des médicaments, pansements et régulation du niveau de glucose et d'insuline postprandiale.	Shimotoyodome <i>et al.</i>, (2011)
	Sulfaté (par H ₂ SO ₄ / SO ₃)	Anticoagulant, antiviral.	Revêtement anti-coagulation, microbicide vaginal.	Zhang <i>et al.</i>, (2015) Simoës <i>et al.</i>, (2002)
	Phosphorylé (par le H ₃ PO ₃)		Inhibiteur de l'activation des protéines du sang détoxifiantes après son incorporation dans la membrane d'hémodialyse.	Suflat <i>et al.</i>, (2006)

Annexe 2 : Préparations de solutions

PBS (0,2M, pH 6,4)

On prépare au départ une solution de di-hydrogénophosphate de potassium à 0,2M (soit 27,2 g KH_2PO_4 dans 1 L d'eau distillée) et une solution de di-potassium hydrogénophosphate à 0,2M (soit 34,8 g K_2HPO_4 dans 1 L d'eau distillée).

Puis on mélange 73,5 ml de la solution de KH_2PO_4 avec 26,5 ml de la solution de K_2HPO_4 . La dilution se fait jusqu'à 200 ml avec de l'eau distillée.

PBS de pH= 7

On Prépare une solution de di-hydrogénophosphate de potassium (soit 9,08 g de KH_2PO_4 par litre d'eau distillée) et une solution de di-sodium hydrogénophosphate (9,47 g de Na_2HPO_4 par litre d'eau distillée). Puis on mélange 78,0 ml de solution de KH_2PO_4 avec 122,0 ml Na_2HPO_4 .

Annexe 3 : Détermination des teneurs en aldéhyde et carboxyle

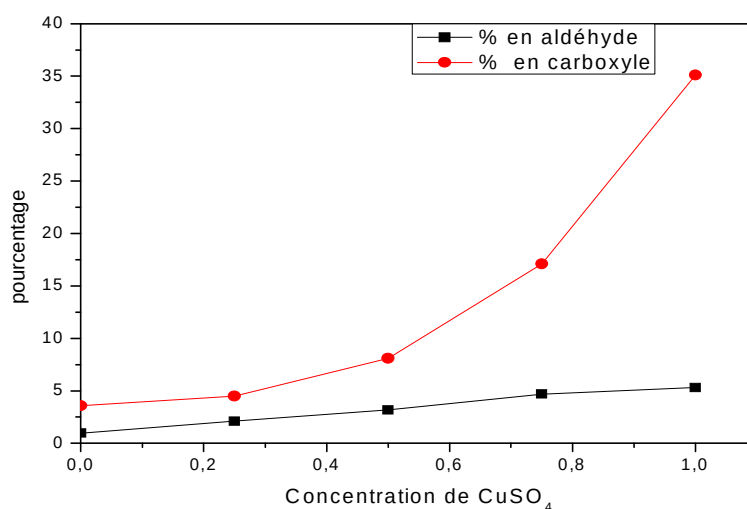


Figure A.1. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à $T=55^\circ\text{C}$, $\text{pH}=5,5$ et $t=3$ h par H_2O_2 (14,2%) / $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en fonction de la concentration de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

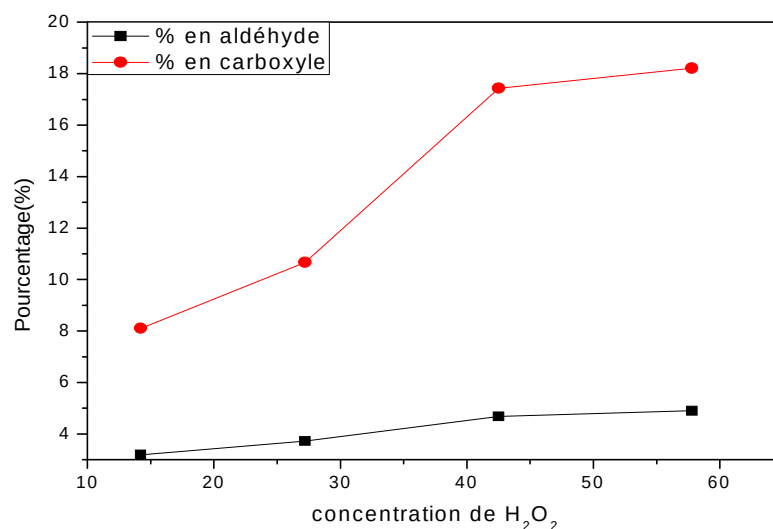


Figure A.2. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à $T = 55^\circ C$, $pH = 5,5$ et $t = 3$ h par H_2O_2 / $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (à 0,5%) en fonction de la concentration de H_2O_2 .

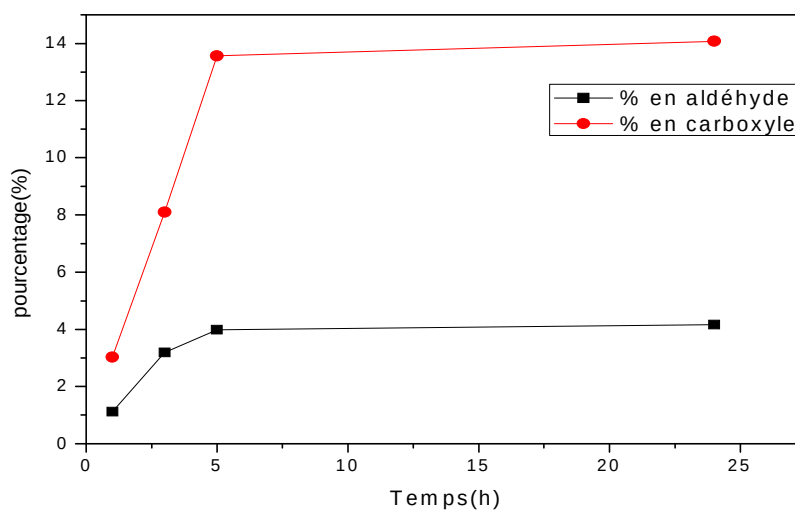


Figure A.3. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à $T = 55^\circ C$ et $pH = 5,5$ par H_2O_2 (14,2%) / $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.5%) en fonction du temps.

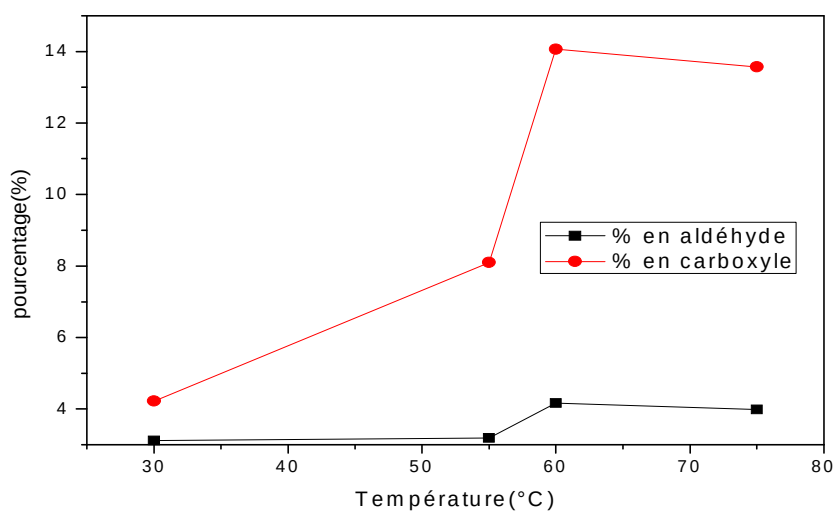


Figure A.4. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées au pH= 5,5 et t=3 h par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%) en fonction de la température.

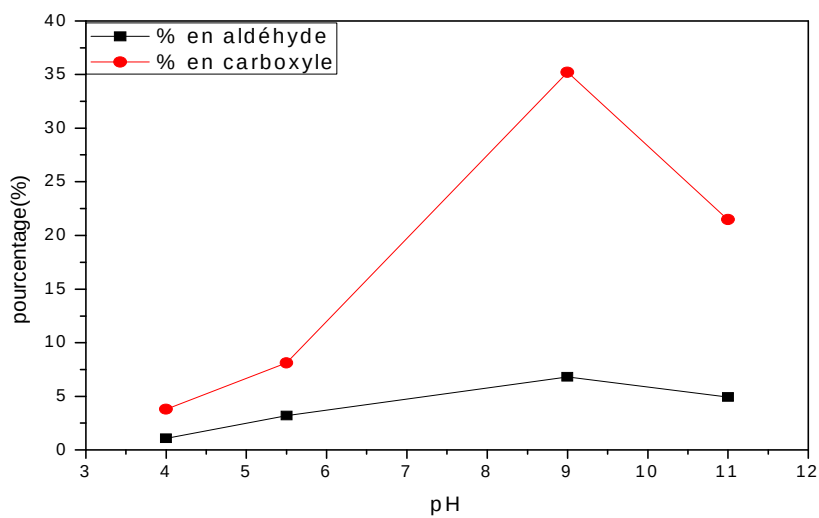


Figure A.5. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées à $T = 55^\circ\text{C}$ et t=3 h par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5%) en fonction du pH.

Annexe 4 : Spectroscopie UV-Vis.

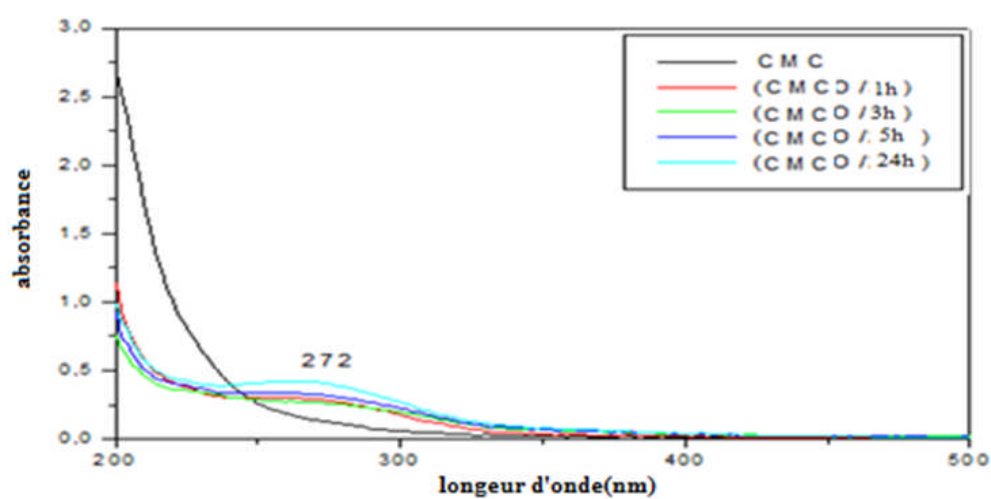


Figure. A.6. Spectres UV-Vis de la CMC et des CMC oxydées à $T = 55^{\circ}\text{C}$ et $\text{pH} = 5,5$ par H_2O_2 (14,2%)/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.5%) en fonction du temps.

Annexe 5 : Analyse par DRX.

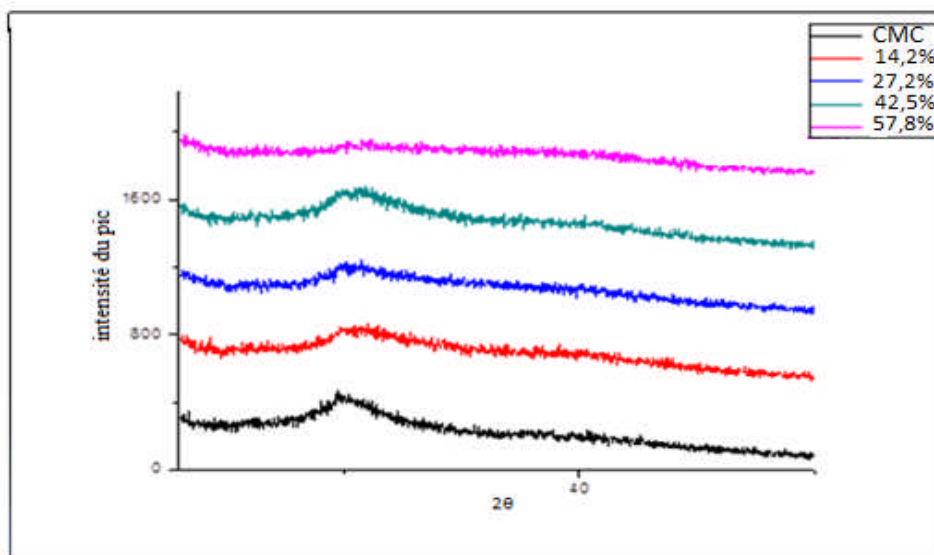


Figure A.7. Diffractogrammes des CMC oxydées à $T = 55^{\circ}\text{C}$ et $\text{pH} = 5,5$ par H_2O_2 / $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.5%) en fonction de concentration de H_2O_2 .

Annexe 6 : Gonflement.

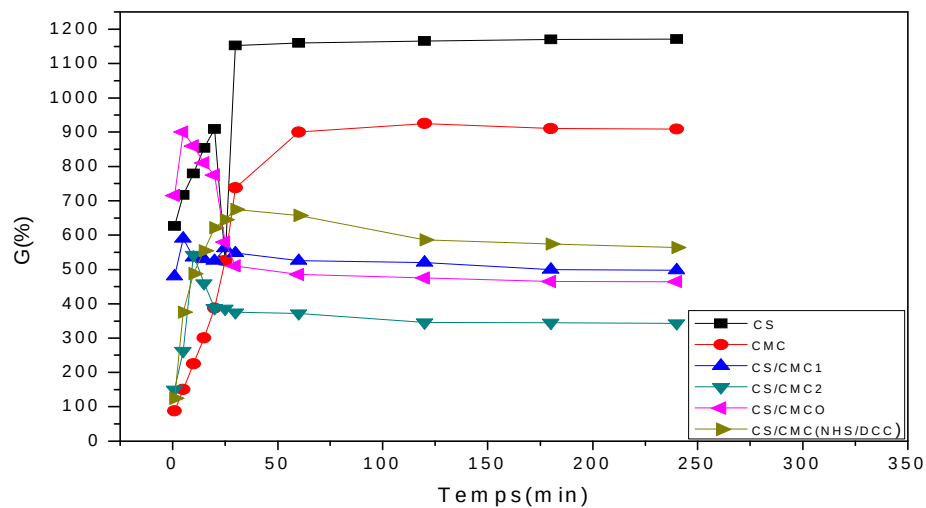


Figure A.8. Variation du taux de gonflement (G%) des différents films à T_{amb} en fonction du temps.

Annexe 7 : Activité anti-radicalaire par la méthode du DPPH.

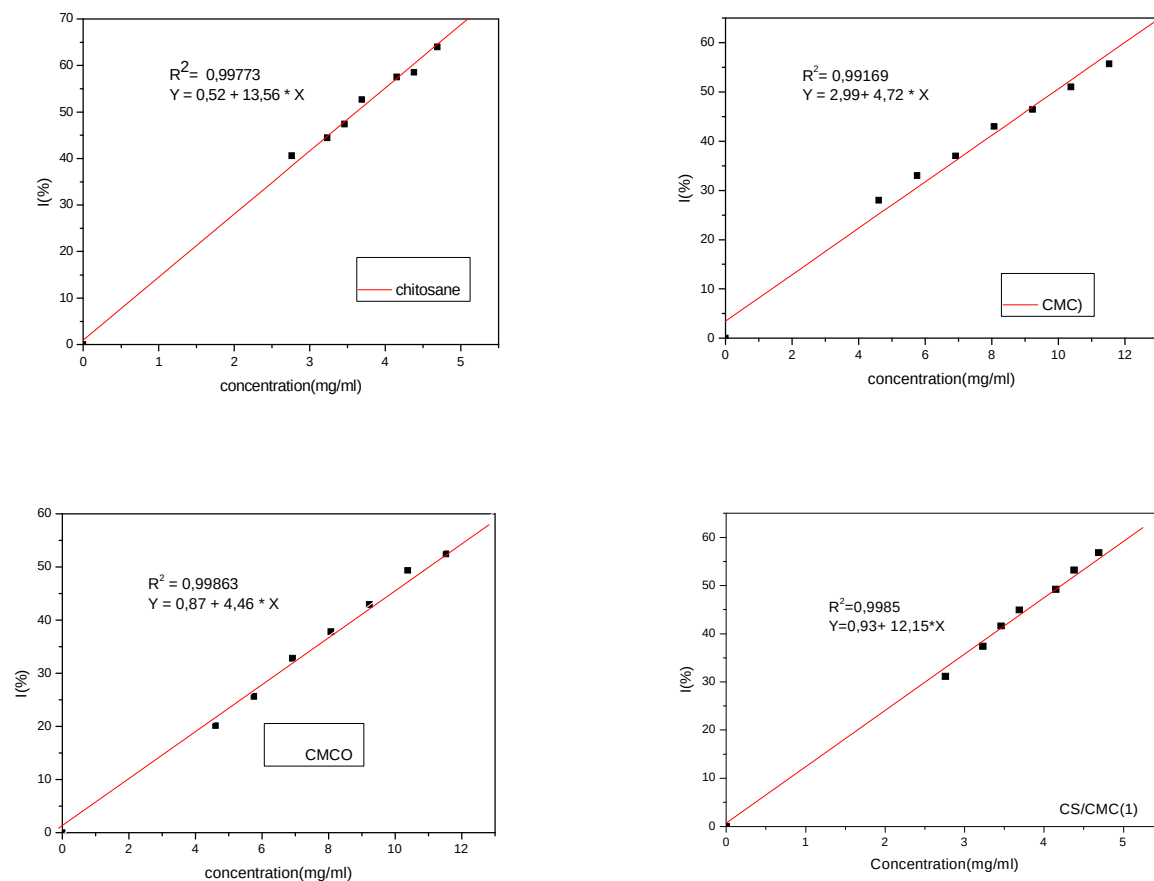


Figure A.9. Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés (voir suite dans la page suivante).

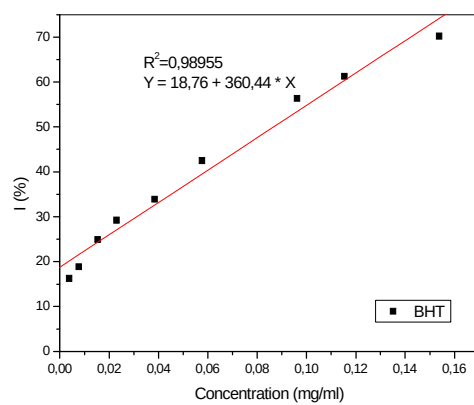
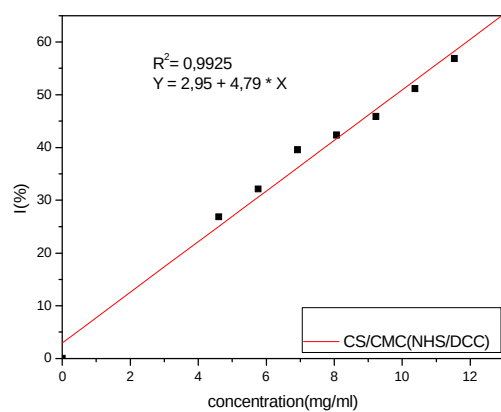
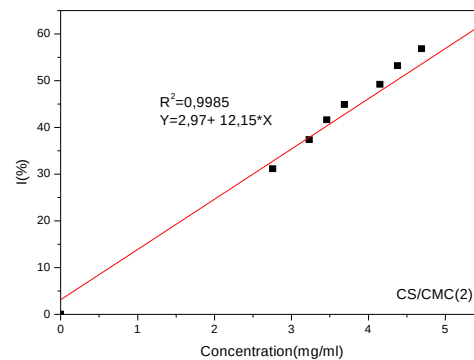
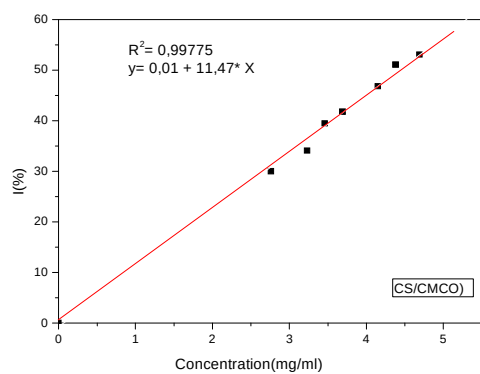


Figure A.9. Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés.

Travaux scientifiques réalisés

Publications internationales :

Benghanem S., Chetouani A., Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. (2017). Grafting of oxidized carboxymethyl cellulose with hydrogen peroxide in presence of Cu(II) to chitosan and biological elucidation. *Biocybernetic and Biomedical Engineering*.37(1),94-102.

Benghanem S., Chetouani A., Elkolli M., Bounekhel M., Benachour D. (2017). Effects of physical and chemical modification on biological activities of chitosan/carboxymethylcellulose based hydrogels. *Journal of The Chilean Chemical Society*.62(1),3012-3016.

Communications internationales :

Benghanem Saida, Elkolli Meriem. « Modification chimique d'un matériau d'origine naturel pour obtenir un nouveau matériau » 9^{ème} JOUR Maghreb-Europe, Matériaux et applications aux dispositifs et capteurs, 5-7 Novembre 2014, Mahdia, Tunisie.

Benghanem Saida, Elkolli Meriem « Elaboration et caractérisation des films d'origine polymériques » Conférence Matériaux, 22-26 Mars 2015, Mahdia, Tunisie.

Benghanem Saida, Elkolli Meriem « Pharmaceutical and biomedical applications of biopolymer materials » 1^{er} séminaire International de Pharmacie de Sétif (SIPS2016), 11-12 Mai 2016, Sétif, Algérie.

Communications nationales :

Benghanem Saida, Elkolli Meriem, Bounekhel Mahmoud. « Modification chimique d'un polysaccharide natif pour une application pharmaceutique ». Journées d'Etudes des Matériaux Polymères (JEMP'2013), 02-03 Octobre 2013, Bejaïa, Algérie.

Benghanem Saida, Elkolli Meriem. « Etude structural d'un polymère naturel modifié chimiquement ». 4^{ème} Journée du Doctorant (JD'14), 07 Mai 2014, Sétif, Algérie.

Benghanem Saida, Elkolli Meriem. « Evaluation de l'activité biologique d'un film d'origine naturel ». 5^{ème} Journée du Doctorant (JD'15), 06 Mai 2015, Sétif, Algérie.

Benghanem Saida, Elkolli Meriem. « Préparation et caractérisation de gélatine/carboxyméthylcellulose ». 6^{ème} Journée du Doctorant (JD'16), 06 Mai 2015, Sétif, Algérie.

Encadrement de mémoires de fin d'études en licence :

2013-2014 : « La cellulose et ses principales réactions d'oxydation ».

2014-2015 : « Oxydation des polysaccharides par le peroxyde d'hydrogène ».

2015-2016 : « Modification chimique d'alcool polyvinylique ».

الملخص :

يهدف البحث إلى الأكسدة الجزئية لكر بوكسي مثيل السيليلوز بواسطة الماء الأكسجيني (30%) في وجود كبريتات النحاس (CuSO_4). كمية الألدريد و الكربوكسيل الناتجين عن هذه الأكسدة تم تحديدها عن طريق المعايرة باستعمال طريقتي هيدروكسيل الامين أو حمض-أساس على الترتيب. تم أيضا دراسة مزج الكيتوزان مع كل من كبروكسي مثيل السيليلوز أو كبروكسي مثيل السيليلوز المؤكسد . وقد قدرت كمية المجموعات الأمينية الحرة في الكيتوزان عن طريق التكمين و الناقلية. الهلاميات المائية المحضرة سلفا تم تمييزها و تحديدها بواسطة XRD , TGA و FT-IR. تم تحديد الشكل المورفولوجي بتقنية MEB. أظهرت جميع المواد المحضرة نشاطا ضد تشكل الجذور, قوة الارجاع و التوافق مع الدم. كما أنها تشير إلى فعالية هامة كمضادة للالتهابات عن طريق تثبيط تمسخ البروتين. وفقا لاختبار مضاد للجراثيم, أظهرت هذه المواد خاصية تثبيط نمو لأربعة انواع من البكتيريا المستخدمة (*Bacillus subtilis* ATCC 21332 , *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

الكلمات المفتاحية : كبروكسي مثيل السيليلوز, الأكسدة, كيتوزان, الخصائص الفيز و كيميائية, الأنشطة البيولوجية.

Résumé:

La carboxyméthylcellulose a été soumise à des réactions d'oxydation partielle par le peroxyde d'hydrogène (30%) en présence d'un catalyseur, le sulfate de cuivre (CuSO_4). Des méthodes de dosage par l'hydroxylamine et acido-basique ont été utilisées pour quantifiés respectivement les groupements aldéhydes et carboxyles. Le chitosane a été ensuite couplé avec les différentes CMC oxydées. Les groupes amines libres portés par le chitosane ont été estimés par potentiométrie et conductimétrie. La caractérisation et l'identification des hydrogels ainsi obtenus sont faites par IR-TF, DRX et ATG. La morphologie a été déterminée par le MEB. Toutefois, les comportements biologiques des nouveaux biomatériaux ont été investigués par différentes études comme la détermination de l'activité antioxydante qui a montré que les matériaux testés possèdent des pouvoirs anti-radicalaire et réducteur. Le test d'hémocompatibilité a révélé quant à lui que les composés testés *in vitro* sont non hémolytiques. L'activité anti-inflammatoire a indiqué que les matériaux possèdent une aptitude à inhiber la dénaturation des protéines. Il s'est avéré aussi que les différents composés manifestent une inhibition de la croissance des quatre souches différentes bactériennes (*Bacillus subtilis* ATCC 21332, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

Mots clés : carboxyméthylcellulose, oxydation, chitosane, propriétés physicochimiques, activités biologiques.

Abstract:

The carboxymethylcellulose has been partially oxidized by hydrogen peroxide (30%) in the presence of copper sulphate (CuSO_4) as catalyst. The aldehyde and carboxyl groups were quantified using hydroxylamine and acid-base methods respectively. Chitosan was coupled with different CMC or oxidized. The free amino groups of chitosan have been estimated by potentiometry and conductivity. The obtained hydrogels were characterized and identified by means of FT-IR, XRD and TGA. The morphology was determined by SEM. All these materials showed an antiradical activity, reducing power and *in vitro* hemocompatible. Also they indicate an important anti-inflammatory activity by inhibition of the protein denaturation. According to antibacterial test, the hydrogels exhibit an inhibition of the growth of 4 different bacterial strains (*Bacillus subtilis* ATCC 21332, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

Keywords: carboxymethylcellulose, oxidation, chitosan, chemical and physical properties, biologicals activities.