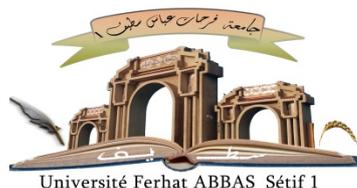


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ FEReHAT ABBAS - SETIFI

FACULTÉ DE TECHNOLOGIE

THÈSE

Présentée au Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Domaine : Sciences et Technologie

Filière : Génie des Procédés

Option : Génie des procédés
pharmaceutiques

Par

M^{me} MANSOURI Lamia

THÈME

***Isolement de nouveaux dérivés de la
carboxyméthylcellulose sodique : étude chimique,
couplage avec des biopolymères azotés et élucidation des
comportements biologiques***

Soutenue le /.... /... devant le Jury :

Pr.CHAFAA Salah	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Président de jury
Pr.ELKOLLI Meriem	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Directeur de thèse
Pr.DOUADI Tahar	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Examineur
Pr.HARKAT Hassina	Professeur	Univ. Hadj Lakhdar Batna	Examinatrice
Dr.HELLAL Abdelkader	M.C.A.	Univ.Ferhat Abbas Sétif 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.

M^{me} 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.

*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 considérations distinguées.*

Ses compétences et son enthousiasme appréciés me sont une bonne référence dans ma nouvelle vie professionnelle.

*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 témoignée. Qu'il trouve ici la reconnaissance de ma profonde gratitude.

*Je remercie **Monsieur Le Docteur MERDAS Abdelghani**, Maitre de conférences à l'Université de Sétif1, pour sa compétence et son aide plus que significatives dans l'élaboration de cette thèse. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour la bienveillance et les conseils avisés qu'il n'a cessés de démontrer à mon égard.*

*Je remercie **Monsieur Le Professeur DOUADI Tahar** 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 **Madame La Professeure HARKAT Hassina** d'avoir accepté avec bienveillance de se déplacer pour juger ce travail. Sa présence honore mon jury.*

Qu'elle reçoive l'expression de mes sincères remerciements.

*Je suis honorée de l'acceptation de **Monsieur Le Docteur HELLAL Abdelkader** pour assumer l'évaluation de cette thèse. Je lui ai gré d'avoir fait preuve d'une grande ouverture d'esprit en acceptant avec simplicité de participer à ma soutenance.*

*Je dois surtout exprimer mes remerciements à **tous les membres du LMPMP-UFAS de Sétif-1** et spécialement **Dr. BOUANANE Zohra, Dr. BENGHANEM Saida** et **M^{lle} MAAMACHE Mounira** pour avoir partagé avec moi la route, parfois tortueuse, de cette thèse.*

Que ces années vécues ensemble laissent persister une amitié durable et solide.

*Je suis très reconnaissante envers **les membres du personnel de l'URME** qui m'ont toujours aidé et soutenu pour parfaire les différents essais effectués au cours de cette thèse.*

A mon père,

A ma mère,

A mon Mari,

A mes frères et mes sœurs,

A mes enfants,

A mes amies,

Et à tous ceux qui me sont chers.

Table des matières

TABLE DES MATIERES.....	IV
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IX
LISTE DES FIGURES.....	XII
LISTE DES TABLEAUX.....	XVI
INTRODUCTION GENERALE.....	1

CHAPITRE I:

ACIDIFICATION DE LA CMC ET SES PROPRIETES BIOLOGIQUES

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

<i>I.1. Généralités sur les polysaccharides.....</i>	<i>5</i>
<i>I.2. Modifications chimiques des polysaccharides par des réactions de substitution.....</i>	<i>9</i>
<i>I.2.1. Sulfatation.....</i>	<i>9</i>
<i>I.2.2. Phosphorylation.....</i>	<i>10</i>
<i>I.2.3. Carboxyméthylation.....</i>	<i>11</i>
<i>I.3. Modifications chimiques des polysaccharides par des réactions d'élongation de chaînes ...</i>	<i>11</i>
<i>I.3.1. Copolymérisation par greffage.....</i>	<i>11</i>
<i>I.3.1.1. Greffage initié par les radicaux libres.....</i>	<i>12</i>
<i>I.3.1.2. Greffage initié par rayonnements.....</i>	<i>12</i>
<i>I.3.1.3. Greffage par polycondensation à T élevée.....</i>	<i>12</i>
<i>I.3.1.4. Greffage par polycondensation par ouverture du cycle.....</i>	<i>13</i>
<i>I.3.2. Réticulation polysaccharide-polysaccharide ou polysaccharide-protéine.....</i>	<i>13</i>
<i>I.3.3. Hydrogels.....</i>	<i>14</i>
<i>I.3.3.1. Hydrogels thermosensibles.....</i>	<i>15</i>
<i>I.3.3.2. Hydrogels pH-sensibles.....</i>	<i>17</i>
<i>I.3.3.3. Hydrogels électro-sensibles.....</i>	<i>18</i>
<i>I.3.3.4. Hydrogels sensibles à la lumière et aux produits chimiques.....</i>	<i>18</i>

II. PARTIE EXPERIMENTALE

<i>II.1. Produits utilisés.....</i>	<i>19</i>
<i>II.2. Méthodes opératoires suivies.....</i>	<i>19</i>

II.2.1. ACIDIFICATION DE LA NACMC.....	19
II.2.2. PREPARATION DES FILMS.....	20
II.3. Identifications et caractérisations.....	20
II.3.1. ETUDES STRUCTURALES.....	20
II.3.1.1. Spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-FT).....	20
II.3.1.2. Spectroscopie de fluorescence des rayons X (FRX).....	20
II.3.2. Analyses thermiques.....	20
II.3.3. Opacité.....	20
II.4. Etudes biologiques.....	21
II.4.1. Test dynamique de coagulation du sang humain.....	21
II.4.2. Mucoadhésion.....	21
II.4.3. Biodégradation in vitro.....	22
III. RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Identifications et caractérisations.....	23
III.1.1. Etudes structurales.....	23
III.1.1.1. Spectrophotométrie IR-TF.....	23
III.1.1.2. Spectroscopie FRX.....	25
III.1.2. Analyses thermiques.....	25
III.1.2.1. Analyse thermogravimétrique.....	25
III.1.2.2. Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC).....	27
III.1.3. Mesure de l'opacité.....	28
III.2. Etudes biologiques.....	29
III.2.1. Test dynamique de la coagulation du sang humain.....	29
III.2.2. Mucoadhésion.....	30
III.2.3. Biodégradation in vitro.....	31
IV. CONCLUSION	32

CHAPITRE II :

COMPORTEMENTS CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DES HYDROGELS A BASE DE CARBOXYMETHYLCELLULOSE OXYDEE COUPLEE AU CHITOSANE

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Généralités.....	33
I.2. Oxydation par le bioxyde d'azote, le N_2O_4	36
I.3. Oxydation par le peroxyde d'hydrogène, le H_2O_2	37
I.4. Oxydation par les ions Permanganates, les MnO_4^-	38
I.5. Oxydation par l'hypochlorite de Na, le $NaOCl$	39
I.6. Oxydation par les ions periodate, IO_4^-	40
I.7. Oxydation par le TEMPO.....	41
I.7.1. Oxydation des alcools.....	42

I.7.2. Oxydation des polysaccharides	44
I.8. Oxydation enzymatique	47
II. PARTIE EXPERIMENTALE	
I.1. Produits utilisés	48
II.2. Méthodes opératoires suivies	48
II.2.1. Oxydation par le TEMPO/NaBr/NaOCl de la NaCMC	48
II.2.2. Préparation de films NaCMC/CS et OCMC/CS	49
II.3. Identifications et caractérisations	49
II.3.1. Dosages chimiques	49
II.3.1.1. Détermination de la teneur en aldéhyde	49
II.3.1.2. Détermination de la teneur en carboxyles	50
II.3.1.3. Titrations potentiométriques et conductimétriques	50
II.3.2. Etudes structurales	51
II.3.2.1. Spectrophotométrie UV-Vis	51
II.3.2.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)	51
II.3.2.3. Spectroscopie de fluorescence des rayons X (FRX)	51
II.3.3. Analyse thermogravimétrique :	51
II.3.4. Opacité	51
II.3.5. Gonflement	51
II.4. Etudes biologiques	52
II.4.1. Biocompatibilité avec le sang humain	52
II.4.2. Test dynamique de coagulation du sang humain	52
II.4.3. Activité anti-inflammatoire	52
II.4.4. Mucoadhesion	53
II.4.5. Biodégradation in vitro	53
III. RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Identifications et caractérisation	54
III.1.1. Dosages chimiques	54
III.1.1.1. Détermination de la teneur des groupements aldéhydes et carboxyles de l'OCMC	54
III.1.1.2. Titrations potentiométriques et conductimétriques	55
III.1.2. Etude structurale	60
III.1.2.1. Spectrophotométrie UV-Vis	60
III.1.2.2. Spectrophotométrie IR-TF	60
III.1.2.3. Spectroscopie FRX	65
III.1.3. Analyse thermogravimétrique	67
III.1.3.1. Analyse thermogravimétrique des CMC et OCMC	67
III.1.3.2. L'analyse thermogravimétrique des CS/CMC et CS/OCMC	69
III.1.4. Opacité	71
III.1.5. Gonflement	71
III.2. Etudes biologiques	73

III.2.1. Biocompatibilité avec le sang humain.....	73
III.2.2. Test dynamique de la coagulation du sang humain.....	73
III.2.3. Activité anti-inflammatoire.....	74
III.2.4. Mucoadhésion.....	75
III.2.5. Biodégradation in vitro.....	76
IV. CONCLUSION.....	78

CHAPITRE III :

FORMULATION DES FILMS ORAUX ET PATCHS TRANSDERMIQUES À BASE D'OCMC

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Généralités.....	80
I.1.1. Introduction.....	80
I.1.2. Avantages des films minces en tant que forme posologique émergente.....	80
I.1.3. Inconvénients des films minces.....	81
I.1.4. Caractéristiques fondamentaux des films minces.....	82
I.1.5. Les films oraux.....	83
I.1.6. Les patchs transdermiques.....	84
I.2. Types de films minces.....	84
I.2.1. Les systèmes à réservoir.....	85
I.2.2. Les systèmes matriciels.....	86
I.3. Formulation des films minces.....	86
I.3.1. Les biopolymères utilisés dans la formulation des patchs.....	86
I.3.2. Les principes actifs.....	87
I.3.3. Les polymères utilisés pour la préparation de la membrane support.....	88
I.3.4. Les plastifiants.....	89
I.3.5. Les solvants.....	89
I.3.6. Les édulcorants, les agents aromatisants et les agents masquant le goût.....	90
I.4. Méthodes de préparation des films minces.....	90
I.4.1. La méthode de coulée et le séchage.....	90
I.4.1.1. La méthode de coulée avec un solvant.....	91
I.4.1.2. La méthode de coulée semi-solide.....	91
I.4.2. La technique d'extrusion.....	91
I.4.2.1. L'extrusion thermo-fusible.....	92
I.4.2.2. L'extrusion par dispersion solide.....	92
I.4.3. La méthode de laminage.....	92

II. PARTIE EXPERIMENTALE

II.1. Produits utilisés.....	93
II.2. Méthodes opératoires suivies.....	93
II.2.1. Préparation des patchs.....	93
II.2.1.1. Préparation de films sans principe actif.....	93
II.2.1.2. Préparation des films en présence de principe actif.....	94

II.3. Identifications et caractérisations.....	96
II.3.1. Etudes physico-chimique, mécanique et thermique.....	96
II.3.1.1. Apparence physique.....	96
II.3.1.2. Mesure de l'épaisseur.....	96
II.3.1.3. Mesure du pH de la surface des films.....	96
II.3.1.4. Endurance au pliage.....	96
II.3.1.5. Tests mécanique de traction.....	96
II.3.1.6. Test de gonflement.....	97
II.3.1.7. Variation du poids.....	97
II.3.1.8. Absorption d'humidité.....	97
II.3.1.9. Capacité d'absorption de la salive.....	98
II.3.1.10. Uniformité du contenu du patch en principe actif.....	98
II.3.1.11. Opacité.....	99
II.3.2 Etude structurale par spectroscopie IR-TF.....	100
II.3.3. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	100
II.4. Etudes biologiques.....	100
II.4.1. Etude de la perméation du P.A. in vitro.....	100
II.4.2. Temps d'adhésion sur les tissus biologiques.....	101
II.4.3 Test de libération in vitro.....	101
II.4.5. Test d'irritation cutanée.....	102

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Identifications et caractérisations.....	103
III.1.1. Essais mécaniques préliminaires pour le choix des formulations.....	103
III.1.1.1. Caractéristiques générales.....	103
III.1.1.2. Propriétés mécaniques de traction.....	104
III.1.1.2. Essais de gonflement.....	106
III.1.2.1. Capacité d'absorption de la salive.....	107
III.1.2.2. Variation du poids, de l'absorption de l'humidité et mesure de l'opacité.....	108
III.1.2.3. Uniformité du contenu en principe actif.....	108
III.1.3 Etudes structurales par Spectrophotométrie IR-TF.....	109
III.1.3.1. Gélatine.....	109
III.1.3.2. Alcool polyvinylique (PVA).....	110
III.1.3.3. Films F1 et F5.....	111
III.3. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	117
III.2. Etudes biologiques.....	120
III.2.1. Etude de la perméation du P.A. in vitro.....	120
III.2.1.1. Doxycycline Hyclate.....	120
III.2.1.2. Chlorhydrate de Lévomépromazine.....	121
III.2.2. Temps d'adhésion sur les tissus biologiques.....	122
III.2.3 Test de libération in vitro.....	123
III.2.3.1. Doxycycline Hyclate.....	123
III.2.3.1. Chlorhydrate de Lévomépromazine.....	124
III.2.5. Etudes d'irritation cutanée.....	125
IV. CONCLUSION.....	126

<i>CONCLUSION GENERALE</i>	128
<i>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	130
<i>ANNEXES</i>	142

Liste des Abréviations

ADNsb	: ADN simple brin ;
ATD	: Analyse thermogravimétrique différentielle ;
ATG	: Analyse thermogravimétrique ;
C₄H₆O₄Ca	: Acétate de Calcium ;
C₆H₅Na₃O₇	: Citrate de sodium
CaCl₂	: Dichlorure de calcium ;
CDA	: Citrate de dextrose acide ;
CMC (ou NaCMC)	: Carboxyméthylcellulose sodique ;
CS	: Chitosane ;
CuSO₄	: Sulfate de cuivre ;
DMSO	: Diméthylsulfoxyde ;
DO	: Densité optique ;
DP	: Degré de polymérisation ;
DS	: Degré de substitution ;
DSC	: Analyse calorimétrique différentielle ;
FePcS	: Tétrasilfophtalocyanine de fer ;
FRX	: Spectroscopie à fluorescence des rayons X ;
FSCH	: Fluide simulé au corps humain ;
Gel	: Gélatine ;
GG	: Gomme de Guar ;
HBPM	: Héparine de bas poids moléculaire ;
HCl	: Acide chlorhydrique ;
HCMC	: Carboxyméthylcellulose acidifiée ;
	:
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène ;
HEC	: Hydroxyéthylcellulose ;
HPC	: Hydroxy-propyl-cellulose ;
HPMC	: Hydroxy-propyl-méthylcellulose ;
ICS	: Indice de coagulation sanguine ;
IO₄⁻	: Ions periodate ;
IR-TF	: Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ;
KBr	: Bromure de potassium ;
KCl	: Chlorure de potassium ;
KH₂PO₄	: Phosphate de monopotassium ;
MgCl₂	: Chlorure de magnésium ;
MnO₄⁻	: Ions Permanganates ;
N₂O₄	: Bioxyde d'azote ou dioxyde d'azote ;
Na₂CO₃	: Carbonate de sodium ;
Na₂HPO₄	: Hydrogénophosphate de sodium ;
Na₂SO₄	: Sulfate de sodium ;

NaH₂PO₄	: Dihydrogénophosphate de sodium ;
NaHCO₃	: Bicarbonate de sodium ;
NaBr	: Bromure de sodium ;
NaCl	: Chlorure de Sodium ;
NaCMC (ou CMC)	: Carboxyméthylcellulose sodique ;
NH₂OH. HCl	: Chlorure d'hydroxylammonium ou chlorhydrate d'hydroxylamine ;
NaOCl	: Hypochlorite de sodium ;
NaOH	: Hydroxyde de sodium ;
OCMC	: Carboxyméthylcellulose oxydée ;
PA	: Principe actif ;
PIE	: Point isoélectrique ;
PolyAAm	: Polyacrylamide ;
PEG	: Polyéthylène glycol ;
PBS	: Solution tampon de phosphate (Buffer phosphate solution) ;
pKa	: Constante de dissociation acide ;
PLGA	: Poly (acide d,l-lactique-co-glycolique);
PS	: Polystyrène ;
PVA	: Alcool polyvinylique ;
TA	: Teneur en aldéhydes ;
T_{amb}	: Température ambiante ;
TEMPO	: Ion oxoammonium 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridine ;
Tris	: Tris-hydroxyméthylaminométhane ;
TSCI	: Température de solution critique inférieure ;
TSCS	: Température de solution critique supérieure ;
ΔH	: Enthalpie.

Liste des Figures

Chapitre I : Effet de l'Acidification sur les Propriétés biologiques de la Carboxymethylcellulose

Figure. I.1.	Classification générale des polysaccharides.....	06
Figure. I.2.	Structures chimiques de quelques polysaccharides.....	08
Figure. I.3.	Réaction de sulfatation du chitosane	09
Figure. I.4.	Greffage d'un composé sulfaté au chitosane.....	10
Figure. I.5.	Réaction de phosphorylation du D-glucane par l'acide phosphorique.	11
Figure. I.6.	Carboxyméthylation de l'amidon	11
Figure. I.7.	Mécanisme de la réaction redox impliquant le réactif de Fenton	12
Figure. I.8.	Mécanisme de polymérisation par ouverture du cycle du monomère N-carboxyanhydride (NCA).....	13
Figure. I.9.	Etapas de la N-acylation du chitosane par la CMC.....	19
Figure. II.1.	Acidification de la NaCMC.....	15
Figure. III.1.	Spectres FTIR des films : NaCMC (a) et HCMC (b).....	24
Figure. III.2.	Pourcentage massique de Na dans NaCMC et HCMC.....	25
Figure. III.3.	Thermogrammes ATG/DTG de la NaCMC.....	26
Figure. III.4.	Thermogrammes ATG/DTG de la HCMC.....	26
Figure. III.5.	Thermogramme DSC de NaCMC.....	27
Figure. III.6.	Thermogramme DSC de la HCMC.....	28
Figure. III.7.	Opacité des films NaCMC et HCMC.....	28
Figure. III.8.	Coagulation sanguine de NaCMC et HCMC mesurée à $\lambda=540$ nm.....	30
Figure. III.9.	Mucoadhésivité des poudres de NaCMC et de HCMC.....	31
Figure. III.10.	Biodégradation de la NaCMC et de la HCMC dans le FSCH au fil du temps.....	32

Chapitre II : Comportements Chimiques et Biologiques Des Hydrogels à Base de Carboxyméthylcellulose Oxydée Couplée au Chitosane.

Figure I.1.	Les différents groupes hydroxyles du glucopyranose.....	33
Figure. I.2.	Transformation par oxydation du carbone C1 d'un saccharide en acide aldonique et en lactone	34
Figure. I.3.	transformations oxydatives des différents alcools en C2, C3 et C4 en céto-forme et du C6 en aldéhyde puis en carboxylo-formes.....	35
Figure. I.4.	Oxydation de la cellulose par le N_2O_4	37
Figure. I.5.	Oxydation de l'unité cellulosique par le système $H_2O_2/FePcS$	37
Figure. I.6.	Oxydation de la CMC par le système $H_2O_2/CuSO_4$	38
Figure. I.7.	Oxydation de la CMC par l'ion Permanganate	39
Figure. I.8.	Oxydation par l'hypochlorite de sodium de l'amidon.....	39
Figure. I.9.	Oxydation de la CMC par le periodate de sodium	40
Figure. I.10.	Structure chimique du TEMPO.....	14
Figure. I.11.	Conversion oxydative du radical nitroxyle en ion oxammonium du TEMPO.....	41
Figure. I.12.	Schéma réactionnel du TEMPO dans sa série redox.....	42
Figure. I.13.	Etapas de la réaction d'oxydation de l'alcool primaire par le système TEMPO/NaOCl/NaBr	43
Figure. I.14.	Schéma du mécanisme réactionnel de l'oxydation des alcools primaires par le TEMPO	43

Figure.I.15.	Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaOCl/NaClO	46
Figure.I.16.	Oxydation des polysaccharides par la galactose oxydase.....	47
Figure. III.1.	Réaction d'oxydation catalytique de la CMC par le système TEMPO/NaBr/NaOCl à pH=10 en milieu aqueux.....	54
Figure .III.2.	Variations de la conductivité électrique et du pH du chitosane.....	56
Figure. III.3.	Variations de la conductivité électrique et du pH de la CMC.....	57
Figure. III.4.	Variations de la conductivité électrique et du pH de l'OCMC.....	57
Figure. III.5.	Variations de la conductivité électrique et du pH de CS/CMC.....	58
Figure. III.6.	Variations de la conductivité électrique et du pH du CS/OCMC.....	59
Figure .III.7.	Teneurs en groupes NH ₃ ⁺ et -COOH dans les différents matériaux déterminées par titrations potentiométriques et conductimétriques... ..	59
Figure. III.8.	Spectres UV-Vis de CMC et des OCMCs dans l'eau distillée.....	60
Figure. III.9.	Spectres IR des OCMCs dans le KBr.....	62
Figure. III.10.	Spectre IR-TF du film de Chitosane.....	63
Figure. III.11.	Interactions physiques entre le chitosane et la carboxyméthyl cellulose.....	63
Figure. III.12.	Spectres IR-TF des films CMC ; CS ; CMC/CS et OCMC/CS	64
Figure. III.13.	Réactions les plus probables entre le CS et l'OCMC.....	65
Figure. III.14.	Pourcentages massiques des éléments O et C contenus dans les différents hydrogels.....	66
Figure. III.15.	Oxydation de l'alcool primaire de la CMC en acide carboxylique par le TEMPO/NaOCl/NaBr et transformation de l'unité réductrice en groupe dicarboxylique qui est ensuite décarboxylé.....	66
Figure. III.16.	Thermogrammes ATG/ATD de la CMC et l'OCMC.....	68
Figure. III.17.	Thermogrammes ATG des hydrogels CS, CMC/CS et OCMC/C.....	69
Figure. III.18.	Thermogrammes ATG- DTG des hydrogels CS, CMC/CS et OCMC/CS.....	70
Figure. III.19.	Opacité des films : CS, CMC, OCMC, CMC/CS, OCMC/CS.....	71
Figure. III.20.	Variation des taux de gonflement (G%) en fonction du temps des films CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS dans l'eau distillée à T _{amb}	72
Figure. III.21.	Potentiels hémolytiques de CS, CMC, OCMC, CMC/CS et OCMC/CS.....	73
Figure. III.22.	Coagulation sanguine sur CS, CMC, OCMC, CMC/CS, OCMC/CS mesurée à λ=540 nm.....	74
Figure. III.23.	Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des hydrogels CS, CMC, OCMC, CMC/CS et OCMC/CS.....	75
Figure. III.24.	Temps de mucoadhésion des hydrogels CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS.....	76
Figure. III.25.	Pertes de poids au cours de la biodégradation des hydrogels CS, CMC, OCMC, CMC/CS et OCMC/CS.....	77

Chapitre III : Formulation des films oraux et patchs transdermiques à base d'OCMC.

Figure .I.1.	Schémas explicatif des types de patchs.....	85
Figure .II.1.	Structure chimique de la Doxycycline Hyclate.....	94
Figure .II.2.	Structure chimique du Chlorhydrate de Lévomépromazine.....	95
Figure .II.3.	Courbe d'étalonnage de la Doxycycline Hyclate dans l'eau distillée à λ _{max} = 349nm.....	99

Figure .II.4.	Courbe d'étalonnage du chlorhydrate de Lévomépromazine dans l'eau/DMSO à $\lambda_{max}= 253nm$	99
Figure .II.5.	Schéma du montage de la cellule de Franz.....	101
Figure .III.1.	Exemple d'une photo prise sur un film à base d'OCMC/Gel.....	104
Figure. III.2.	Courbes contrainte-déformation des films préparés à partir des formulations (F1-F6).....	105
Figure. III.3.	Gonflements des films préparés (F1-F6) en fonction du temps à Tamb dans l'eau distillée.....	107
Figure. III.4.	Courbes d'absorption de salive pour les formulations F1 et F5 à T=37°C.....	108
Figure. III.5.	Spectre IR-TF du film de la gélatine.....	110
Figure. III.6.	Spectre IR-TF du film de PVA.....	111
Figure .III.7.	Spectres IR-TF des composés Gel, CMC, PVA et F1.....	112
Figure. III.8.	Spectres IR-TF des composés Gel, OCMC, PVA et F5.....	113
Figure. III.9.	Spectres IR-TF des formulations F7, F8 et de la Doxycycline Hyclate (D).....	115
Figure. III.10.	Spectres IR-TF de F9, F10 et du Chlorhydrate de Lévomépromazine.....	116
Figure. III.11.	Thermogrammes ATG-DTG des films sans PA : F1et F5.....	117
Figure. III.12.	Thermogrammes ATG-DTG des PA : Doxycycline Hyclate (D) et chlorhydrate de Lévomépromazine (L).....	117
Figure. III.13.	Thermogrammes ATG des composés F1, F5, F7, F8 et de la Doxycycline Hyclate (D).....	118
Figure. III.14.	Thermogrammes ATG-DSC des composés à base de la Doxycycline Hyclate : F7 et F8.....	118
Figure. III.15.	Thermogrammes ATG des composés F1, F5, F9, F10 et de la chlorhydrate de Lévomépromazine (L).....	119
Figure. III.16.	Thermogrammes ATG / DTG des composés à base de chlorhydrate de Lévomépromazine : F9 et F10.....	119
Figure. III.17.	Perméation tissulaire de la Doxycycline ; (Dd) : à travers le derme, (Db) : à travers l'épithélium buccal.....	121
Figure. III.18.	Perméation tissulaire de la Lévomépromazine ; (Ld) : à travers le derme, (Lb) : à travers l'épithélium buccal.....	122
Figure. III.19.	Temps d'adhésion des films F7, F8, F9 et F10 sur les tissus biologiques.....	123
Figure. III.20.	Adhésion des patchs sur le derme ; F5 : (a) : film collé et (b) : décollement du film ; F8 : (c) : film collé et (d) : décollement du film..	123
Figure. III.21.	Libération de la Doxycycline hyclate à partir de F7 et F8.....	124
Figure. III.22.	Libération de la Lévomépromazine à partir des patchs F9 et F10.....	125
Figure. III.23.	Test d'irritation cutanée après l'application des patchs sur le dos d'un lapin au bout de 24heures.....	125

Annexes

Figure. A1.1.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO et NaOCl (4 mL) à T =27°C, pH= 10,5 en fonction du temps.....	142
Figure. A1.2.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPOet NaOCl (8 mL) à T =27°C, pH= 10,5 en fonction du temps.....	142
Figure. A1.3.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO et NaOCl (12 mL) à T =27°C, pH= 10,5 en fonction du temps.....	142

Figure. A1.4.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO à T =27°C, t= 4H, pH= 10,5 en fonction du volume de NaOCl (4mL, 8mL et 12mL).....	143
Figure. A1.5.	Titration de pH du CS, CS/CMC et CS/CMCO.....	143
Figure. A2.1	Spectre UV-VIS/ opacité des films NaCMC et HCMC.....	144
Figure. A2.2.	Spectres UV-Vis des films CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS.....	144
Figure. A2.3.	Spectre UV-VIS de d'une solution de Doxycycline Hyclate de concentration 25µg/L scannée entre 200 et 500 nm.....	145
Figure. A2.4.	Spectre UV-VIS de d'une solution de chlorhydrate de Lévomépromazine de concentration 0.3µg/L scannée entre 200 et 500 nm.....	145
Figure. A3.1.	Spectres IR de la poudre de la CMC et des OCMC ; NaOCl (4mL) à t=2h, 3h, 4h.....	146
Figure.A3.2.	Spectres IR des films de CS, CMC et CMC/CS.....	147
Figure.A3.3.	Spectres IR de CS, OCMC et OCMC/CS.....	148
Figure.A3.4.	Spectres IR-TF des films F1, F5, F7, F8, F9 et F10.....	149
Figure.A4.1.	Thermogrammes ATG de la NaCMC et HCMC.....	150
Figure.A4.2.	Thermogrammes DSC de la NaCMC et HCMC.....	150
Figure. A5.1.	Valeurs Gmax des films CS, CMC, CMC/CS et OCMC.....	151
Figure..A5.2.	Les Gmax des formulations F1-F7 après 120min.....	151
Figure. A6.1.	Montage des tissus pour le test de la mucoadhésion, (a) : muqueuse gastrique, (b) : muqueuse intestinale.....	152
Figure. A6.2.	Activité anti-inflammatoire- Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés CMC, OCMC, CS, CMC/CS et OCMC/CS.....	152

Liste des Tableaux

Chapitre II : Comportements Chimiques et Biologiques Des Hydrogels à Base de Carboxyméthylcellulose Oxydée Couplée au Chitosane.

Tableau III.1.	Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par le système Tempo/NaOCl/NaBr à T = 27°C et à pH = 10.....	55
Tableau III.2.	Valeurs des pertes de masse à partir des thermogrammes ATG/DTG des films de CS ; CMC/CS et OCMC/CS.....	69
Tableau III.3.	Valeurs des Gmax des films CS, CMC, CMC/CS, OCMC/CS à Tamb dans l'eau distillée.....	72

Chapitre III : Formulation des films oraux et patchs transdermiques à base d'OCMC.

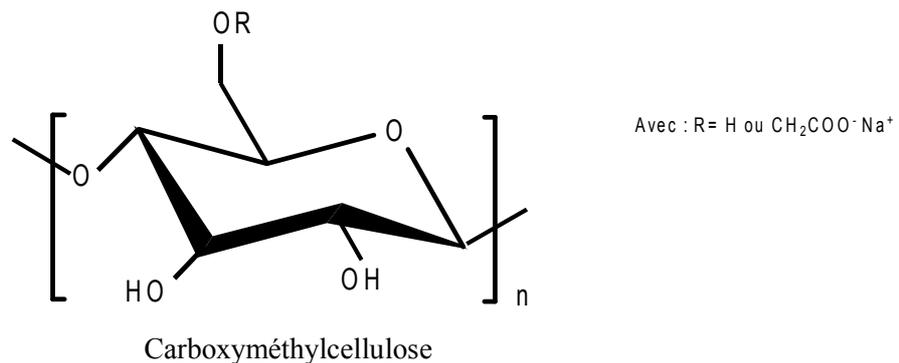
Tableau II.1.	Les différentes formulations des patchs préparés.	95
Tableau III.1.	Propriétés visuelles et tactiles des films choisis.....	103
Tableau III.2.	Paramètres σ_{rup} , E, ϵ_{rup} des formulations (F1-F6).....	106
Tableau III.3.	Variations du poids et de l'absorption de l'humidité et mesure de l'opacité des films F1et F5.....	108
Tableau III.4.	Contenu des films F7-F10 en principe actif.....	109
Tableau III.5.	T _{max} déduits à partir des thermogrammes de la Doxycycline Hyclate, du chlorhydrate de Lévomépromazine et des formulations F1, F5, F7-F10.....	120

Introduction Générale

Les biopolymères sont issus de sources renouvelables. Ils sont biodégradables, biocompatibles et de faibles coûts. Par contre, ils doivent généralement être modifiés chimiquement par des agents de réticulation pour améliorer leurs propriétés mécaniques. Cependant, l'application de réactifs de réticulation a été extrêmement limitée ces derniers temps en raison de leur toxicité élevée et de leur faible biocompatibilité. Cependant, la polyvalence des structures chimiques de ces biopolymères a permis le développement de nouveaux matériaux portant des fonctions organiques intéressantes.

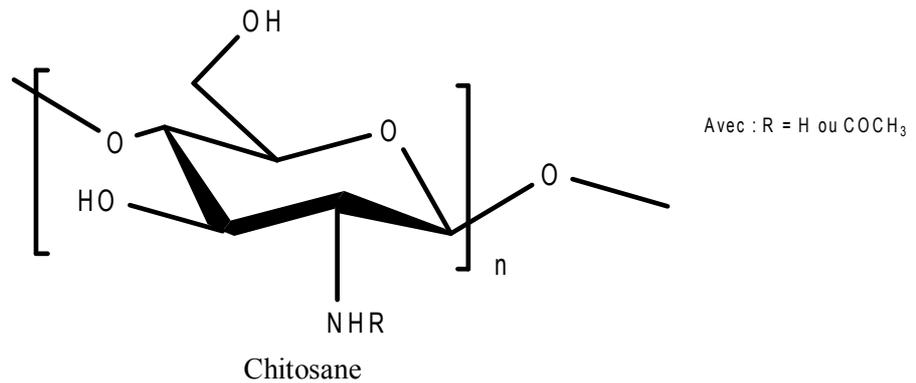
Notre stratégie de recherche dans l'élaboration de notre thèse de Doctorat LMD entre dans la thématique de l'élucidation des comportements chimiques et biologiques d'un polysaccharide de nature polyelectrolytique, la carboxyméthylcellulose (CMC ou NaCMC), avant et après sa modification chimique selon de nouvelles voies de synthèse, son couplage à d'autres biomatériaux d'origine naturelle tels que le chitosane (CS) ou la gélatine (Gel), ou d'origine synthétique comme l'alcool polyvinylique (PVA).

La CMC est un sel de sodium partiel d'un éther carboxyméthyle d'une macromolécule à longue chaîne, la cellulose. Il est anionique, linéaire, hydrosoluble et de structure générale :



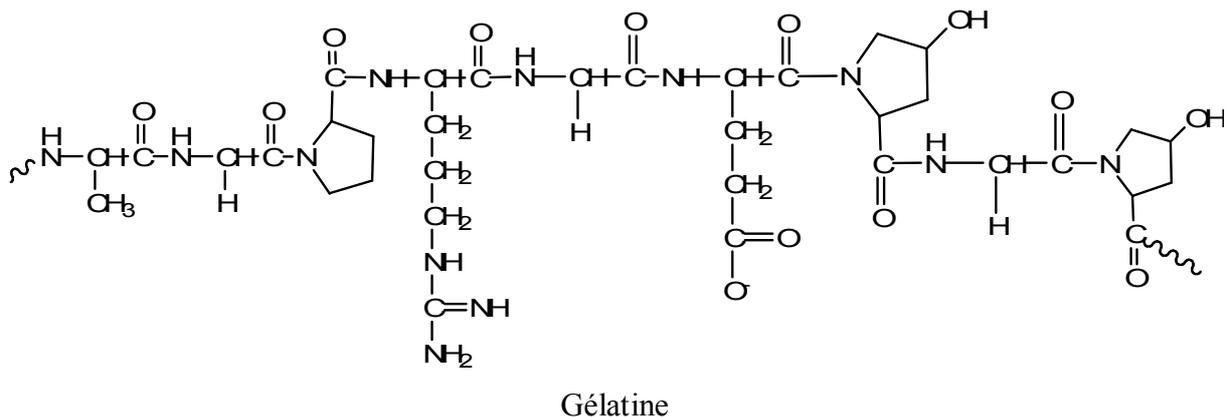
Il a récemment suscité un intérêt croissant dans tous les domaines industriels en raison de sa bonne solubilité, de son faible coût, de sa non toxicité, de ses propriétés modifiables et de sa biodégradabilité.

Le chitosane (CS) constitue le deuxième biopolymère abondant après la cellulose provenant d'une source naturelle renouvelable. C'est un polysaccharide contenant un groupe cationique. Il est obtenu par désacétylation de la chitine.



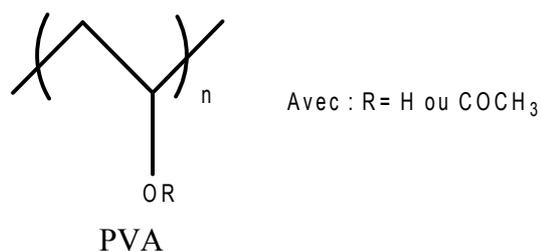
Il est considéré comme l'un des polymères les plus précieux pour ses applications biomédicales et pharmaceutiques en raison de ses propriétés de biodégradabilité, de biocompatibilité, d'antimicrobien, de non toxicité et de ses propriétés antitumorales (**Kumar, 2000**).

La gélatine est un polymère amphotère. Elle présente des propriétés cationiques en milieu acide et des propriétés anioniques dans un environnement alcalin. Elle est de structure générale :



C'est une protéine largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et médicale en raison de sa biodégradabilité et de sa biocompatibilité aux milieux physiologiques. Elle constitue le produit du premier choix dans la production des enrobages de nombreux médicaments (capsules molles et dures, gélules, comprimés...) ainsi que des éponges hémostatiques (**Potiron, 2010**).

L'alcool polyvinylique (PVA) est un copolymère synthétique ayant une structure constituée essentiellement de monomères d'alcool vinylique et d'acétate de vinyle (**voir ci-après**).



Le PVA est utilisé dans de nombreuses applications biomédicales et pharmaceutiques : lentilles de contacts, gastro-protection de médicaments, orthopédie et comme polymère de pelliculage des comprimés de suppléments pharmaceutiques et diététiques nécessitant une protection où il agit comme une barrière contre l'humidité. Il est biocompatible. Il présente de propriétés mécaniques intéressantes. Ce qui fait de lui un bon candidat dans l'ingénierie tissulaire (**Atlan, 2018**).

Notre thèse est alors agencée de la manière suivante. Elle se compose de trois chapitres principaux distincts et d'une conclusion générale. Chacun de ces chapitres comporte une recherche bibliographique, une partie expérimentale où nous trouvons les matériels utilisés et les méthodes suivies dans l'élaboration de notre thèse, les résultats que nous avons obtenus et la discussion qui fait appel à chaque fois à un support de références bibliographiques antérieur, et une conclusion.

Dans le premier Chapitre, nous avons étudié l'effet de l'acidification de la CMC sur les propriétés biologiques de cette dernière.

Au second chapitre, nous nous sommes consacrés à la modification chimique par oxydation sélective de la CMC par le système TEMPO/NaOCl/NaBr, ensuite à la réticulation de cette nouvelle macromolécule obtenue au chitosane et enfin aux comportements biologiques de tous les matériaux sollicités.

Pour ce qui est du troisième chapitre, nous nous sommes intéressés à la conception de nouveaux patchs qui se composent de la CMC ou de la CMC oxydée, de la gélatine, du PVA et/ou du glycérol. Nous avons investigué l'inclusion et la libération de deux principes actifs, la Doxycycline Hyclate et le chlorhydrate de Lévomépromazine, et élucidé les comportements de ces films dans les milieux biologiques.

Chapitre I :

Acidification de la CMC et ses Propriétés Biologiques.

I. Rappels bibliographiques

1.1. Généralités sur les polysaccharides

Les polysaccharides sont une classe majeure de biomacromolécules. Ils sont produits par une grande variété d'espèces qu'elles soient végétales (amidon, cellulose, pectines, gommages,...), animales (héparine, chitine, acide hyaluronique), ou microbiennes (dextrane, xanthane,...). Ils sont aussi appelés polyosides ou glycanes. Ce sont des polymères constitués d'enchaînements linéaires ou ramifiés d'unités saccharides. Ils sont de haut poids moléculaire qui résulte d'une condensation d'un grand nombre d'oses liés entre eux par des liaisons glycosidiques de configurations α ou β (**Benghanem *et al.*, 2017**).

Les polysaccharides sont largement utilisés dans l'industrie comme agents de suspension, épaississants, stabilisants, émulsifiants, gélifiants, filmogènes, liants, lubrifiants, floculants, agents d'aération, de texture et de structuration (**Chetouani, 2015**).

Selon leur composition, ils peuvent être divisés en homopolysaccharides formés d'un seul type de monosaccharide et en hétéropolysaccharides constitués de plusieurs unités d'oses différents. Sur le plan biologique, on trouve les polysaccharides de structure comme la cellulose et la chitine et ceux de réserve comme l'amidon et le glycogène. Les polysaccharides peuvent également être classés selon la nature des molécules liées au glycanes comme les protéoglycanes, les glycoprotéines et les glycolipides (**Aspinall, 1998**).

On distingue alors trois types essentiels de polysaccharides : les polysaccharides anioniques, les polysaccharides cationiques, et les polysaccharides neutres. Les **figures 1.1-2** résument respectivement la classification générale des polysaccharides et les structures des unités de ces derniers.

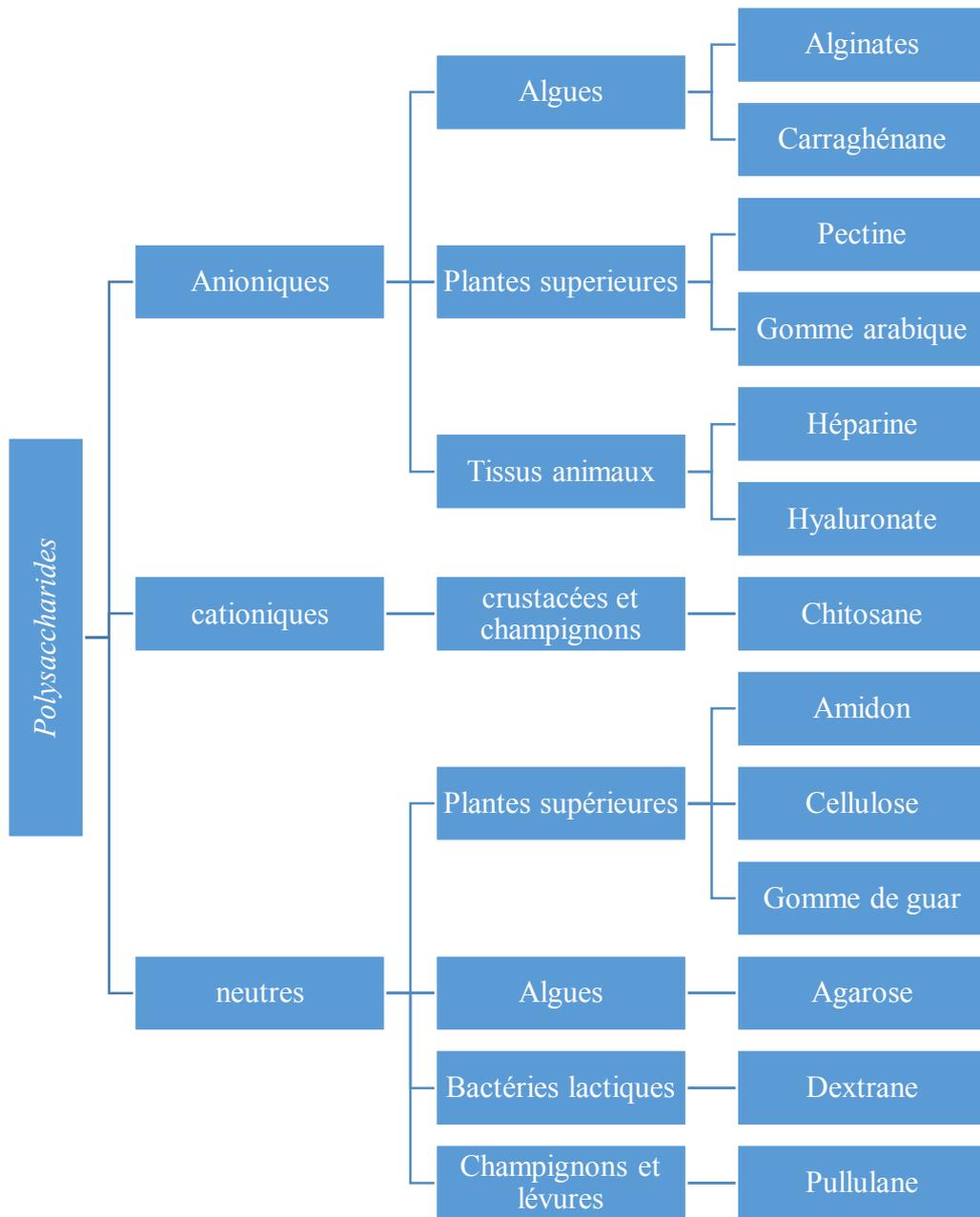
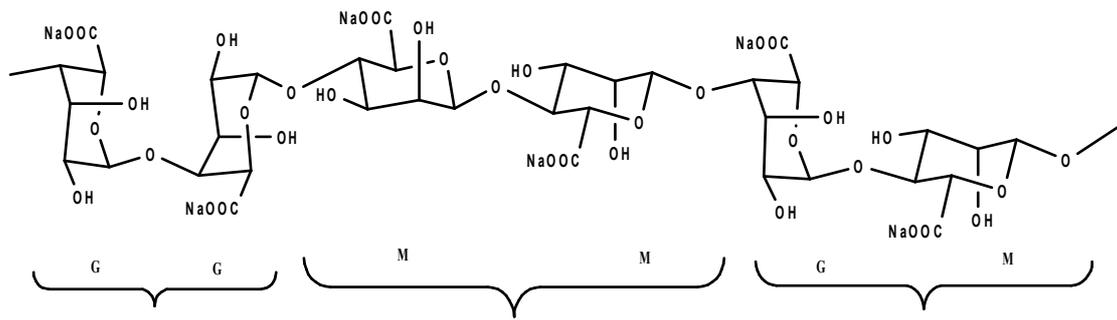
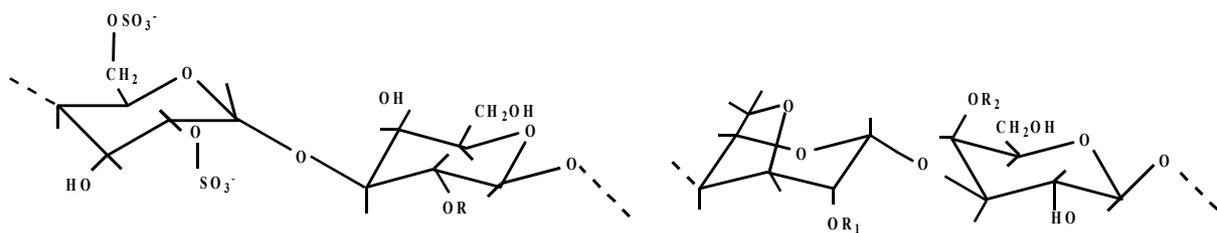


Fig. I.1 Classification générale des polysaccharides.

a) polysaccharides anioniques.

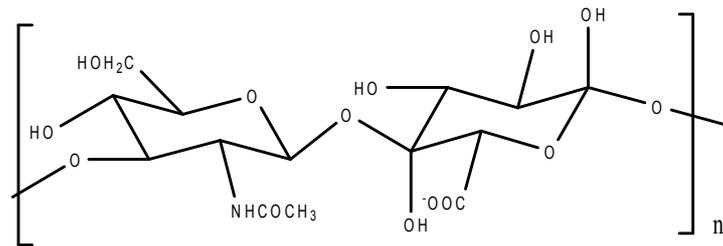


Alginate (avec M : acide α -D-mannuronique et G: acide β -L-gulonique)

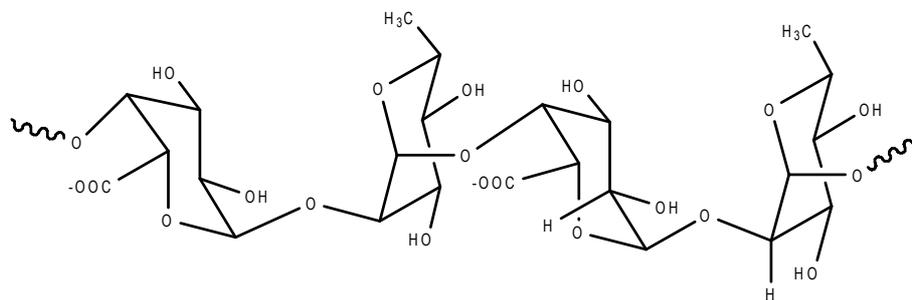


λ -carraghénanes ($R = H$ ou SO_3^-)

τ -carraghénanes ($R_1=R_2=SO_3^-$) et κ -carraghénane ($R=H$, $R_2=SO_3^-$)



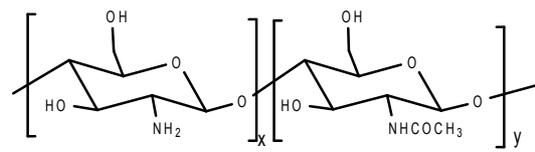
Acide hyaluronique



Pectine

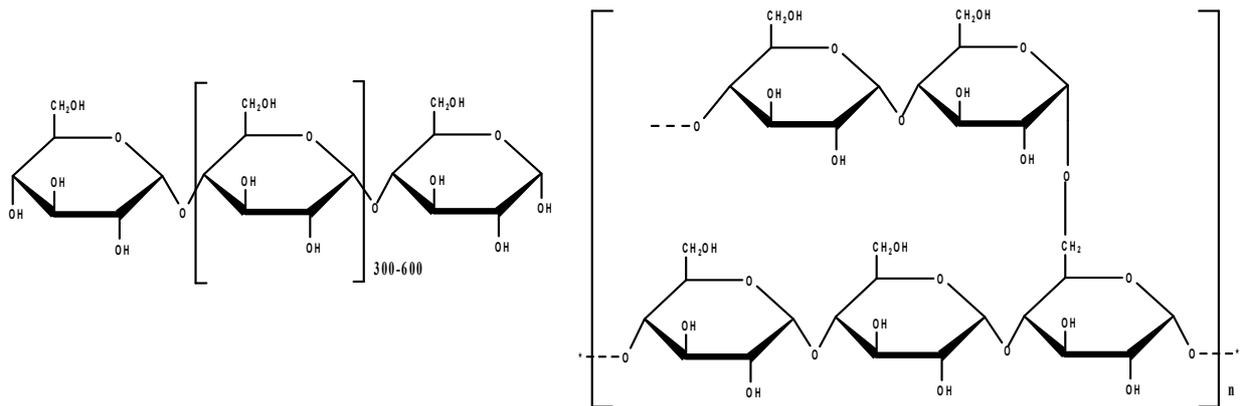
À suivre (page suivante).

b) Les polysaccharides cationiques

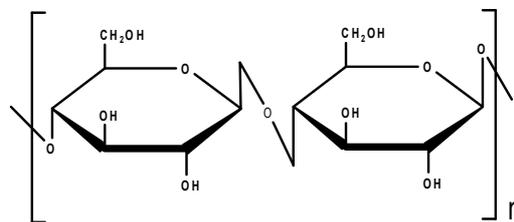


Chitosane

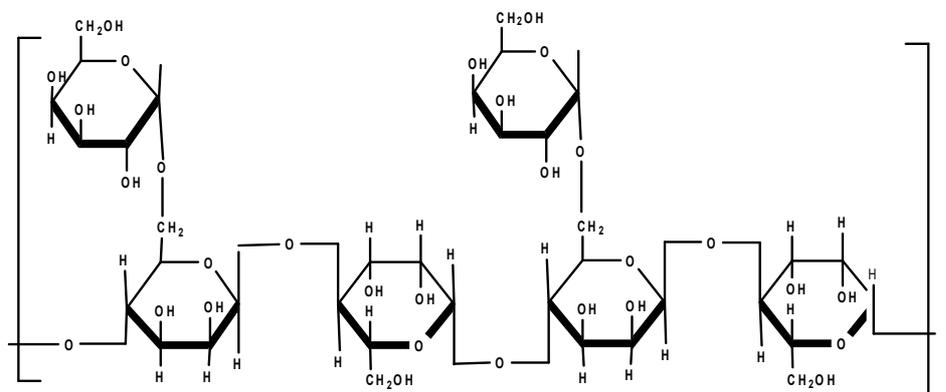
c) Les polysaccharides neutres



Les deux constituants de l'amidon : l'amylose (à gauche) et l'amylopectine (à droite).



Cellulose



Gomme de Guar

Fig.1.2. Structures chimiques de quelques polysaccharides.

1.2. Modifications chimiques des polysaccharides par des réactions de substitution

La bioactivité des polysaccharides dépend de leurs structures chimiques, de leurs compositions en monosaccharides, des liaisons entre les résidus du sucre et de la conformation en solution (Xu *et al.*, 2019). Beaucoup de chercheurs ont signalé que les modifications chimiques des polysaccharides entraînent des changements significatifs au niveau de l'ossature de la macromolécule et favorisent l'apparition de nouvelles activités biologiques : activité antioxydante, antitumorale, antivirale, antibactérienne, anticoagulante et immunorégulatrice (Xu *et al.*, 2019).

Parmi les modifications chimiques les plus ciblées au cours de ces dernières années, nous avons :

1.2.1. Sulfatation

Les polysaccharides sulfatés sont des polyanions porteurs de groupes sulfo formés par sulfatation du polysaccharide (Wang *et al.*, 2017). Ces groupements sont généralement introduits sur les hydroxyles ou amines libres du sucre. Ce qui conduit à des améliorations considérables des propriétés biologiques (Liu *et al.*, 2018). Il existe plusieurs méthodes de sulfatation des polysaccharides qui utilisent par exemple de l'acide chlorosulfonique/pyridine, de l'acide sulfurique ou trioxyde de soufre/pyridine... (Figure I.3) (Xu *et al.*, 2019).

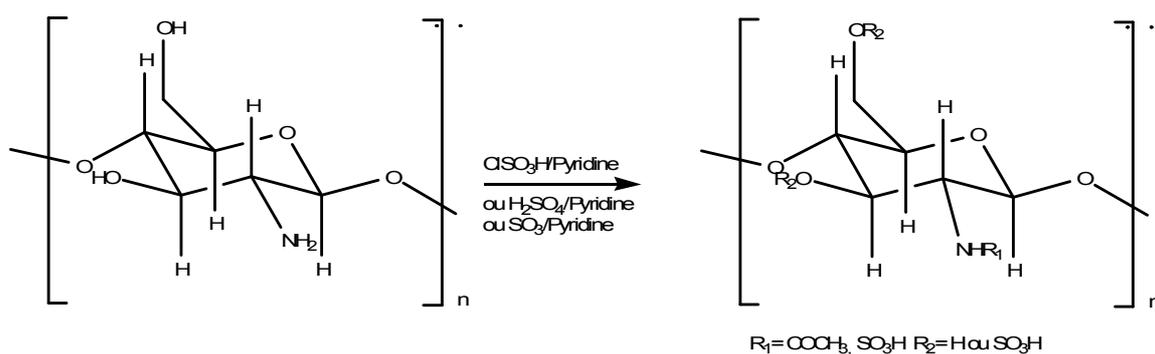


Fig.I.3.Réaction de sulfatation du chitosane (Xu *et al.*, 2019).

Jayakumar *et al.*, (2007) ont procédé à la sulfatation du chitosane (Fig.I.4.) sans que le squelette fondamental de ce dernier ne soit modifié et en passant par la base de schiff formée

avec l'amine libre du chitosane. Le matériau ainsi obtenu est appliqué dans diverses domaines, c'est un adsorbant d'ions métalliques, une matrice dans les systèmes d'administration de médicaments, il présente une hémocompatibilité et un large spectre antibactérien.

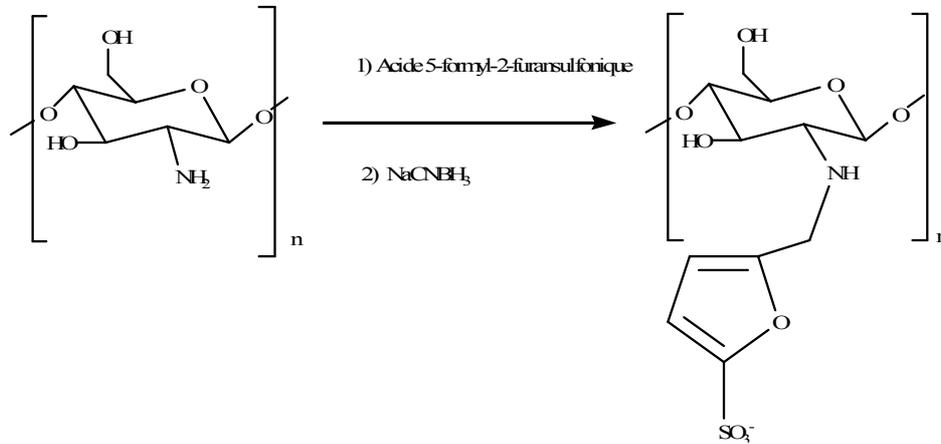


Fig.I.4. Greffage d'un composé sulfaté au chitosane (Jayakumar *et al.*, 2007).

I.2.2. Phosphorylation

Le groupe hydroxyle des polysaccharides est remplacé par un groupe phosphate dans une réaction appelée phosphorylation. Cette dernière améliore la solubilité dans l'eau et la conformation de la chaîne du polysaccharide en raison de la charge résultante à partir des groupes phosphate (Chen *et al.*, 2009). L'acide phosphorique et son anhydride, oxychlorure de phosphore, phosphate et pentoxyde de phosphore sont couramment utilisés pour la phosphorylation de polysaccharides (Xu *et al.*, 2019).

Huang & Zhang (2011) ont préparé des dérivés de glucane phosphorylés hydrosolubles à partir du D-glucane insoluble dans l'eau. L'acide phosphorique H₃PO₄ a été utilisé comme agent de phosphorylation et le LiCl/Me₂SO contenant de l'urée comme solvant. Ces dérivés phosphatés ont présenté des activités antitumorales significatives *in vivo* et *in vitro* contre les cellules tumorales du sarcome.

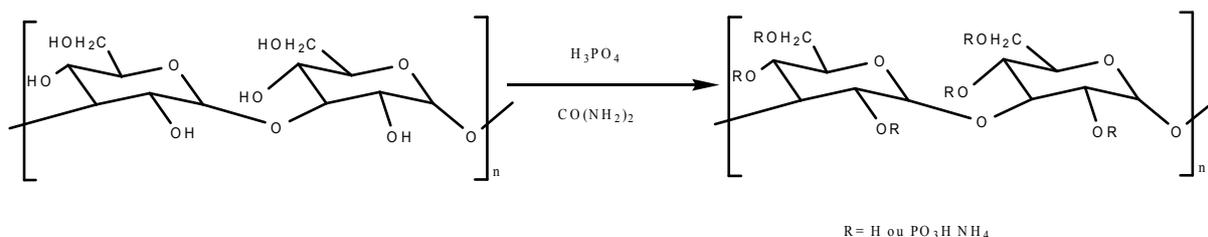


Fig.I.5. Réaction de phosphorylation du D-glucane par l'acide phosphorique (**Huang & Zhang, 2011**).

I.2.3. Carboxyméthylation

Ce type de réaction implique l'introduction de groupes carboxyméthyle dans la structure du polysaccharide. Ce qui va permettre d'augmenter l'hydrosolubilité, changer la conformation et améliorer les bioactivités du polysaccharide (exemple l'activité antioxydante) surtout quand le degré de substitution (DS) augmente (**Xu et al., 2019 ; Liu et al., 2017**).

Cette réaction se fait dans l'isopropanol comme solvant en présence d'acide chloroacétique en milieu basique NaOH à 20% (**Wang et al., 2018**).

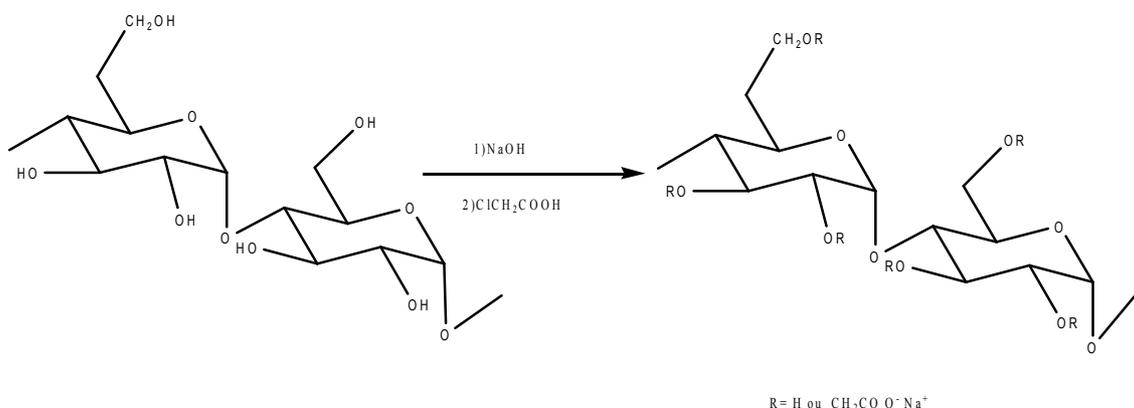


Fig.I.6. Carboxyméthylation de l'amidon (**Kamel & Jahangir, 2007**).

I.3. Modifications chimiques des polysaccharides par des réactions d'élongation de chaînes.

I.3.1. Copolymérisation par greffage

La copolymérisation par greffage est une technique prometteuse utilisée pour modifier ou introduire de nouvelles propriétés physiques et/ou chimiques aux polymères naturellement disponibles avec un minimum de perte de leurs caractéristiques d'origine. Elle permet d'ajouter au squelette du matériau ciblé des propriétés hybrides comme la longueur, la densité et la

structure chimique induites par les chaînes polymériques greffées. Les nouveaux matériaux obtenus ont diverses applications dans différents domaines importants tels le domaine pharmaceutique, industrie du plastique, traitement des eaux usées, traitement des effluents de tannerie, industrie textile, secteur de l'agriculture (**Kumar et al., 2017**).

I.3.1.1. Greffage initié par les radicaux libres

Ce type de greffage est en général initié par la formation de centres de radicaux libres sur le squelette du polymère ainsi que sur le monomère qui est le plus souvent vinylique.

Citons par exemple la réaction d'oxydoréduction en présence du réactif de Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$). Cette réaction permet suite à la formation de macroradicaux libres le long du polysaccharide de se propager à travers le monomère vinylique choisi (**Figure I.7**)(**Chopin et al., 2014**).

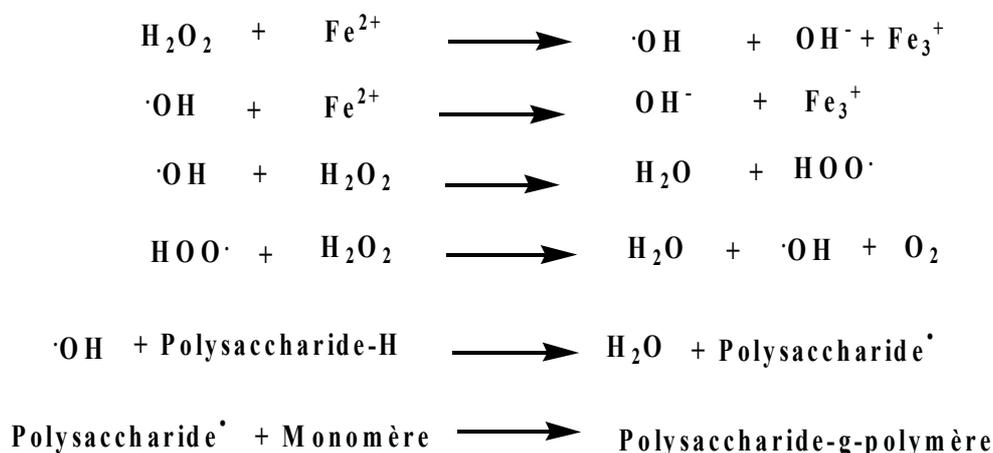


Fig.I.7.Mécanisme de la réaction redox impliquant le réactif de Fenton (**Chopin et al., 2014**).

I.3.1.2. Greffage initié par rayonnements

Pour générer les radicaux libres, la réaction de copolymérisation du monomère vinylique peut se faire en soumettant aux rayonnements (UV, γ , ou microondes) les initiateurs de radicaux libres comme l'AIBN (azobisisobutyronitrile), H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène)... , ou le polysaccharide à modifier (**Magat, 1960**).

I.3.1.3. Greffage par polycondensation à T élevée

La copolymérisation par la réaction de condensation est très peu étudiée sur les carbohydrates à cause de l'instabilité de ces derniers aux hautes températures qui sont nécessaires au déroulement de ce type de réactions (**Zohuriaan-Mehr, 2005**)

I.3.1.4. Greffage par polycondensation par ouverture du cycle

En plus des monomères les N-carboxyanhydrides qui sont les plus étudiés dans la polycondensation par ouverture du cycle des polysaccharides (**figure I.9.**), on trouve également les lactones, les 2-alkyloxazolines et les époxydes (**Jenkins & Hudson, 2001**).

Le mécanisme réactionnel fait appel à une attaque nucléophile du groupe amine ou hydroxyle portés par le polysaccharide sur le carbonyle du cycle monomère. Ce qui va provoquer une ouverture de ce dernier et propagation de la chaîne polymérique jusqu'à sa terminaison.

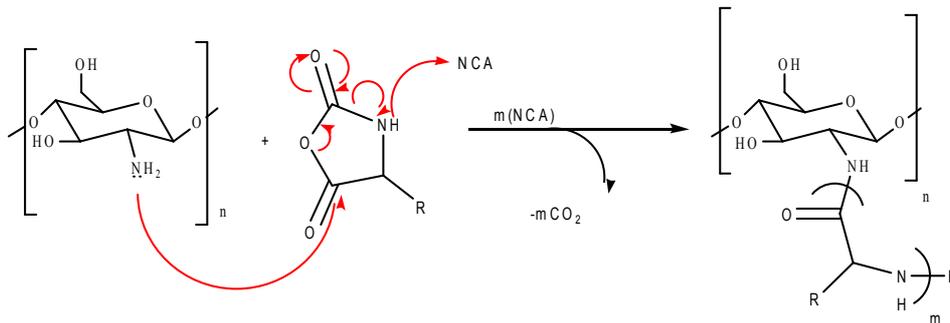


Fig.I.8. Mécanisme de polymérisation par ouverture du cycle du monomère N-carboxyanhydride (NCA) (**Jenkins & Hudson, 2001**).

I.3.2. Réticulation polysaccharide-polysaccharide ou polysaccharide-protéine

Différents couplages polysaccharide-polysaccharide ou polysaccharide-protéine ont été étudiés et ont été menés avec succès.

Nous illustrons dans la figure suivante le couplage de la NaCMC avec le chitosane en présence du DCC (dicyclocarbodiimide) ou le EDC (chlorhydrate de 1-ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide) (**Benghanem, 2017**).

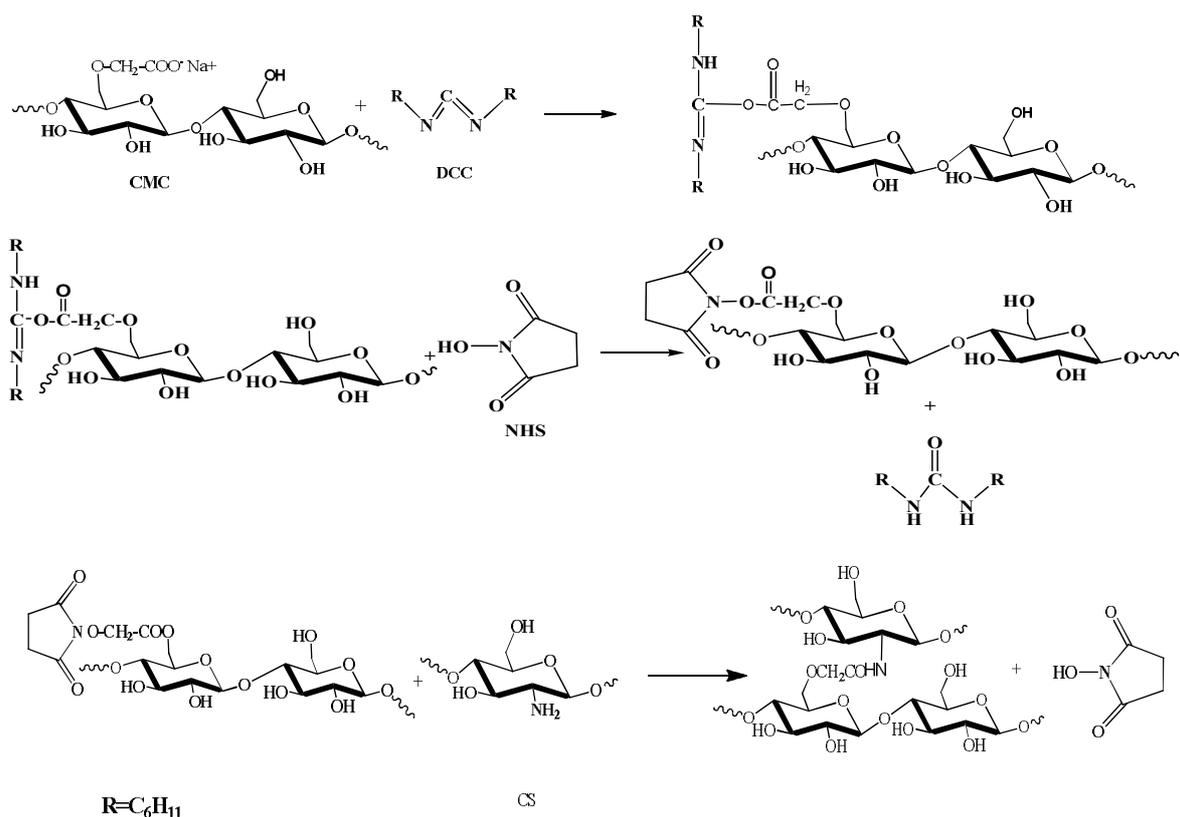


Fig.I.9. Etapes de la N-acylation du chitosane par la CMC(Benghanem, 2017).

I.3.3. Hydrogels

Définis par **Peppas & Sahlin (1996)**, «*les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels hydrophiles, capables d'absorber de grandes quantités d'eau ou de fluides biologiques tout en ressemblant à un tissu biologique*».

Ils sont insolubles dans tous les solvants du fait que leurs chaînes polymériques sont réticulées soit par des liaisons covalentes ou soit par des interactions physiques (**Matanovic et al., 2014**). Les hydrogels peuvent largement gonfler dans les milieux aqueux et ont donc le potentiel d'être utilisés comme biocapteurs, vecteurs de libération de médicaments et supports ou matrices en ingénierie tissulaire(**Chai et al., 2017**).

Les hydrogels constituent alors une alternative potentielle des tissus naturels. Puisque l'eau est la plus grande composante du corps humain, un hydrogel, qui absorbe de grandes quantités d'eau, est considéré comme ayant un grand potentiel lorsqu'il est utilisé à des fins biomédicales (**Daniele et al., 2014**).

En effet, les hydrogels comparés aux autres biomatériaux ont les avantages d'être biocompatibles, biodégradables et poreux. Cependant, la faible résistance mécanique et la

nature fragile des hydrogels limitent actuellement leurs applications. Ce qui incite les chercheurs à persévérer dans ce domaine de recherche (**Chai *et al.*, 2017**).

Actuellement, les hydrogels naturels sont progressivement remplacés par des hydrogels synthétiques dans le but d'atteindre une durée de vie plus longue, une capacité d'absorption d'eau plus élevée et une bonne résistance au gel (**Billiet *et al.*, 2012**). Heureusement, avec diverses stratégies synthétiques développées, des hydrogels avec des structures de réseau définies, des compositions chimiques ciblées et une résistance mécanique réglable ont été conçues. Les hydrogels ont été préparés à partir de composants synthétiques et ont fait preuve d'une stabilité remarquable même dans des conditions extrêmes de température élevée ou dans un environnement acide ou basique.

De plus, les propriétés de l'hydrogel changent quand les chaînes polymériques sont modifiées par d'autres groupes fonctionnels sensibles aux stimuli (stimuli physique comprenant la chaleur, la lumière et les champs magnétiques et stimuli chimique comprenant les agents chimiques et le pH) (**Zhu *et al.*, 2014 ; Tokarev & Minko, 2009**).

1.3.3.1. Hydrogels thermosensibles

L'équilibre entre les segments hydrophobes et hydrophiles est la clé pour contrôler les propriétés d'un hydrogel thermosensible. Plus précisément, la température a un effet remarquable sur les interactions hydrophobes entre les segments hydrophobes des polymères, et les interactions hydrophiles entre les composantes hydrophiles des polymères et les molécules d'eau. Ainsi, un léger changement de la température peut interrompre l'équilibre initial et induire une transition sol-gel (**Bajpai *et al.*, 2008**).

Les hydrogels sensibles à la température sont les plus couramment étudiés à cause de leur sensibilité à l'environnement. Ces hydrogels sont capables de gonfler ou se dégonfler suite à un changement de température du fluide environnant. Les hydrogels thermosensibles sont alors classés en gels négativement thermosensibles, positivement thermosensibles et thermiquement réversibles (**Peppas *et al.*, 2000**).

a. Hydrogels thermosensibles négatifs

Les hydrogels thermosensibles négatifs ont une température de solution critique inférieure (TSCI), qui peut être définie comme la température critique au-dessous de laquelle le polymère gonfle dans la solution alors qu'au-dessus de celle-ci, il se contracte.

En dessous de la TSCI, le terme d'enthalpie, lié à la liaison hydrogène entre le polymère et les molécules d'eau, est responsable du gonflement du polymère. Lorsque la température est

supérieure à la TSCI, le terme entropie (interactions hydrophobes) prédomine, ce qui conduit à la contraction du polymère. En effet, l'efficacité d'établir des liaisons hydrogène a une dépendance négative de la température; et au-dessus de la TSCI, les liaisons hydrogène entre les groupes latéraux monomères et les molécules d'eau seront de plus en plus perturbées par la croissance de la température (**Linden *et al.*, 2003**). Les chaînes principales du polymère, les longues chaînes de liaisons C–C auxquelles les chaînes latérales sont attachées, sont hydrophobes et ont tendance à réduire leur surface exposée aux molécules d'eau hautement polaires. Ils peuvent le faire en formant des agrégats. Par contre, lorsque des liaisons hydrogène entre les groupes latéraux et l'eau sont présentes, l'agrégation du squelette principal est empêchée car les interactions des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau sont plus fortes que les interactions du squelette principal. Dès que les liaisons hydrogène sont rompues en augmentant l'agitation thermique, une agrégation se produit, ce qui entraîne un rétrécissement de l'hydrogel thermosensible avec l'augmentation de la température (**Bajpai *et al.*, 2008**).

Un polymère bien connu avec TSCI à 32 ° C est le poly (nisopropyle acrylamide) qui a été abondamment utilisé comme hydrogel thermosensible négatif. Ces hydrogels montrent une libération de médicament par intermittence avec “ON” à basse température et “OFF” à haute température (**Soppimath *et al.*, 2002**).

b. Hydrogels thermosensibles positifs

Un hydrogel thermosensible positif à une température de solution critique supérieure (TSCS). Il se contracte lors du refroidissement en dessous de la TSCS et change de volume brutalement à cette dernière (**Gil & Hudson, 2004**). L'hydrogel présente une réponse thermique positive, ce qui signifie qu'en dessus de son TSCS, les chaînes du polymère s'hydratent pour former une structure avec un grand maillage permettant la diffusion et au-dessous de sa TSCS, ces chaînes se déshydratent pour former une structure rétrécie avec un petit maillage (**Ankareddi & Brazel, 2007**).

c. Hydrogels thermoréversibles

La méthylcellulose, dérivé de la cellulose soluble dans l'eau, est capable de former des hydrogels thermoréactifs et forme un hydrogel thermoréversible à une température comprise entre 60 et 80 ° C (**Klouda & Mikos, 2008**). La gélification de cette macromolécule implique une association hydrophobe de molécules du polymère puis une séparation de phase pour former un gel (**Takahashi *et al.*, 2000**).

Pour ce qui est des autres hydrogels, la solution de polymère est un liquide (fluide) à la température ambiante mais gélifie à la température du corps. Un tel système serait facile à administrer dans une cavité corporelle souhaitée.

Au cours de ces deux dernières décennies, des séries de copolymères triblocs biodégradables ont été conçues. Ils sont constitués de poly(éthylène glycol)-poly(acide d,l-lactique-co-glycolique)-poly(éthylène glycol) ou poly(acide d,l-lactique-co-glycolique)-poly(éthylène glycol)-poly(acide d,l-lactique-co-glycolique). Ils composent les systèmes de libération prolongée de principes actifs injectables. D'autres polymères naturels comme le xyloglucane forment également des gels thermo réversibles (**Bajpai *et al.*, 2008**).

I.3.3.2. Hydrogels pH-sensibles

Les hydrogels sensibles au pH présentent un comportement de gonflement ou de retrait en réponse à une modification du pH environnemental (**Gupta *et al.*, 2002**). Ce type d'hydrogels présente un intérêt particulier pour les applications biomédicales en raison de la nature changeante du pH observées dans divers organes ou localisations dans le corps, tel que le tube digestif, les vaisseaux sanguins, les vésicules intracellulaires et l'appareil génital féminin ou encore les anomalies fonctionnelles, y compris l'environnement tumoral et inflammatoire. Les systèmes hydrogels sensibles au pH ont été largement utilisés pour développer une grande variété de systèmes d'administration de médicaments (**Chatterjee & Hui, 2018**).

Quelques polymères naturels comme le chitosane, la gélatine, l'alginate et l'albumine ont des comportements sensibles au pH (**Chan & Neufeld, 2009**).

Les polymères les plus couramment utilisés pour développer ce type d'hydrogels comprennent soit des groupes acides (carboxyliques) ou des groupes basiques (amines) (**Li *et al.*, 2015**). Ce sont des donneurs ou des accepteurs de protons en réponse au changement de pH dans un environnement donné (**Yoshida *et al.*, 2013**). Les groupes ionisables portés par les hydrogels anioniques s'ionisent dans des solutions à un pH supérieur à leur pKa contrairement aux réseaux d'hydrogels cationiques qui gonflent à un pH inférieur à leur pKa où leurs groupes ionisables se protonent. Le gonflement et le rétrécissement des hydrogels sensibles au pH dépendent donc de la charge du polymère. Le changement rapide de la charge nette des ions provoque une alternance du volume hydrodynamique des chaînes des polymères. La transition de l'état rétréci à l'état gonflé s'explique par la pression osmotique exercée par les contre-ions mobiles neutralisant les charges du réseau (**Gil & Hudson, 2004**).

I.3.3.3. Hydrogels électro-sensibles

Les hydrogels électro-sensibles sont constitués de polyélectrolytes qui induisent des changements de volume lorsqu'ils sont soumis à des champs électriques. Ce comportement peut conduire à la déformation de l'hydrogel par des changements de volume locaux (**Rahimi et al. 2012**). Ces matériaux possèdent également de nombreuses applications dans le domaine biomédical (**Chatterjee & Hui, 2018**).

Des polymères naturels ou synthétiques, seuls ou en association, sont utilisés cas de l'acide hyaluronique, le sulfate de chondroïtine, l'agarose, la gomme de xanthane, l'alginate de calcium, les dérivés d'acrylate et de méthacrylate comme le polyacrylamide partiellement hydrolysé, le polydiméthylaminopropylacrylamide, etc. (**Bajpai et al., 2008**).

I.3.3.4. Hydrogels sensibles à la lumière et aux produits chimiques

Les hydrogels sensibles à la lumière et aux produits chimiques sont utilisés comme microlentilles, capteurs, dans la libération de médicaments et des gènes... (**Chai et al., 2017**).

Sous l'action d'une photo-irradiation à la lumière (exemple de 355 nm, cas de la cyclodextrine), l'hydrogel se convertit de la phase gel à la phase solide, puis par photo-irradiation à la lumière de 450 nm, cet hydrogel était capable de récupérer la phase gel (**Zhao & Stoddart, 2009**).

En revanche, les travaux effectués par **Murakami & Maeda (2005)** ont montré que suite à l'addition de l'ADNs_b (simple brin) les volumes des hydrogels ont été affectés et ont diminué.

II. Partie expérimentale

II.1. Produits utilisés

La NaCMC (poids moléculaire = 250kDa, viscosité moyenne de 400 à 800 cps à T=25°C), l'HCl (à 37%), le CaCl₂ et l'éthanol absolu ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich (Chine).

Les réactifs sollicités lors de nos études sont de qualité analytique (Sigma-Aldrich, Chine). Ils ont été utilisés sans purification supplémentaire.

Les solutions aqueuses ont été faites dans de l'eau distillée. Le sang humain anticoagulé par le CDA a été fourni par la banque de sang (Centre Hospitalo-universitaire de Sétif). Le fluide simulé au corps humain (FSCH), dont les concentrations en ions sont presque égales à celles du plasma sanguin humain a été préparé à pH=7,40 et à 37°C en utilisant 6,5456g de NaCl, 2,2862g de NaHCO₃, 0,373g de KCl, 0,1419g de Na₂HPO₄, 0,3049g de MgCl₂·6H₂O, 0,3675g de CaCl₂·2H₂O, 0,071g de Na₂S0₄, 6,057 g de Tris[=(CH₂OH)₃CNH₂] dans 1L d'eau distillée et du HCl (1M). La solution PBS (0,1M) a été faite à T = 27°C et à pH=6,8 dans 200mL d'eau distillée par addition de 51mL de NaH₂PO₄ (0,2M) et 49mL de Na₂HPO₄ (0,2M).

II.2. Méthodes opératoires suivies

II.2.1. Acidification de la NaCMC

L'acidification de la NaCMC (**Figure II.1**) a été réalisée selon **Roshan *et al.*, (2012)**.

Dans un bêcher de 500mL, 1g de NaCMC a été versé dans 100mL de solution aqueuse d'alcool éthylique (à 80%) et 10mL d'HCl concentré (à 37%). Le contenu du bêcher a été laissé sous faible agitation pendant 30min à température ambiante (27°C). Ensuite, le mélange réactionnel est filtré et lavé avec de l'éthanol afin de neutraliser la solution. Le précipité ainsi formé est laissé sécher à température ambiante pour obtenir la poudre blanche de HCMC de masse m=0,87g.



Figure II.1. Acidification de la NaCMC.

II.2.2. Préparation des films

Les films ont été préparés en solubilisant 1g de NaCMC ou de HCMC dans 100mL d'eau distillée à 80°C sous faible agitation. Ensuite, la solution obtenue est versée dans des boîtes de Pétri en polystyrène (9,5 cm de diamètre), le séchage se fait à l'air libre à température ambiante pendant 3 à 4 jours.

II.3. Identifications et caractérisations

II.3.1. Etudes structurales

II.3.1.1. Spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-FT)

Les spectres IR-TF ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre à transformée de Fourier à double faisceau de type SHIMADZU 84005 (Japon) à partir des poudres dissoutes à 3% (p/p) dans le KBr. Le balayage s'est fait de 400 à 4000cm⁻¹ avec une résolution de 4cm⁻¹.

II.3.1.2. Spectroscopie de fluorescence des rayons X (FRX)

La NaCMC et l'HCMC ont été analysées à l'aide d'un spectromètre à fluorescence des rayons X à dispersion de longueur d'onde de type RIGAKU ZSX Primus II (Japon). Le système utilisé est équipé d'un tube à rayons X en rhodium fonctionnant à 60kV et à 4kW à une vitesse de rotation de 30tr/min et muni d'un filtre à rayons X Al125. Les poudres solubilisées dans l'acide borique (3%, p/p) ont été comprimées en pastilles de 2cm de diamètre et de 3mm d'épaisseur. L'élément étudié est le sodium.

II.3.2. Analyses thermiques

L'ATG, l'ATD et la DSC ont été réalisées avec un analyseur thermique de type Artisan SDT Q 600 (USA). L'analyse des échantillons a été effectuée de la température ambiante jusqu'à 600°C sous atmosphère d'azote à une vitesse de chauffage constante de 10°C/min.

II.3.3. Opacité

L'opacité a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau de type UNICAN UV 300 (USA). L'enregistrement des spectres par rapport à l'air comme référence s'est fait directement à partir des films de 0,40mm d'épaisseur. L'opacité est calculée en utilisant l'équation suivante : (Tunç *et al.*, 2010)

$$\text{Opacité} = \text{Abs}_{600} / X \quad (1)$$

Avec : Abs_{600} est la valeur de l'absorbance à 600nm et X est l'épaisseur du film (mm).

II.4. Etudes biologiques

II.4.1. Test dynamique de coagulation du sang humain

Les temps de coagulation ont été étudiés selon **Wang et al., (Zhao et al., 2008)**. Les poudres de 50mg de NaCMC ou de HCMC ont été posées dans des béchers de 30mL. Le tout est placé dans un bain marie fixé à 37°C pendant 5min. Une goutte de sang total CDA (0,25mL) a été ensuite versée à la surface des poudres. Puis, 0,02 mL de la solution de CaCl_2 (0,2 mol .L⁻¹) a été ajoutée. Le test de coagulation sanguine a été suivi par la mesure spectrophotométrique UV-VIS à l'aide d'un appareil de type UNICAN UV 300 (USA). La longueur d'onde a été fixée à 540nm et les absorbances sont enregistrées après 0, 5, 10, 20, 30 et 50min. L'absorbance relative de 0,25mL du sang total CDA dilué dans 50mL d'eau distillée a été supposée être égale à 100. L'indice de coagulation sanguine (ICS) du biomatériau est calculé selon l'équation suivante **(Zhao et al., 2008)**.

$$\text{ICS (\%)} = \frac{\text{Absorbance du sang contenant l'échantillon}}{\text{Absorbance de la solution de l'eau distillée avec le sang ACD}} \times 100 \quad (2)$$

II.4.2. Mucoadhésion

La mucoadhésivité a été effectuée en suivant le mode opératoire de lavage *in vitro* décrit par **Agarwal et al., (2015)**. Pour ce faire, les tissus frais de l'estomac et du côlon du mouton ont été fournis par l'abattoir communal de la wilaya de Sétif et nettoyés avec une solution d'eau froide. Les tissus (1,5cm de longueur x 1cm de largeur) ont été fixés sur une lame de verre (5cm x 1cm) à l'aide d'une colle adhésive de type cyanoacrylate en maintenant la surface muqueuse vers le haut. Ensuite, 0,5g de poudre de NaCMC ou de HCMC ont été déposés sur la muqueuse et une charge de 5g a été appliquée au-dessus du dispositif mis en place pendant 15min pour assurer une adhérence uniforme de la poudre sur la muqueuse.

Puis, les muqueuses du colon et de l'estomac chargées de poudres ont été placées dans la solution aqueuse de l'HCl 0,1N (pH ajusté à 1,2 spécifique de l'estomac) et du PBS (pH 6,8 spécifique du côlon) respectivement sur les paniers de l'appareil de désintégration de type

COPLEY (Royaume-Uni). L'appareil a en effet été utilisé de manière à assurer le mouvement de haut en bas du spécimen de tissu dans 1L de tampon à 37°C.

II.4.3. Biodégradation *in vitro*

Le test de biodégradation des films a été réalisé dans le FSCH selon le mode opératoire décrit par **Barbeck *et al.*, (2017)**. Le principe de cet essai est la mesure de la perte de poids des échantillons durant les périodes d'incubation spécifiées. Chaque hydrogel a été immergé dans 25mL de FSCH à 37°C pendant 0 (témoin), 3, 7 jours et 2, 4, 6, 8, 9 semaines. Après retrait du FSCH, les hydrogels sont ensuite rincés à l'eau distillée et séchés à l'étuve à T = 40°C pendant 24 h.

Le pourcentage de perte de poids (% en poids) a été calculé selon l'équation suivante :

$$wt \% = \frac{(W_t - W_o)}{W_o} \times 100 \quad (3)$$

Avec :

W_o est le poids sec à t = 0 de l'échantillon,

W_t est le poids sec de l'échantillon après son immersion dans le FSCH au temps t.

Le test a été repris trois fois.

II. Résultats et discussion

III.1. Identifications et caractérisations

III.1.1. Etudes structurales

III.1.1.1. Spectrophotométrie IR-TF

La **figure III.1.a** illustre le spectre IR-TF de la NaCMC. Il existe une large bande d'absorption à 3441cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation des OH, un pic de moyenne intensité à 2928cm^{-1} résultant de la vibration d'élongation asymétrique des CH aliphatiques (**Muzzarelli et al., 1982**), et une forte bande d'absorption à 1615cm^{-1} attribuée aux vibrations d'élongation asymétriques des groupes carboxylates ($-\text{COO}^-$) de la NaCMC (**Roshan et al., 2012**).

Le pic correspondant à 1423cm^{-1} est assigné à la vibration d'élongation symétrique des COO^- alors qu'à 1068cm^{-1} , différents auteurs font correspondre cette absorption aux vibrations de déformation des groupes latéraux éther glycosidiques (COC) (**Ren et al., 2008 ; Liuyun et al., 2009**).

Pour ce qui est de la HCMC (**Fig. III.1.b**), nous observons l'apparition d'un nouveau pic à 1715cm^{-1} qui est attribué au CO de l'acide carboxylique (**Silverstein, 2005**) et la diminution accrue des bandes à 1615 , 1423 et 1068cm^{-1} .

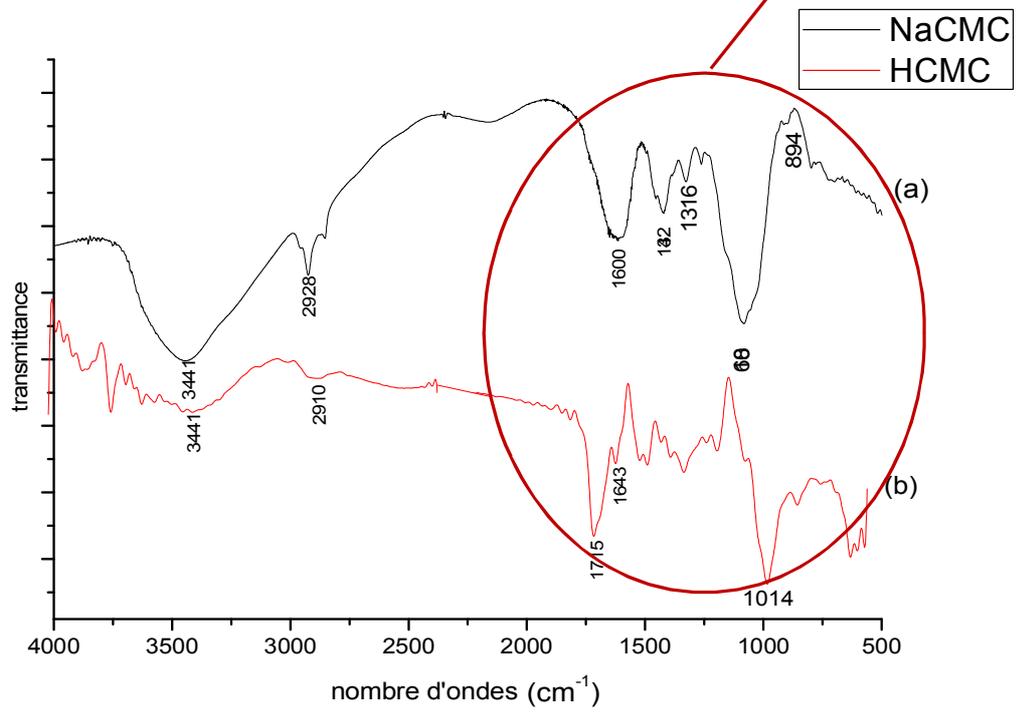
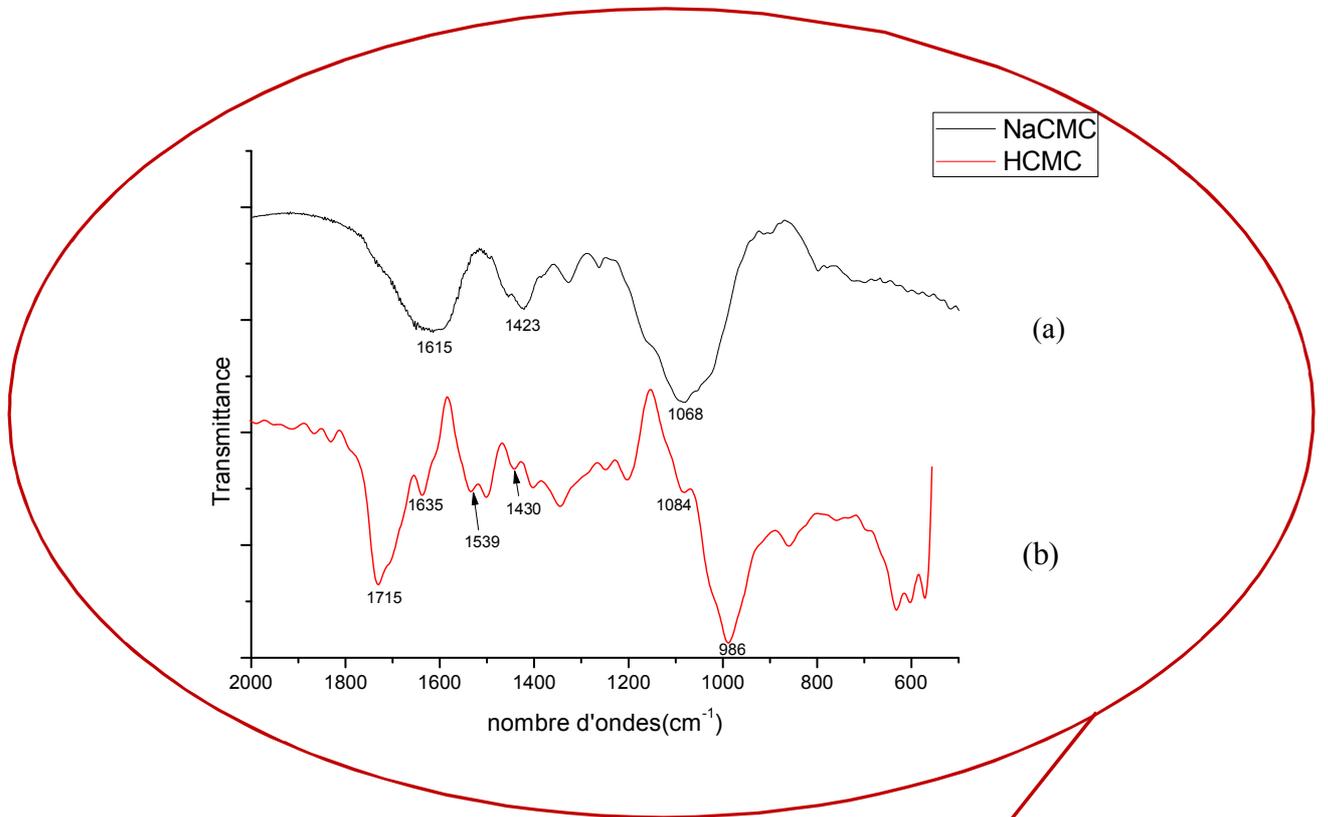


Fig. III.1. Spectres IR-TF dans le KBr de la NaCMC (a) et l'HCMC (b).

III.1.1.2. Spectroscopie FRX

À partir de la **figure III.2**, nous observons que le pourcentage massique du sodium de la NaCMC (7,23%) a diminué après son acidification pour atteindre un taux de 3,53% pour l'HCMC. Cela implique que l'acidification de la NaCMC a eu lieu avec un pourcentage de 48,82%.

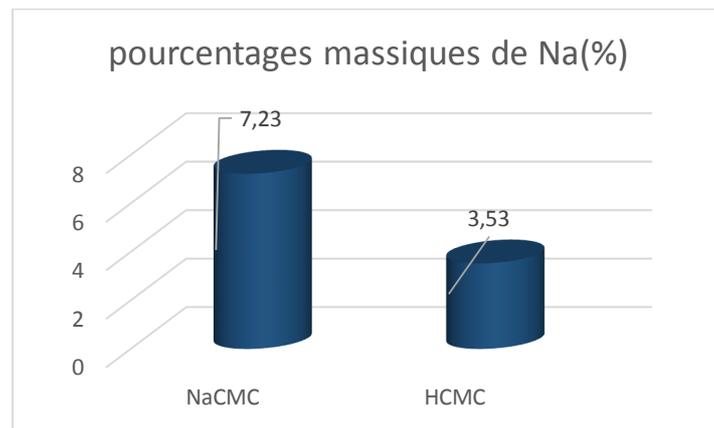


Fig. III.2. Pourcentages massiques de Na dans la NaCMC et l'HCMC.

III.1.2. Analyses thermiques

III.1.2.1. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique est une méthode simple et précise. Elle permet l'étude de la décomposition et de la stabilité thermique des polymères (**Zohuriaan et Shokrolahi, 2004**).

D'après les thermogrammes (**Figures 3&4**), les deux polymères présentent une seule étape de décomposition.

Nous précisons que, selon **Casaburi et al., (2017)**, les pertes de masse de 11% et de 7% jusqu'à 120°C (**Figures 3&4**) sont dues à l'évaporation de l'eau dans les cas de la NaCMC et HCMC, respectivement et que cette différence (de 11% et 7%) est due probablement au caractère hydrophobe acquis après acidification de la NaCMC (**Regiani & Pawlicka, 2014**).

La décomposition de la NaCMC commence entre 180°C et 220°C. Son poids diminue jusqu'à 60% vers 350°C ($T_{\text{onset}} = 197,73^{\circ}\text{C}$ et $T_{\text{max}} = 286^{\circ}\text{C}$), indiquant la disparition de la structure du polysaccharide (**Duhoranimana et al., 2017**).

Pour la HCMC (**Fig. III.4**), la dégradation de l'HCMC commence à partir de 218°C jusqu'à 455°C avec une perte de poids de 68% ($T_{\text{onset}} = 230,73^{\circ}\text{C}$ et $T_{\text{max}} = 310^{\circ}\text{C}$). Nous déduisons alors que l'HCMC est thermiquement plus stable que la NaCMC.

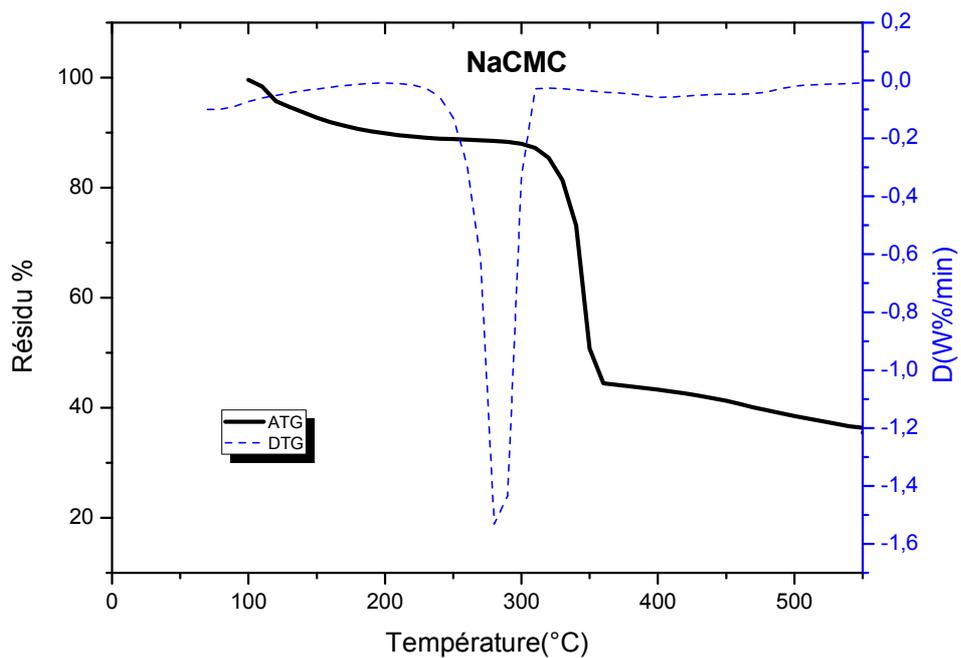


Fig. III.3. Thermogrammes ATG/ATD de la NaCMC.

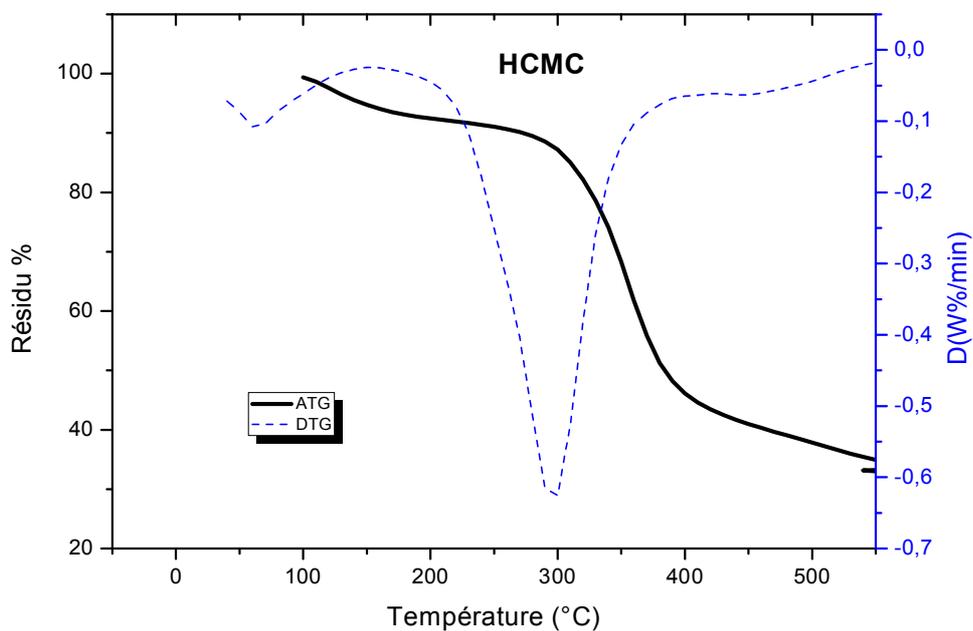


Fig. III.4. Thermogrammes ATG/DTG de l'HCMC.

III.1.2.2. Analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC)

La DSC est utilisée pour étudier les transitions thermiques qui se produisent au cours du chauffage sous une atmosphère inerte. La **figure III.5** illustre la courbe d'analyse calorimétrique différentielle de la NaCMC. Cette dernière présente une transition vitreuse endothermique relativement large à 76°C (**El-sayed *et al.*, 2011**).

La décomposition et la dégradation du matériau conduit à un pic endothermique aux environs de 290°C avec une enthalpie, ΔH , de 78,7J/g.

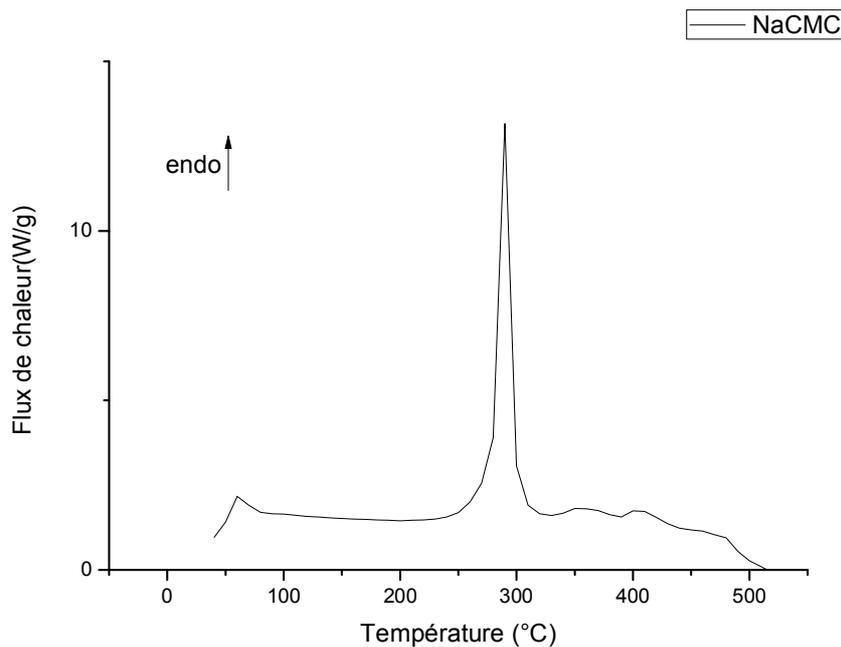


Fig. III.5. Thermogramme DSC de NaCMC.

En outre, selon la **figure III.6**, en plus du pic de décomposition de HCMC à 300°C ($\Delta H=16,44\text{J/g}$), nous observons d'autres étapes de décomposition secondaires à 380°C et à 480°C endothermiques ($\Delta H_1= 4,26\text{J/g}$ et $\Delta H_2= 5,62\text{J/g}$).

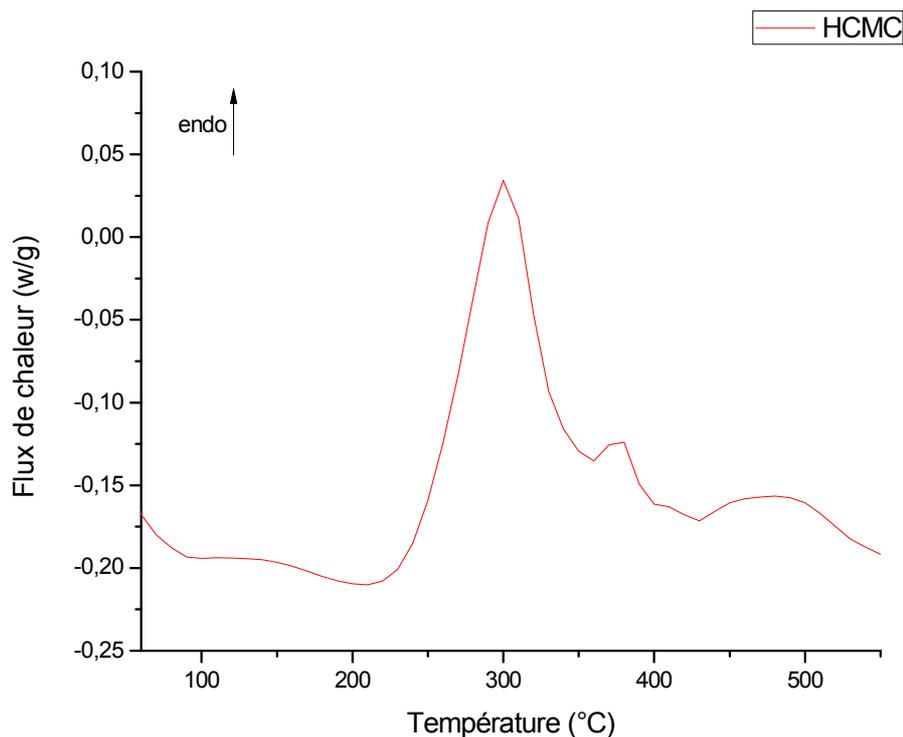


Fig. III.6. Thermogramme DSC de la HCMC.

III.1.3. Mesure de l'opacité

À partir de la **Fig. III.7**, la NaCMC, préalablement transparente avec une faible valeur d'opacité ($\sim 0,2$), est devenue blanche et opaque après son acidification. La valeur de l'opacité augmente jusqu'à 0,87.

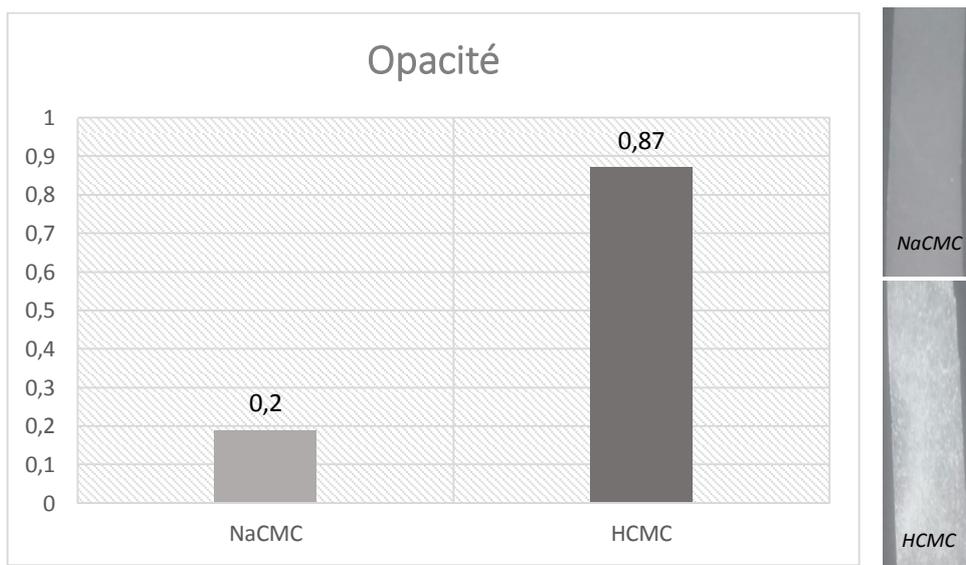


Fig. III.7. Opacité des films de NaCMC et HCMC.

III.2. Etudes biologiques

III.2.1. Test dynamique de la coagulation du sang humain

Le test de la coagulation sanguine simule le processus naturel de coagulation et détermine si le caillot de sang présente une résistance considérable et ne peut être facilement hémolysé par l'addition de l'eau (**Tranquilan-aranilla et al., 2016**). Une diminution rapide de la capacité d'absorption indique un temps de coagulation plus rapide qui se traduit par un bon effet hémostatique du biomatériau. Le temps auquel l'absorbance est égale à 0,01 est généralement défini comme le temps de coagulation (**Taaca, 2017**). Plus la valeur de l'ICS diminue avec le temps, plus le temps de coagulation est long (**Zhao et al., 2008**). La **figure III.8** montre la capacité de la coagulation du sang de NaCMC et de HCMC. Le temps de coagulation pour la HCMC est alors de 5 minutes, comparé à 20 minutes pour la NaCMC, indiquant que les deux échantillons présentent une capacité de coagulation du sang ; et par conséquent, une bonne propriété hémostatique.

La rapidité de la capacité hémostatique est probablement due à la densité de charge négative portée par le groupe carboxyméthyle. Une surface chargée négativement est connue pour activer le facteur XII et le facteur plaquettaire 3, déclenchant une série de réactions protéolytiques conduisant à la coagulation sanguine intrinsèque (**Tranquilan-aranilla et al., 2016**), d'une part. Et d'autre part, l'hydrogel, avec sa bonne hydrophilie, peut absorber une grande quantité du sang de la plaie. Il adhère donc à la surface de celle-ci et bloque la rupture des vaisseaux sanguins, ce qui conduit à l'agrégation plaquettaire, au dépôt de fibrinogène et à la formation de thrombus (**Fan et al., 2016**).

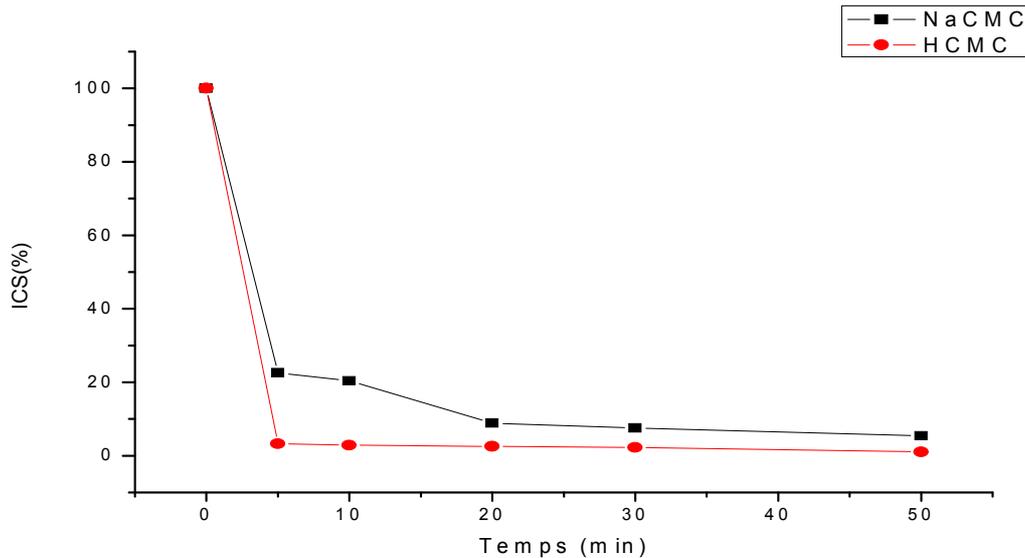


Fig. III.8. Coagulation sanguine de NaCMC et HCMC mesurée à $\lambda=540$ nm.

III.2.2. Mucoadhésion

La bioadhésion aux muqueuses dans le tractus gastro-intestinal peut être décrite en termes de mucoadhésion. Étant donné que la mucoadhésion peut prolonger le temps de résidence des vecteurs de médicament aux sites d'absorption, on s'attend à une meilleure absorption du médicament grâce à une combinaison de mucoadhésivité et de libération contrôlée du médicament à partir des dispositifs utilisés (Cerchiara *et al.*, 2016 ; Takeuchi *et al.*, 2001). La mucoadhésion comprend deux étapes. Une première étape au cours de laquelle un contact interfacial intime est établie entre l'adhésif et la surface de la muqueuse, au moyen d'un mouillage adéquat de la muqueuse superficielle. La deuxième étape représente l'interpénétration ou l'interdiffusion de chaînes polymères adhésives avec du mucus, ou leur simple pénétration dans les pores et les fissures du tissu muqueux. Cette étape finit par l'établissement de liaisons chimiques entre les groupes hydroxyles, sulfatés ou carboxyliques de la mucine et du polymère mucoadhésif. Ensuite, une "synergie rhéologique" est provoquée, autrement dit, un renforcement des modules viscoélastiques est produit dans la région interfaciales entre la surface de la formulation mucoadhésive et la surface de la muqueuse (Caramella, 1999).

Les éthers de cellulose se caractérisent pour les dérivés non ioniques par de bonnes propriétés mucoadhésives, dues en particulier à l'interpénétration des chaînes de polymères et des molécules de mucine, ainsi qu'à la formation de liaisons hydrogène (Michael *et al.*, 2015).

La **figure III.9** montre une augmentation significative des temps d'adhésion de l'HCMC (~2heures) sur la muqueuse intestinale par rapport à la NaCMC qui ne réside que 45 minutes. La même observation a été notée dans l'environnement gastrique avec un temps d'adhésion d'environ 3,5 heures pour la HCMC comparé à une solubilisation totale pour la NaCMC dès son contact avec la surface muqueuse.

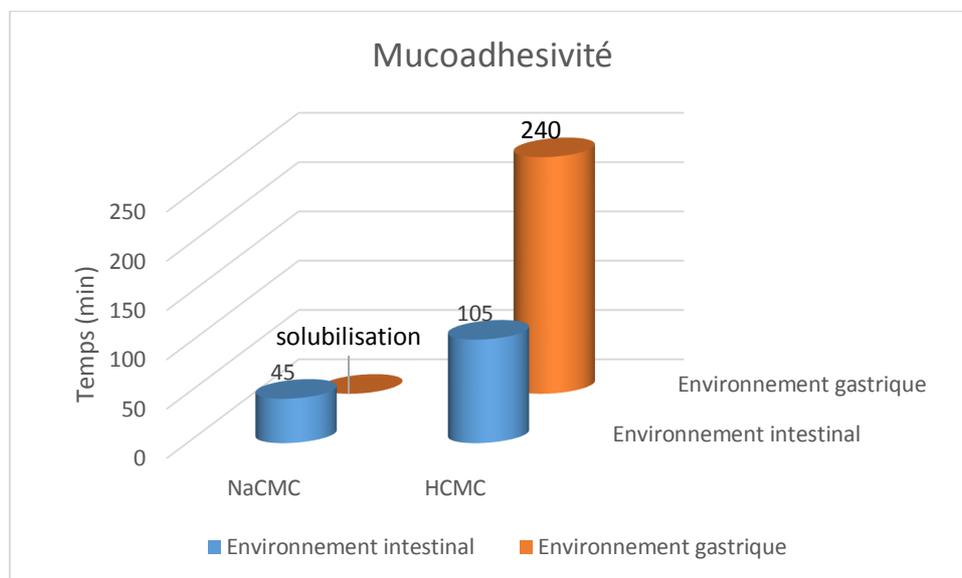


Fig. III.9. Mucoadhésivité des poudres de NaCMC et de HCMC.

Cette nette amélioration de la nature mucoadhesive de la NaCMC soit dans l'environnement gastrique ou intestinal après son acidification est provoquée par le grand nombre de groupes COOH induisant par la suite une adhésion aux substrats biologiques par la formation de liaisons hydrogène. En effet, comme il a été rapporté dans la littérature (**Pritchard *et al.*, 1996**), la présence de groupes dé-ionisés favorise la mucoadhésion, ce qui explique le temps de séjour plus long de la HCMC dans les deux milieux.

De plus, les travaux de **Madsen *et al.*, (1998)** ont suggéré qu'à pH bas, la NaCMC existe en conformation de spirale en raison de la liaison hydrogène interne et limite donc la création d'un réseau de polymères expansés, ce qui explique l'incapacité de la NaCMC à adhérer à la muqueuse gastrique.

III.2.3. Biodégradation *in vitro*

La décomposition moléculaire d'un biomatériau peut être causée par des microorganismes ou par des éléments chimiques existants dans un milieu biologique. Ce phénomène s'appelle la

biodégradation. Le test réalisé dans notre étude consiste à surveiller la perte de masse dans le FSCH au fil du temps. Les résultats obtenus montrent que la NaCMC et l'HCMC sont facilement dégradables dans le FSCH et atteignent un pourcentage de 100% au bout de 3 semaines pour la NaCMC, contrairement à 2 semaines pour l'HCMC. Ces résultats prouvent que la carboxyméthylcellulose acidifiée peut être éliminée du corps humain sur une période plus courte que la NaCMC.

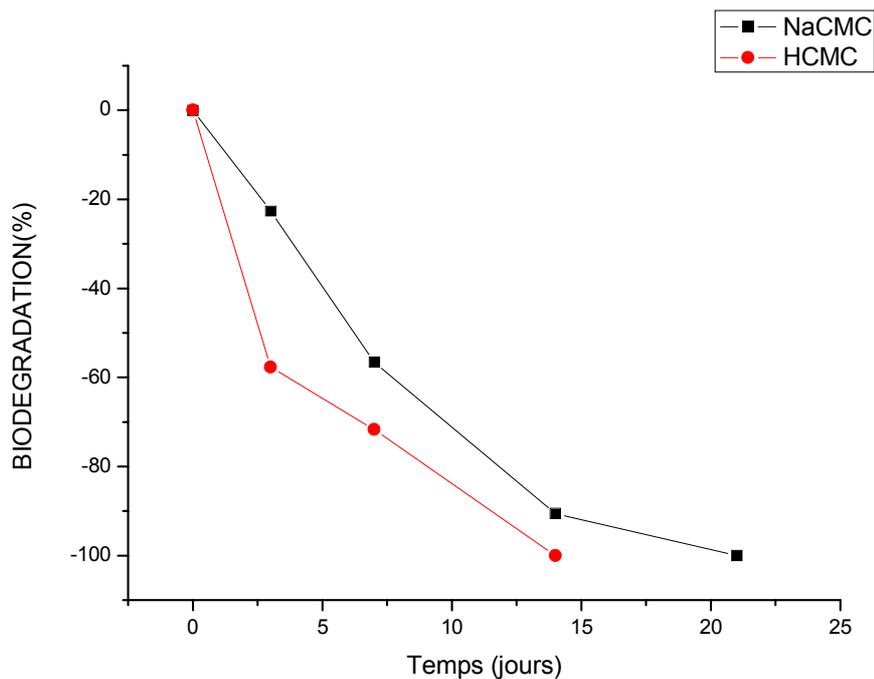


Fig. III.10. Biodégradation de la NaCMC et de la HCMC dans le FSCH au fil du temps.

IV. Conclusion

Les travaux de cette partie concernent l'étude des modifications de l'effet biologique de la carboxyméthylcellulose sodique (NaCMC) après son acidification par l'acide chlorhydrique. Premièrement, la caractérisation par spectroscopie infrarouge révèle que la NaCMC a été bien acidifiée. Ces résultats sont confirmés par la diminution du pourcentage en masse de sodium établie par l'analyse élémentaire FRX.

L'analyse thermique indique la différence de structure moléculaire entre la NaCMC et la carboxyméthylcellulose acidifiée (HCMC). De plus, le test d'opacité montre une augmentation significative du facteur de transmission de la lumière après acidification de la NaCMC.

Un test dynamique de coagulation du sang humain révèle que l'HCMC possède une capacité hémostatique maximale contrairement à la NaCMC, ce qui en fait un bon matériau pour son utilisation en tant que pansement.

L'étude de mucoadhésion démontre une augmentation marquée des temps d'adhésion de l'HCMC sur la muqueuse gastrique et intestinale par rapport à la NaCMC qui est complètement soluble dans l'environnement gastrique. Cela donne à l'HCMC l'occasion d'être utilisée comme un excellent excipient dans le domaine des formulations médicamenteuses à libération contrôlée, tant dans l'environnement gastrique qu'intestinal.

Enfin, les résultats des essais de biodégradation dévoilent une meilleure capacité de biodégradation de la poudre de HCMC qui peut être éliminée des fluides humains sur une période courte par rapport à la CMC.

Chapitre II :

***Comportements Chimiques et Biologiques Des Hydrogels à
Base de Carboxyméthylcellulose Oxydée Couplée au
Chitosane***

I. Rappels bibliographiques

I.1. Généralités

Les polysaccharides représentent une plate-forme idéale pour une vaste gamme de modifications chimiques. Ils possèdent dans leur structure des groupes nucléophiles hautement réactifs allant des alcools primaires, secondaires, hémiacétals aux amines ainsi que des fractions acides carboxyliques. Ces différents hydroxyles sont identifiés dans la **figure I.1** en prenant comme exemple type le glucopyranose.

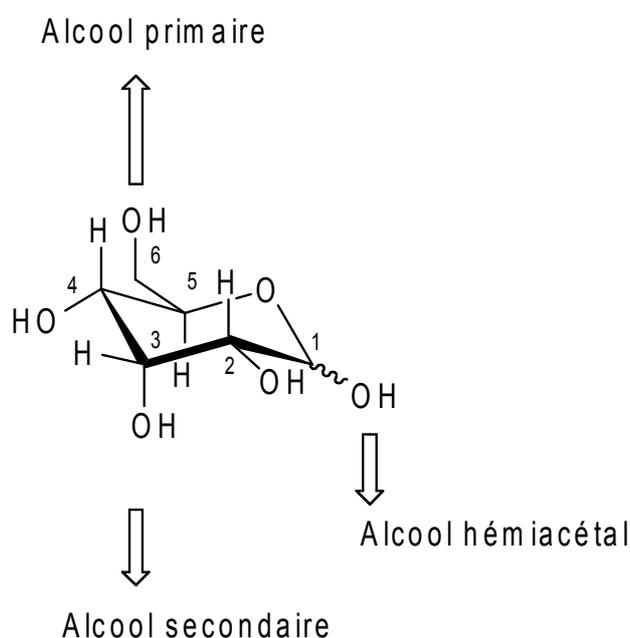


Fig.I.1. Les différents groupes hydroxyles du glucopyranose.

Chacun de ces groupes OH peut être transformé et notamment oxydé conduisant ainsi à un nouveau dérivé du polysaccharide (**Fig.I.2**). Des acides aldoniques peuvent être générés par oxydation du carbone C1 bien que les formes lactones sont les plus plausibles.

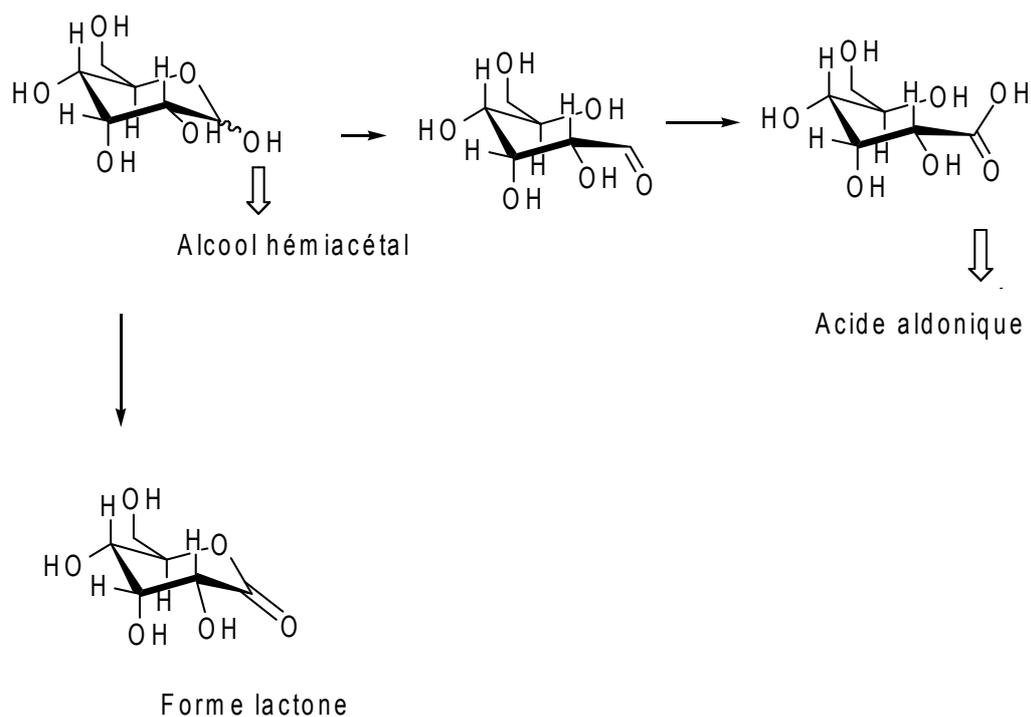


Fig.I.2. Transformation par oxydation du carbone C1 d'un saccharide en acide aldonique et en lactone (Danneels *et al.*, 2017).

Les alcools secondaires portés par C₂, C₃ et C₄ quant à eux peuvent être oxydés en céto forme alors que l'alcool primaire peut subir des réactions soit de O-alkylation comme dans le cas de la production de la carboxyméthylcellulose soit d'oxydation pour former des aldehydo-carbohydrates qui seront transformés en carboxylo-carbohydrates (Fig.I.3).

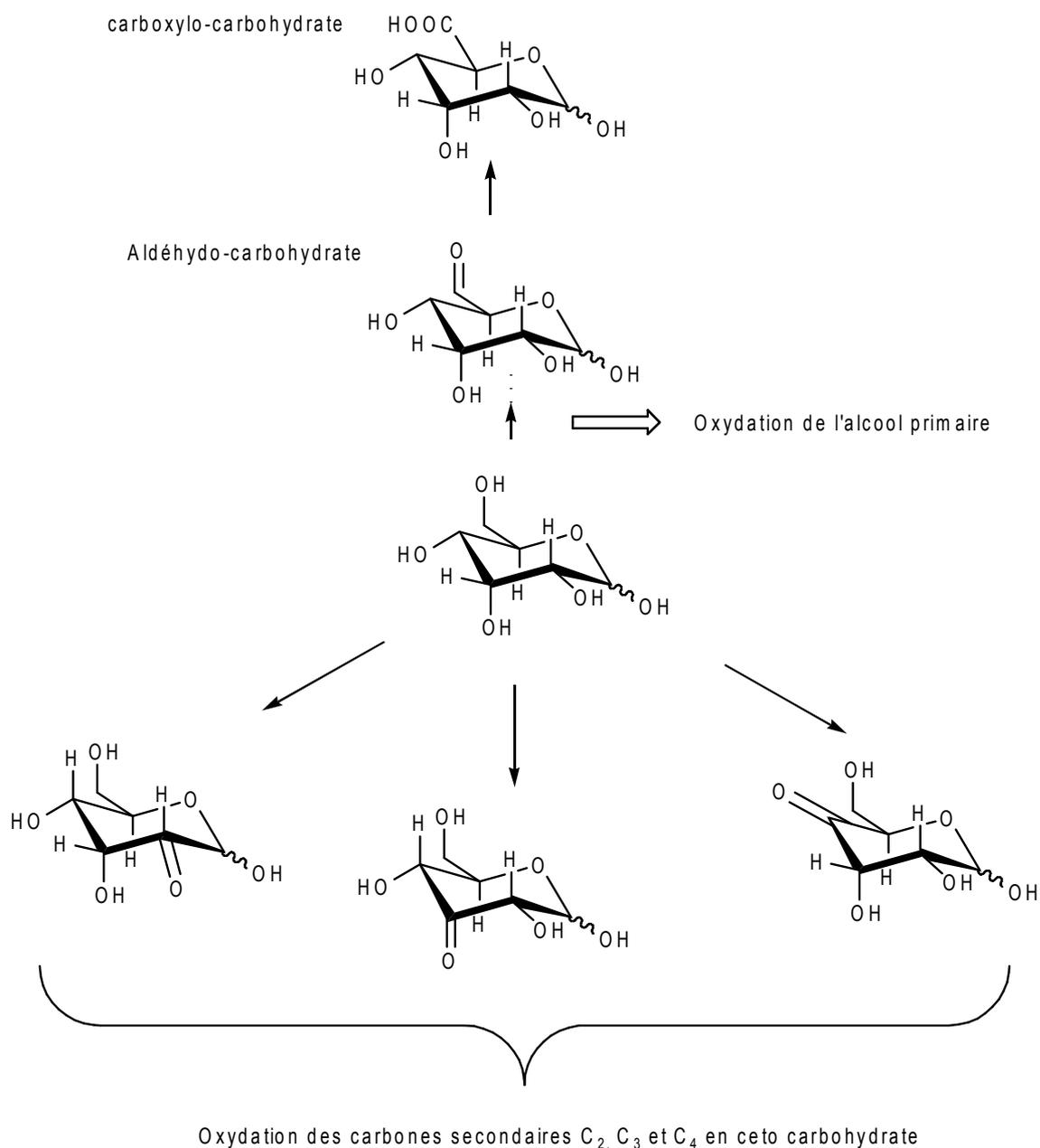


Fig.I.3. transformations oxydatives des différents alcools en C2, C3 et C4 en céto-forme et du C6 en aldéhyde puis en carboxylo-formes.

Cependant, comme il est déjà connu pour les sucres en général, certains inconvénients doivent être pris en compte pour la modification chimique des polysaccharides. Premièrement, les polysaccharides ont intrinsèquement une faible solubilité dans les solvants organiques et, par conséquent, ils doivent être traités, au moins initialement, dans des solvants hautement polaires ou dans de l'eau. Deuxièmement, la présence d'une multitude de fractions nucléophiles rend assez difficile le contrôle de l'ampleur de la modification, c'est-à-dire du degré de substitution.

Troisièmement, les polysaccharides sont sensibles à l'hydrolyse, bien que relativement résistants. Quatrièmement, les réactions chimiques notamment les oxydations entraînent des diminutions des poids moléculaires lorsque le degré d'oxydation devient élevé et par conséquent une baisse de la viscosité et une augmentation accrue de l'hydrosolubilité, ce qui traduit le plus souvent la dégradation du matériau.

Mais, toutefois les modifications chimiques des polysaccharides restent jusqu'à ce jour un centre d'intérêt des chercheurs du monde entier des différents domaines (biologie, chimie, pharmacie, environnement, biomatériaux, génie tissulaire...). La bioactivité peut être améliorée suite aux différentes nouvelles structures chimiques obtenues, aux compositions en monosaccharides, aux liaisons entre les résidus du sucre et aux changements conformationnels en solution. Il a aussi été signalé que ces changements structurels favorisent l'apparition de nouvelles activités biologiques (immobilisation des enzymes, propriétés antioxydante, anti-tumorale, antivirale, antibactérienne, anticoagulante, immunorégulatrices...) (**Xu et al., 2019**), des propriétés de complexation et d'adsorption de molécules polluantes et de chélation des métaux lourds (**Crini, 2005**).

Malgré la complexité et la perplexité de la chimie des polysaccharides, les intérêts que présentent ces matériaux sont considérables. Nous avons voulu dans ce contexte mener une étude bibliographique sur les réactions d'oxydation qui combinent l'oxygène seulement et qui ont été étudiées jusqu'à ce jour.

1.2. Oxydation par le bioxyde d'azote, le N_2O_4

L'oxydation avec le bioxyde d'azote (N_2O_4) permet de convertir sélectivement l'alcool primaire de la cellulose en acide carboxylique. Cependant, les réactions secondaires sont inévitables pendant cette oxydation. En effet, le clivage de la liaison C_2-C_3 du cycle cellulósique permet la formation des aldéhydes et provoque la fragilisation des fibres de cellulose (**Painter, 1976**). L'oxydation poussée de l'aldéhyde provoque une dépolymérisation de la chaîne. Ce qui traduit une diminution plus au moins importante du degré de polymérisation et surtout de la longueur des fibres. Ce procédé reste complexe pour des applications industrielles (**Le Roux, 2003**). Aussi, parmi ses inconvénients, le N_2O_4 est toxique. Il produit une grande quantité de déchets tels que les sels de nitrate (**Kulikowska et al., 2013**).

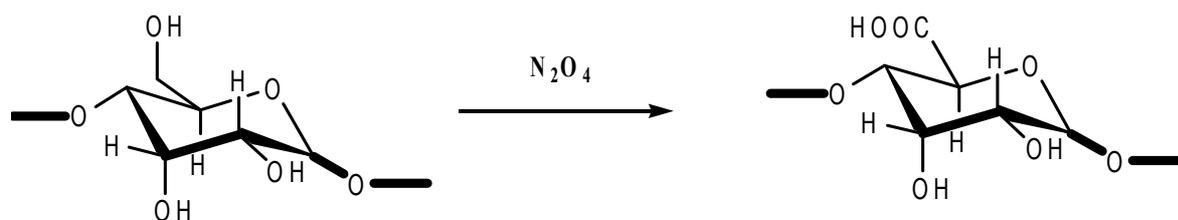


Fig.I.4. Oxydation de la cellulose par le N_2O_4 (Le Roux, 2003).

I.3. Oxydation par le peroxyde d'hydrogène, le H_2O_2

Cette réaction est très ancienne. **Haskins & Hogsed (1950)** ont établi une étude approfondie de la réaction entre le peroxyde d'hydrogène et la cellulose sous forme de fibres de coton purifié. L'oxydation a formé principalement des groupes cétoniques en C₃ qui sont quasiment inactifs et ne provoquent pas de scission de chaîne polysaccharidique.

Klein-koerkamp et al., (2009) ont procédé quant à eux à l'oxydation sélective des polysaccharides par le peroxyde d'hydrogène en présence de tétrasulfophtalocyanine de fer (FePcS) en milieu aqueux. L'oxydation a été menée dans des conditions douces, le clivage de la liaison C₂–C₃ des diols vicinaux des unités glycosidiques a pour résultat la formation de carbonyle et de carboxyle. Des conditions expérimentales optimisées ont permis aussi l'oxydation de l'hydroxyéthylcellulose (HEC), carboxyméthylcellulose de sodium (NaCMC), gomme de guar (GG) et inuline, les rapports de fonctions carbonyle/100 unités d'anhydroglucose ont été respectivement 19, 30, 53 et 23.

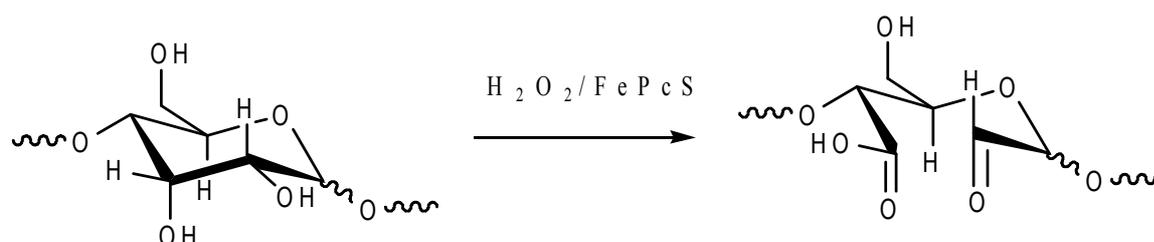


Fig.I.5. Oxydation de l'unité cellulosique par le système $H_2O_2/FePcS$ (Kulikowska et al., 2013).

D'après **Benghanem et al., (2017)**, le dosage après oxydation de la CMC par le système $H_2O_2/CuSO_4$ montre que les teneurs en carbonyles et carboxyles augmentent avec la concentration de l'agent oxydant, la quantité du catalyseur, le temps, la température ($<75\text{ }^\circ\text{C}$) et le pH (<11). Ils ont noté aussi que les taux en carbonyle générés lors de cette de réaction sont

toujours inférieur à ceux des carboxyles, d'une part. Et d'autre part, une décarboxylation du C₆ a été également décelée (**Figure I.6**).

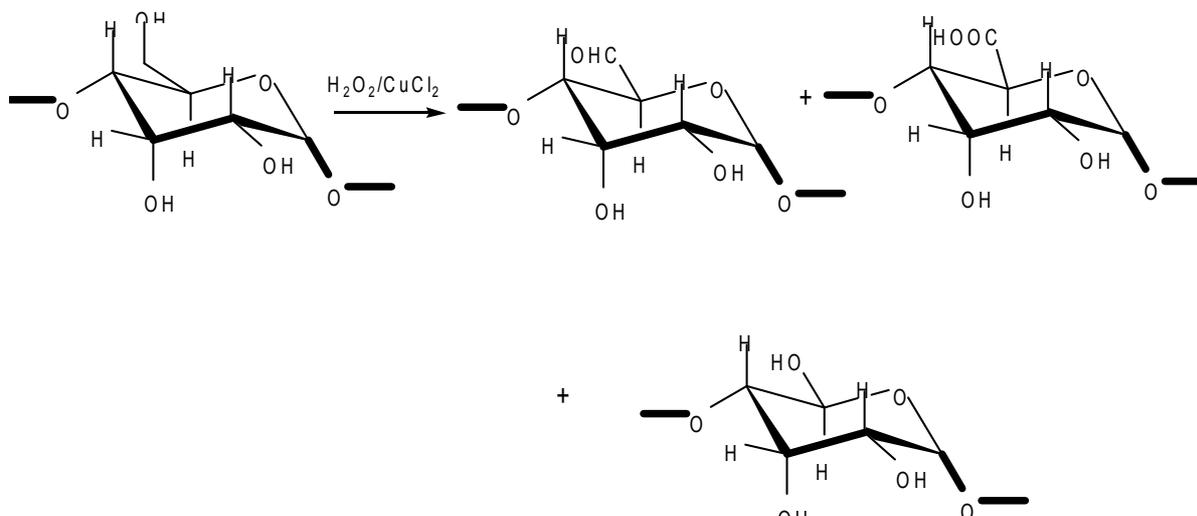


Fig.I.6. Oxydation de la CMC par le système H₂O₂/CuSO₄ (**Benghanem et al., 2017**).

I.4. Oxydation par les ions Permanganates, les MnO₄⁻

L'ion permanganate est 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, 2009)** ont étudié les cinétiques d'oxydation des alginates, des pectates, des polyalcools vinyliques et des macromolécules polyélectrolytes par les ions permanganates dans des solutions alcalines (pH=12). Ils ont trouvé que l'oxydation passe 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.

D'après **Abdel-Hamid et al., (2003)**, la phase initiale de l'oxydation de la pectine par l'ion permanganate dans l'acide perchlorique comme catalyseur en solution aqueuse a été relativement lente, puis a été suivie d'une augmentation du taux d'oxydation à des temps plus longs. Au cours de cette réaction, il a été démontré qu'un complexe intermédiaire entre le polysaccharide et l'oxydant se forme.

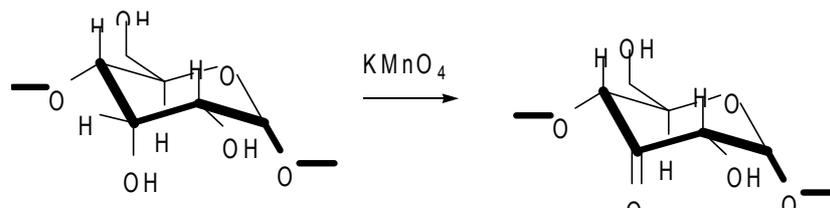


Fig. I.7. Oxydation de la CMC par l'ion Permanganate (**Hassan *et al.*, 2009**).

I.5. Oxydation par l'hypochlorite de Na, le NaOCl

L'oxydation de l'amidon par l'hypochlorite de sodium aqueux en milieu alcalin est un procédé industriel important dans les industries du papier, du textile et de la nourriture. C'est une réaction non régiosélective. Elle conduit à différents composés d'oxydation (**Chetouani, 2015**), (**Fig.I.8**).

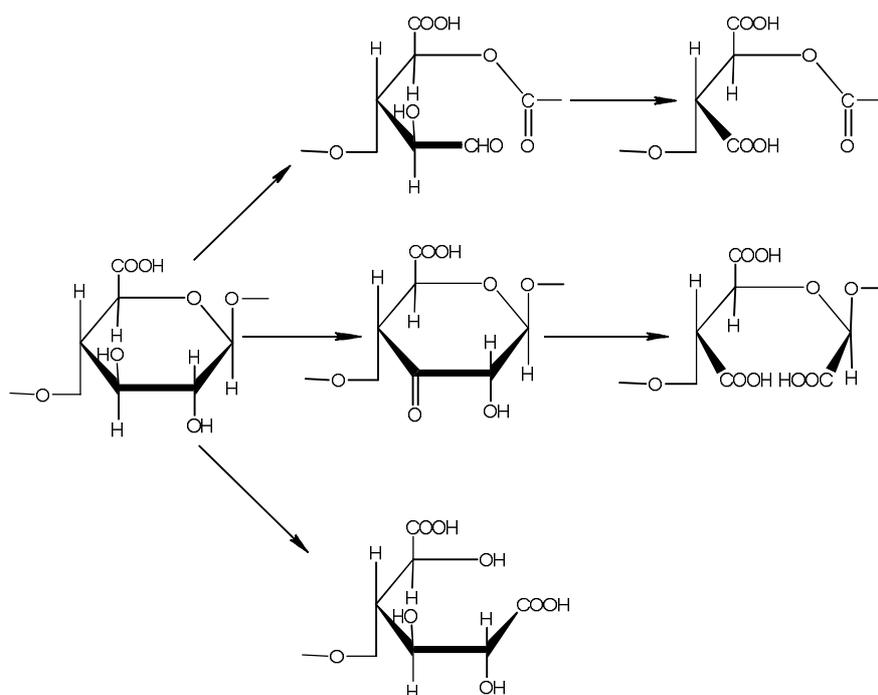


Fig.I.8. Oxydation par l'hypochlorite de sodium de l'amidon (**Floor *et al.*, 1989**).

Il a été reporté que l'effet principal de cette oxydation est la dégradation de la chaîne polymérique par l'intermédiaire de la β -élimination dans les résidus intermédiaires du ketoglucose. En outre, les fonctions carbonyles et carboxyles sont introduites. L'amidon reste en grande parties sous une forme granulaire (**Floor *et al.*, 1989**).

Gu *et al.*, (2013) ont constaté que les fibres de CMC oxydée ont été synthétisées avec succès par le procédé d'oxydation-éthérification par le NaOCl. Les résultats montrent que la viscosité

de la solution aqueuse d'OCMC augmente avec les concentrations de ce dernier et diminue avec l'augmentation de la température. Aussi, la vitesse de dissolution dans l'eau des fibres d'OCMC est plus rapide que celle des fibres de carboxyméthylcellulose.

Néanmoins, le NaOCl est toxique et produit lui aussi une grande quantité de déchets tels que des produits chlorés (Kulikowska et al., 2013).

1.6. Oxydation par les ions periodate, IO_4^-

L'oxydation par le periodate appelé aussi métaperiodate 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.

L'oxydation par le periodate clive spécifiquement les glycols vicinaux du polysaccharide pour former leurs dérivés de dialdéhyde qui pourraient servir d'agent réticulant macromoléculaire des polymères portant des groupes amine libres pour former des hydrogels (Shen et al., 2016 ; Kulikowska & Wasiak, 2014 ; Kulikowska et al., 2013 ; Teotia, 2012 ; Li et al., 2011),...

La réaction de l'alginate avec le métaperiodate de sodium active l'oxydation des deux groupes hydroxyles secondaires qui ont une faible réactivité en groupes aldéhydes mais ces derniers possèdent par contre une réactivité significativement plus élevée. Une réduction remarquable de la viscosité a été enregistrée en raison de la dégradation du poids moléculaire et de l'extension de la conformation de la chaîne par ouverture de cycle (Siddhesh et al., 2012).

Dans l'étude de Lu et al., (2010), l'OCMC a été obtenu en oxydant la CMC avec du periodate de sodium (Fig. I.9). Le degré d'oxydation d'OCMC a augmenté avec l'augmentation de la quantité de periodate ajoutée. La détermination du poids moléculaire de l'OCMC a prouvé aussi une dépolymérisation importante de la CMC, due à l'augmentation du degré de l'oxydation et au clivage associé du polymère.

Le principal verrou de l'utilisation de cette méthode à l'échelle industrielle est la difficulté de récupérer l'iode en fin de réaction. Ce qui va occasionner des opérations coûteuses (Gu et al., 2013).

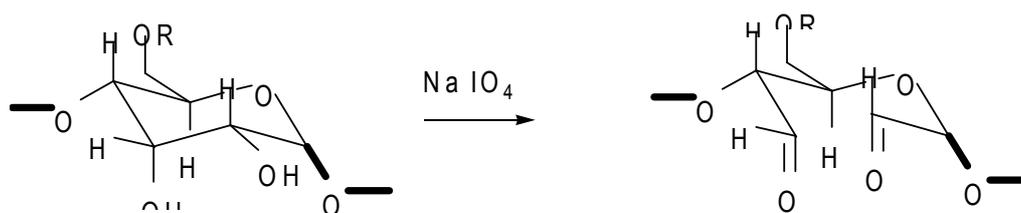


Fig. I.9. Oxydation de la CMC par le periodate de sodium (Lü et al., 2010).

1.7. Oxydation par le TEMPO

Le 2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-oxyle nommé aussi le 2,2,6,6-tétraméthyl-1-piperidinyloxy ou encore communément connu sous le TEMPO ainsi que ses analogues appartiennent à une classe de composés d'oxyde d'azote d'amines secondaires appelés radicaux nitroxyes ou nitroxydes (**Bowman et al., 1971**).

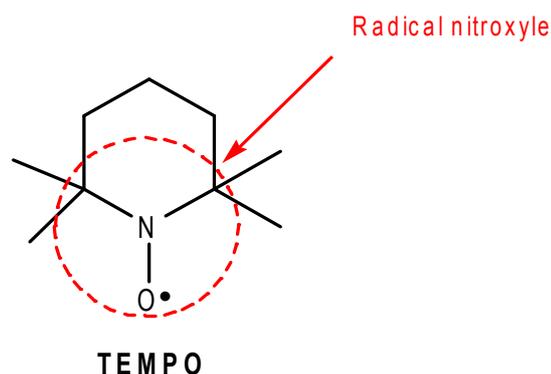


Fig.I.10. Structure chimique du TEMPO.

Le TEMPO est un radical stable. Il peut être oxydé par plusieurs réactifs pour donner un ion oxoammonium (ou nitosonium).

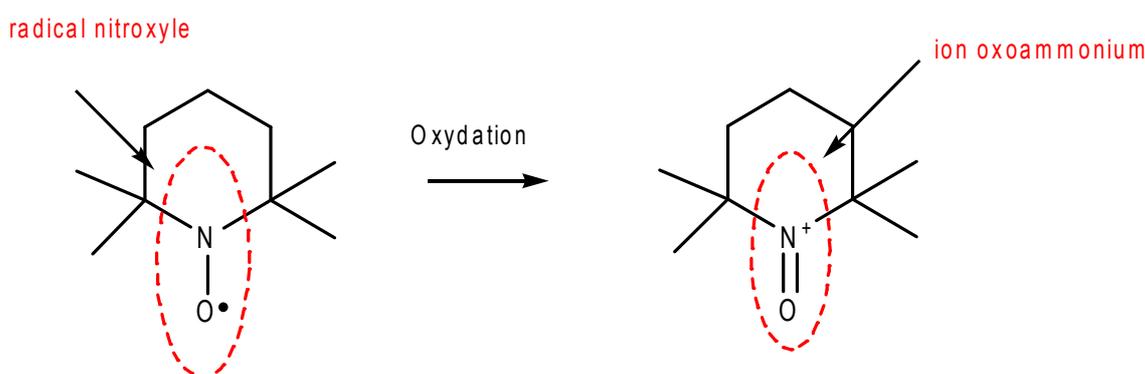


Fig.I.11. Conversion oxydative du radical nitroxyle en ion oxammonium du TEMPO
(**Bragd et al., 2004**).

Le radical nitroxyle cyclique (de la pipéridine ou de la pyrrolidine) est une des espèces de la série redox qui fait appel à des transferts de protons et/ou d'électrons. La réduction du radical TEMPO par des agents réducteurs doux, par exemple l'hydrazine, l'acide ascorbique et les thiols donne l'hydroxylamine tandis que des réducteurs plus forts, par exemple le nickel de

Raney et l'hydrogène ou le borohydrure de sodium, donnent l'amine (**Figure I.12**) (**Bragd et al., 2004**).

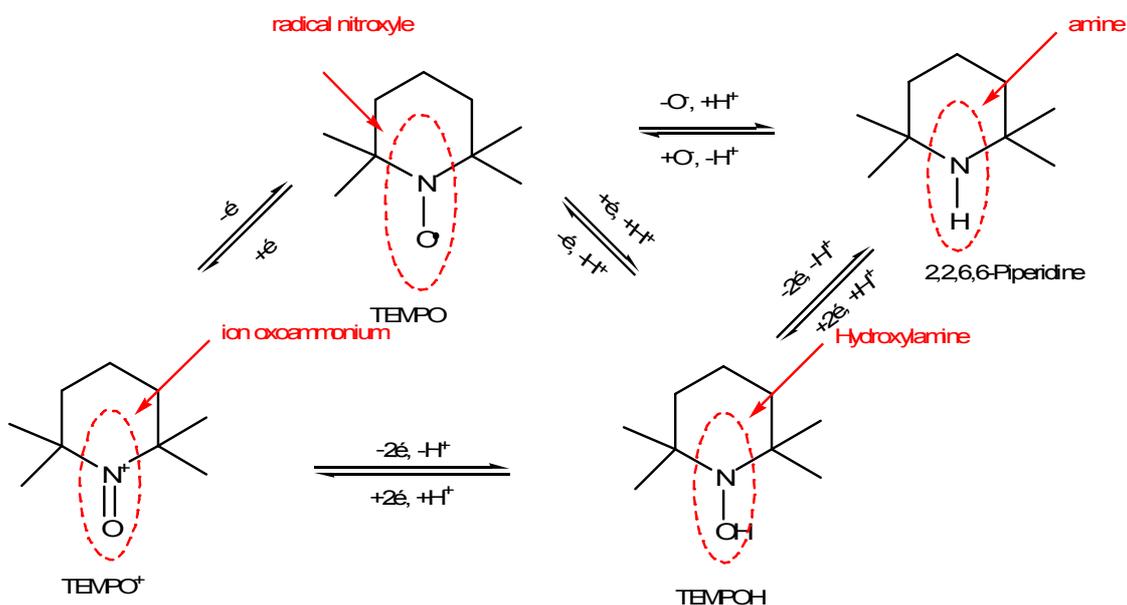


Fig.I.12. Schéma réactionnel du TEMPO dans sa série redox (**Bragd et al., 2004**).

L'ion oxoammonium est un oxydant fort. Il montre une sélectivité envers les fonctions hydroxyles primaires par rapport aux fonctions secondaires (**de Nooy et al., 1995**).

I.7.1. Oxydation des alcools

Dans la plupart des travaux publiés au cours de la dernière décennie, le TEMPO et ses analogues ont été utilisés comme catalyseurs d'oxydation. L'ion nitrosonium est dans ce cas régénéré de manière continue *in situ* par un oxydant primaire, exemple l'hypochlorite de sodium. L'avantage principal d'un tel processus est que les espèces radicales peuvent être ajoutées en quantités catalytiques (~1% par rapport au substrat) (**Bragd et al., 2004**).

En 2003, **Kato et al., (2003)** ont suggéré un mécanisme d'oxydation des alcools primaires (**Fig.I.13**). Ce mécanisme nécessite deux groupes oxoammonium en solution aqueuse alcaline. Le produit réduit, le 2,2,6,6-piperidino-1-ol, est ré-oxydé en sel d'oxoammonium par l'hypobromite, le BrO^- . Ce dernier s'est reformé suite à sa réaction avec l'hypochlorite. L'acide carboxylique produit est titré enfin avec de l'hydroxyde de sodium.

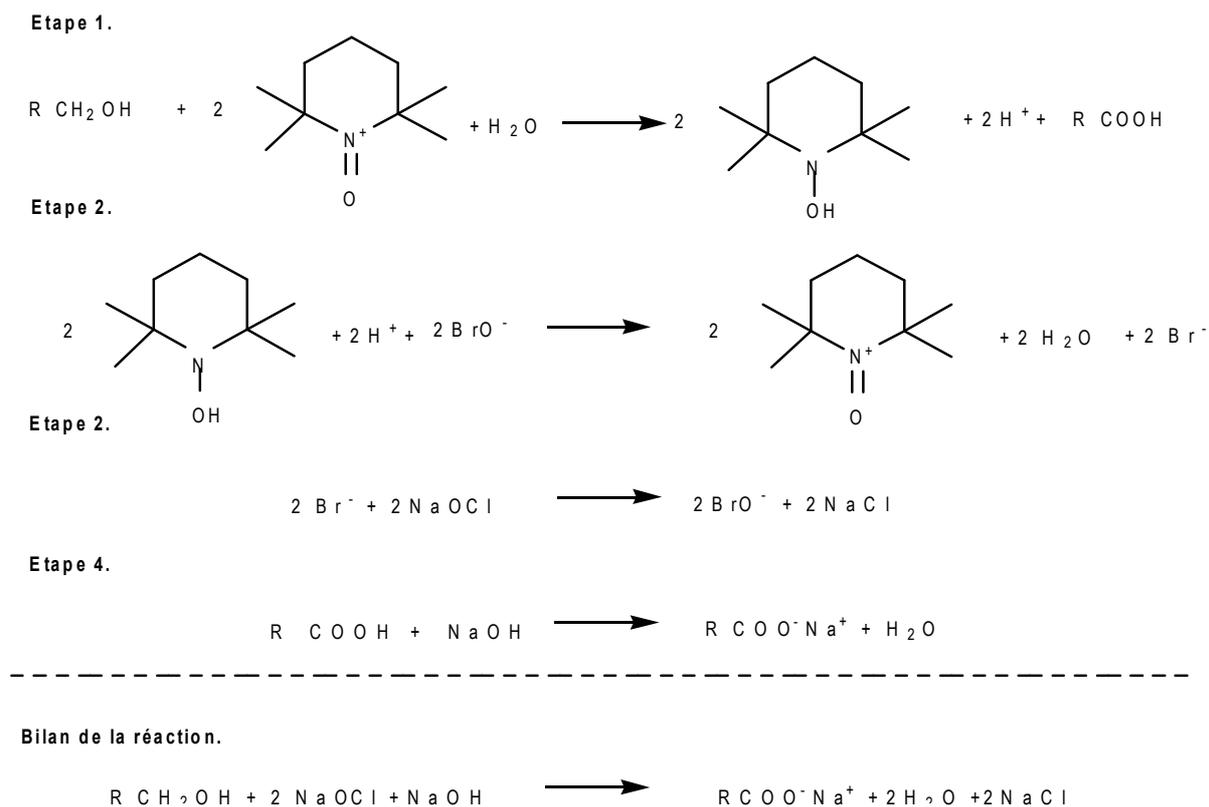


Fig. I.13. Etapes de la réaction d'oxydation de l'alcool primaire par le système TEMPO/NaOCl/NaBr (Kato *et al.*, 2003).

Un mécanisme d'oxydation des alcools primaires en acides carboxyliques par l'ion 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridinoxammonium a aussi été proposé et détaillé par Chang & Robyt (1998) (figure I.14).

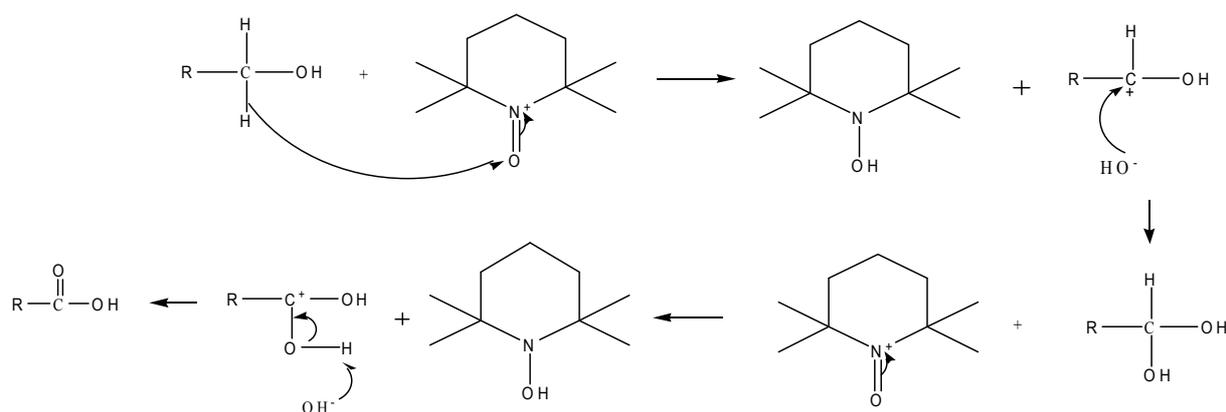


Fig. I.14. Schéma du mécanisme réactionnel de l'oxydation des alcools primaires par le TEMPO (Chang & Robyt, 1998).

I.7.2. Oxydation des polysaccharides

Au fil des années, il s'est avéré nécessaire d'améliorer les propriétés notamment physico-chimiques, mécaniques et biologiques des polysaccharides. Cette préoccupation a suscité les chercheurs de trouver des moyens peu coûteux et plus efficaces vis-à-vis aux problèmes déjà posés. L'une des voies de modification des polysaccharides est l'oxydation partielle des groupements latéraux favorisant ainsi la conservation des chaînes polysaccharidiques et le gain ou l'amélioration des propriétés liées aux nouveaux groupements carboxyles formés.

De ce fait, plusieurs travaux ont été menés sur l'oxydation de ces macromolécules par l'intermédiaire de différents agents oxydants tels que les permanganate, les periodate, les chlorites, le peroxyde d'hydrogène, les hypochlorites, le cérium (IV), l'ozone... (**Benghanem et al., 2017**). Par ailleurs, l'usage de la majorité de ces oxydants est non ciblé et conduit parfois à la dépolymérisation des chaînes macromoléculaires.

Cependant, au cours de la dernière décennie, l'oxydation catalytique des glucides utilisant le radical nitroxyle stable, le TEMPO, est devenue l'une des procédures les plus prometteuses pour convertir les polysaccharides en acides polyuroniques correspondant. La méthode est appropriée pour l'oxydation sélective des alcools primaires en aldéhyde et/ou en acide carboxylique. Contrairement à l'oxydation aux catalyseurs enzymatiques ou métalliques, l'oxydation par le TEMPO s'avère efficace dans la conversion de molécules de haut poids moléculaire, cas des polysaccharides (**Bragd et al., 2004**).

Il a été démontré également que l'optimisation des conditions opératoires de la réaction par le TEMPO pouvait permettre le contrôle du degré d'oxydation avec un rendement voulu (**Rodrigue, 2008**)

Quant au système TEMPO/NaBr/NaOCl, il a été utilisé efficacement par **Dang et al., (2007)** pour convertir les hydroxyles primaires en C₆ en carboxylates *via* l'aldéhyde intermédiaire. **Isogai & Kato, (1998)** ont désormais remarqué en présence du dernier système (TEMPO/NaBr/NaOCl) que le degré de polymérisation est fortement influencé par la quantité de TEMPO ajouté, le temps et les températures des réactions. **Dang et al., (2007)** ont également trouvé que la teneur en carboxyle estimée à partir de la pâte kraft de bois résineux blanchie sans chlore était améliorée avec l'augmentation de NaOCl alors que le degré de polymérisation de ces fibres se trouve considérablement diminué. La température de réaction optimale et le pH pour la génération de groupes carboxyle se sont avérés être respectivement de 23°C et pH=9,10. Les fibres oxydées avaient en outre montré des valeurs de rétention d'eau de 62,9% plus élevées que les fibres originales en raison de la teneur accrue en carboxyle et de l'indice de traction des

fibres oxydées à partir des études de résistance physique supérieures de 13,8% à ceux des fibres d'origine. Cependant, **Ding *et al.*, (2008)** ont trouvé que la réaction est très sélective à pH 10,2 et à T=0°C. Le rendement est de près de 100%. Ce procédé a été étudié sur plusieurs polysaccharides substitués, en particulier pour une série d'hydroxypropyl de gomme de guar avec différents degrés molaires de substitution.

Haoet *et al.*, (2016) ont explorés les profils d'oxydation par le TEMPO/NaBr/NaOCl de l'amidon, il s'est avéré que des fortes quantités d'oxydant induisent la formation de résidus oxydés de glucose en acides glucuroniques et une dégradation substantielle en oligosaccharides. Des études sur la température n'ont pas pu surmonter le problème de dégradation de l'amidon même aux basses températures. Par ailleurs, selon **De Nooy *et al.*, (1995)**, il a été démontré que le pH optimal pour l'oxydation en présence du TEMPO des glucanes solubles dans l'eau était entre 10 et 11 et que dans le cas du pullulane, ce dernier subissait une dépolymérisation après oxydation. Mais, en contrôlant le pH (entre 9,2 à 9,7), la dépolymérisation de ce dernier se trouvait baissée. Quant à la cellulose, les conditions optimales pour conserver son poids moléculaire était de diminuer la température de la réaction à 4°C (tout en conservant le pH à 10). En revanche, **Hirota & Tamura, (2009)** ont montré que les billes fabriquées à partir de la cellulose oxydée par le TEMPO ont une capacité d'adsorption des ions métalliques (surtout ceux du plomb) plus importante que celle des billes de CMC.

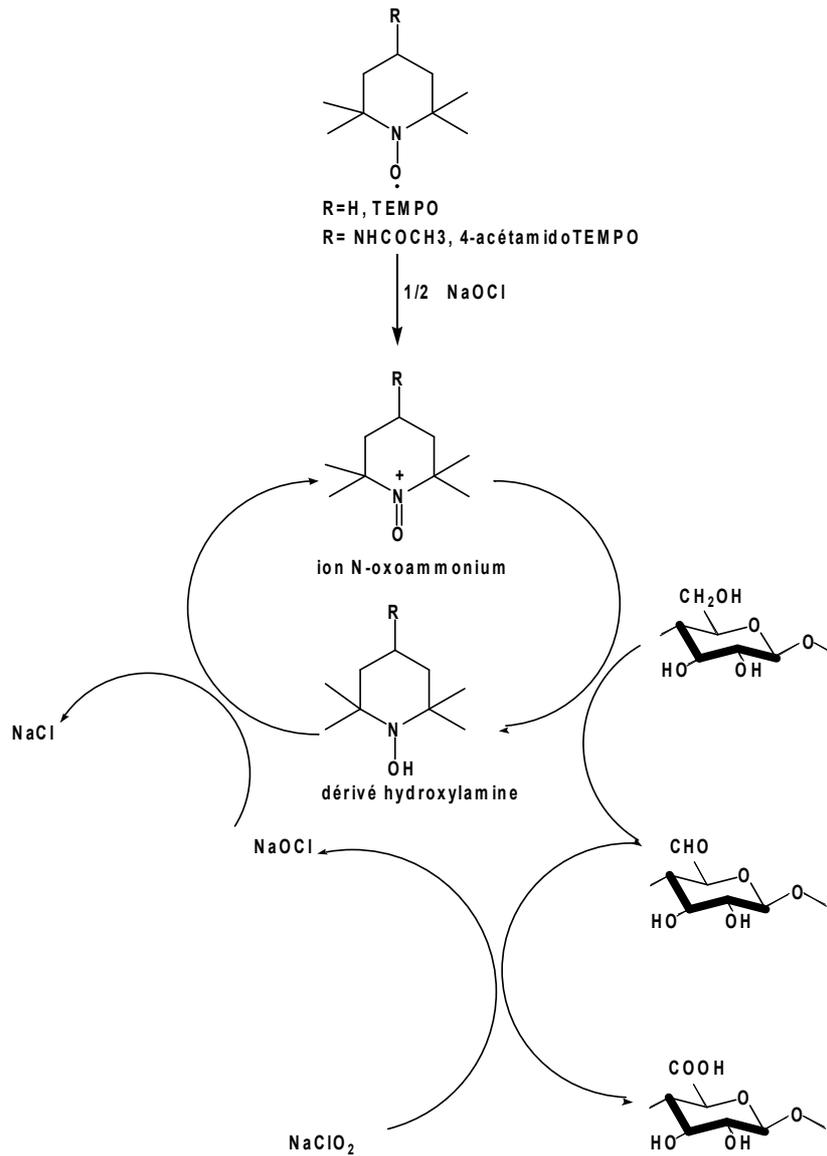


Fig. I.15. Oxydation des hydroxyles primaires en C6 de la cellulose par le système TEMPO/NaOCl/NaClO (Hirota & Tamura, 2009).

Pei *et al.*, (2016) ont investigué le système TEMPO/laccase. Il a été montré que l'oxydation des alcools primaire en carboxyles est régiosélective et qu'elle a entraîné une nette amélioration de l'absorption et de la rétention de l'humidité ainsi que des capacités antioxydantes.

1.8. Oxydation enzymatique

Parikka et al., (2010) ont exploré l'oxydation de plusieurs polysaccharides en utilisant la galactose oxydase comme catalyseur pour oxyder sélectivement les hydroxyles en C-6 des groupes terminaux galactose en carbonyle. Les polysaccharides étudiés comprenaient le galactoglucomannane d'épinette, le galactomannane de guar, l'arabinogalactane de mélèze, l'arabinoxylane de fibres de maïs et le xyloglucane de graines de tamarin. Les teneurs en galactose terminal variaient de 6% à 40%. Un système multienzymatique, la catalase et la peroxydase de raifort pour renforcer l'action de la galactose oxydase, a été utilisé. Les meilleurs degrés d'oxydation des galactosyles terminaux étaient obtenus avec du xyloglucane (85% de galactose) et du galactoglucomannane d'épicéa (65% de galactose). Le degré d'oxydation le plus élevé, exprimé en glucides totaux, a été atteint avec la gomme de guar (28%) qui avait la plus haute teneur en galactose. L'oxydation a entraîné des modifications des propriétés physico-chimiques des solutions de polysaccharides et ces changements observés variaient d'un polysaccharide à un autre.

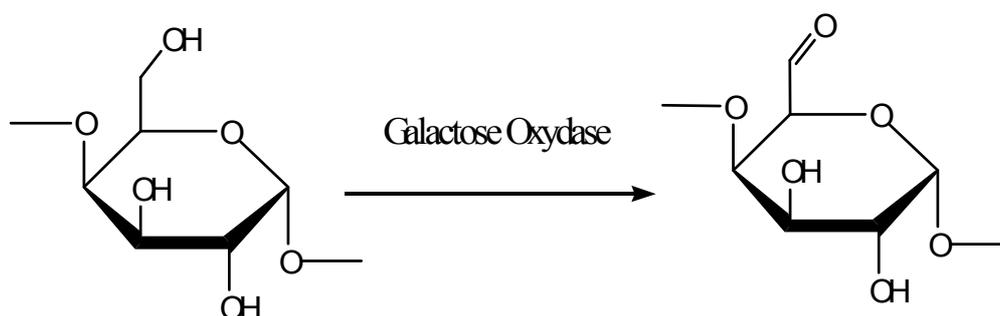


Fig.I.16. Oxydation des polysaccharides par la galactose oxydase (**Parikka et al., 2010**).

II. Partie expérimentale

I.1. Produits utilisés

En plus du chitosane ($pK_a=6,3$, viscosité 800.000 cps à $T=25^\circ\text{C}$) (Sigma-Aldrich, Chine), du TEMPO (2,2,6,6-tétraméthyl-1-piperidinyloxy) (Sigma-Aldrich, Chine), du NaBr (Sigma-Aldrich, Chine), du NaOH (Sigma-Aldrich, Chine), de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (Sigma-Aldrich, Chine), de Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich, Chine), de l'acétate de Ca ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Ca}$) (Sigma-Aldrich, Chine), de $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ (Sigma-Aldrich, Chine), de la phénolphaléine (Sigma-Aldrich, Chine) et du NaOCl (l'hypochlorite de sodium) (à 3,8% de chlore actif) (Usine Akbou-Bejaia), tout ce qui a été cité en section Produits utilisés du chapitre précédent (pp19) a été employé pour la réalisation de cette présente étude, d'une part. Et d'autre part, les solutions aqueuses de PBS (200mL, à 0,1M) ont été faites à $T = 27^\circ\text{C}$ et aux deux différents pHs, à $\text{pH}=6,4$ en additionnant 73,5mL de NaH_2PO_4 (0,2 M) et 26,5mL de Na_2HPO_4 (0,2 M), et à $\text{pH}=7$ en additionnant 39mL de NaH_2PO_4 (0,2 M) et 61mL de Na_2HPO_4 (0,2 M).

II.2. Méthodes opératoires suivies

II.2.1. Oxydation par le TEMPO/NaBr/NaOCl de la NaCMC

L'oxydation de la NaCMC a été menée en se basant sur des travaux antérieurs réalisés par **Hao et al., (2016)**, **Park et al.,(2015)**, **Carlsson et al.,(2014)**, **Dang et al.,(2007)**, **Saito et al., (2005)** & **Kato et al., (2004)**. Pour ce faire, dans un ballon de 250mL enveloppé dans du papier d'aluminium, 1g de NaCMC est solubilisé à 75°C dans 50mL d'eau distillée. Après refroidissement et retour à la température ambiante ($\sim 27^\circ\text{C}$), 32 mg de TEMPO et 320 mg de NaBr sont additionnés à la solution de départ. Le tout est maintenu sous faible agitation à l'aide d'un barreau magnétique. Le pH est ajusté ensuite à 10 avec du NaOH aqueux (à 20%). Puis, l'addition de NaOCl à 27°C se fait d'une manière progressive à l'aide d'une pipette graduée.

Les différents volumes utilisés de NaOCl lors de cette étude sont 4mL, 8mL et 12 mL.

Le pH du milieu réactionnel a été maintenu à 10 par addition goutte à goutte d'une solution de NaOH (à 20%). Les temps des réactions ont été fixés à 2h, 3h et 4h.

La réaction est arrêtée par ajout immédiat au contenu du ballon de 10mL d'éthanol. Le pH de la solution est par la suite amené à 6 avec du HCl (4M). L'addition de l'éthanol (trois fois le volume de la solution) permet la précipitation d'une poudre blanche. L'isolement de ce produit se fait par centrifugation (à 3000 trs/min) et lavage à l'éthanol (minimum x 3fois). Enfin, le

séchage est mené à 40 °C dans une étuve sous vide pendant 24 h. Une poudre blanche de masse $m=0,85g$ est obtenue.

II.2.2. Préparation de films NaCMC/CS et OCMC/CS

Les différentes réactions ont été conduites selon la méthode décrite par **Benghanem et al., (2017)**. Les solutions de NaCMC et de CS sont préparées séparément. Pour ce faire, La solubilisation de NaCMC (à 1%) (m/m) se fait dans de l'eau distillée à 80°C sous faible agitation alors que pour le CS, il est dissous à 1% (m/m) à $T = 60^{\circ}C$ dans l'eau distillée acidifiée par l'HCl (0,1N) jusqu'à $pH = 3,5$.

Ensuite, après obtention des deux solutions, 20 mL sont prélevés de chaque bécher et sont mélangés dans un même ballon de 100mL. Le pH est maintenu à 3,5 pendant 6h à 40°C. Puis, la solution de NaCMC/CS est versée dans une boîte de Pétri en polystyrène (9,5 cm de diamètre). Elle est laissée sécher à l'air libre pendant 3 à 4 jours.

La même procédure est reprise pour les systèmes OCMC/CS.

II.3. Identifications et caractérisations

II.3.1. Dosages chimiques

II.3.1.1. Détermination de la teneur en aldéhyde

La teneur en aldéhyde est déterminée en suivant le mode opératoire décrit par **Li et al., (2011)**. Dans un bécher de 100 mL enveloppé dans du papier aluminium, on dissout 0,5g d'OCMC dans 25mL d'eau distillée. Le pH est ajusté à 5 avec du NaOH (1M). Ensuite, 20mL d'une solution aqueuse de chlorhydrate d'hydroxylamine (0,72M) ajustée avec du NaOH (1,0M) à $pH = 5$ sont ajoutés à la solution précédente d'OCMC. L'agitation est laissée 4h à $T = 40^{\circ}C$. Le titrage de l'acide chlorhydrique est contrôlé avec du NaOH (1,0 M) jusqu'à $pH = 5$. La consommation de la solution de NaOH est enregistrée en tant que V_c . La même procédure est reproduite sur la NaCMC en tant que contrôle et la consommation de la solution alcaline est enregistrée sous V_b . La teneur en aldéhydes (TA) portés par l'OCMC est calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$TA (\%) = \frac{[NaOH](V_c - V_b)}{m/211} \times 100 \quad (1)$$

Avec :

[NaOH] : est 1M,

m : est la masse à l'état sec de la CMC oxydée (g),

211 : est la masse molaire moyenne de l'unité répétitive de l'OCMC (g).

II.3.1.2. Détermination de la teneur en carboxyles

La teneur en carboxyles de la OCMC est déterminée selon le mode opératoire proposé par **Kumar & Yang (1999)** en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur de couleur. Dans un bécher (100mL), 0,5g d'OCMC est solubilisé dans 50mL d'acétate de calcium (à 2%) pendant 30 minutes. La solution est ensuite titrée avec du NaOH (0,1N). Les volumes de NaOH consommés sont notés V_c . Un test à blanc de NaCMC pour déterminer le volume de NaOH (V_b) est également effectué. L'équation suivante détermine la teneur en groupes carboxyliques portés par l'OCMC :

$$TC(\%) = \frac{N.(V_c - V_b) \times M_{COOH}}{m} \times 100 \quad (2)$$

Avec,

N : est la normalité du NaOH,

M_{COOH} : 45g.mol⁻¹

m : est la masse de l'échantillon à l'état sec avant titration (mg).

II.3.1.3. Titrations potentiométriques et conductimétriques

Les teneurs en -OCH₂COOH et -NH₂ dans les systèmes CMC, CS, CMC/CS et OCMC/CS sont déterminées selon la procédure établie par **Zamani et al., (2010)**. Tout d'abord, 0,1g de chaque échantillon est dissout dans 100mL d'HCl (0,05M). Le pH est ajusté à 2. Puis la solution est titrée par addition goutte à goutte de NaOH (0,1M). Le pH et la conductivité électrique sont mesurés simultanément jusqu'à ce que le pH de la solution atteigne 11,5. Les nombres équivalents de groupes hydroxyle dérivés de NaOH qui réagissent avec les groupements -COOH de la CMC et NH₃⁺ du CS sont calculés en utilisant la formule de **Raymond et al., (1993)**.

$$[NH_3^+] \left(\frac{meq}{g} \right) = \frac{M \times V_{dutrants}}{m} \quad (3)$$

Avec,

M : est la concentration de NaOH (mol/L),

V : est le volume du NaOH nécessaire pour déprotomer -OCH₂COOH et NH₃⁺ (mL),

m : est la masse de l'échantillon (g).

II.3.2. Etudes structurales

II.3.2.1. Spectrophotométrie UV-Vis

L'appareil utilisé est donné en page 19. Les spectres sont enregistrés en solubilisant 5 mg de poudre de NaCMC ou d'OCCMC dans 4 mL d'eau distillée. Les spectres UV-Vis ont été enregistrés dans la gamme de 180nm à 800nm.

II.3.2.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

L'appareillage utilisé est décrit en page 19. Les spectres ont été enregistrés dans une gamme de balayage de 4000 à 400 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} , soit directement sur les films par rapport à l'air ou bien soit sur des pastilles conçues à partir des poudres qui sont dissoutes à 3% (m/m) dans le KBr.

II.3.2.3. Spectroscopie de fluorescence des rayons X (FRX) :

(Voir supra, pp 20). Les éléments étudiés dans le cas présent sont l'oxygène et le carbone.

II.3.3. Analyse thermogravimétrique :

(Voir supra, pp 20).

II.3.4. Opacité

(Voir supra, pp 20).

II.3.5. Gonflement

Le test de gonflement est effectué dans des béchers en verre de 50 mL. 20 mL d'eau distillée sont ajoutés à la masse initiale des films, soit 0,08 g. Les mesures des poids sont faites en fonction du temps à température ambiante. Le degré de gonflement exprimé en pourcentage en poids "G" est calculé à partir de l'expression suivante : **(Benghanem et al., 2017)**

$$G(\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (5)$$

Avec :

W_t : est la masse du film enflé dans de l'eau distillée à temps t,

W_0 : est la masse initiale du film sec (à $t=0$).

II.4. Etudes biologiques

II.4.1. Biocompatibilité avec le sang humain

Le test d'hémolyse in vitro évalue la libération d'hémoglobine dans le plasma (en tant qu'indicateur de la lyse des globules rouges) après l'exposition à l'agent testé. Le potentiel hémolytique des échantillons est déterminé selon **Fan et al., (2012)**. 0,1 mL de sang humain anticoagulé avec du citrate de Na est ajouté à 7,5 mL de PBS (pH = 7) contenant 0,15 g de l'hydrogel dans différents tubes à essai. Un témoin positif (hémolysé à 100% induit par le remplacement du PBS (pH 7) par 7,5 mL d'une solution à 0,1% de Na₂CO₃) et un autre négatif (hémolyse à 0%, PBS à pH 7 sans hydrogel) ont également été placés. Tous les tubes à essai contenant des échantillons et des contrôles sont protégés de la lumière pendant 1 heure à 37 °C. Ensuite, les tubes sont centrifugés à 300tr/min pendant 10 min. Le pourcentage d'hémolyse est calculé en mesurant la densité optique (DO) du surnageant de la solution à 545nm selon la formule suivante : (**Fan et al., 2012**)

$$\text{Hémolyse}(\%) = \left(\frac{\text{DO de l'échantillon test} - \text{DO du control négatif}}{\text{DO du control positif}} \right) \times 100 \quad (6)$$

II.4.2. Test dynamique de coagulation du sang humain

À l'exception de l'utilisation des films de 1cm² de surface au lieu de poudres de 50mg de NaCMC ou de HCMC, le mode opératoire que nous avons suivi pour la réalisation de cet essai est identique à celui de la section précédente (voir supra, pp 21).

II.4.3. Activité anti-inflammatoire

Ce test est estimé par la méthode de dénaturation des protéines déjà décrite par **Alhakmani et al., (2013)**. Le Diclofenac sodique, un anti-inflammatoire, est utilisé comme médicament de contrôle. Dans les tubes à essai, 2 mL de composé à tester sont ajoutés à 2,8mL de PBS (pH 6,4) et à 2mL d'albumine d'œuf (œuf de poule frais). Les concentrations étudiées de nos échantillons sont 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 mg/mL. Le Diclofenac sodique (à concentration de 0,25 mg/L) subit le même traitement. Tous les tubes contenant les échantillons et le contrôle sont placés dans un bain-marie à 27°C pendant 15min à l'obscurité. Par la suite, la dénaturation est induite en maintenant le mélange réactionnel à 70°C au bain-marie pendant 10min. Après refroidissement, l'absorbance est lue à 660nm avec un appareil de type UNICAN UV 300

(USA) en utilisant de l'eau distillée comme test à blanc. 2mL de l'albumine d'œuf mélangés à 2,8 mL de solution de PBS (pH 6,4) sont utilisés comme test de contrôle. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la protéine est calculé à l'aide de la formule suivante : **(Alhakmani *et al.*, 2013)**

$$Inhibition (\%) = \frac{At - Ac}{Ac} \times 100 \quad (8)$$

Avec :

At : est l'absorbance de l'échantillon testé,

Ac : est l'absorbance du contrôle.

II.4.4. Mucoadhesion

Le mode opératoire que nous avons suivi pour la réalisation de cet essai est identique à celui décrit dans la section précédente (voir supra, pp 21), à l'exception de l'utilisation des films de 1cm² de surface au lieu de poudres de 50mg de NaCMC ou de HCMC.

II.4.5. Biodégradation in vitro

(Voir section précédente, pp 22).

III. Résultats et Discussion

III.1. Identifications et caractérisations

III.1.1. Dosages chimiques

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

L'oxydation de la CMC par le TEMPO dans un milieu aqueux à pH alcalin égal à 10 en présence de NaOCl et NaBr favorise la conversion d'alcools primaires en aldéhyde puis en acide carboxylique (Fig. III.1).

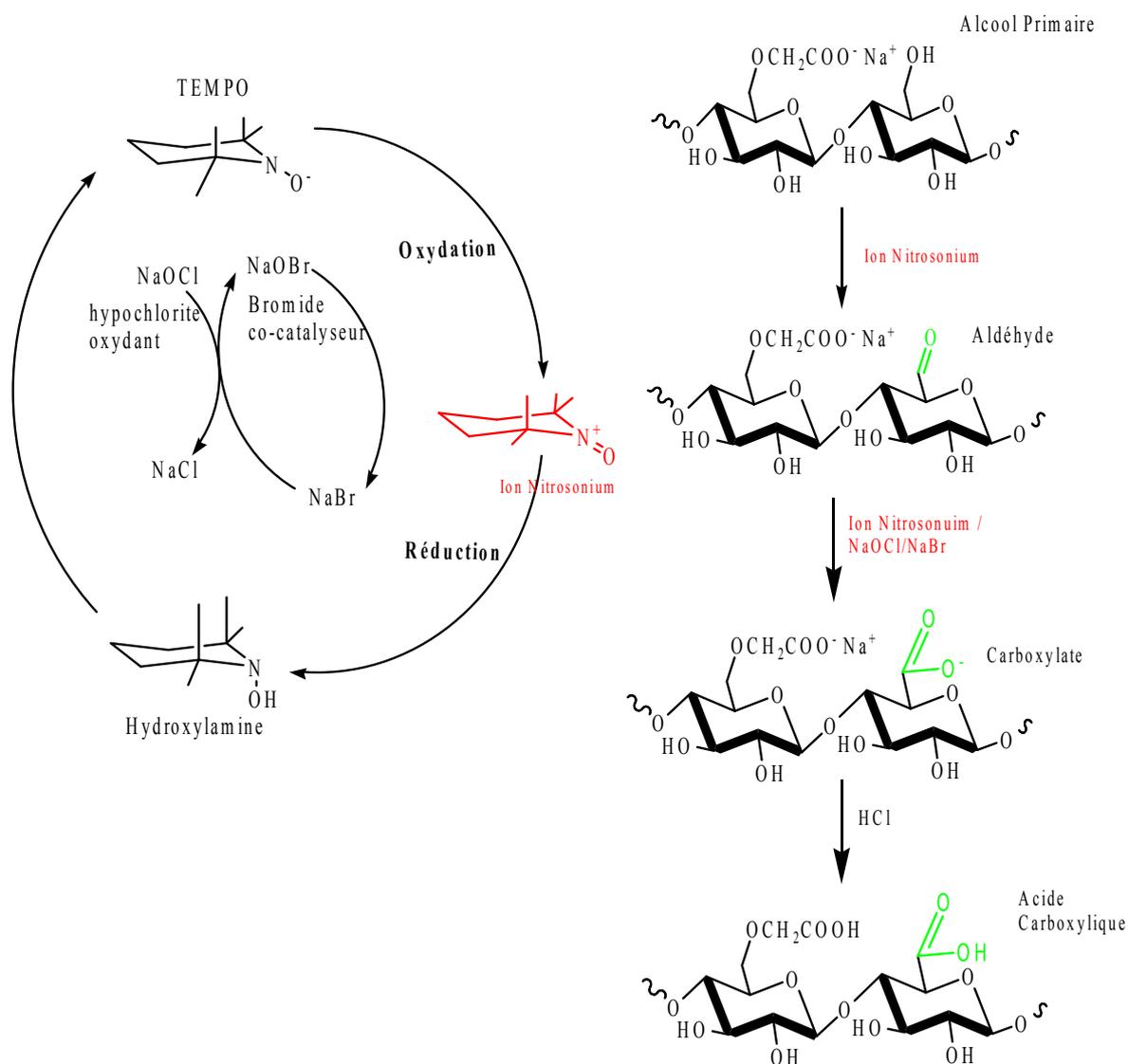


Fig. III.1. Réaction d'oxydation catalytique de la CMC par le système TEMPO/NaBr/NaOCl à pH=10 en milieu aqueux.

Cette réaction d'oxydation a été étudiée en faisant varier le temps de la réaction et la concentration en NaOCl (**Tableau III.1**). Il s'avère que les teneurs en aldéhyde diminuent tandis que les teneurs en carboxyle augmentent avec le temps de la réaction et les volumes de NaOCl à l'exception où nous avons 8mL de NaOCl, nous remarquons une baisse du ratio aussi bien en aldéhyde qu'en groupe acide carboxylique par rapport à la réaction où nous avons 4mL de NaOCl. Ces ratios baissent respectivement de 25,32% et 0,45% pour le système à 4mL de NaOCl jusqu'à 16,88% et 0,3% pour celui à 8mL de NaOCl.

Tableau III.1. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle de la CMC oxydée par le système Tempo/NaOCl/NaBr à T = 27°C et à pH = 10.

V _{NaOCl} (mL) / Temps		Taux en aldéhyde et carboxyle (%)					
		4 mL		8 mL		12 mL	
		CHO(%)	COOH(%)	CHO(%)	COOH(%)	CHO(%)	COOH(%)
2h	25,32	0,45	16,88	0,3	25,32	2,7	
3h	8,44	0,9	12,66	1,8	16,88	5,4	
4h	4,22	1,8	8,44	2,7	8,44	8,1	

III.1.1.2. Titrations potentiométriques et conductimétriques

Le terme conductimétrie fait référence à un procédé de mesure de la conductivité électrique d'une solution au cours d'une réaction chimique. Ceci permet de déterminer la concentration en ions contenus dans la solution étudiée. La conductivité peut donc être utilisée pour le dosage ou la détermination de la cinétique des réactions.

a. Chitosane

Pour le CS, il existe trois régions distinctes. À partir du pH = 2, la première zone correspond à la neutralisation de l'excès d'HCl. La deuxième région entre pHs 4 et 8,1 correspond à la déprotonation des groupes -NH₃⁺ de CS en NH₂ et la quantité de -NH₂ est estimée à 4,188 meq/g. Enfin, la troisième région représente l'excès du NaOH en solution (**Fig. III.2**)

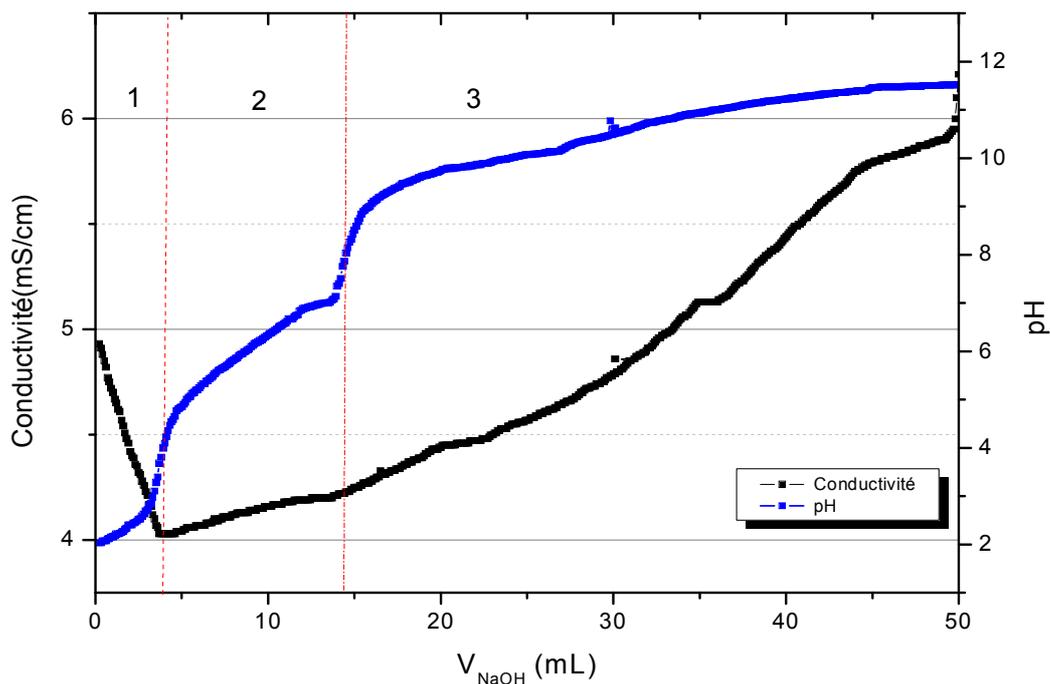


Fig .III.2. Variations de la conductivité électrique et du pH du chitosane.

b. Carboxymethylcellulose

Les variations du pH et de la conductivité électrique dans le cas de la CMC sont représentées dans la **figure III.3**. On observe l'existence de trois régions distinctes : à partir de pH = 2, la première zone correspond à la neutralisation de l'excès de HCl. La deuxième région entre pHs 4,1 et 6 correspond à la déprotonation des groupes -COOH en -COO⁻ de la CMC et la quantité de -COOH est estimée à 0,464 meq/g. Enfin, la troisième région représente l'excès de NaOH en solution.

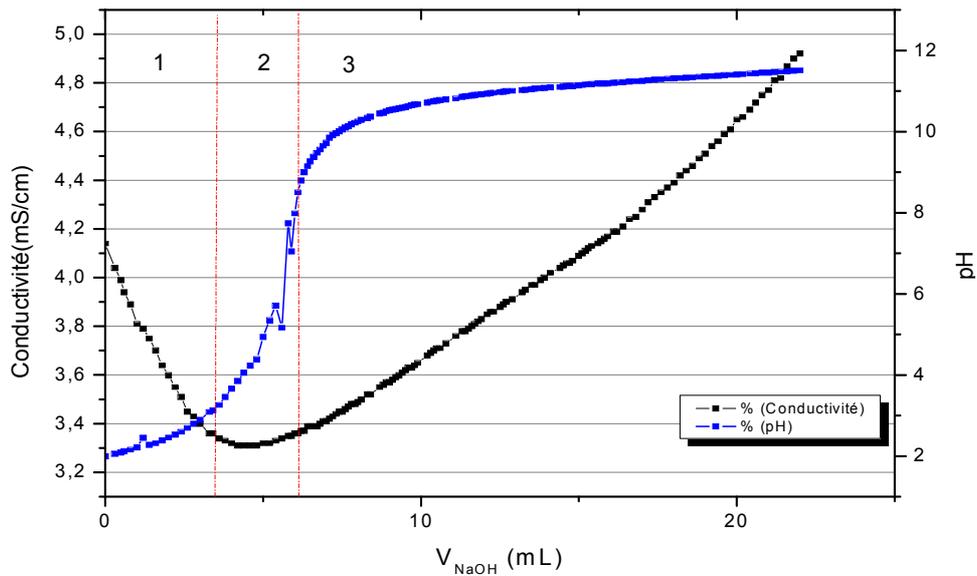


Fig. III.3. Variations de la conductivité électrique et du pH de la CMC.

c. Carboxymethylcellulose oxydée

D'après la **figure III.4**, la courbe obtenue de l'OCMC présente également trois régions distinctes. La quantité de NaOH ayant réagi avec les groupes -COOH calculée à partir de la deuxième région est de 1,488 meq/g.

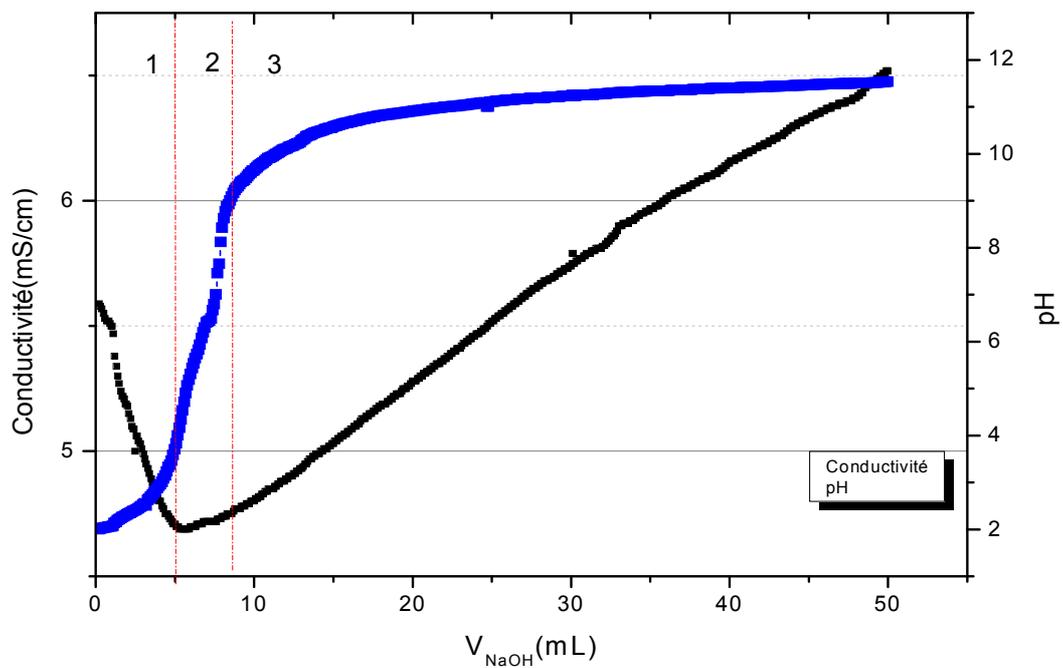


Fig. III.4. Variations de la conductivité électrique et du pH de l'OCMC.

d. Hydrogels CMC/CS

La courbe obtenue (**Fig.III.5**) présente quatre régions distinctes : La première aux pHs compris entre 2 et 3,1 correspond à la neutralisation de l'excès d'HCl. La deuxième zone aux pHs compris entre 3,1 et 4,8 est attribuée à la déprotonation des groupes -COOH de la CMC en -COO^- . La troisième région aux pHs compris entre 4,8 et 9,2 est attribuée à la déprotonation des groupes NH_3^+ en NH_2 appartenant au CS. Enfin, la dernière région aux pHs compris entre 9,2 et 11,5 représente l'excès de NaOH. La quantité des hydroxyles de NaOH ayant réagi avec les groupes -COOH calculée à partir de la deuxième région est de 0,616 meq/g, tandis que la quantité d'hydroxyles ayant réagi avec le chitosane NH_3^+ , calculée à partir de la troisième région, est de 0,392 meq/g.

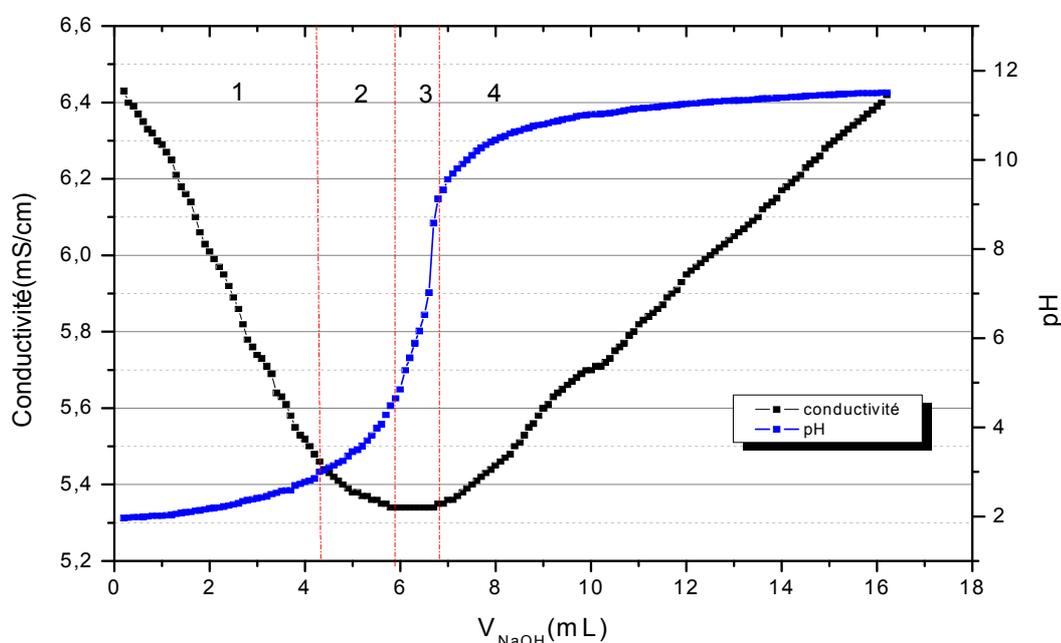


Fig. III.5. Variations de la conductivité électrique et du pH de CS/CMC.

e. Hydrogels OCMC/CS

Enfin, la courbe tracée pour CS/OCMC montre quatre régions distinctes. La quantité de COOH (déprotonés par NaOH) calculée à partir de la deuxième région est de 0,652 meq/g alors que celle de -NH_3^+ calculée à partir de la troisième région est de 1,696 meq/g.

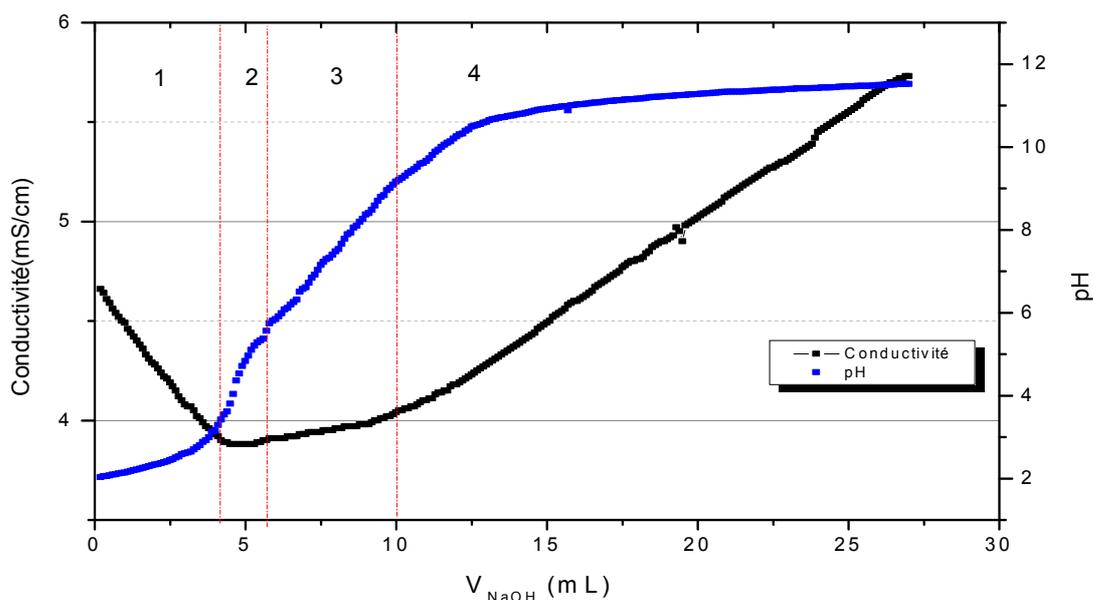


Fig. III.6. Variations de la conductivité électrique et du pH du CS/OCMC.

La **figure III.7** montre que la teneur en -COOH augmente après l'oxydation de la CMC et que celle du NH_3^+ du chitosane diminue après l'ajout des différentes CMC.

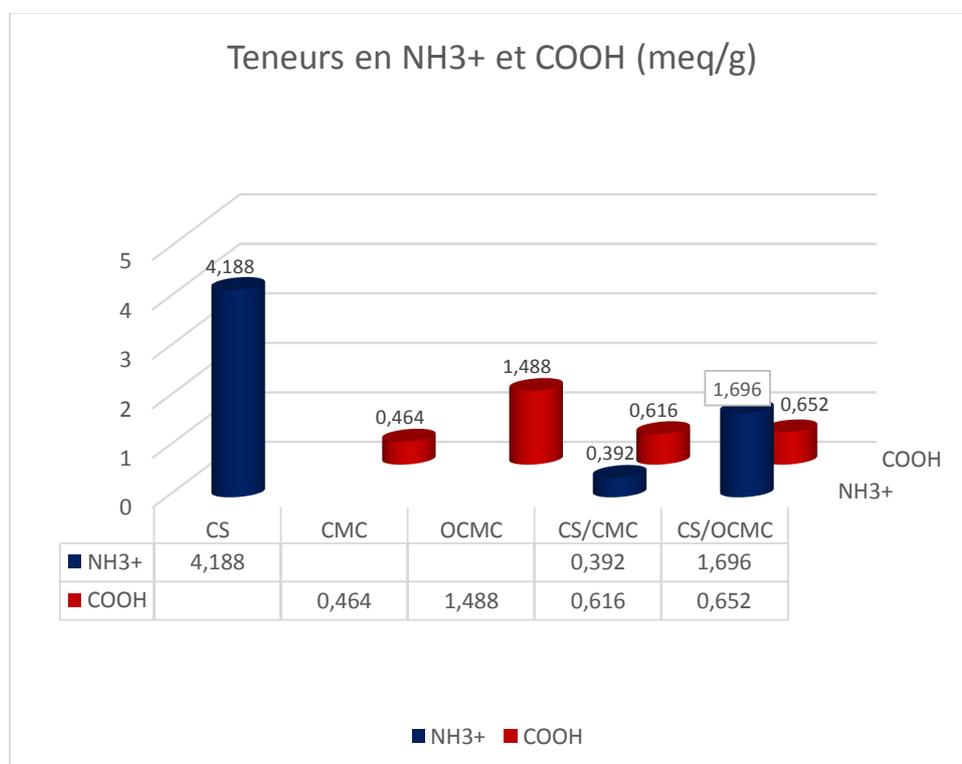


Fig. III.7. Teneurs en groupes NH_3^+ et -COOH dans les différents matériaux déterminées par titrations potentiométriques et conductimétriques.

III.1.2. Etude structurale

III.1.2.1. Spectrophotométrie UV-Vis

La spectroscopie UV-Vis peut être une méthode intéressante pour l'analyse qualitative et le suivi des réactions chimiques. La **figure III.8** montre que la CMC n'indique aucune bande d'absorption dans le spectre UV-Vis. Après oxydation, l'apparition d'une nouvelle bande à 251nm correspondant à la transition de $n-\pi^*$ du groupe C=O de l'aldéhyde ou de la cétone (**Silverstein, 2005**). On constate également que l'intensité de cette nouvelle bande diminue avec le temps au cours de l'oxydation. À partir de là, on peut dire que les groupes aldéhyde formés au cours de la réaction sont transformés en groupes acides.

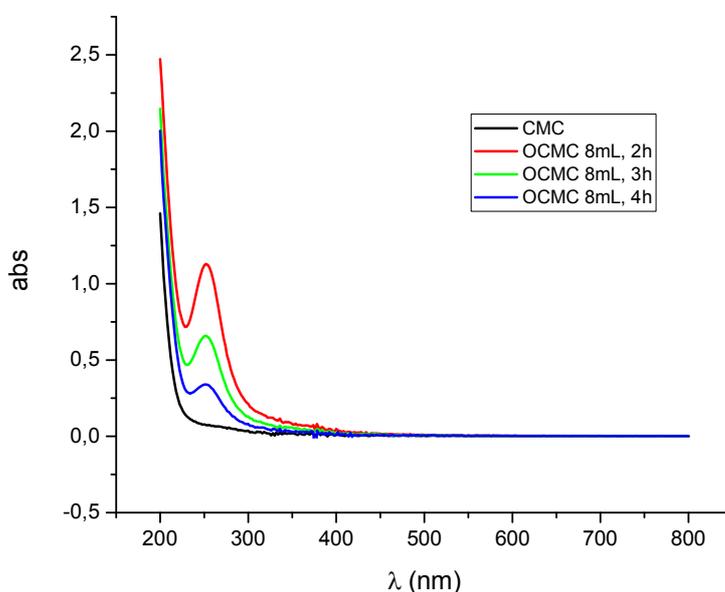


Fig. III.8. Spectres UV-Vis de CMC et des OCMCs dans l'eau distillée.

III.1.2.2. Spectrophotométrie IR-TF

a. Spectroscopie IR-TF de la CMC et des OCMCs

La **figure III.9** illustre les spectres IR-TF de la CMC et des OCMCs. Initialement et bien que l'interprétation du spectre IR-TF de la CMC a été déjà établie dans le premier chapitre, il nous a semblé judicieux de l'évoquer afin de mettre au point les différences qui ont surgi après oxydation de la CMC.

Cette dernière manifeste (**Figure III.9**) une bande forte et large à 3431cm^{-1} qui correspond aux vibrations d'élongation des O-H, un pic moyen à 2917cm^{-1} due aux vibrations d'élongation

asymétrique des C-H aliphatiques et une forte absorption à 1610cm^{-1} attribuée directement aux vibrations d'élongation asymétriques des groupements carboxylates de la CMC (**Muzzarelli *et al.*, 1982**). Quant au 1418cm^{-1} , le pic correspondant est assigné à la vibration d'élongation symétrique de COO^- (**Liuyun *et al.*, 2009**) ; alors qu'à 1042cm^{-1} , différents auteurs (**Ren *et al.*, 2008**) font correspondre cette absorption aux vibrations de déformation des groupements latéraux glycosidique d'éther (C-O-C).

Après oxydation de la CMC par le système TEMPO/NaOCl/NaBr, nous observons l'amplification de tous les pics par rapport au spectre du composé non oxydé. Le pic à 1610cm^{-1} est déplacé avec une augmentation d'intensité jusqu'à environ 1618cm^{-1} . De plus, nous avons constaté que le sommet de la bande à 3431cm^{-1} (vibrations d'élongation OH) était décalé à environ 3405cm^{-1} . Le pic d'absorption à 2917cm^{-1} attribué aux vibrations d'élongation des CH aliphatiques s'est déplacé également autour de 2925cm^{-1} pour l'OCMC.

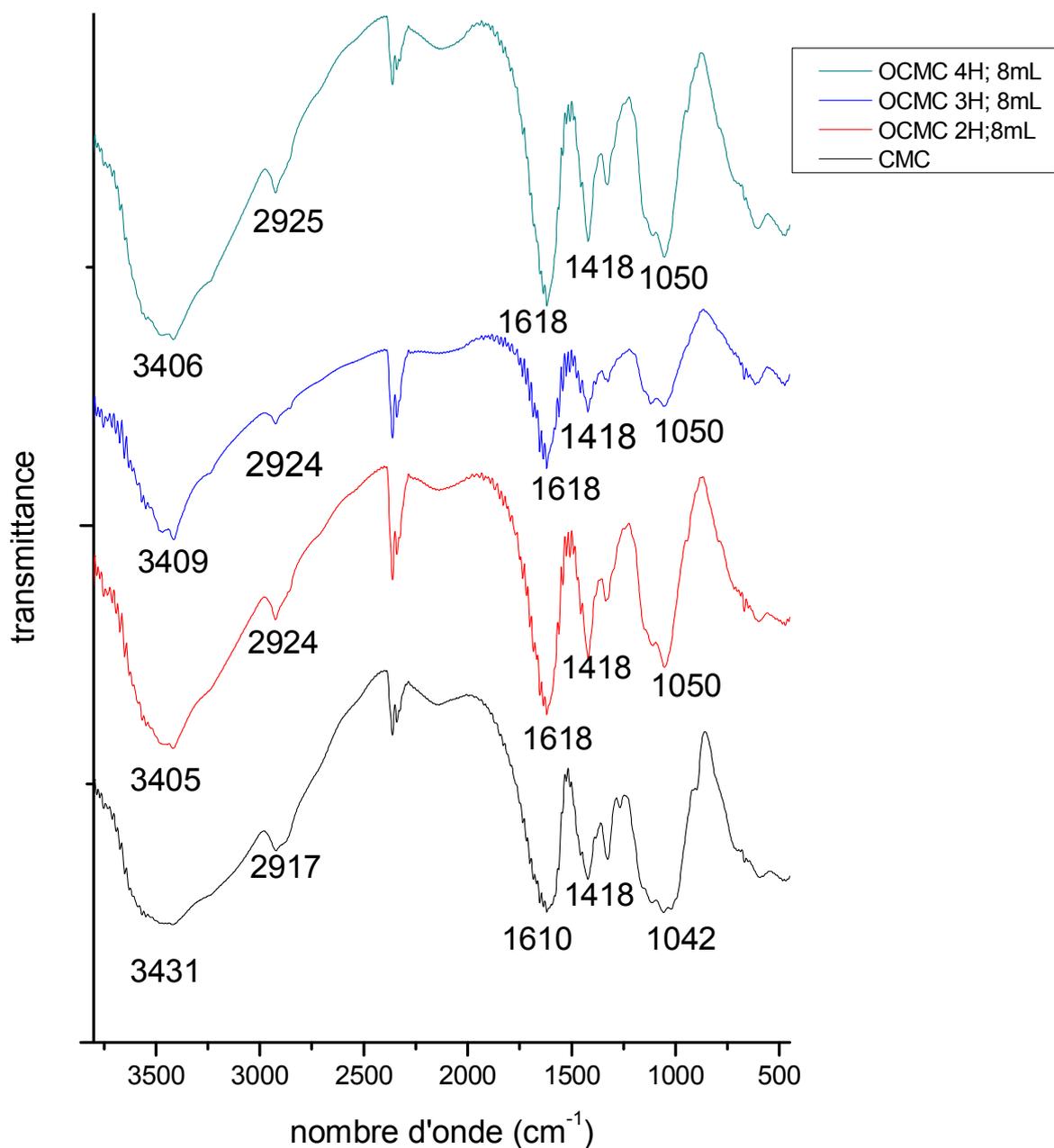


Fig. III.9. Spectres IR des OCMCs dans le KBr.

b. Spectroscopie IR-TF du CS/CMC

La **figure III.10** illustre les spectres IR-TF du CS en l'absence de CMC. La large bande à 3221cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation de NH et OH, la bande à 1383cm^{-1} correspond aux CH aliphatiques, le pic à 1636cm^{-1} est attribué aux carbonyles d'amides secondaires, la bande à 1522cm^{-1} est due à la vibration NH des amines primaires désacétylés. De plus, le pic à 1077cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation C-O de CS. La bande C-N apparaît vers 895cm^{-1} .

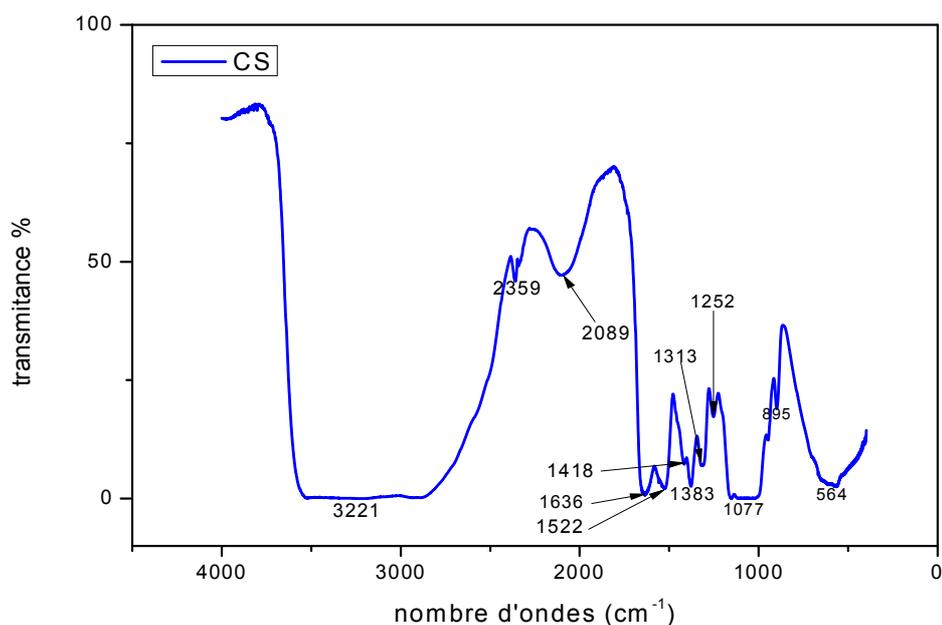


Fig. III.10. Spectre IR-TF du film de Chitosane.

L'ajout de la CMC au CS conduit à l'apparition d'une nouvelle bande à 1626cm^{-1} correspondant à la déformation angulaire asymétrique des groupes $-\text{NH}_3^+$ accompagnée de la déformation angulaire symétrique à 1522cm^{-1} (Silverstein, 2005). L'oscillation de torsion de N-H apparaît d'après la bibliographie à 500cm^{-1} . Il est dans notre cas visible à 557cm^{-1} .

Il existe une possibilité de formation d'un complexe intermoléculaire en raison des interactions électrostatiques entre les groupes cationiques du CS ($-\text{NH}_3^+$) et les groupes anioniques de la CMC ($-\text{COO}^-$). La réaction est schématisée ci-dessous (Fig. III.11).

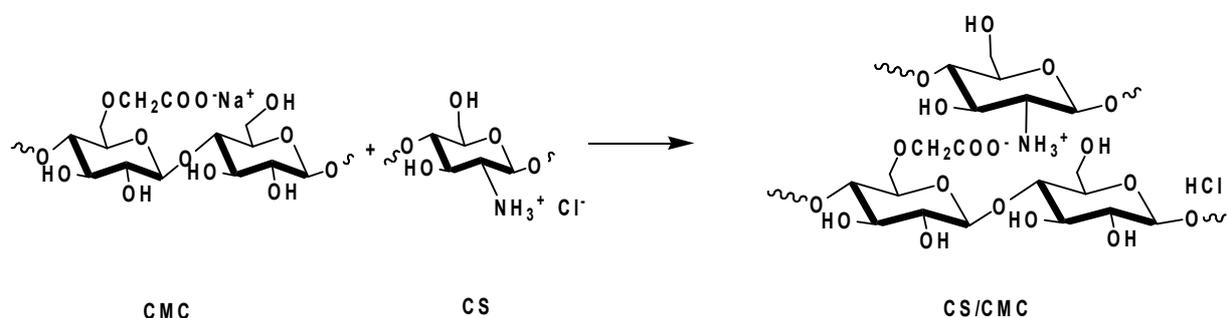


Fig. III.11. Interactions physiques entre le chitosane et la carboxyméthylcellulose.

La **figure III.12** illustre également l'interaction entre l'OCMC et le CS. Le spectre du mélange OCMC/CS ne montre pas de pic à 1724cm^{-1} attribué aux groupes carboxyle libres et qui était présent dans le spectre CMC/CS. La diminution de l'intensité des bandes à 1630 et 1526cm^{-1} correspondant respectivement aux déformations angulaires asymétriques et symétriques des groupes $-\text{NH}_3^+$ laisse penser qu'il existe une possibilité de formation de nouveaux groupes tels que l'imine, l'amide ou un réseau physique de type carboxylate/ammonium.

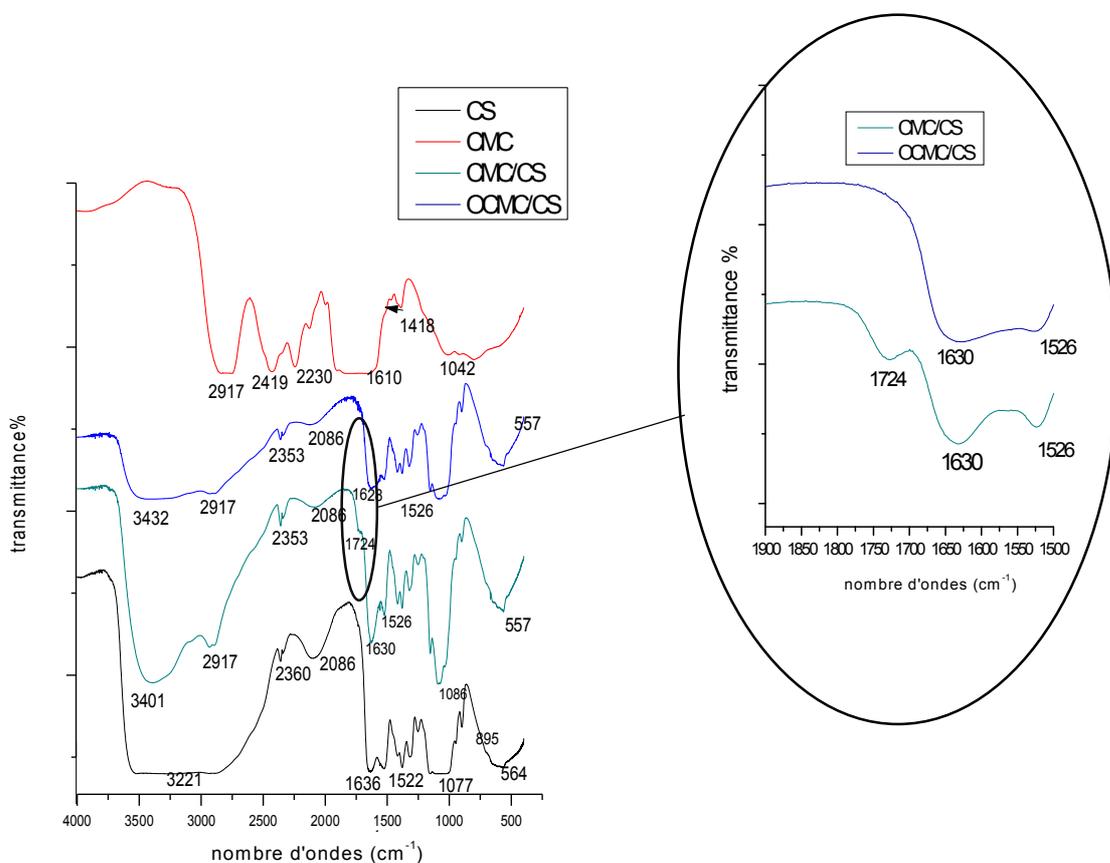


Fig. III.12. Spectres IR-TF des films CMC ; CS ; CMC/CS et OCMC/CS.

Les réactions possibles entre le chitosane et la CMC oxydée peuvent être schématisées comme suit (**Fig. III.13**) :

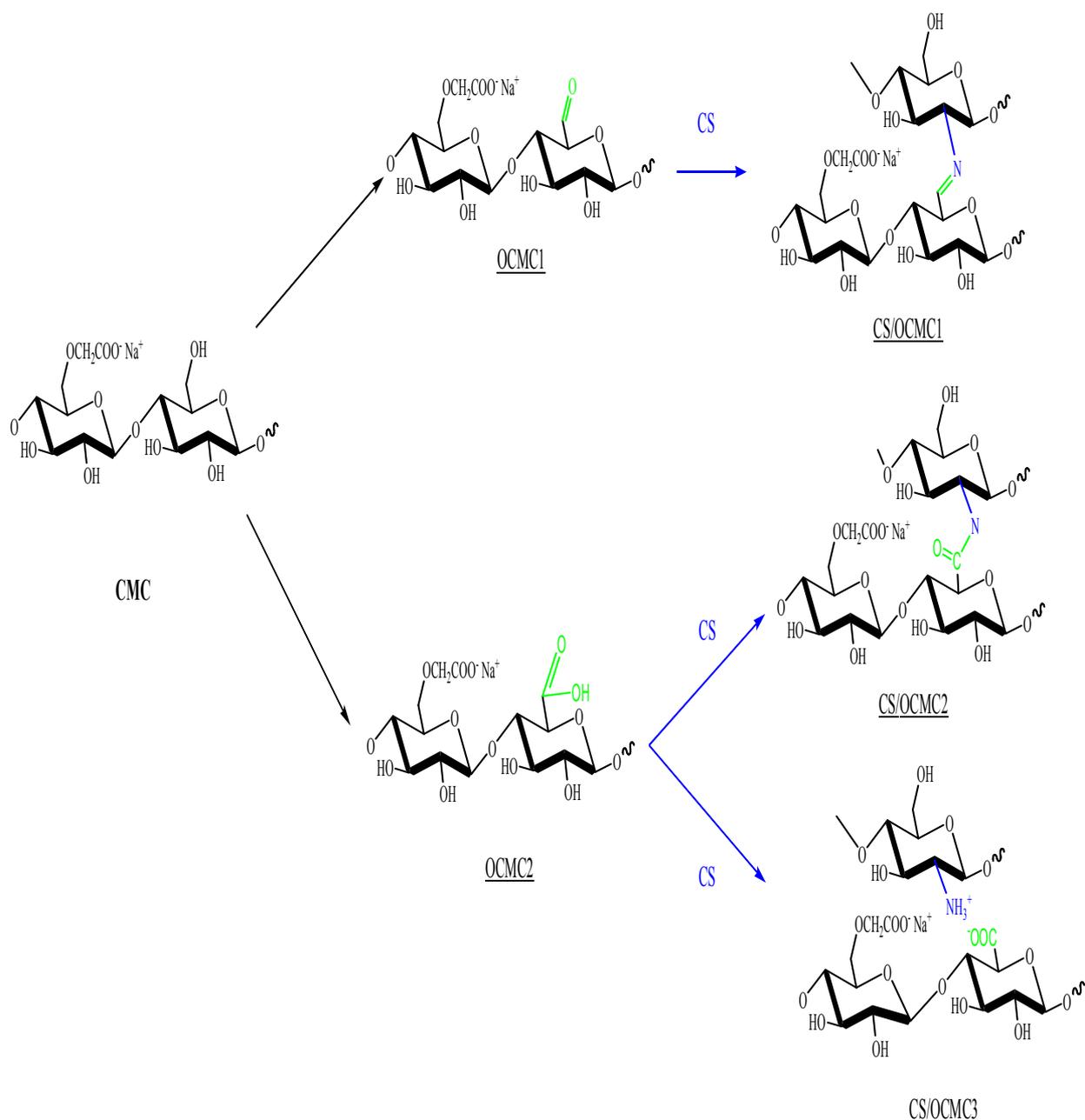


Fig. III.13. Réactions les plus probables entre le CS et l'OCMC.

III.1.2.3. Spectroscopie FRX

Il ressort de la **figure III.14** que le pourcentage massique du carbone porté par l'OCMC, en comparaison avec la CMC, diminue légèrement (de 36,4% à 30,53%, respectivement), alors que le pourcentage d'oxygène augmente (de 55,5% à 56,11%, respectivement). Ce phénomène est dû selon **Bragd et al., (2004)** aux deux conversions majeures (avec une sélectivité de plus de 98%), du groupe primaire C₆ et de l'hémiacétal C₁, d'une part ; et d'autre, part, au cours de l'oxydation, une décarboxylation de l'unité terminale dicarboxylique conduit à différents

produits de dégradation (Fig. III.15). Par ailleurs, nous ne devons pas oublier d'évoquer la nature cassante de l'OCMC, ce qui traduit que le matériau, la CMC, a subi une dégradation. Ceci appuie les résultats obtenus dans la FRX.

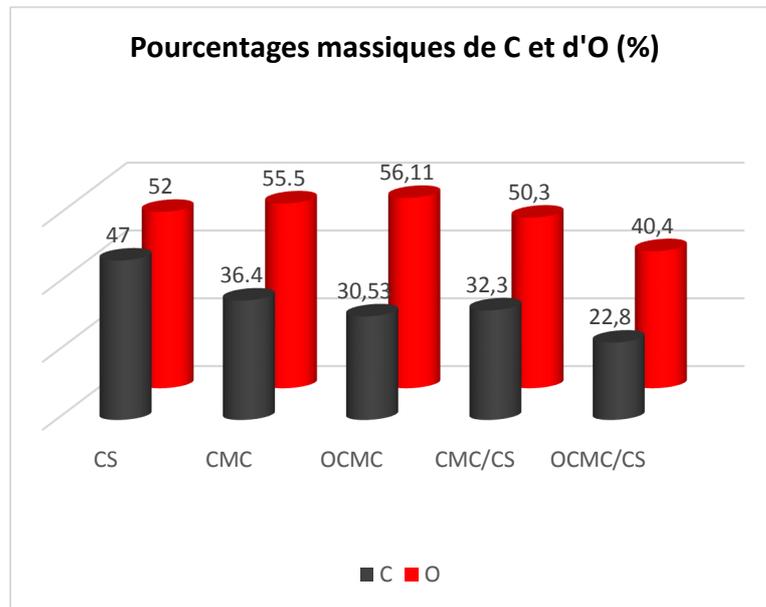


Fig. III.14. Pourcentages massiques des éléments O et C contenus dans les différents hydrogels.

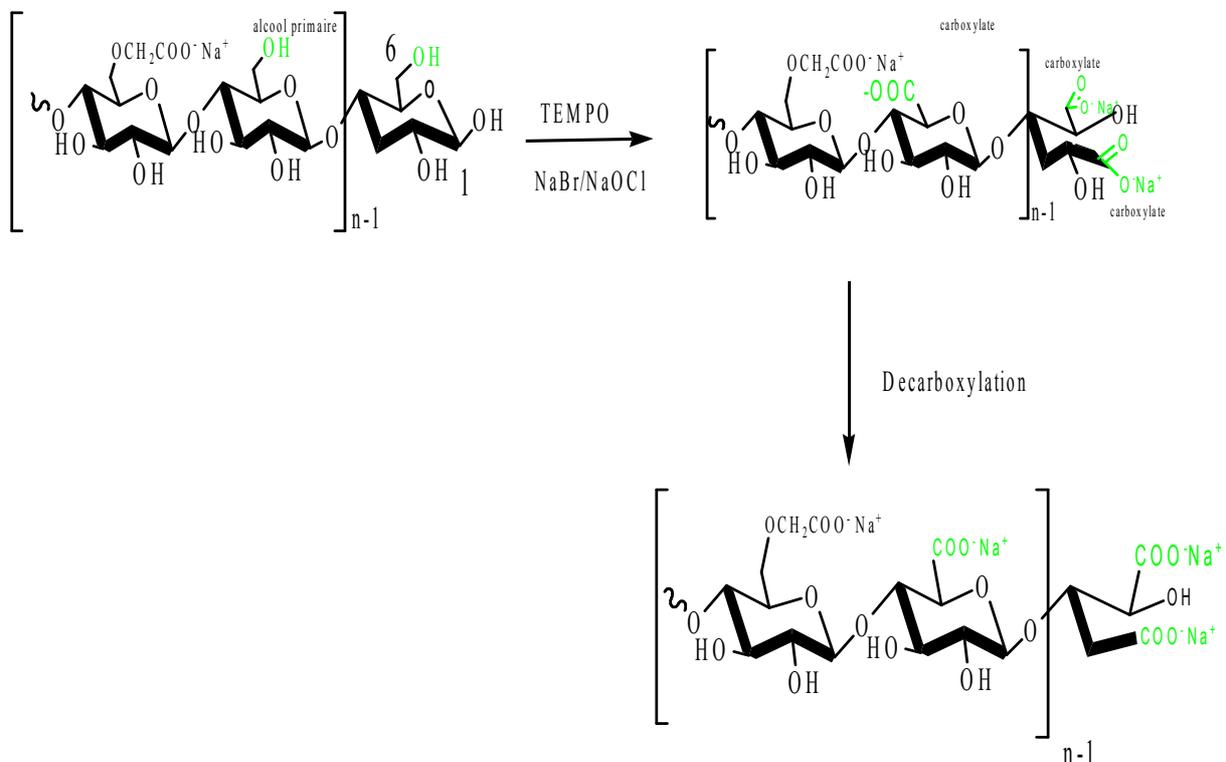


Fig. III.15. Oxydation de l'alcool primaire de la CMC en acide carboxylique par le TEMPO/NaOCl/NaBr et transformation de l'unité réductrice en groupe dicarboxylique qui est ensuite décarboxylé.

III.1.3. Analyse thermogravimétrique

III.1.3.1. Analyse thermogravimétrique des CMC et OCMC

Les Thermogrammes de la CMC et de la CMC oxydée par le système TEMPO/NaOCl/NaBr sont présentés dans la **figure III.16**. Le premier point de perte de masse de 10 % de la CMC peut être déterminé aux environs de 120°C, cette perte est due à l'évaporation de l'eau liée à la chaîne du polysaccharide. Alors que pour l'OCMC, cette perte est de 12%, ce qui est en analogie avec les travaux reportés par **Casaburi *et al.*,(2017)**. La dégradation de ces poudres commence entre 180°C et 220°C, le poids résiduel diminue jusqu'à 60%vers 350°C pour la CMC ($T_{\text{onset}} = 197,73^{\circ}\text{C}$ et $T_{\text{max}}=286^{\circ}\text{C}$), contrairement à l'OCMC qui présente une perte de poids de 55% vers 350°C ($T_{\text{onset}} = 171,53^{\circ}\text{C}$ et $T_{\text{max}}=266^{\circ}\text{C}$) accompagnée de deux autres décompositions secondaires : l'une à $T_{\text{max}}= 337^{\circ}\text{C}$ et l'autre a $T_{\text{max}}= 547^{\circ}\text{C}$.

La vitesse de dégradation de la CMC oxydée s'avère plus rapide que celle de la CMC avec un poids résiduel inférieur à celui de la CMC. La CMC est donc jugée possédant une stabilité thermique meilleure que celle l'OCMC (**Benghanem *et al.*, 2017**).

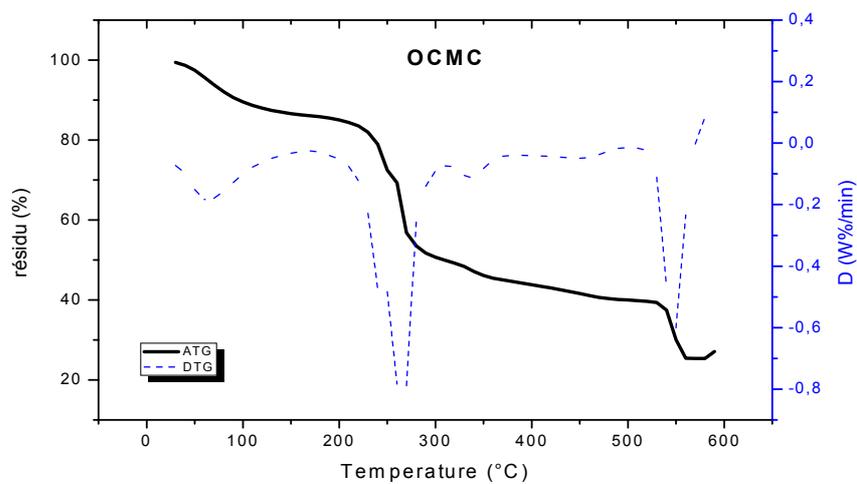
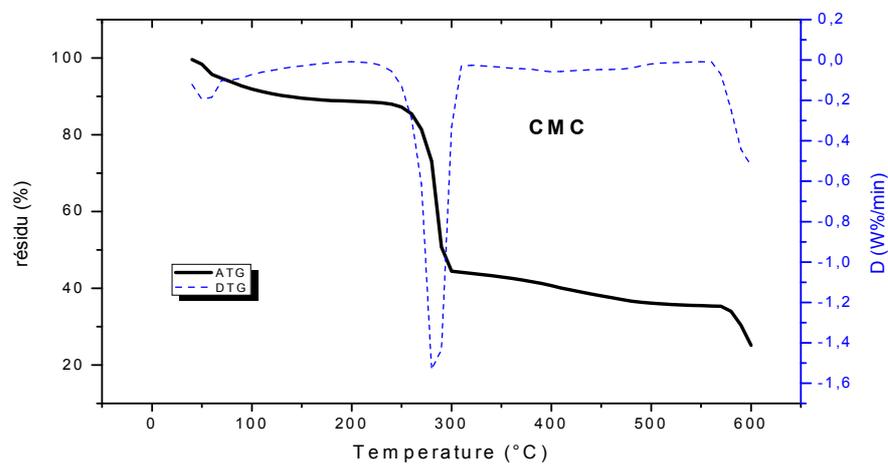
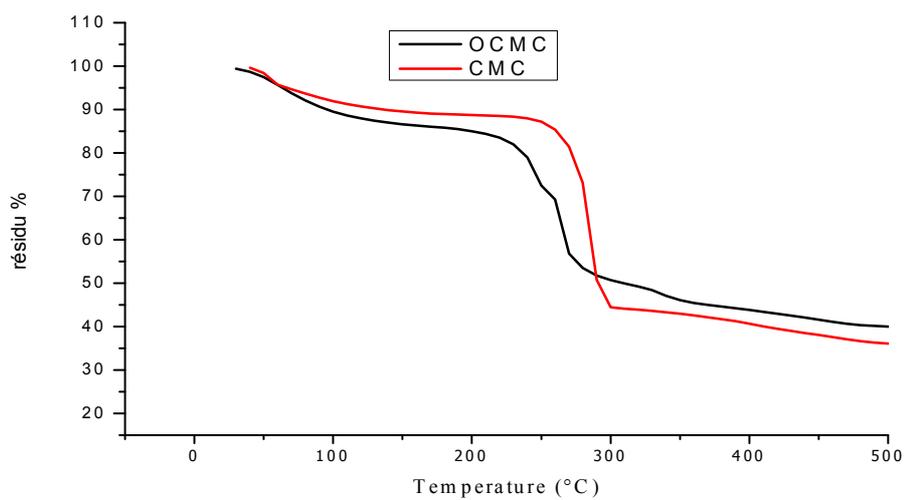


Fig. III.16. Thermogrammes ATG/ATD de la CMC et l'OCMC.

III.1.3.2. L'analyse thermogravimétrique des CS/CMC et CS/OCMC

Les thermogrammes du CS, CMC/CS et de l'OCMC/CS sont représentés dans les **figures III.17-18**. Trois pertes de masse sont observées dans la courbe TG du chitosane. La première se situe entre 30°C et 115°C avec environ 9 % de la perte de poids ; ce qui est dû à l'évaporation de l'eau. La deuxième perte de masse est égale à 45%, elle est observée entre 198°C et 350°C avec un T_{max} de 289°C ; cette perte est attribuée à la décomposition des groupements amines du chitosane. La troisième perte de masse se situe entre 350°C et 600°C avec un T_{max} de 494°C et une perte de 94 %, cette dernière est attribuée à la décomposition des groupements $-CH_2OH$ (**Martínez-camacho et al., 2010**).

Quand on ajoute la CMC ou l'OCMC au chitosane, les thermogrammes montrent les propriétés suivantes résumées dans le **tableau III.2**.

Tableau III.2. Valeurs des pertes de masse à partir des thermogrammes ATG/DTG des films de CS ; CMC/CS et OCMC/CS.

	Entre 30 et 180 °C		Entre 198 et 350 °C		Entre 350 et 600 °C	
	T_{max} (°C)	Perte de masse %	T_{max} (°C)	Perte de masse %	T_{max} (°C)	Perte de masse %
CS	55	9	289	45	494	94
CMC/CS	46	13	215	57	509	90
OCMC/CS	79	10	209	51	502	85

D'après les résultats illustrés dans ce tableau et les thermogrammes de la **figure III.17**, on peut conclure que les hydrogels OCMC/CS présentent les structures les plus stables.

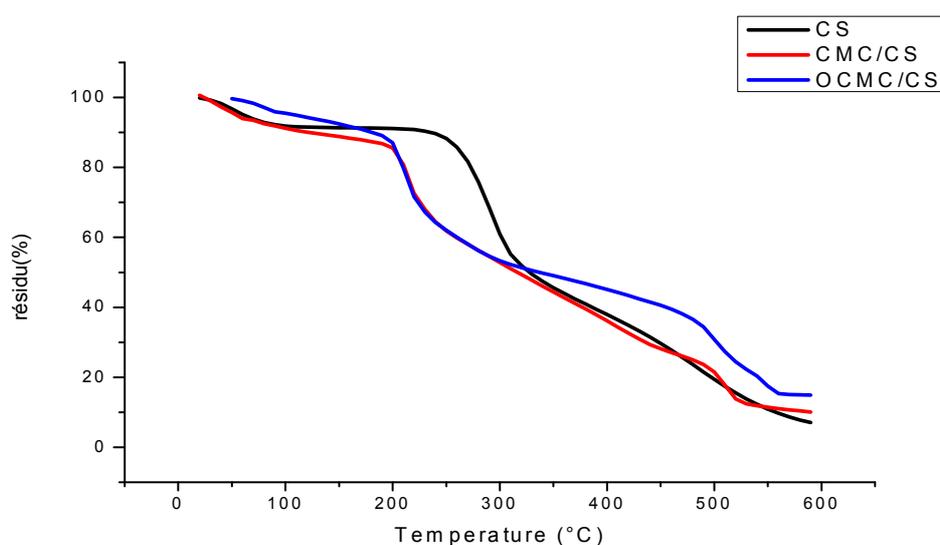


Fig. III.17. Thermogrammes ATG des hydrogels CS, CMC/CS et OCMC/CS.

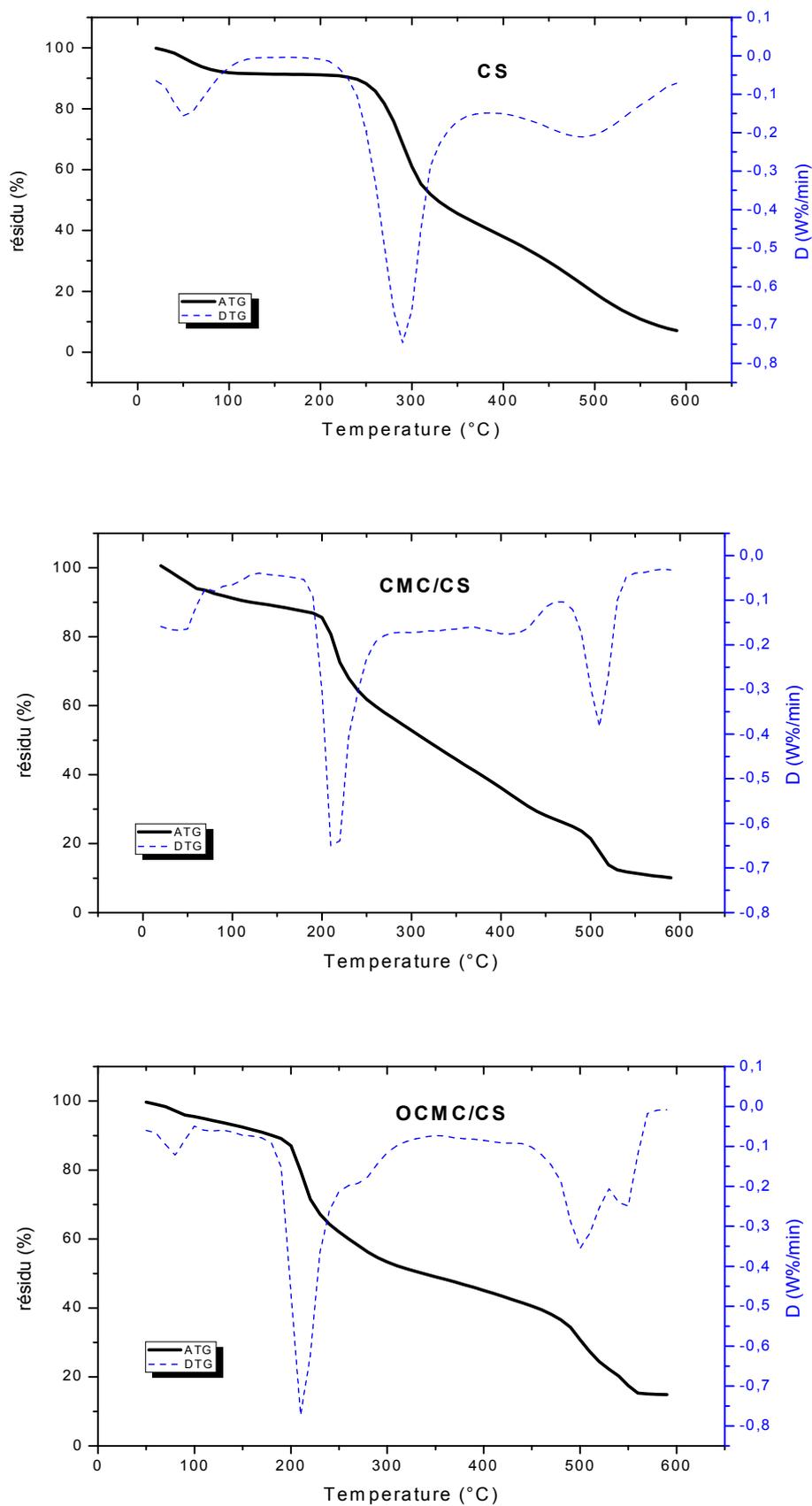


Fig. III.18. Thermogrammes ATG- DTG des hydrogels CS, CMC/CS et OCMC/CS.

III.1.4. Opacité

À partir de la **Fig. III.19**, nous remarquons que les hydrogels les plus opaques sont CMC/CS et OCMC/CS et qui atteignent des valeurs d'opacité de 1,415 et 2,0925, respectivement, contrairement aux produits natifs qui sont relativement transparents ($\sim 0,2$ pour la CMC et 0,12 pour le CS). Ceci s'explique par les natures différentes des deux biopolymères, le CS et la CMC (non modifiée et/ou oxydée). Le premier est cationique (présence des NH_3^+ sur son ossature) alors que les CMCs sont anioniques (présence de COO^-). Ce qui va favoriser les interactions chimique et notamment électrostatiques entre ces groupements fonctionnels. Nous devons signaler qu'aussitôt les deux biopolymères sont mis en contact après leur hydrosolubilisation, des agrégats blancs de nature filamenteuse précipitent.

Cela est également observé lorsque l'OCMC est utilisée. D'une part, du fait que ce matériau comporte un nombre plus élevé en acide carboxylique, l'interaction dans ce cas se fait à travers plusieurs sites de NH_3^+ portés par le CS.

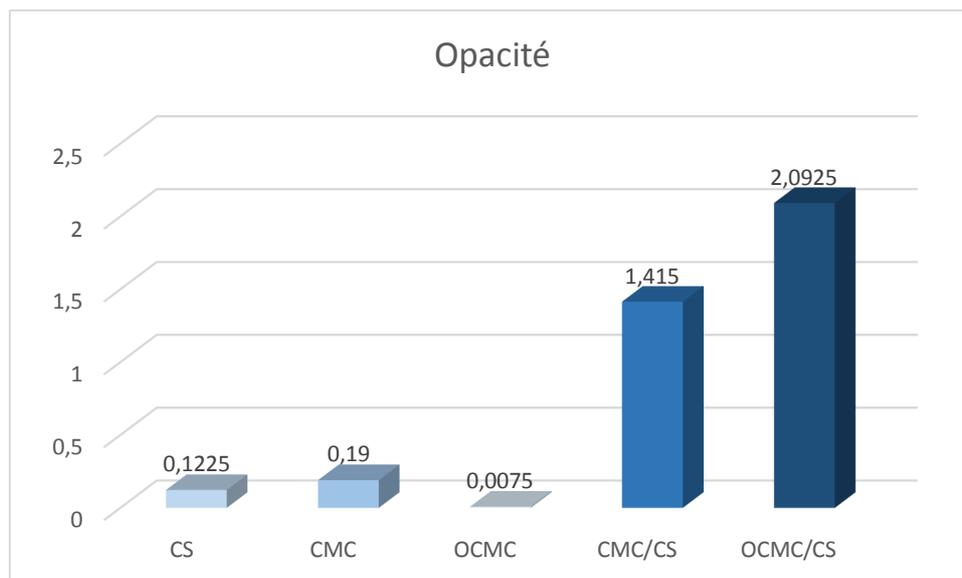


Fig. III.19. Opacité des films : CS, CMC, OCMC, CMC/CS, OCMC/CS.

III.1.5. Gonflement

Tous les résultats obtenus à partir des taux de gonflement à l'équilibre dans l'eau pendant 3 heures à $T = 27^\circ\text{C}$ sont indiqués dans le **tableau III.3** et la **figure III.20**. Nous observons que le CS est le plus gonflant et atteint un G_{max} égal à 9525%.

Après addition au CS de la CMC ou l'OCMC, les G_{max} diminuent; ces résultats indiquent que la réticulation a bien eu lieu et ce qui affecte leur hydrophilie en surface (**Cao *et al.*, 2005 ; Lu *et al.*, 2007**). L'ajout d'anions carboxyliques de CMC ou d'OCMC dans le réseau de polymères

entraîne le développement de forces électrostatiques importantes contribuant à la formation d'un réseau plus dense (**Andreopoulos, 1989**).

Tableau III.3. Valeurs des G_{max} des films CS, CMC, CMC/CS, OCMC/CS à T_{amb} dans l'eau distillée.

composition	Taux de gonflement (%)			
	CS	CMC	CS/CMC	CS/OCMC
G_{max} (%)	9525	925	1887,5	1412,5

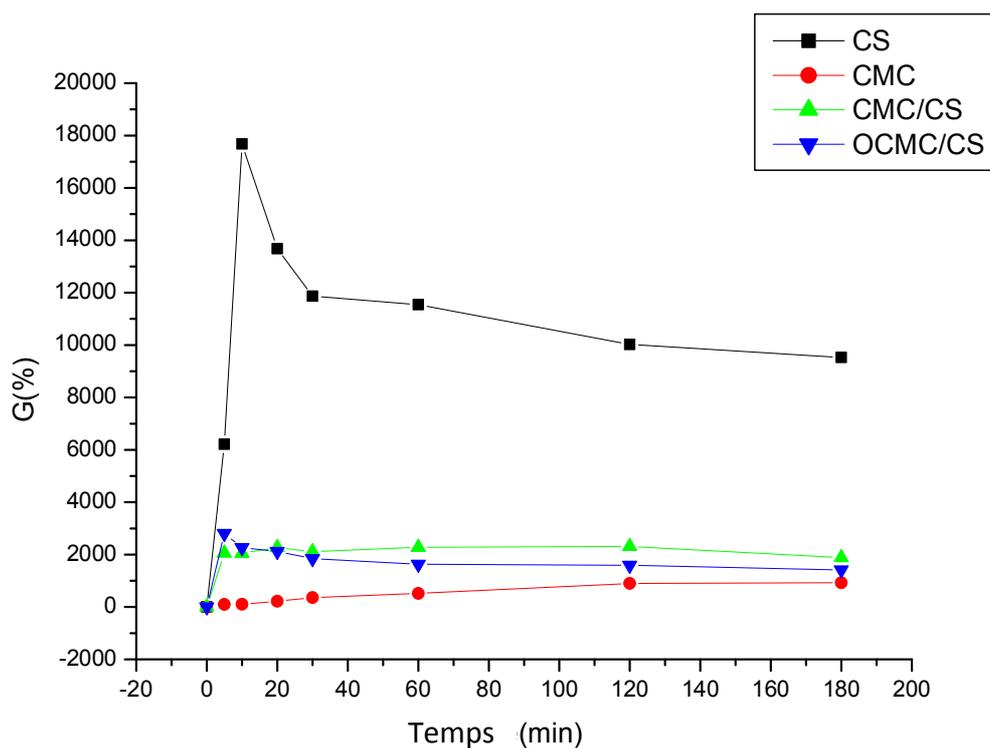


Fig. III.20. Variation des taux de gonflement (G%) en fonction du temps des films CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS dans l'eau distillée à T_{amb} .

III.2. Etudes biologiques

III.2.1. Biocompatibilité avec le sang humain

Le potentiel hémolytique est défini en mesurant le degré d'hémolyse pouvant être provoqué par le matériau au contact du sang (Chetouani *et al.*, 2017). La **figure III.21** montre le pourcentage d'hémolyse du sang en contact avec les différents échantillons à 37°C pendant une heure. Cependant, l'activité hémolytique observée est inférieure à 10%. Ceci exprime la marge de biocompatibilité avec le sang (Lee *et al.*, 2004). La CMC présente un effet hémolytique négligeable (moins de 3%), ceci est probablement dû à sa charge négative (portée par les groupes -COO^-) ; cette charge évite l'interaction avec la membrane des globules rouges.

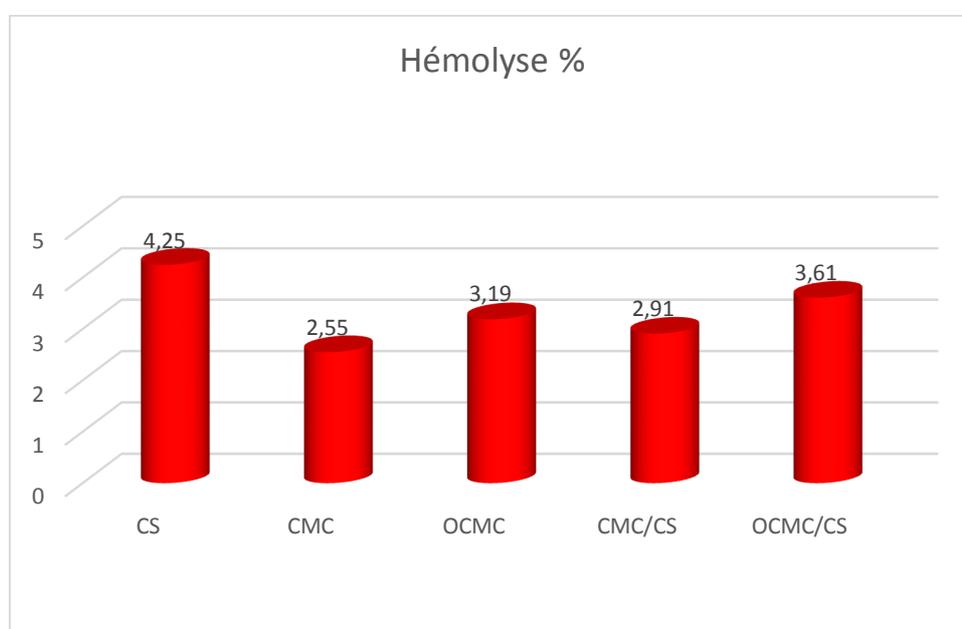


Fig. III.21. Potentiels hémolytiques de CS, CMC, OCMC, CMC/CS et OCMC/CS.

III.2.2. Test dynamique de la coagulation du sang humain

La **figure III.22** montre la capacité de coagulation du sang sur les hydrogels CS, CMC, OCMC, CMC/CS et de l'OCMC/CS. La première observation nous indique que l'OCMC est incapable de coaguler complètement le volume donné du sang, ce qui est expliqué par sa mauvaise absorption et également son faible piégeage du caillot sanguin.

On peut aussi noter que le CS a pris plus de temps pour la formation du caillot en comparant avec la CMC ; et par conséquent, il a légèrement influé l'ICS des hydrogels CMC/CS et

OCMC/CS. Les temps de coagulation des hydrogels CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS sont entre 20 et 30min, ce qui nous permet de déduire que ces hydrogels présentent une capacité de coagulation du sang démontrant une bonne propriété hémostatique.

Toutes les déductions émises dans le chapitre précédent traitant la CMC et l'HCMC peuvent être proposées dans ces cas-là. La rapidité de la capacité hémostatique a été évoquée dans le chapitre précédent pp 29.

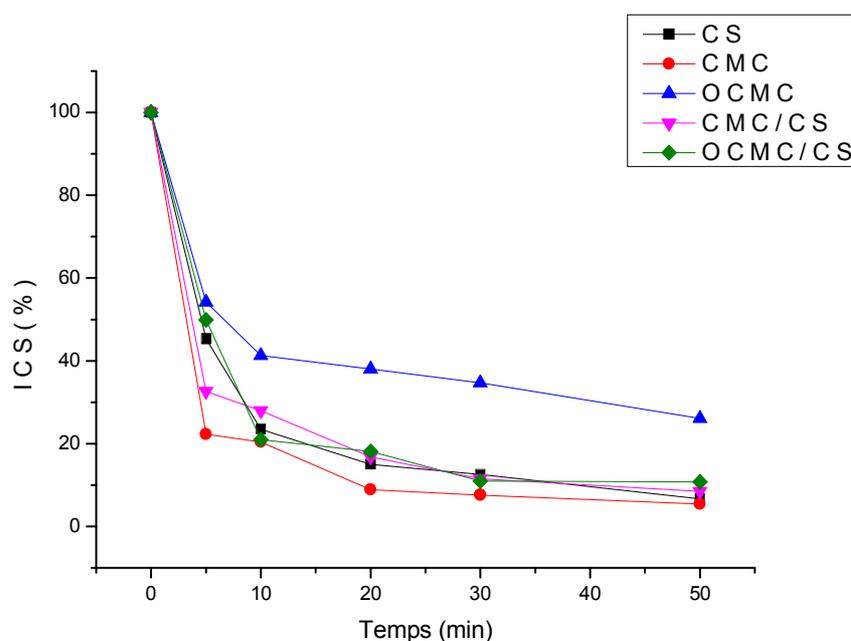


Fig. III.22. Coagulation sanguine sur CS, CMC, OCMC, CMC/CS, OCMC/CS mesurée à $\lambda=540$ nm.

III.2.3. Activité anti-inflammatoire

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures secondaire et tertiaire par l'application de contraintes externes de composés tels que des acides ou des bases forts, des sels inorganiques ou de la chaleur. La plupart des protéines perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines est un paramètre important du processus inflammatoire. Le mécanisme de dénaturation implique probablement une altération des liaisons hydrogène, électrostatiques et hydrophobes.

La **figure III.23** montre le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'œuf par les matériaux testés. Le pourcentage d'inhibition est variable avec la concentration. Le Diclofenac sodique a un pourcentage d'inhibition de 86% pour une concentration de 0,25 mg/mL.

Nous notons que l'activité la plus élevée est obtenue par le CS qui est une biomacromolécule à un potentiel distinctif en conjugaison avec les protéines (He *et al.*, 2012). En outre, Kim *et al.*, (2004) ont montré que le CS peut bloquer les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α et IL-8), agents précurseurs de l'inflammation. Cependant, l'activité anti-inflammatoire obtenue par les CMCs s'explique par la nature anionique de ces polysaccharides.

En se basant sur ces résultats, on peut prédire que nos matériaux peuvent présenter une activité anti-inflammatoire intéressante lorsqu'ils sont utilisés par voie topique ou systémique sur le tissu vivant lésé.

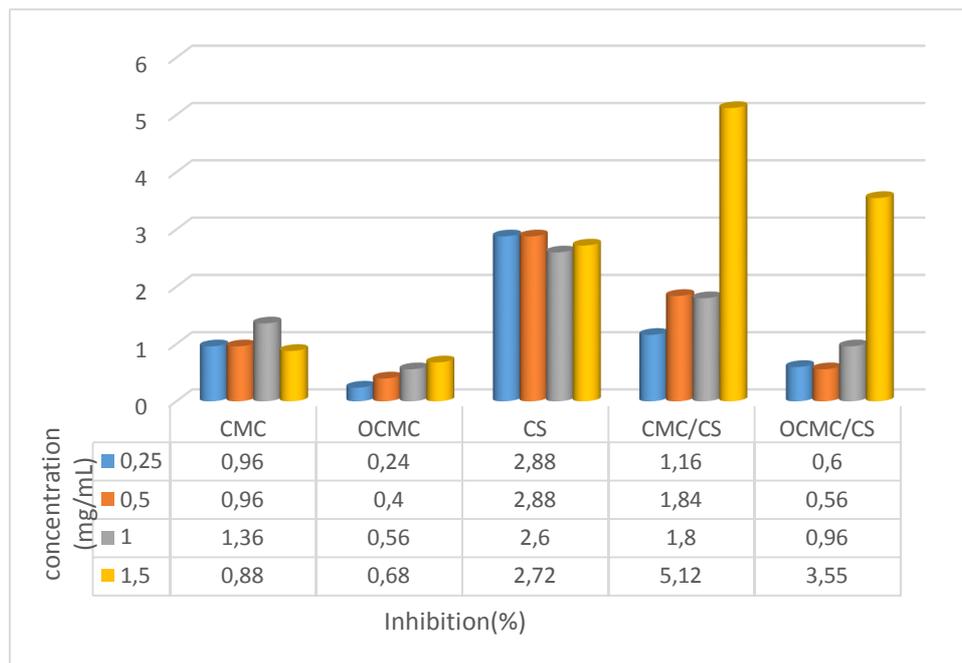


Fig. III.23. Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des hydrogels CS, CMC, OCMC, CMC/CS et OCMC/CS.

III.2.4. Mucoadhésion

Les résultats obtenus au cours de cette étude (Fig. III.24) nous ont montré une nette augmentation des temps d'adhésion des hydrogels CMC/CS (3 heures) et OCMC/CS (45 min) sur la muqueuse intestinale par rapport au chitosane qui ne réside que 28 min et à la CMC qui est soluble dans le milieu intestinal. Ceci permet de conclure que nous pouvons utiliser nos hydrogels en tant qu'excipients pour les formes médicamenteuses à libération prolongée dans le milieu intestinal. Il est à noter que les hydrogels OCMC/CS ne sont pas solubles dans l'environnement gastrique contrairement aux hydrogels CMC/CS qui se désintègrent après 6 minutes de contact avec la muqueuse gastrique, ce qui peut être considéré comme une faveur

pour les hydrogels OCMC/CS contrairement aux hydrogels CMC/CS qui nécessitent un enrobage gastro-résistant pour pouvoir aboutir au site d'action intestinal.

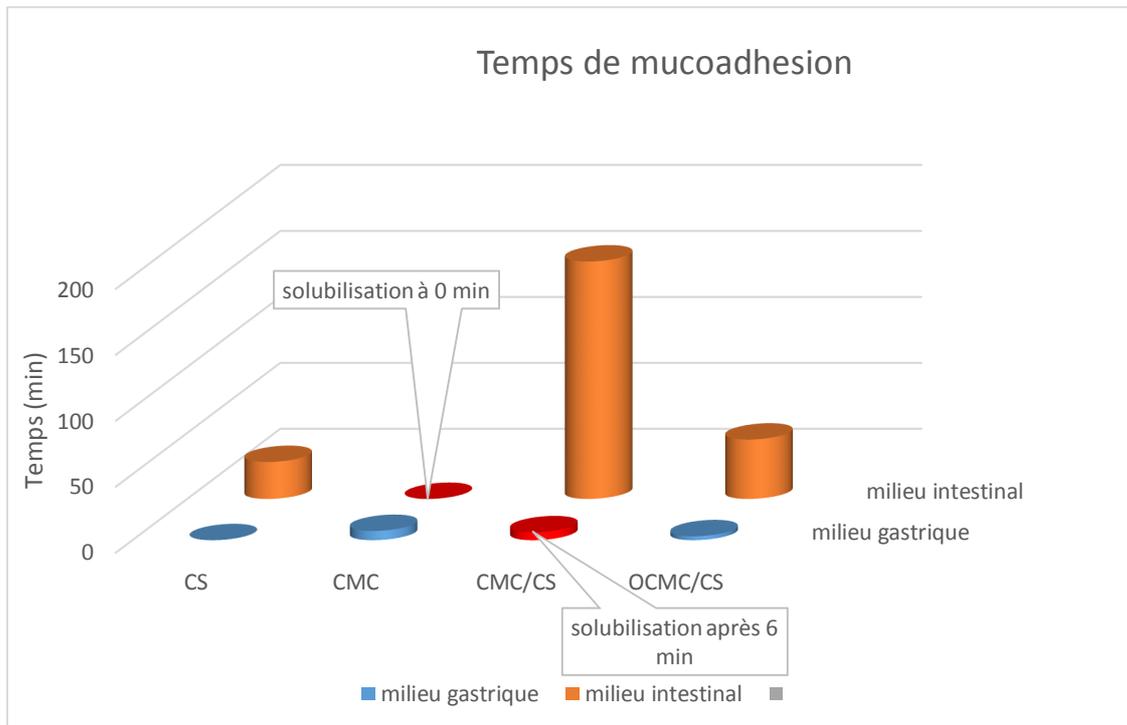


Fig. III.24. Temps de mucoadhésion des hydrogels CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS.

III.2.5. Biodégradation in vitro

Le test réalisé lors de notre étude consiste à surveiller la perte de masse dans le FSCH au fil du temps. Les résultats obtenus montrent que la CMC est facilement dégradée dans le FSCH et atteint un pourcentage de 100% à 3 semaines, contrairement au CS qui résiste à la dégradation et atteint un taux de perte de masse de 15% après 9 semaines. Nous remarquons également une légère différence entre la biodégradation des films CMC/CS et OCMC/CS, qui atteint une valeur de 42% à 2 mois. Il est constaté que l'OCMC est complètement soluble dans le FSCH. Ces résultats prouvent que nos hydrogels sont biodégradables et peuvent être éliminés du corps humain sur une période relativement courte. La **figure III.25** illustre les différents résultats obtenus au cours d'une période de deux mois.

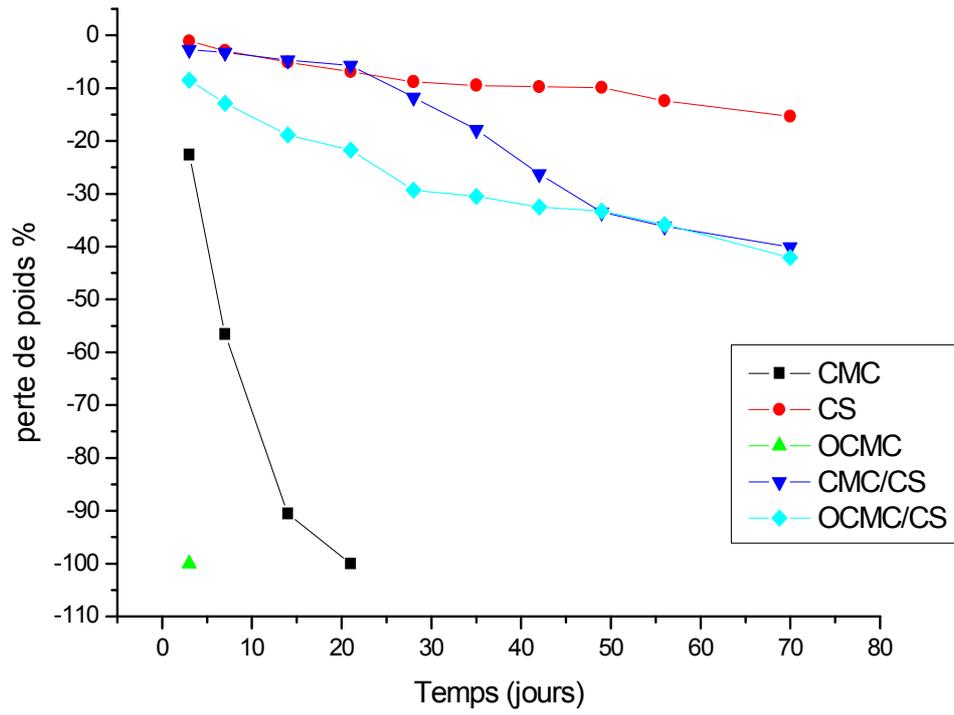


Fig. III.25. Pertes de poids au cours de la biodégradation des hydrogels CS, CMC, OCMC, CMC/CS et OCMC/CS.

IV. Conclusion

Le travail que nous avons effectué concerne, au départ, l'étude de l'oxydation de la carboxyméthylcellulose (CMC) par le système TEMPO/NaOCl/NaBr, puis le couplage par réticulation avec le chitosane (CS).

Il a été trouvé à partir des méthodes utilisées de quantification des groupes aldéhydes et carboxyles que ces derniers connaissent des augmentations avec la concentration de NaOCl, d'une part. Et d'autre part, il a été décelé que les ratios en aldéhyde diminuent avec le temps de la réaction alors que ceux en carboxyle connaissent des augmentations. Ce qui indique que cette réaction d'oxydation dans les conditions choisies est évolutive avec la concentration en agent oxydant et dans le temps.

Cependant, les titrations de pHmétrie et de conductimétrie nous informent aussi que les teneurs en groupements -COOH portés par la CMC évoluent après oxydation (ils passent de 0,464 meq/g pour la CMC vers 1,488 meq/g pour l'OCMC), et qu'après réticulation par le CS, les amines portées par ce dernier diminuent (une baisse de 4,1 meq/g d'amine pour le Cs vers 0,392 et 0,695 meq/g d'amine pour la CMC et l'OCMC respectivement). Ce qui traduit que les interactions physico-chimiques entre les macromolécules existent.

L'analyse par spectroscopie UV-Vis montre l'apparition d'une nouvelle bande après oxydation de la CMC à 251 nm correspondant aux groupements carbonyles. Cette bande diminue en intensité avec le temps expliquant la conversion des aldéhydes en carboxyle.

De plus, les résultats obtenus par spectroscopie IR-TF démontrent que la CMC a été bien oxydée. En outre, l'addition du CS à la CMC avant et après oxydation indique la formation de nouvelles matrices polymériques ; ce qui est confirmé par l'analyse élémentaire qui nous a permis de conclure que le polysaccharide natif a subi deux conversions majeures du groupe primaire C₆ en COOH et de l'hémiacétal C₁ après un clivage oxydatif en COOH également qui est suivi par une décarboxylation de cette unité terminale dicarboxylique.

Les thermogrammes obtenus par ATG révèlent que l'oxydation réduit la stabilité thermique de la CMC et que l'ajout des CMC au CS améliore les propriétés thermiques du CS. En outre, il a été décelé que l'OCMC/CS possède une stabilité supérieure à celle de son analogue non oxydé, le CMC/CS.

L'analyse de l'opacité des hydrogels montre une augmentation importante l'opacité surtout après mélange de la CMC ou de l'OCMC avec le CS reflétant ainsi les interactions importantes entre les matériaux mis en contact.

En outre, le test de gonflement indique que les degrés de gonflement G_{max} des différentes formulations sont inférieurs à ceux du CS seul. Ce résultat appuie celui trouvé précédemment

dans le test de l'apacité. Des liaisons notamment de nature physique se sont établies entre le CS et les CMC formant ainsi un réseau réticulé.

La biocompatibilité avec le sang humain a été testée ; tous nos composés sont non hémolytiques. Leur future application est prometteuse pour des utilisations surtout internes.

Le test dynamique de coagulation sanguine révèle que nos hydrogels (CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS) ont de bonnes propriétés hémostatiques. Ils peuvent par conséquent être de bons candidats pour des applications topiques.

L'activité anti-inflammatoire réalisée par un test préliminaire sur l'albumine de l'œuf indique également que nos hydrogels possèdent une capacité inhibitrice de la dénaturation des protéines.

L'étude de la mucoadhésion démontre quant à elle une nette augmentation des temps d'adhésion des hydrogels (CMC/CS et OCMC/CS) sur la muqueuse intestinale par rapport à ceux des CS et CMC. Ce résultat nous donne la possibilité d'utiliser nos hydrogels comme excipients pour la libération prolongée de médicaments dans l'environnement intestinal.

Enfin, le test de biodégradation montre que nos hydrogels sont biodégradables et peuvent être éliminés des fluides humains au cours d'une courte période.

Chapitre III :

***Formulation des films oraux et patchs transdermiques à
base d'OCMC***

I. Rappels bibliographiques

I.1. Généralités

I.1.1. Introduction

Les scientifiques du secteur pharmaceutique du monde entier tentent d'explorer les films minces en tant que nouvel outil d'administration de médicaments. Les films minces ont été identifiés comme une approche alternative aux formes de dosage conventionnelles. Ils sont considérés comme étant pratiques à avaler, auto-administrables et à dissolution rapide, ce qui en fait une plateforme polyvalente pour l'administration de médicaments. Ce système d'administration a été utilisé à la fois pour une action systémique et locale via plusieurs voies, telles que les voies orale, buccale, sublinguale, oculaire et transdermique (**Karki *et al.*, 2016**).

En général, les films minces peuvent être qualifiés de couches minces et flexibles de polymère avec ou sans plastifiant. Comme ils sont minces et flexibles par nature, ils peuvent être perçus comme moins importuns et plus acceptables par le patient (**Maniruzzaman *et al.*, 2012**).

Le film mince est constitué de matrices polymères qui répondent à de nombreuses exigences pour être utilisées efficacement en tant que plate-forme de libération de médicament. Fondamentalement, les films minces sont d'excellents candidats pour cibler des sites sensibles, ce qui peut ne pas être possible avec des comprimés ou des formulations liquides. Ils ont montré la capacité de réduire la fréquence des doses et d'améliorer l'efficacité du médicament (**Borges *et al.*, 2015**). De même, ils peuvent être utiles pour éliminer les effets secondaires d'un médicament et réduire le métabolisme important causé par les enzymes protéolytiques (**Castro *et al.*, 2015**).

I.1.2. Avantages des films minces en tant que forme posologique émergente

Les patients ont une préférence pour le films mince en raison de sa forme attirante et de sa facilité d'administration (**Dixit & Puthli, 2009**). En outre, le film à dissolution orale est extrêmement utile pour les patients pédiatriques, gériatriques et psychiatriques car il est facile à administrer et évite le risque d'étouffement ou de suffocation, garantissant ainsi la sécurité du patient. Un film mince est utile dans les cas où un début d'action rapide est requis, tel que le mal des transports, épisodes soudaines d'attaque allergique ou de toux, bronchite ou asthme (**Karki *et al.*, 2016**). On sait que les pellicules ophtalmiques améliorent le temps de rétention d'un médicament et, de ce fait, l'absorption du médicament est fortement améliorée dans le segment antérieur de l'œil (**Rawas-qalaji & Williams, 2012**).

Un film mince oral présente plusieurs avantages qui peuvent être résumés comme suit (**Karki et al., 2016 ; Bilal et al., 2016**) :

- Il se dissout rapidement par rapport aux autres formes de dosage classiques.
- Les films minces sont moins friables et faciles à transporter que les formes commerciales à désintégration rapide par voie orale.
- Contrairement aux comprimés qui nécessitent un emballage spécial, une seule dose de film peut être transportée individuellement en un seul conteneur.
- Éviter le problème de la mauvaise stabilité des formes posologiques liquides, en particulier des formulations aqueuses.
- Éviter les problèmes de la mesure précise de la quantité et de secouer le flacon à chaque fois avant l'administration.

Par ailleurs, les systèmes d'administration transdermique de médicaments présentent eux aussi de nombreux avantages (**Prabhakar et al., 2013 ; Patel et al., 2012**) :

- Les médicaments évitent le métabolisme hépatique et pré-systémique, augmentant ainsi la biodisponibilité.
- Les risques et inconvénients de la thérapie intraveineuse sont évités.
- Il y a réduction de la fréquence des doses et de la durée d'action prolongée.
- Cessation facile du traitement médicamenteux.
- Il donne une plus grande tolérance du patient en raison de l'élimination des intervalles de dosage multiples.
- Amélioration de l'efficacité thérapeutique en évitant les pics et les creux des niveaux de médicament systémiques associés à la délivrance conventionnelle.
- L'auto-administration est possible.
- Contrairement au timbre transdermique, le film transdermique est moins associé à une irritation cutanée en raison de propriétés moins occlusives qui améliorent la perméation de la vapeur d'eau à travers la peau et ne laissent pas de sensation collante sur le site d'application (**Guo et al., 2011**).

I.1.3. Inconvénients des films minces

Les inconvénients liés à l'usage ou la production des films minces peuvent être résumés comme suit :

- L'utilisation de films minces est parfois limitée en grande partie à cause de la faible capacité de chargement du médicament destiné à être administré à forte dose (**Buanz et al., 2014**).
- Les films minces sont généralement de nature hygroscopique. Ainsi, des précautions particulières doivent être prises pour leur conservation plus longue (**Sharma et al., 2015**).
- La combinaison simultanée de plusieurs médicaments est une tâche très difficile dans la formulation d'un film oral, car la vitesse de dissolution ainsi que le temps de désintégration sont entravés par la co-administration d'un médicament dans les films oraux (**Karki et al., 2016**).
- La difficulté d'obtenir un degré élevé de précision en ce qui concerne la quantité de médicament dans la dose unitaire individuelle du film peut entraîner un échec thérapeutique, des effets non reproductibles et parfois des effets toxiques pour le patient (**Perumal & Govender, 2008**).
- La préparation de la formulation des films minces considère les problèmes liés au temps de séchage excessif qui peuvent aller jusqu'à plusieurs jours pour le séchage complet à température ambiante, ce qui diminue considérablement le taux de production des films. Étant donné qu'il n'est pas recommandé d'utiliser un four à air chaud pour les médicaments thermolabiles, un autre procédé de séchage devrait être envisagé (**Prakruti et al., 2015**).

I.1.4. Caractéristiques fondamentaux des films minces

Les films minces idéaux doivent présenter des caractéristiques souhaitables telles qu'une capacité de chargement suffisante du médicament, une vitesse de dissolution rapide ou un temps de séjour prolongé sur le site d'administration et une stabilité acceptable de la formulation. Ils devraient également être non toxiques, biocompatibles et biodégradables (**Karki et al., 2016**).

Les critères généraux de préparation des films minces peuvent être résumés comme suit (**Feurtet, 2016 ; Sharma et al., 2015 ; Patel et al., 2012 ; Hao & Heng, 2003**) :

La résistance physique des films doit être appropriée pour permettre au produit d'avoir des propriétés mécaniques satisfaisantes qui facilitent sa production, sa conservation, son emballage et sa manipulation sans ruptures. Par ailleurs, la stabilité du produit doit être assurée tout au long de la période de validité du médicament, les incompatibilités entre les différents composants des films et entre les principes actifs et les films doivent être examinées.

D'autre part, l'apparence physique des films doit être acceptable par le patient. La transparence des patchs transdermiques est un paramètre très important qui rend l'usage de ces derniers acceptable au niveau des différentes parties du corps et visage ; l'épaisseur du film et les caractéristiques organoleptiques sont d'autres paramètres importants pour l'amélioration du confort, de la facilité d'application et de la durée du traitement.

La libération du principe actif est un autre critère prépondérant qui doit être assuré. Les tests préalables de désintégration et de libération in vitro doivent conduire à la libération de la dose souhaitée du principe actif ; L'uniformité du contenu en principe actif doit également être vérifiée sur plusieurs échantillons. Cependant, le contenu résiduel en eau et la capacité d'absorption d'humidité sont des paramètres cruciaux qui peuvent affecter toutes les propriétés décrites auparavant et donc doivent être strictement définies.

Enfin, l'adhésion aux tissus biologiques (muqueuses et derme) est la condition la plus sollicitée pour l'usage des films minces comme support ou réservoir de principe actif. La durée de l'application des patchs peut atteindre les 72 heures pour quelques préparations pharmaceutiques, ces patchs doivent être non- irritant et donc un pH voisin du neutre doit être assuré.

I.1.5. Les films oraux

Le film mince n'est pas une formulation récente. Il a été introduit pour la première fois à la fin des années 1970 pour résoudre les difficultés de déglutition présentées par les comprimés et les gélules (**Jabeen & Khan, 2015**). Les films oraux sont préférés aux comprimés adhésifs en raison de leur souplesse et de leur confort. En outre, ils sont également appropriés pour protéger les surfaces des plaies, réduisant ainsi la douleur et augmentant l'efficacité du traitement (**Pradesh et al., 2012**).

Ces formulations doivent être suffisamment résistantes pour maintenir l'intégrité de l'administration du médicament lors du mouvement de la mâchoire et suffisamment souples pour éviter toute interférence avec l'activité orale normale (**Hashemi et al., 2017**).

Différents noms de films minces sont donnés tels que film oral (ou film mince oral), film soluble oral, plaquette, bandelette orale, film orodispersible (ODF), film buccal, film mucoadhésif et film transmucosal.

Pour ce qui est des films orodispersibles, plusieurs films sont conçus pour être dissous rapidement dans la cavité buccale pour l'absorption d'un médicament dans la cavité gastro-

intestinale alors que certains sont prêts à administrer un PA sur le site d'administration, il s'agit par exemple des films minces buccaux et sublinguaux.

Les PA à haute perméabilité muqueuse ont été connus pour être appropriés pour les livraisons buccale et sublinguale à partir des films oraux (**Hao & Heng, 2003**).

I.1.6. Les patchs transdermiques

Les patchs transdermiques sont des dispositifs qui servent à administrer une dose de médicaments, pour un effet local ou systémique, à travers la peau. Leur développement a vu le jour au début des années 70 et le premier patch, approuvé par le FDA « Food And Drug Administration » en 1979, traitait le mal du transport (**Talbi, 2018**).

Un patch ou film transdermique s'applique directement sur la peau et forme un film mince et transparent in situ. Après l'application de la formulation sur la peau, la composition du système filmogène change de manière significative en raison de la perte des composants volatils du véhicule (évaporation du solvant), ce qui entraîne la formation d'un film résiduel à la surface de la peau. Au cours de ce processus, la concentration de médicament augmente, atteignant le niveau de saturation avec la possibilité d'atteindre le niveau de sursaturation à la surface de la peau. La sursaturation entraîne une augmentation du flux de médicament à travers la peau en augmentant l'activité thermodynamique de la formulation sans affecter la barrière cutanée, réduisant ainsi les effets secondaires ou les irritations (**Kathe & Kathpalia, 2017**).

I.2. Types de films minces

On distingue grossièrement deux familles de patchs (de type réservoir ou de type matriciel), chacune est subdivisée en deux sous-catégories, schématisées dans la **figure I.1**.

En règle générale, les patchs matriciels sont fins, souples et leur surface de contact à la peau est équivalente à la surface active (surface de passage du PA) **(1)**. Dans certains cas, une couronne adhésive périphérique permet de renforcer l'adhésion du dispositif **(2)**. Dans le cas de patchs réservoirs, l'épaisseur est généralement plus importante car il s'agit de poches contenant un gel hydroalcoolique **(3)**. Dans certains cas, le réservoir est dit solide **(4)** et le patch demeure épais et peu souple (**Sournac et al., 2005**).

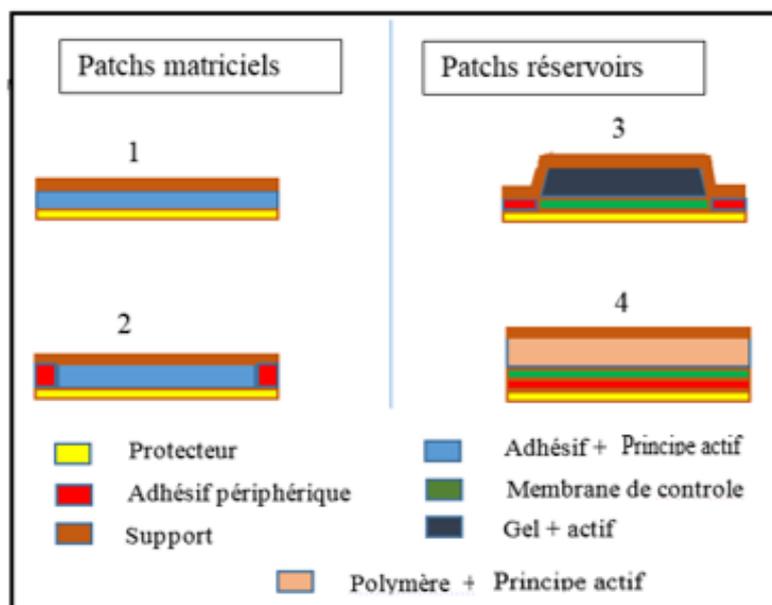


Fig.I.1. Schémas explicatif des types de patchs (Sournac et al., 2005).

Pour les patchs oraux, le support imperméable est appliqué pour contrôler la direction de l'administration du médicament, pour réduire la déformation et la désintégration des patchs dans la bouche, et pour prévenir la perte du PA (Pradesh et al., 2012).

I.2.1. Les systèmes à réservoir

Ces patchs sont composés d'une couche de support (Fig.I.1), un revêtement pour une protection externe imperméable à la substance active, d'une couche de protection à enlever avant l'application du patch, d'un compartiment réservoir contenant le médicament et d'une membrane perméable qui régule la diffusion à travers la peau (Swarbrick, 2002).

La matrice polymère ne contrôle pas la libération du médicament. Au lieu de cela, la membrane de contrôle présente entre la matrice réservoir et la couche adhésive constitue la barrière limitant la vitesse de libération du PA à partir du dispositif (Prabhakar et al., 2013). En effet, le principe actif totalement ou partiellement encapsulé dans le réservoir (en solution ou suspension) dont la surface de relargage est couverte par la membrane polymérique de contrôle est libéré par passage continu et contrôlé de la membrane semi-perméable (Boccaro, 2012).

Plusieurs formes de ce système ont été brevetées, les plus commercialisées sont les patchs à réservoir fluide, à réservoir solide et les systèmes multi-réservoirs qui sont constitués de plusieurs réservoirs : l'un contient le solvant qui doit passer à travers une membrane de régulation du flux avant d'être en contact avec le principe actif se trouvant dans un autre

réservoir constitué par l'adhésif. Le flux de principe actif est donc contrôlé par la quantité de véhicule qui passe au travers la membrane (**Feurtet, 2016**).

I.2.2. Les systèmes matriciels

Ils sont composés des mêmes couches supérieures et inférieures que le premier type, mais aussi de médicaments dissous et dispersés dans un polymère. La diffusion dans ce type de patchs est contrôlée essentiellement par les propriétés physico-chimiques des PA (**Talbi, 2018**).

Le patch à matrice est constitué d'une masse polymérique dans laquelle est dissout le principe actif avec un excipient liquide : la diffusion n'est pas linéaire et par conséquent la libération est modifiée par le contrôle diffusion/résorption au cours du passage cutané. La majorité des médicaments administrés par un patch transdermique utilisent un système matriciel, permettant une diffusion continue et prolongée avec un dispositif plutôt souple et bien toléré par les patients. Ces derniers patchs peuvent être coupés, ce qui n'est pas le cas pour les patchs à réservoir (**Boccara, 2012**).

I.3. Formulation des films minces

I.3.1. Les biopolymères utilisés dans la formulation des patchs

Les polymères sont la structure de base des formulations des films et beaucoup d'entre eux sont capables de former de films fins. Ils peuvent être utilisés seuls ou en association avec d'autres polymères pour atteindre les propriétés désirées (**Misra & Shahiwala, 2014**).

Les polymères muco-adhésifs sont des polymères hydrophiles (ou hydrogels). Les polymères hydrophiles les plus couramment utilisés dans les formes posologiques buccales sèches ou partiellement hydratées comprennent l'alcool polyvinylique (PVA), carboxyméthylcellulose de sodium (NaCMC), l'hydroxy-propyl-méthylcellulose (HPMC), l'hydroxy-éthylcellulose (HEC), l'hydroxy-propyl-cellulose (HPC), le carbopol, les polyacrylates, les polymères cationiques comme le chitosane et les polymères non ioniques comme les analogues d'eudragit (**Murthy, 2014**).

Les recherches entreprises au cours des dernières années ont impliqué plusieurs biopolymères dans les formulations de films oraux et patchs transdermiques. La disponibilité de divers polymères permet d'attribuer des propriétés spécifiques aux films minces. Par exemple, les gélatines sont disponibles dans différents poids moléculaires, et forment des films brillants. Le pullulane est fréquemment utilisé pour la production d'un film mince offrant une grande solubilité, une résistance mécanique élevée et une stabilité dans un large éventail de

températures. Le mélange de chitosane et de la pectine offre une excellente résistance mécanique. Les polymères filmogènes tels que l'HPC, la méthylcellulose et la CMC produisent un film mince avec une barrière anti-vapeur moins résistante à l'eau en raison de sa nature hydrophile qui favorise la rétention d'eau (**Jabeen & Khan, 2015**).

L'élaboration réussie d'un patch est fonction de la sélection justifiée et de la concentration des polymères, par exemple, la résistance mécanique des films est fortement associée à ces facteurs. Ils peuvent être utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres polymères pour modifier les propriétés du film. La concentration en polymères utilisée est également un facteur important lors du développement d'un patch. L'intégrité des films oraux à dissolution rapide dépend de la sélection minutieuse de la nature du polymère et de sa concentration. En général, la concentration en polymère utilisée dans la préparation des patches est d'environ 45% (p/p) du poids total du film mince sèche, cependant, il peut atteindre jusqu'à 60-65% (p/p) pour aboutir aux caractéristiques souhaités du film (**Bilal et al., 2016**).

I.3.2. Les principes actifs

Les propriétés pharmacocinétiques du PA sont très importantes et affectent sa diffusion à travers le patch ainsi que la muqueuse buccale. Le choix d'un médicament adapté à la conception d'un système d'administration mucoadhésif buccal doit être fondé sur ces propriétés qui sont résumés dans les points suivants (**Hanif et al., 2015 ; Venkatalakshmi et al., 2012**) :

- Les PA destinés à la formulation des films oraux doivent avoir un goût agréable.
- Le PA doit avoir un bas poids moléculaire ou moyen.
- Le PA doit avoir une bonne stabilité dans l'eau et dans la salive.
- La dose unique conventionnelle du PA doit être faible.
- Le PA doit être partiellement dé-ionisés au pH de la cavité buccale
- Le PA doit être perméable à travers les tissus des muqueuses buccales en cas de patches.
- À travers la voie orale, le PA subit les effets du premier passage hépatique.
- Le PA ne doit pas affecter la flore microbienne naturelle de la cavité orale.
- Le PA doit être non irritant, non allergisant, non décolorant ou érosif de l'émail dentaire.

Pour les patches à application transdermique, les PA doivent avoir des propriétés adéquates. En règle générale, les principes actifs applicables à ces systèmes pénètrent rapidement dans la peau et sont relativement stables aux enzymes présentes dans l'épiderme. Il est à noter que le coefficient de partage du PA est une autre propriété qui commande la voie qu'un médicament

suivra à travers la peau. Globalement, les propriétés requises pour ces PA sont résumés dans les points suivants : **(Kathe & Kathpalia, 2017 ; Prabhakar *et al.*, 2013)**

- Le PA doit avoir un poids moléculaire inférieur à environ 1000 Daltons.
- Le PA doit avoir une affinité pour les phases lipophiles et hydrophiles.
- Le PA devrait avoir un point de fusion bas.
- Le PA doit être puissant avec une dose quotidienne de l'ordre de quelques mg / jour.
- La demi-vie ($t^{1/2}$) du PA doit être courte.
- Le PA ne doit pas induire d'irritation cutanée ni de réaction allergique.
- Les PA qui se dégradent dans le tractus gastro-intestinal ou sont inactivés par l'effet du premier passage hépatique sont des candidats appropriés pour l'administration transdermique.
- Les PA qui doivent être administrés pendant une longue période ou qui ont des effets néfastes sur les tissus non cibles, peuvent également être formulés pour la délivrance transdermique.

I.3.3. Les polymères utilisés pour la préparation de la membrane support

Les polymères stables durant un long stockage, qui conservent leurs propriétés physiques initiales et dont la solution peut être coulée dans le film mince, sans porosité, avec une bonne flexibilité, une résistance élevée à la traction et une perméation à l'eau réduite, uniforme et imperméable à l'eau, peut être utilisé pour préparer la membrane support du patch. Ce dernier paramètre (qui est l'imperméabilité à l'eau) permet en effet de retenir l'humidité de la peau et d'hydrater l'aire d'application, afin de guider le principe actif vers la peau. Ceci est nécessaire quand le patch est relativement petit ou quand le principe actif est entouré par un adhésif périphérique. Une certaine transmission de vapeur d'eau est nécessaire pour les patches plus larges et laissés pour des temps prolongés **(Feurtet, 2016)**.

Quant aux patches oraux, la fonction principale de la membrane support est de fournir un flux de médicament unidirectionnel à la muqueuse buccale. Elle empêche le médicament d'être dissous dans la salive et donc avalé en évitant le contact entre le médicament et la salive. Le matériau utilisé pour la membrane de support doit être inerte et imperméable aux PA et aux autres composants du patch. L'épaisseur de la membrane support doit être mince et se situer autour de 75 à 100 micromètres. Les supports les plus couramment utilisés sont le papier laminé polyester avec polyéthylène. D'autres exemples incluent le cellophane-325, la feuille multiphore et le papier polyglassine **(Venkatalakshmi *et al.*, 2012)**.

Par exemple, l'acétate de cellulose à une concentration de 2,4% (p/v) dans l'acétone avec 10% de plastifiant (PEG 4000 ou glycérol) du poids total du polymère lorsqu'il est séché à l'air produit un film mince adapté à la membrane support. De même, une solution d'éthyl-cellulose à 2-4% (p/v) dans un mélange 1/4 d'alcool/ toluène et d'un plastifiant approprié peut être coulée dans le film (**Salamat-miller et al., 2005**).

I.3.4. Les plastifiants

Les plastifiants sont utilisés dans les systèmes de films minces pour donner de la flexibilité au film et améliorer la résistance à la traction du film formé. Le plastifiant utilisé doit être compatible avec les polymères utilisés et doit présenter une faible perméabilité à travers la peau (**Güngör & Erdal, 2011**). La concentration du plastifiant varie habituellement de 0 à 20% (p/p). Les plastifiants couramment utilisés sont le glycérol, le sorbitol, le polyéthylène glycol, le propylène glycol, le phtalate de dibutyle, le phtalate de diéthyle, le citrate de triéthyle, le citrate de tributyle... (**Bilal et al., 2016**).

Cependant, une utilisation inappropriée de plastifiant peut entraîner la fissuration, le fendillement et le pelage du film. Il est également rapporté que l'utilisation de certains plastifiants peut également affecter le taux d'absorption du PA (**Dixit & Puthli, 2009**).

I.3.5. Les solvants

Les solvants forment un composant important dans la formulation des patches. Le solvant utilisé pour la formation du film aide à solubiliser les PA et a un impact sur sa pénétration à travers les tissus. Les solvants couramment utilisés pour les traitements topique et transdermique sont les propylènes glycols, les polyéthylènes glycols, l'éthanol, le butanol, l'isopropanol, l'alcool benzylique, les alcools de lanoline, les alcools gras, l'acétate d'éthyle, l'acide oléique, le myristate d'isopropyle. Ces solvants étant largement utilisés, la sécurité de ceux-ci a été établie pour une utilisation à long terme (**Kathe & Kathpalia, 2017**).

I.3.6. Les édulcorants, les agents aromatisants et les agents masquant le goût

La perception des saveurs change d'un individu à un autre. Il a été observé que l'âge joue un rôle important dans le goût. L'acceptation de la désintégration orale ou la dissolution de la formulation par un individu dépend en grande partie de la qualité de la saveur initiale qui est observée dans les premières secondes après la consommation du produit et de l'arrière-goût de la formulation qui dure au moins environ 10 min (**Siddiqui et al., 2015**).

L'édulcorant est un composant important du film ; le Saccharose, le dextrose, le fructose, le glucose, le glucose liquide et le maltose sont les exemples des édulcorants naturels tandis que la saccharine, l'aspartam, le sucralose sont les exemples d'édulcorants artificiels (**Hanif et al., 2015**).

Pour améliorer l'usage du film oral, il est important de masquer le goût amer du PA. Les agents masquants le goût agissent par la formation de complexes ou par relargage (**Murthy, 2014**).

Les agents aromatisants peuvent être choisis parmi les huiles aromatisants synthétiques, les résines, les extraits issus de différentes parties des plantes comme les feuilles, les fruits et les fleurs. L'huile de menthe poivrée, huile de cannelle, huile de menthe verte, huile de noix de muscade sont des exemples d'huiles qui peuvent être utilisés seuls ou aromatisées à la vanille, au cacao, au café, au chocolat et aux agrumes. De préférence jusqu'à 10% en p/p des arômes sont ajoutés aux formulations des patchs (**Hanif et al., 2015**).

1.4. Méthodes de préparation des films minces

1.4.1. La méthode de coulée et le séchage

Cette méthode présente les avantages suivants (**Prakruti et al., 2015**) :

- La coulée au solvant est idéale pour la fabrication de films contenant des PA sensibles à la chaleur, car les températures requises pour éliminer les solvants sont relativement basses comparées à celles nécessaires pour un procédé d'extrusion thermo-fusible.
- Meilleure uniformité d'épaisseur et clarté du film.
- Le film est très brillant et ne présente pas de défauts tels que des lignes.
- Le film a plus de flexibilité et de meilleures propriétés physiques.

1.4.1.1. La méthode de coulée avec un solvant

Le film est préparé par solubilisation des différents ingrédients dans l'eau pour former une solution visqueuse claire. L'élimination des bulles d'air piégés dans la solution obtenue est nécessaire avant la coulée. Après séchage, les films peuvent être soumis à des découpages en morceaux selon la taille souhaitée (**Madhavi et al., 2014**).

1.4.1.2. La méthode de coulée semi-solide

Dans cette méthode, les polymères filmogènes solubles dans l'eau sont mélangés à une solution de polymères d'acides insolubles dans l'eau pour former une solution visqueuse homogène.

Tout d'abord, une solution de polymère filmogène soluble dans l'eau est préparée par un procédé de coulée. Ensuite, un polymère insoluble tel que l'acétate butyrate de cellulose, l'acétate phtalate de cellulose, etc., est préparé dans de l'hydroxyde de sodium ou d'ammonium. Ces deux composants (non miscibles) sont mélangés ensemble avant d'ajouter une quantité précise de plastifiant pour obtenir un gel.

Enfin, le gel est injecté dans des films ou des rubans non traités à l'aide de tambours à chaleur contrôlée. Au séchage, l'épaisseur du film est d'environ 0,381cm à 1,27cm. Le rapport du polymère insoluble dans l'acide au polymère filmogène doit être 1:4 (Siddiqui *et al.*, 2015).

I.4.2. La technique d'extrusion

Les avantages de cette méthode sont énumérés ci-dessous (Prakruti *et al.*, 2015) :

- Pas besoin d'utiliser de solvant ou d'eau.
- Moins d'étapes de traitement.
- Les propriétés de compressibilité du PA peuvent ne pas avoir d'importance.
- Bon mécanisme de dispersion pour les médicaments peu solubles.
- Dispersion plus uniforme des particules fines en raison du mélange et de l'agitation intenses.
- Moins d'énergie par rapport aux méthodes à fort cisaillement.
- Déchets minimum de produit.
- Possibilité de mise à grande échelle.
- Bon contrôle des paramètres de fonctionnement.

I.4.2.1. L'extrusion thermo-fusible

Cette technique s'applique à la production de films. Lors de l'extrusion, les ingrédients secs composants le film sont chauffés jusqu'au ramollissement ou bien jusqu'à la fusion et homogénéisés dans une vis d'extrusion puis poussés vers la filière à ailettes. Ce qui permet l'obtention de film souhaité. L'épaisseur du film peut encore être affectée par les rouleaux d'allongement alors que le matériau est encore chaud et pliable. Le film extrudé est ensuite refroidi, coupé et emballé (Niyaz *et al.*, 2018).

Cette méthode présente de nombreux avantages. Le procédé implique une température plus basse, des temps de séjour plus courts du mélange, l'absence de solvants organiques et un fonctionnement continu de l'opération (Madhavi *et al.*, 2014).

I.4.2.2. L'extrusion par dispersion solide

Cette méthode implique la dispersion d'un ou de plusieurs ingrédients actifs dans un support inerte à l'état solide en présence de polymères hydrophiles amorphes. Le PA non miscible est d'abord dissous dans un solvant liquide approprié, sinon un polymorphisme du médicament apparaît et entraîne une possible précipitation dans la phase dispersée solide. Puis, cette solution est incorporée par exemple dans une masse fondue à $T < 70^{\circ}\text{C}$ de PEG. Et enfin, les mélanges sont fabriqués sous forme de films (**Sharma et al., 2015**).

I.4.3. La méthode de laminage

Dans ce procédé, la formulation du patch commence par la préparation d'un pré-mélange, puis l'ajout du PA et se termine par le façonnement du film.

Le pré-mélange comprend un polymère filmogène, un solvant polaire et d'autres ingrédients, à l'exception du PA qui sera ajouté ultérieurement dans un autre réservoir.

Ensuite, la quantité programmée du pré-mélange est alimentée dans un mélangeur par la première pompe doseuse et une vanne de régulation. La quantité désirée de PA est ajoutée dans le mélangeur, puis mélangée pendant un temps suffisant pour former une matrice homogénéisée. Une quantité spécifique de cette matrice est introduite dans le plateau par le biais de la seconde pompe doseuse. Le rouleau de dosage détermine l'épaisseur du film. Le film est finalement formé sur le substrat et transporté par le rouleau de support. La préparation est séchée en utilisant un séchage contrôlé (**Bilal et al., 2016**).

II. Partie expérimentale.

II.1. Produits utilisés

Les produits cités précédemment (première et deuxième parties : pp19 et pp 48) ; la gélatine (sous forme de poudre, de qualité pharmaceutique et alimentaire, de type A, bloom = 300, point isoélectrique = 9) (Sigma-Aldrich, Chine) ; l'alcool polyvinylique ((C₄H₆O₂)_n, PM= 130 KDa) (Sigma-Aldrich, Chine) ; le NaCl (Sigma-Aldrich, Chine) ; le DMSO (Sigma-Aldrich, Chine), la Doxycycline Hyclate (Laboratoire Salem, Sétif) ; le chlorhydrate de Lévomépromazine (Laboratoires Salem, Sétif) ; la chair de poule (Abattoir, Sétif) ; l'épithélium buccal du mouton (Abattoir, Sétif) ; un lapin albinos (animalerie, Sétif) ont été utilisés pour la réalisation de cette étude.

Pour ce qui est de la solution aqueuse de salive simulée, elle a été préparée à T = 27°C en présence de 2,38 g de Na₂HPO₄, 0,19 g KH₂PO₄, et 8 g de NaCl par litre d'eau distillée ajustée avec du HCl jusqu'à pH = 6,8.

II.2. Méthodes opératoires suivies

II.2.1. Préparation des patchs

II.2.1.1. Préparation de films sans principe actif

Les films ont été conçus par la technique d'évaporation du solvant. Différentes solutions de biopolymères de volume de 20mL ont été préparées selon les compositions indiquées dans le **tableau II.1**. Pour ce faire, au départ, la CMC, l'OCCMC, la gélatine (Gel), le PVA ont été solubilisés séparément sous faible agitation à l'aide d'un barreau aimanté dans de l'eau distillée à 80°C, 40°C, 35°C et 90°C, respectivement. Ensuite, afin d'éliminer les bulles d'air formées lors des différentes solubilisations, les solutions ont été laissées reposer pendant une nuit.

Puis, au bout des 24heures, les ingrédients cités (**tableau II.1**) ont été additionnés simultanément dans un ballon de 100mL et doucement agités pendant 30 minutes à température ambiante. Les solutions ainsi obtenues ont été coulées dans des boites de Pétri en PS (9 cm de diamètre). Elles ont été laissées sécher sous vide à l'étuve à 40°C. Des films de surface homogène se sont formés.

II.2.1.2. Préparation des films en présence de principe actif

a. Doxycycline Hyclate

La Doxycycline Hyclate (**Figure II.1**) de formule chimique $C_{24}H_{33}ClN_2O_{10}$ et de masse moléculaire 545g/mol est un antibiotique de la classe des "tétracyclines". Elle est utilisée pour traiter les infections bactériennes dans de nombreuses parties du corps. La demi-vie de la Doxycycline est de 12h et son élimination est effectuée au cours du cycle entéro-hépatique. La solubilité maximale de ce principe actif est de 50 mg/L (**Jantratif *et al.*, 2010**).

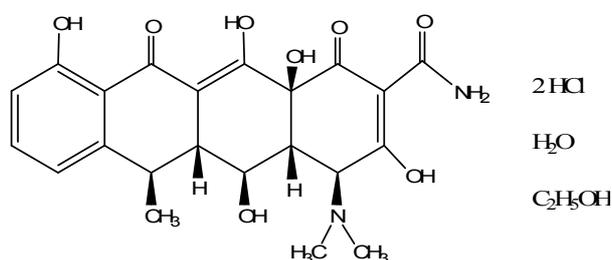


Fig.II.1. Structure chimique de la Doxycycline Hyclate.

Les patchs à base de cet antibiotique (à 3%) ont été préparés par la méthode de coulée (appelée aussi méthode de casting) (**Habib *et al.*, 2017**) en solubilisant tout d'abord le principe actif dans de l'eau distillée sous faible agitation à température ambiante à l'aide d'un barreau aimanté pendant 15 min pour aboutir à une solution de concentration de 50mg/L. Une fois la solution est obtenue, elle a été additionnée à la solution initiale de 20mL (contenant les différents biopolymères). Le tout est laissé sous faible agitation pendant une demi-heure à T_{amb} , puis versé dans des boîtes de Pétri en PS (9,5cm de diamètre), et enfin laissé sécher à l'air libre pendant 48h. Des films de surface homogène ont été isolés.

b. Chlorhydrate de la Lévomépromazine

Le Chlorhydrate de Lévomépromazine (Fig. II.2) de formule chimique $C_{19}H_{25}ClN_2OS$ et de masse molaire 364,9g/mol est un antipsychotique, neuroleptique, sédatif de la classe des phénothiazines. Il est utilisé dans le traitement des psychoses. Sa demi-vie d'élimination est de 20h et sa solubilité dans l'eau est de 20 mg/L.

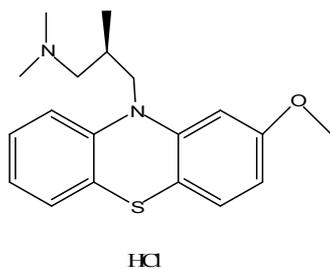


Fig. II.2. Structure chimique du Chlorhydrate de Lévomépromazine.

Pour ce qui est des patchs à base du chlorhydrate de la Lévomépromazine, ils ont été préparés par la méthode d'absorption (ou appelée aussi méthode de gonflement) (**Patel *et al.*, 2009**). Les films secs à base d'hydrogels initialement préparés ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant déjà la solution de chlorhydrate de Lévomépromazine dissoute dans le DMSO. Les films ont été laissés gonfler dans la solution contenant le principe actif (20mg/L) pendant 48h à T_{amb} , puis séchés à l'étuve à 40°C durant 72h.

Tous les échantillons ainsi obtenus ont été conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité à T_{amb} dans des feuilles d'aluminium et placés dans un dessiccateur en verre muni du chlorure de calcium anhydre.

Nous devons signaler dans le cas du Chlorhydrate de Levomépromazine et cela quel que soit le pH, la préparation des films par la méthode de coulée n'a pas conduit aux films escomptés. Nous avons des filaments blancs qui se forment et précipitent dans la solution des biopolymères dès que nous additionnons le PA. Ceci est dû aux interactions électrostatiques entre les cations ammoniums du Chlorhydrate de Levomépromazine et les anions carboxylates des CMCs.

Tableau II.1. Les différentes formulations des patchs préparés.

Code de la Formulation	Principe actif utilisé	CMC	OCMC	Gel	PVA	Glycérol	P.A.
F1		5%		5%	2,5%	2,5%	
F2		2,5%		7,5%	2,5%	2,5%	
F3		7,5%		2,5%	2,5%	2,5%	
F4			5%	5%	2,5%	2,5%	
F5			2,5%	7,5%	2,5%	2,5%	
F6			7,5%	2,5%	2,5%	2,5%	
F7	Doxycycline Hyclate	5%		5%	2,5%	2,5%	3%
F8	Doxycycline Hyclate		2,5%	7,5%	2,5%	2,5%	3%
F9	Chlorhydrate de Lévomépromazine	5%		5%	2,5%	2,5%	3%
F10	Chlorhydrate de Lévomépromazine		2,5%	7,5%	2,5%	2,5%	3%

II.3. Identifications et caractérisations

II.3.1. Etudes physico-chimique, mécanique et thermique

II.3.1.1. Apparence physique

Tous les patches ont fait l'objet d'une inspection visuelle et tactile de la couleur, de la souplesse, de l'homogénéité, de l'aspect et de la douceur.

II.3.1.2. Mesure de l'épaisseur

L'épaisseur du patchs a été mesurée selon **Prabhu *et al.*, (2011)** à cinq endroits différents du film (5cm x 1cm) (1 x L) en utilisant un pied à coulisse numérique (Ultra-Cal Mark III, Stanless Hardned) et la valeur moyenne a été calculée.

II.3.1.3. Mesure du pH de la surface des films

Le pH de la surface des films a été estimé d'après les travaux de **Habib *et al.*, (2017)** en déposant l'électrode d'un pH-mètre sur la surface du film qui a été mouillé avec 2 mL d'eau distillée pendant 30 min dans une boîte de Pétri. Le pH a été calculé sur 3 échantillons et la moyenne des valeurs de pHs a été enregistrée.

II.3.1.4. Endurance au pliage

L'endurance au pliage a été déterminée selon **Habib *et al.*, (2017)** en pliant plusieurs fois et au même endroit le patch (2 cm x 2 cm) (1 x L) jusqu'à la fracture ou bien jusqu'à ce que le nombre de plis atteigne 500 fois, c'est une condition permettant d'indiquer que le film possède une bonne endurance au pliage.

II.3.1.5. Tests mécanique de traction

Ces essais ont été étudiés selon le mode opératoire rapporté par **El-kamel *et al.*, (2007)** en utilisant une machine de traction universelle MTS (modèle E45 Universal Testing Machine, Chine) équipée d'un capteur de force de 50kN. Des films de dimension (50mm × 10mm) (1 x L) ont été fixés entre les deux mâchoires de la machine de traction. L'épaisseur des films a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Ultra-Cal Mark III, Stanless Hardned). Le test est conduit jusqu'à la rupture du film. Les profils obtenus ont été analysés à l'aide du logiciel Instron série IX, version 8.32.00. Les équations suivantes ont été utilisées pour calculer la

contrainte à la rupture (σ_{rup}), l'allongement à la rupture (ε_{rup}), et le module d'élasticité appelé aussi module de Young (E) des films :

$$\sigma_{rup} (\text{N/mm}^2) = \frac{\text{force à la rupture}}{\text{section transversale du film}} \quad (1)$$

$$\varepsilon_{rup} (\%) = \frac{\Delta l}{l_0} \times \frac{100}{\text{section transversale du film}} \quad (2)$$

$$E (\text{N/mm}^2) = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (3)$$

II.3.1.6. Test de gonflement :

(Voir mode opératoire décrit en supra, pp 51).

II.3.1.7. Variation du poids

Ce test a été effectué selon **Patel *et al.*, (2009)**. Le film de 1 cm de diamètre a été séché à 60°C pendant 4 h. Il a été ensuite pesé à l'aide d'une balance analytique de précision. L'essai a été refait trois fois et la moyenne des trois valeurs obtenues a été calculée.

II.3.1.8. Absorption d'humidité

L'essai a été mené selon **Dangre *et al.*, (2019)** sur des films de 1 cm de diamètre. La masse a été mesurée à l'aide d'une balance analytique de précision.

Au départ, les films ont été laissés pendant 24h à l'étuve à 45°C. Puis, ils ont été pesés puis placés à Tamb (24°C) pendant 3 jours dans un dessiccateur en verre hermétiquement fermé muni d'une solution aqueuse saturée de NaCl permettant d'atteindre un taux d'humidité relative de 75%. Le pourcentage d'absorption d'humidité a été calculé à partir de l'équation suivante :

$$\text{Absorption d'humidité (\%)} = \frac{(m_f - m_0) \times 100}{m_0} \quad (4)$$

Avec :

m_f : est la masse finale du film après absorption de l'humidité ;

m_0 : est la masse initiale du film sec.

Nous devons préciser que l'essai a été repris 3 fois et la valeur prise en compte a été calculée à partir de la moyenne des trois valeurs obtenues.

II.3.1.9. Capacité d'absorption de la salive

Ce test a été réalisé en suivant les travaux décrits par **Khairnar, (2014)** sur des films secs d'environ 1cm^2 de surface. Dans un bêcher de 100mL, ces derniers ont été plongés dans une solution aqueuse de salive simulée (40mL, pH=6,7). Le tout est ensuite maintenu à 37°C pendant des temps variables (de 0,25h ; 0,5h ; 1h ; 2h ; 3h et 4 h).

Après élimination de l'excès de la solution aqueuse de salive simulée en servant de papier absorbant, les films ont été pesés et laissés sécher pendant 7 jours à température ambiante dans une atmosphère anhydre contenant du CaCl_2 anhydre.

Le pourcentage de l'absorption de la salive est calculé comme suit :

$$\text{Absorption de salive \%} = \frac{m_h - m_f}{m_f} \times 100 \quad (5)$$

Avec :

m_h : est la masse du film après absorption de la salive ;

m_f : est la masse finale du film après séchage.

Le test a été repris trois fois et la moyenne calculée à partir des résultats obtenus est prise en considération dans la discussion de nos résultats.

II.3.1.10. Uniformité du contenu du patch en principe actif

a- Courbes d'étalonnage

Les courbes d'étalonnage ont été établies à partir des absorbances des solutions de Doxycycline Hyclate et du chlorhydrate de Lévomépromazine (**Figures II.2-3**). Les solutions ont été préparées par la méthode des dilutions d'une solution mère de concentration 50mg/L et 20 mg/mL respectivement, le solvant étant de l'eau distillée et eau distillée/DMSO (4 :1 (V:V)) respectivement. Les courbes d'étalonnage sont tracées en utilisant un spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau de type UNICAN UV 300 (USA). Les longueurs d'onde respectives sont 349 nm et 253nm.

b-Préparation des solutions

Cette étude a été faite en se basant sur les travaux reportés par **Dixit & Puthli, (2009)**. Une surface de 1 cm² du film a été introduite dans un bécher de 250mL puis dissoute dans 100mL de solution de PBS à pH 6,8 à T_{amb}. Au bout de 24h, le tout a été soumis à une forte agitation pendant 15min. Puis, 1mL a été prélevé de la solution, dilué 10 fois par du PBS puis analysé par spectrophotométrie UV-Vis. Les teneurs en principe actif ont été estimées à partir des courbes d'étalonnage déjà établies.

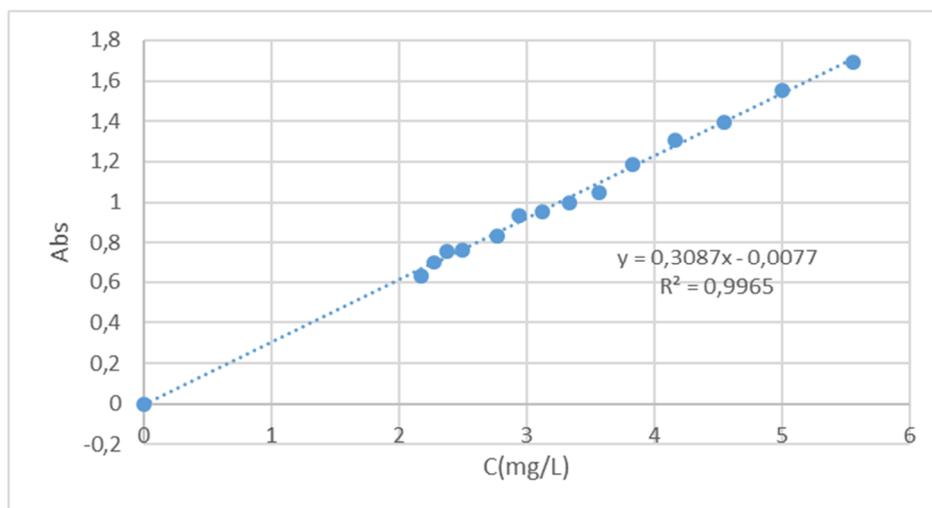


Fig.II.3. Courbe d'étalonnage de la Doxycycline Hyclate dans l'eau distillée à λ_{\max} = 349nm.

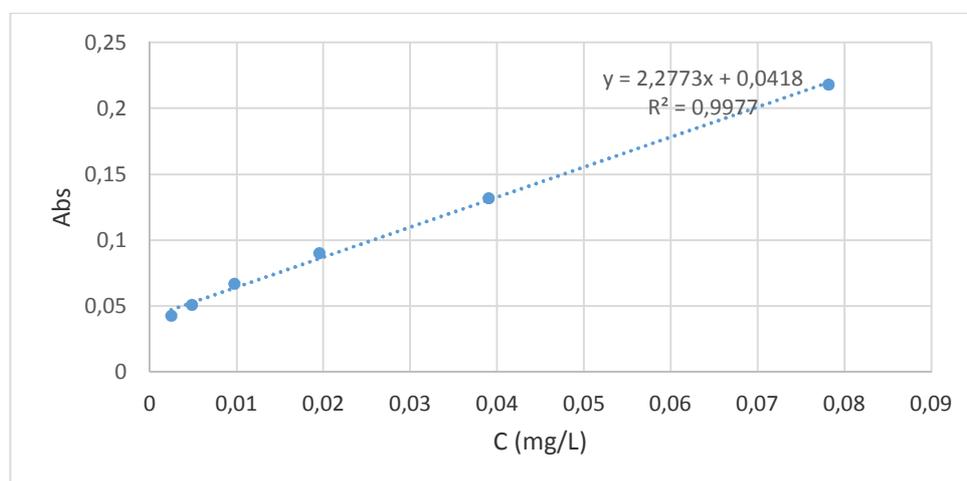


Fig.II.4. Courbe d'étalonnage du chlorhydrate de Lévomépromazine dans l'eau/DMSO à λ_{\max} = 253nm.

II.3.1.11. Opacité

(Voir supra, pp 20).

II.3.2 Etude structurale par spectroscopie IR-TF

Les spectres IR-TF ont été réalisés sur un appareillage déjà décrit dans les deux chapitres précédents. Ils ont été obtenus à partir des solutions solides dans le KBr (à 3%) ou des films.

II.3.3. Analyse thermogravimétrique (ATG)

(Voir supra, pp 20).

II.4. Etudes biologiques

II.4.1. Etude de la perméation du P.A. *in vitro*

Des études de perméation *in vitro* ont été menées en suivant le mode expérimental décrit par **Verma & Chattopadhyay, (2012)**. Les cellules de diffusion à deux chambres ont été montées au niveau de notre laboratoire tout en mimant le dispositif de la cellule de Franz (**Fig. II.5**). Le compartiment inférieur est séparé du compartiment supérieur par des membranes biologiques fraîches. L'épithélium buccal d'un mouton (barrière buccale) ou la chair de poule (barrière transdermique) ont été soigneusement montés entre les deux compartiments de la cellule de diffusion de Franz avec un diamètre interne de 1cm et un volume de compartiment récepteur de 20mL. Une solution de PBS (pH=6,8) a été placée dans le compartiment récepteur. Le compartiment donneur contient 40mL d'une solution de principe actif (PA dissout dans du tampon phosphate pH 6,8 pour la Doxycycline Hyclate (50mg/L) et PBS+DMSO pour les chlorhydrates de Lévomépromazine (20mg/L)). L'ensemble du montage a été placé dans un bain-marie, sous agitation magnétique à l'aide d'un barreau aimanté à 37°C.

Un échantillon (de 1mL) a été recueilli à des intervalles de temps définis du compartiment récepteur et remplacé par un volume égal de fluide récepteur frais (PBS à pH=6,8). L'expérience a été reprise trois fois et les absorbances des échantillons extraits sont lues par spectrophotométrie UV-Vis.

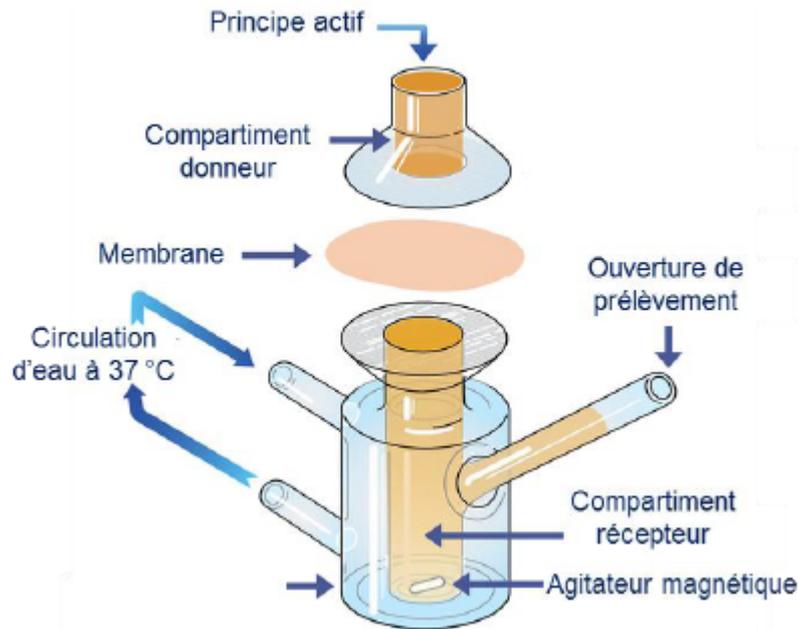


Fig II.5. Schéma du montage de la cellule de Franz (Talbi, 2018).

II.4.2. Temps d'adhésion sur les tissus biologiques

Cette expérience a été accomplie en faisant appel au mode opératoire exprimé par **Khairnar, (2014)**. Des patches de 1 cm² de surface ont été fixés après humidification avec de la solution de PBS de pH 6,8 (quelques gouttes) et en appliquant une petite force avec le doigt pendant 30 secondes sur la surface de la muqueuse buccale du mouton, elle-même fixée sur une lame en verre. Ensuite, le montage est plongé dans un bœcher rempli avec 100mL de PBS et maintenu à 37°C sous faible agitation.

La même procédure a été suivie pour les tissus dermiques (la chair de poule) à la différence que ces derniers ont été exposés à l'air libre à température ambiante.

Le temps d'adhésion sur les tissus biologiques a été mentionné au détachement des films de ces surfaces.

Ce test a aussi été effectué sur la surface externe de l'avant-bras d'un homme sain en appliquant les films humidifiés avec de l'eau potable. Ces films ont été retirés dans les 10 secondes qui suivent l'adhésion.

II.4.3 Test de libération in vitro

Le test de libération a été effectuée selon **El-kamel et al., (2007)** à 37°C et sous faible agitation (50 trs/min). Les patches contenant du principe actif (de 1cm²) ont été fixés sur la paroi d'un bœcher de 250mL par un adhésif instantané (cyanoacrylate). Le milieu de dissolution était

constitué de 100mL de PBS (pH=6,8). Des échantillons de 5mL ont été prélevés à des intervalles de temps prédéterminés (jusqu'à 24 heures) et remplacés par du milieu frais. Ils ont été analysés par spectroscopie UV–Vis à 349nm et 253nm pour la Doxycycline Hyclate et le chlorhydrate de Lévomépromazine, respectivement.

II.4.5. Test d'irritation cutanée

Ce test a été réalisé en suivant les travaux de recherche de **Prabhu *et al.*, (2011)**. Des patchs ont été appliqués sur la peau rasée du dos d'un lapin Albinos et sécurisés avec du ruban adhésif. Le patch témoin (sans principe actif) a été fixé de la même façon. L'animal a été observé pour tout signe d'irritation, d'érythème ou d'œdème, sur une période de 24 h.

III. Résultats Et Discussion

III.1. Identifications et caractérisations

III.1.1. Essais mécaniques préliminaires pour le choix des formulations

III.1.1.1. Caractéristiques générales

Le choix de nos formulations a été basé sur les caractéristiques visuelles et tactiles (**Tableau III.1**), de la douceur, de la transparence, de l'adhésion, de l'endurance au pliage, de l'uniformité de l'épaisseur et des pHs de la surface des films obtenus.

Tableau III.1. Propriétés visuelles et tactiles des films choisis.

Formulation	Douceur	transparence	adhésion	Endurance au pliage (Nombres de plis)	Flexibilité	Epaisseur (mm)	pH à la surface
F1	lisse	transparent	Non-collant	> 500	Flexible	0,24±0,005	7
F2	lisse	transparent	Non-collant	> 500	Flexible	0,28±0,01	7,01
F3	lisse	transparent	Non-collant	> 500	Flexible	0,24±0,03	7,02
F4	lisse	transparent	Non-collant	> 500	Flexible	0,25±0,005	7,02
F5	lisse	transparent	Non-collant	> 500	Flexible	0,27±0,016	6,96
F6	lisse	transparent	Non-collant	> 500	Flexible	0,25±0,015	7,04

En effet, les films préparés étaient lisses, transparents, non collants et homogènes (**Fig. III.1**). Les valeurs des épaisseurs moyennes n'ont pas montré de différences significatives. Les pHs de leur surface sont tous proches des pHs des milieux biologiques (avec : le pH de la salive \approx 6,5-7,4 et le pH de la peau \approx 4-6). Ce qui traduit une potentielle biocompatibilité ; et par conséquent, une non-irritabilité. Toutes les formulations (F1-F6) ont également présenté une excellente endurance au pliage, c'est à dire une bonne flexibilité. Ils seront donc faciles à utiliser.



Figure III.1. Exemple d'une photo prise sur un film à base d'OCMC/Gel.

III.1.1.2. Propriétés mécaniques de traction

La **figure III.2** illustre les courbes contrainte-déformation ($\sigma=f(\epsilon)$) ; ces dernières présentent le comportement des films en traction jusqu'à la rupture. Le comportement global de ces films est pratiquement semblable, il se divise en deux phases : la première linéaire (phase élastique) et la deuxième non-linéaire (phase plastique).

La partie élastique présente une pente croissante avec des raideurs différentes confirmées par les modules d'élasticité calculés et présentés dans le **tableau III.2** alors que la partie plastique qui est également ascendante présente des allures semblables mais avec des valeurs différentes de déformation et de résistance à la traction. Il en est déduit que l'augmentation des raideurs induit une augmentation des résistances à la traction. Ces différences sont expliquées par les différents pourcentages des matières premières constituant nos films.

En effet, nous remarquons que les compositions F1 (5%CMC- 5% Gel) et F3 (7,5% CMC-2,5% Gel) présentent des courbes presque superposables avec une dureté élevées par rapport aux autres films. Les modules d'élasticité (144,46 et 197,55 N/mm² respectivement) montrent que plus le pourcentage de la CMC est élevé, plus le matériau est élastique. La phase plastique de ces deux films démontre que la composition F1 possède la plus haute résistance à la traction ($\sigma = 18,9$ N/mm²).

Les films F5 et F2 qui comportent des pourcentages élevés en gélatine (7.5%) présentent une raideur moyenne par rapport aux autres, et ce peut être expliqué par la nature de la gélatine qui confère un comportement élastique important aux matériaux. Pour la phase plastique de ces deux courbes, on constate que la F2 présente une augmentation rapide de la résistance avec une ductilité faible par rapport à la F5 qui présente un comportement plastique ductile de grande déformation.

Par ailleurs, les films composés de pourcentages élevés en OCMC : F4 (5% OCMC- 5% Gel) et F6 (7,5% OCMC-2,5% Gel) ont démontré des raideurs négligeables ($E=19,35$ et $24,58$ N/mm² respectivement). La composition F6 présente un comportement fragile à la rupture d'une faible déformation alors que la F4 présente une déformation plus ou moins importante mais qui reste faible par rapport aux autres films en termes de résistance et déformation. Cette fragilité est expliquée par le pourcentage élevé en OCMC qui est elle-même de nature fragile. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Tabari *et al.*, (2017)** qui ont conclu que les longues chaînes macromoléculaires de CMC liées à la gélatine par réticulation augmentent la résistance à la traction des films composites et que le pourcentage d'élongation élevé des films pauvres en CMC est dû au caractère élastique de la gélatine.

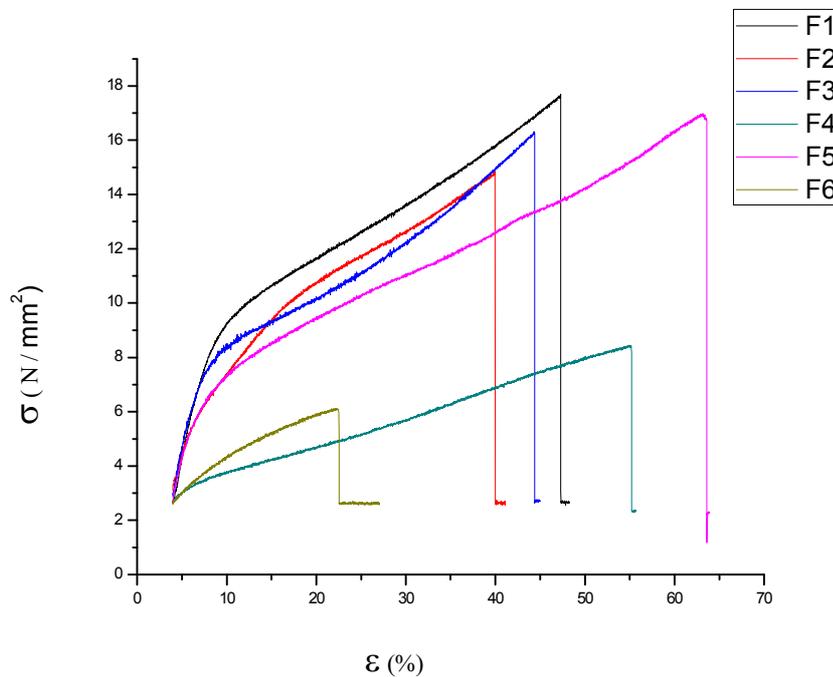


Fig.III.2. Courbes contrainte-déformation des films préparés à partir des formulations (F1-F6).

Tableau III.2. Paramètres σ_{rup} , E, ϵ_{rup} des formulations (F1-F6).

Formulation	σ_{rup} (N/mm ²)	E(N/mm ²)	ϵ_{rup} (%)
F1	18.9	144.46	46.93
F2	12.8	98.32	39.76
F3	17.5	197.55	43.99
F4	7.1	19.35	56.33
F5	15.1	114.54	64.55
F6	2.6	24.58	19.37

III.1.1.2. Essais de gonflement

Les résultats obtenus lors des essais de gonflement montrent le comportement des films des différentes formulations au contact de l'eau à température ambiante (**Fig. III.3**).

Il est clair, à partir de cette figure, que la formulation F2 de la série CMC/Gel présente un pseudo-plateau avec un Gmax qui atteint 547% après 160 min (à l'équilibre) comparativement aux formulations F1 et F3 qui se désintègrent après 140min et 40min, respectivement.

Pour la série OCMC/Gel, les films s'avèrent plus résistants à la désintégration. Les plateaux obtenus (qui représentent l'équilibre de l'entrée et de la sortie du solvant, l'eau, dans l'hydrogel) vont au-delà de 3heures. Par ailleurs, la formulation F4 a montré le Gmax le plus élevé aux alentours de 1173% à 185 min.

Mais, on doit préciser que dans tous les cas (de F1-F6 sauf pour le F3 qui se désagrège rapidement dans l'eau), les réseaux formés sont percolés. Ce qui est exprimé par la présence d'un ou deux maximums sur chaque courbe.

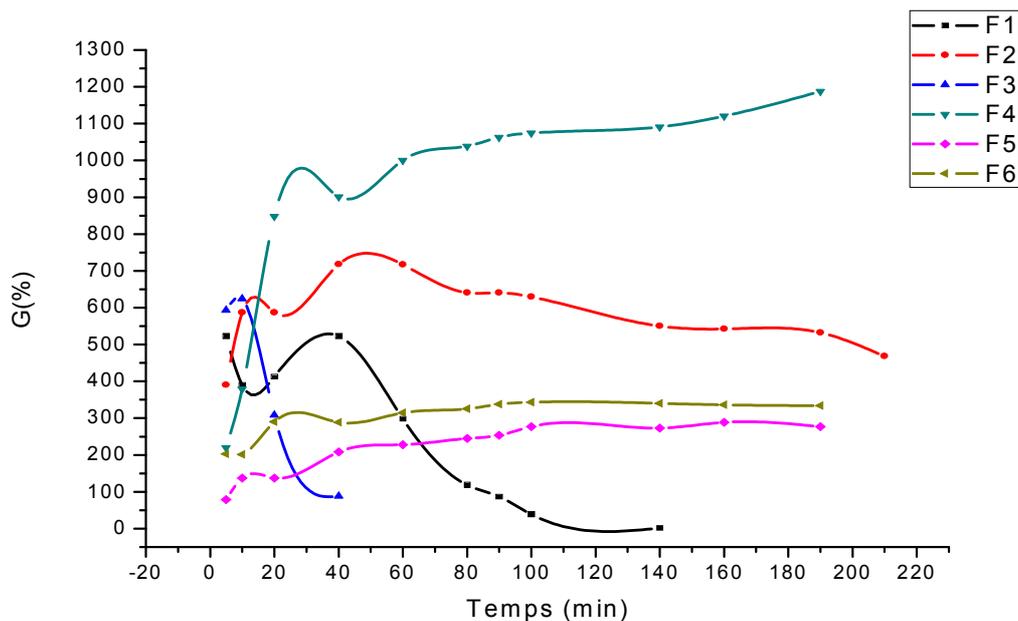


Fig. III.3. Gonflements des films préparés (F1-F6) en fonction du temps à T_{amb} dans l'eau distillée.

III.1.2.1. Capacité d'absorption de la salive

Les profils d'absorption de la salive par les films des formulations CMC/Gel (F1) et OCMC/Gel (F5) sont donnés dans la **figure III.4**.

Le film F1 présente des G_{max} allant de 631 % jusqu'à 439 % au fil du temps alors que le F5 présente un équilibre hydrique avec un G_{max} de 488 % qui est constant au cours du test.

En comparaison avec le test de gonflement dans l'eau à T_{amb} , les réseaux se montrent continus et cela est exprimé par l'absence du pic au début du gonflement.

Les pourcentages élevés des G_{max} pour les formulations F1 et F5 dans le milieu de salive simulée (439 et 488% respectivement au bout de 190min) par rapport aux G_{max} observés dans de l'eau distillée (50,27 et 287,5% respectivement au bout de 160 min).

Des travaux menés par **Peng *et al.*, (2018)** ont montré que l'ajout de NaCl au système PVA/glycerol conduit à la formation d'hydrogel électrolyte flexible ne nécessitant pas de réticulation chimique.

Aussi, **Huang *et al.*, (1988)** ont pu prouver que l'absorption de l'eau par les hydrogels augmente avec le groupe d'anions HPO_4 présents dans le milieu de salive simulée et que le volume hydrique d'équilibre de ces matériaux dans une solution saline est supérieur à celui de l'eau distillée.

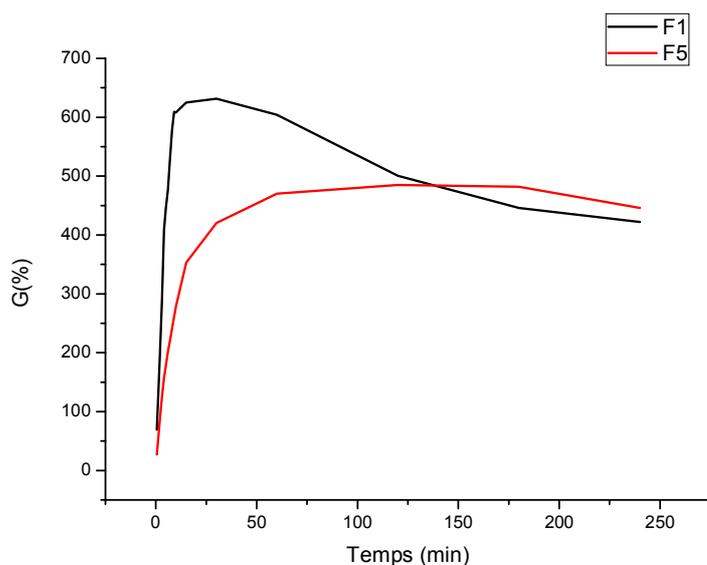


Fig.III.4. Courbes d'absorption de salive pour les formulations F1 et F5 à T=37°C.

III.1.2.2. Variation du poids, de l'absorption de l'humidité et mesure de l'opacité

Les résultats obtenus sont résumés dans le **Tableau III.3**. Il est constaté que tous les films étudiés possédaient des valeurs très proches de poids, d'opacité et d'humidité relative.

Tableau III.3. Variations du poids et de l'absorption de l'humidité et mesure de l'opacité des films F1 et F5.

Formulation	Variation de poids (mg)	Absorption d'humidité (%)	Opacité %
CMC/Gel (F1)	71,1±0,055	25,04	0,572
OCCM/Gel (F5)	84,3±0,205	22,3	0,566

III.1.2.3. Uniformité du contenu en principe actif

Après ajout du principe actif aux formulations choisies, on a étudié l'uniformité en principe actif contenu dans F7-F10.

Le **Tableau III.4** illustre les différents résultats obtenus. Les patchs contenant des concentrations initiales de 50mg/L de Doxycycline Hyclate ont libérés presque tout leur contenu en principe actif pour la formulation F8 (47,69 mg/L). Le même résultat est observé

pour la formulation F7 (48,86 mg/L). La teneur en Doxycycline Hyclate était pratiquement stable pour les trois échantillons de chaque formulation.

Les patchs de chlorhydrate de Lévomépromazine de concentrations initiales de 20 mg/L ont libérés plus de la moitié du contenu en principe actif pour la formulation F10 (11,78 mg/L) et plus du 1/3 pour la formulation F9 (8,51 mg/L).

Il est à noter que les patchs étudiés n'ont pas abouti complètement à l'étape de désintégration (même après 24h) qui permet la libération de tout leur contenu en P.A.

Tableau.III.4. Contenu des films F7-F10 en principe actif.

Film	Contenu en principe actif (mg/L)				
	Concentration initiale (mg/L)	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Moyenne
CMC/Gel/D (F7)	50	48,69	49,7	48,2	48,86
OCCM/Gel/D (F8)	50	47,49	46,5	49,1	47,69
CMC/Gel/L (F9)	20	9,41	7,85	8,29	8,516
OCCM/Gel/L (F10)	20	12,40	11,02	11,93	11,78

III.1.3 Etudes structurales par Spectrophotométrie IR-TF

III.1.3.1. Gélatine

La **figure III.5** représente le spectre IR-TF de la gélatine. Ce dernier présente plusieurs bandes d'absorptions qui peuvent être résumés comme suit :

La bande d'absorption située à 3323cm^{-1} est attribuée aux vibrations de valence des OH de l'eau libre de la molécule alors que les bandes entre 3000 et 2800cm^{-1} sont accordées aux vibrations d'élongation des liaisons C-H (CH_2 et CH_3) (**Barreto et al., 2003**).

Les bandes à 1654cm^{-1} (amide I) et 1528cm^{-1} (amide II) correspondent aux vibrations d'élongation de la liaison CO, au couplage des vibrations de déformation de la liaison N-H et des vibrations d'élongation de la liaison C-N, respectivement (**Seok et al., 2005**).

Le pic qui apparaît vers 1454cm^{-1} correspond aux vibrations de déformation des liaisons C-H. Un autre pic à 1234cm^{-1} est attribué aux vibrations d'élongation asymétriques des groupements COC (**Ghasemi et al., 2008**).

La bande d'absorption vers 1067cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation attribuées aux groupements C-O (**Muyonga, 2004**).

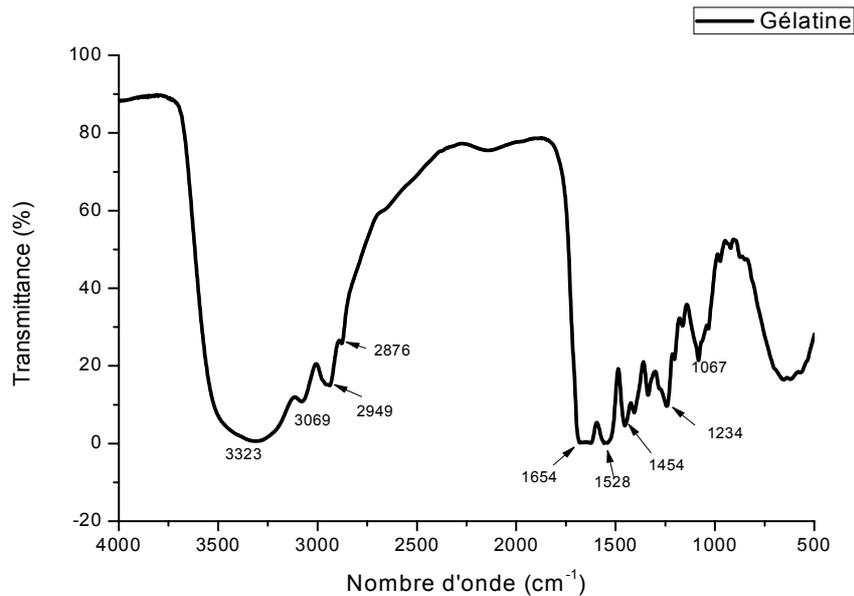


Figure III.5. Spectre IR-TF du film de la gélatine.

III.1.3.2. Alcool polyvinylique (PVA)

Le spectre IR-TF du PVA (**Fig. III.6**) présente les bandes intenses suivantes : la première à 3331cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles OH du PVA. La deuxième bande à 2928cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons C-H aliphatiques du PVA (**Pal et al., 2007**). La troisième bande à 1427cm^{-1} assignée aux vibrations de déformation des liaisons CH des groupements CH_2 alors que la bande observée à 1335cm^{-1} est attribuée aux fréquences de combinaison de (CH-OH) (**Taleb et al., 2009**). Et enfin, la bande à 1083cm^{-1} est directement attribuée aux vibrations d'élongations des liaisons C-O des groupes acétyle du PVA (**Kharazmi et al., 2015**).

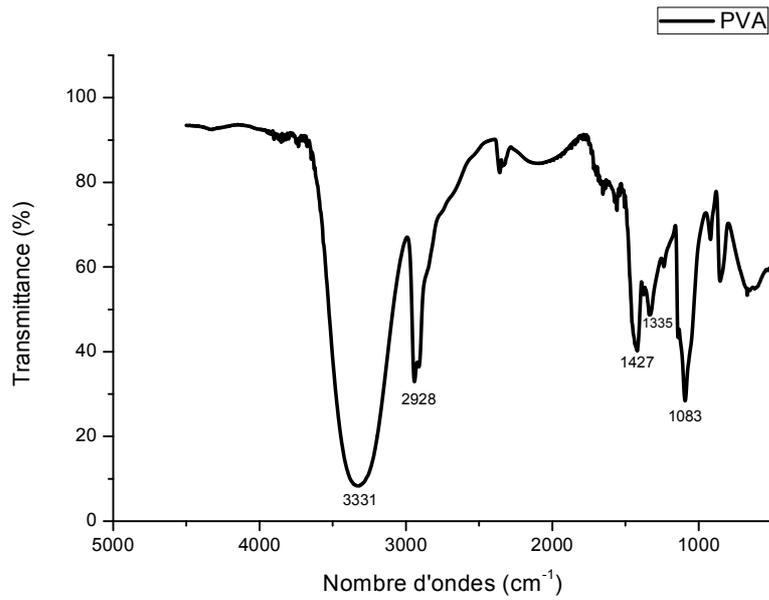


Fig. III.6. Spectre IR-TF du film de PVA.

III.1.3.3. Films F1 et F5

À partir des spectres obtenus (**Figures III.7-8**), aucune interprétation ne peut être avancée du fait de la présence intensive des OH portés par les macromolécules y compris ceux du glycérol.

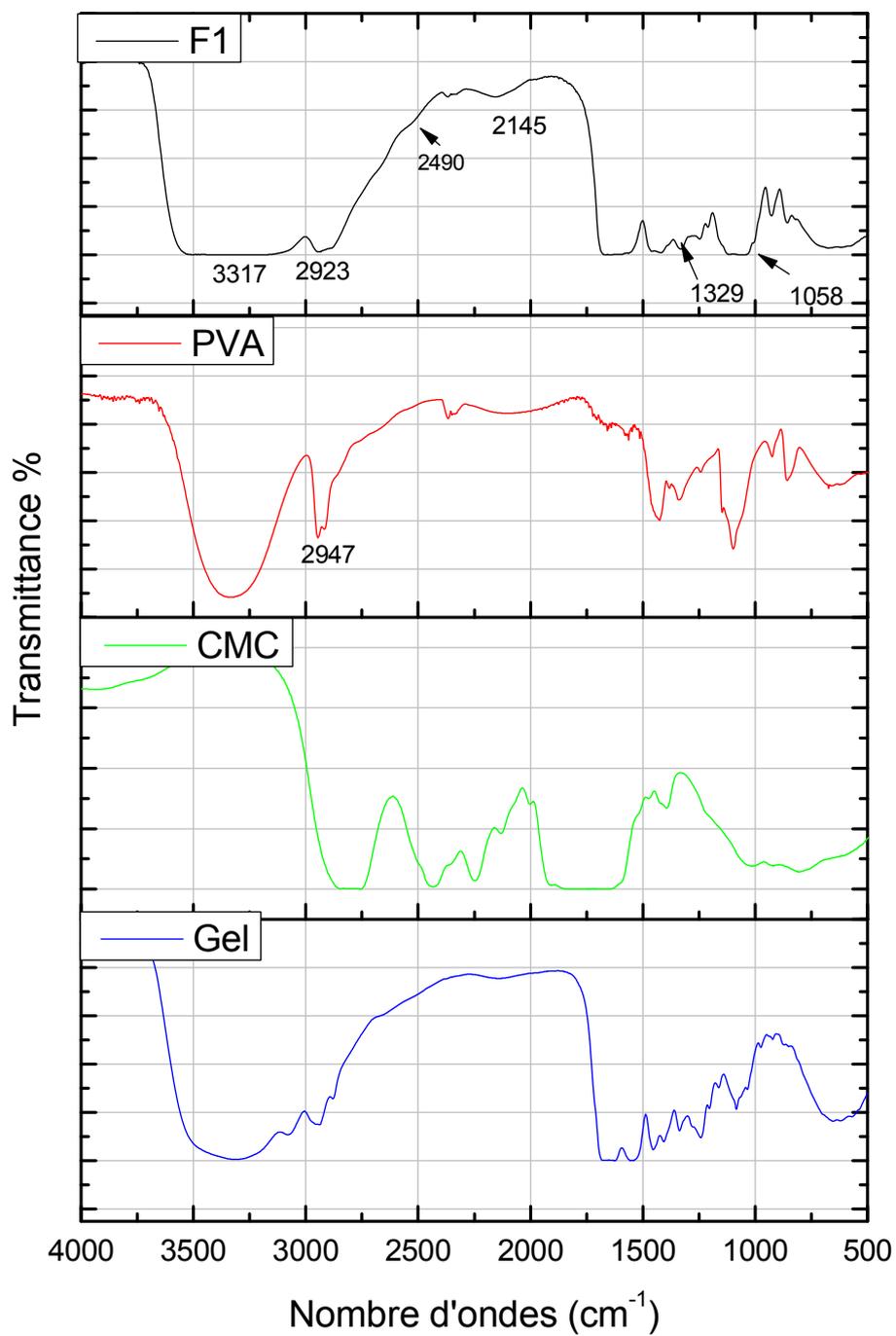


Fig. III.7. Spectres IR-TF des composés Gel, CMC, PVA et F1.

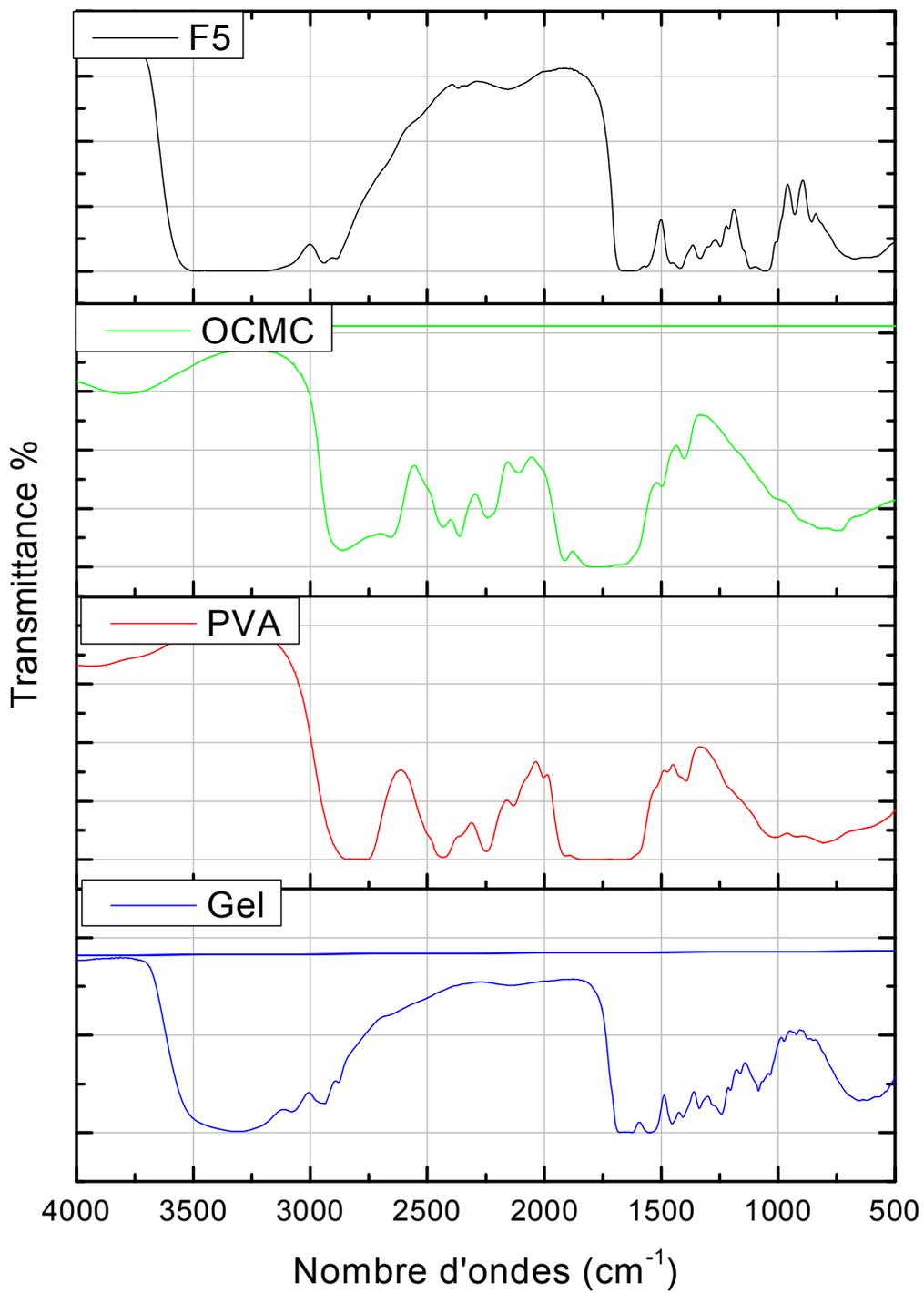


Fig. III.8. Spectres IR-TF des composés Gel, OCMC, PVA et F5.

Les spectres IR-TF des films F7, F8 et de la Doxycycline Hyclate sont représentés dans la **figure III.9** alors que ceux des films F9, F10 et du chlorhydrate de Lévomépromazine sont tracés dans la **figure III.10**. À partir de ces figures, aucune interprétation ne peut être émise ; et ceci est causé par la présence de différents groupements hydroxyles portés par chacun des biopolymères, la CMC, l'OCMC, la gélatine et le PVA. Ces hydroxyles ont l'aptitude de masquer tout type d'interaction entre les différents groupements des différents matériaux utilisés suite à leur forte absorption.

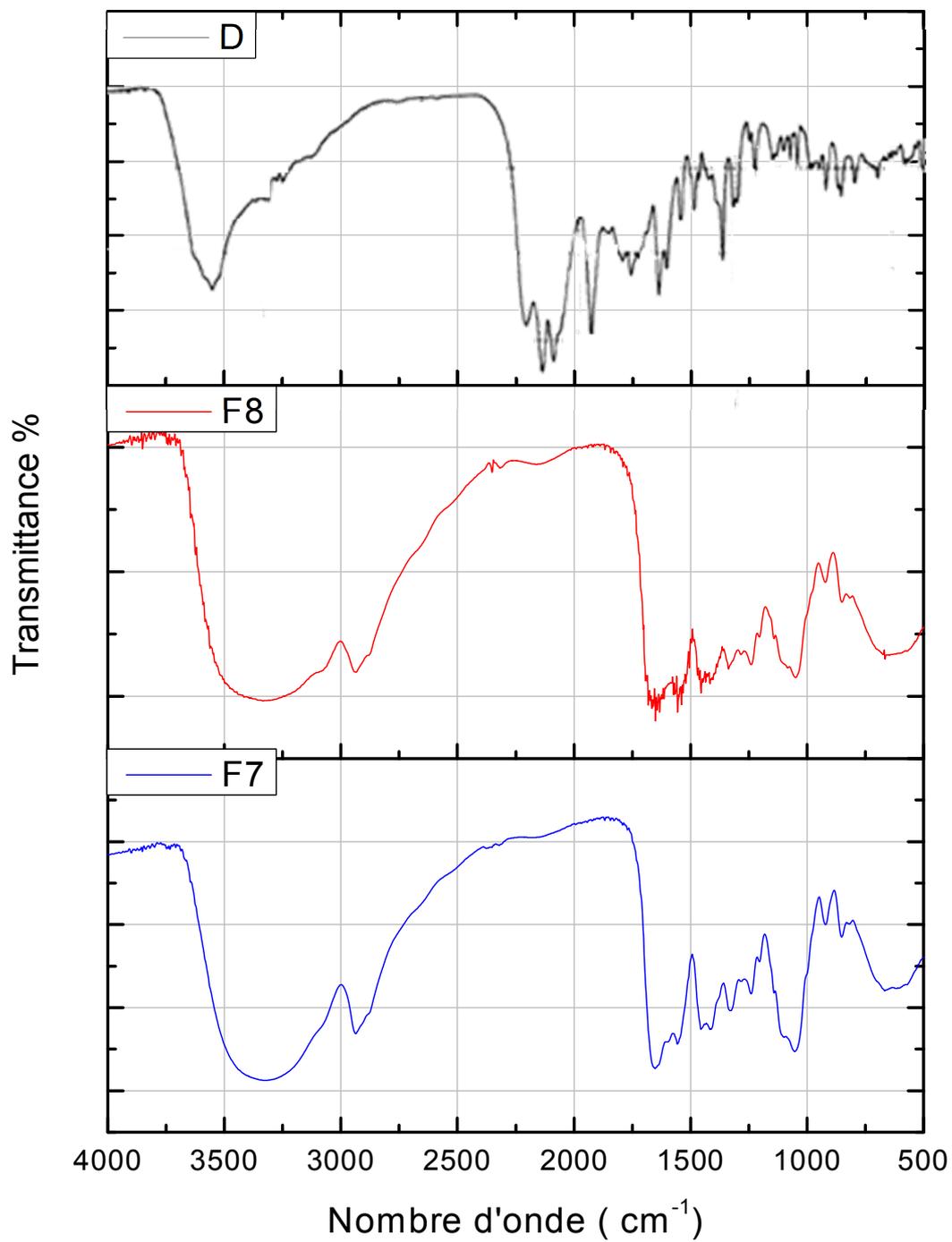


Fig. III.9. Spectres IR-TF des formulations F7, F8 et de la Doxycycline Hyclate (D).

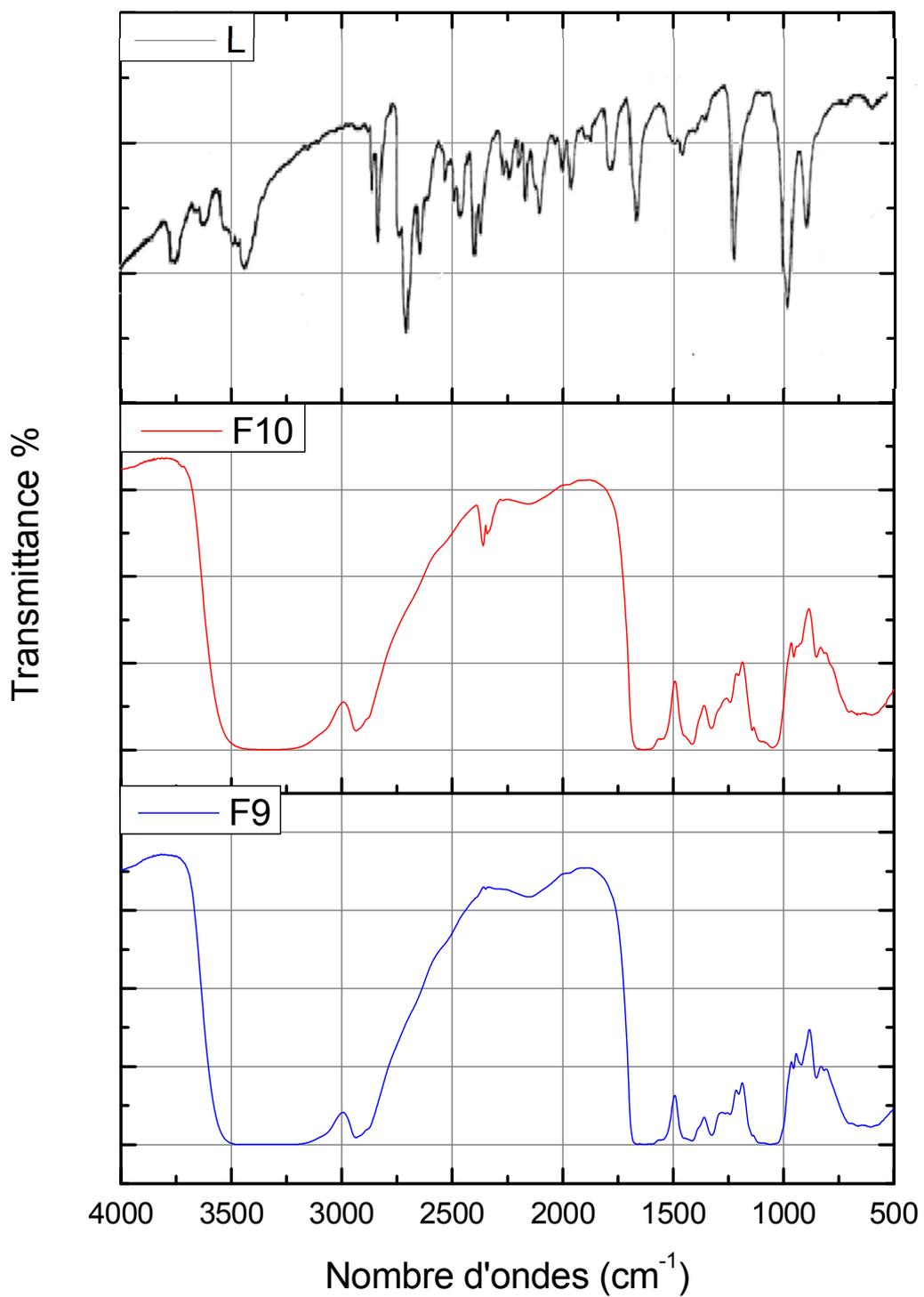


Fig. III.10. Spectres IR-TF de F9, F10 et du Chlorhydrate de Lévomépromazine.

II.3.3. Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les thermogrammes ATG/ATD (Fig. III.11-16) nous permettent de conclure l'absence de toute interaction entre les polymères et les principes actifs. Les différents pics de l'ATD illustrés sur les thermogrammes correspondent aux pertes de masses des composés étudiés ; il est noté que les T_{max} des films sans principes actifs et ceux des principes actifs sont tous observés dans les thermogrammes des patches à base de principes actifs, ce qui traduit leur non réactivité et donc leur compatibilité parfaite.

Les T_{max} qui ont subi parfois de légers déplacements sont résumés dans le **tableau III.5**.

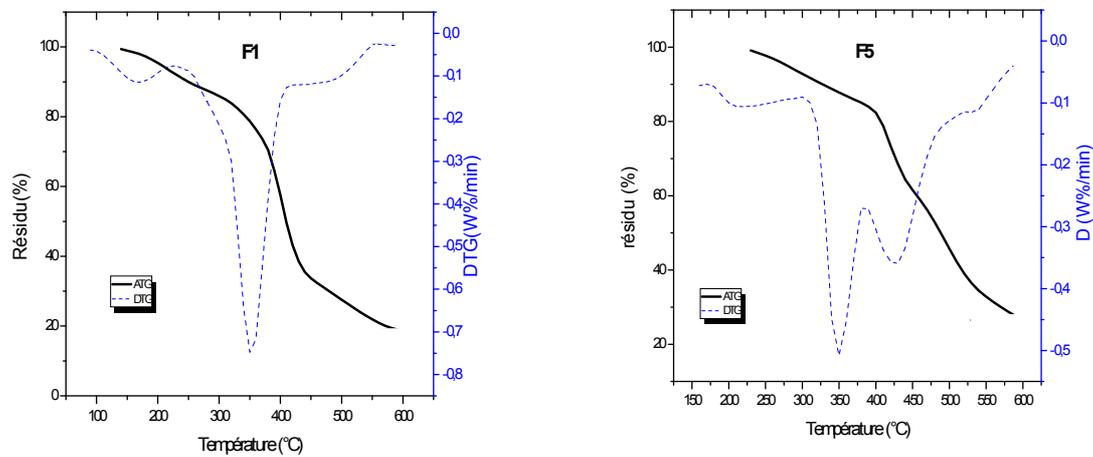


Fig.III.11. Thermogrammes ATG-DTG des films sans PA : F1 et F5.

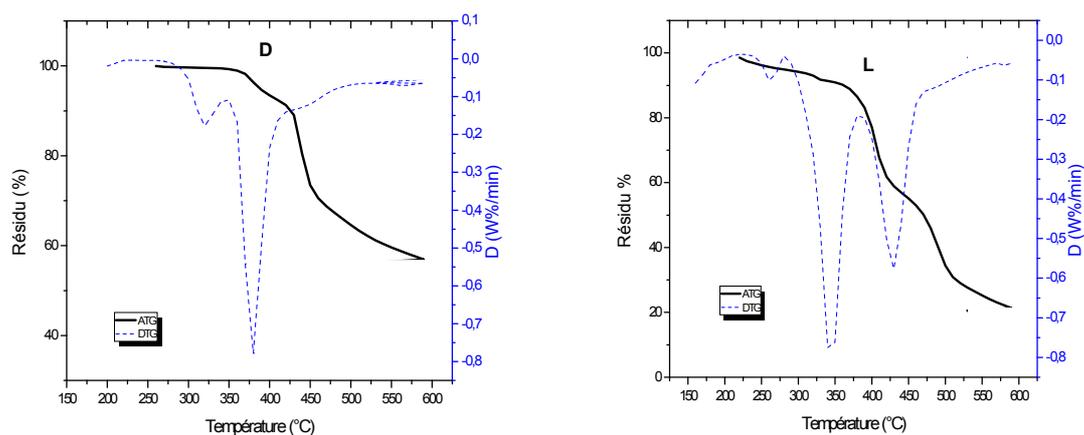


Fig.III.12. Thermogrammes ATG-DTG des PA :
Doxycycline Hyclate (D) et chlorhydrate de Lévomépromazine (L).

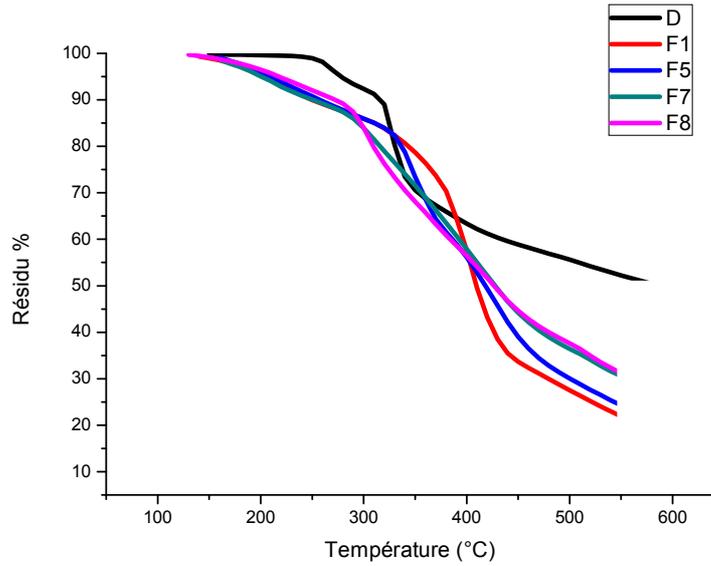


Fig.III.13. Thermogrammes ATG des composés F1, F5, F7, F8 et de la Doxycycline Hyclate (D).

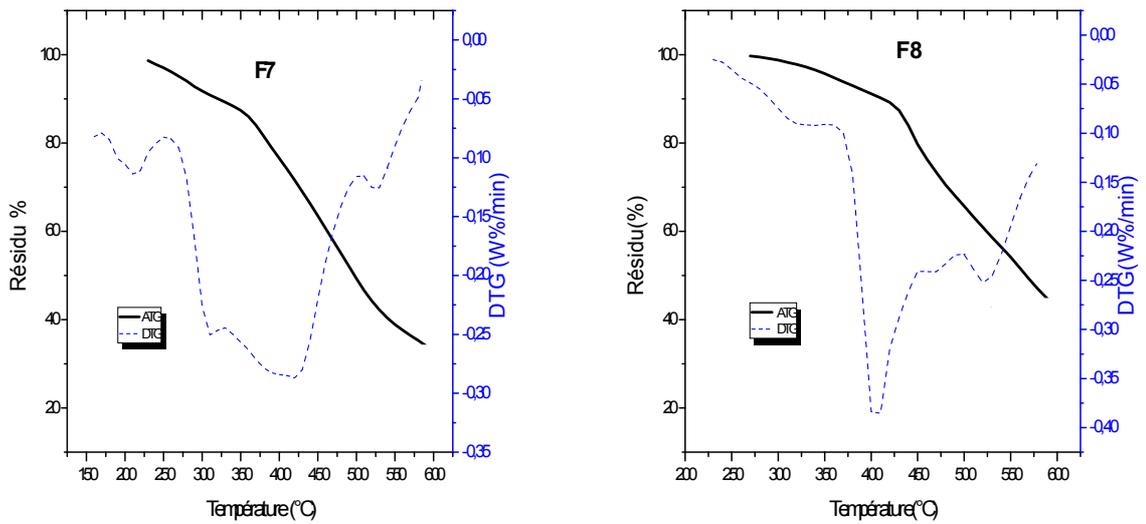


Fig.III.14. Thermogrammes ATG-DSC des composés à base de la Doxycycline Hyclate : F7 et F8.

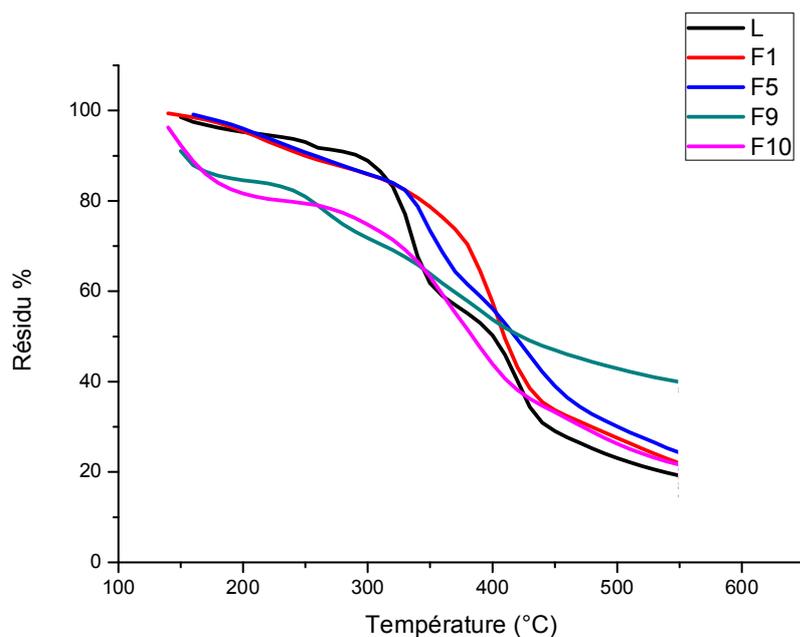


Fig. III.15. Thermogrammes ATG des composés F1, F5, F9, F10 et de la chlorhydrate de Lévomépromazine (L).

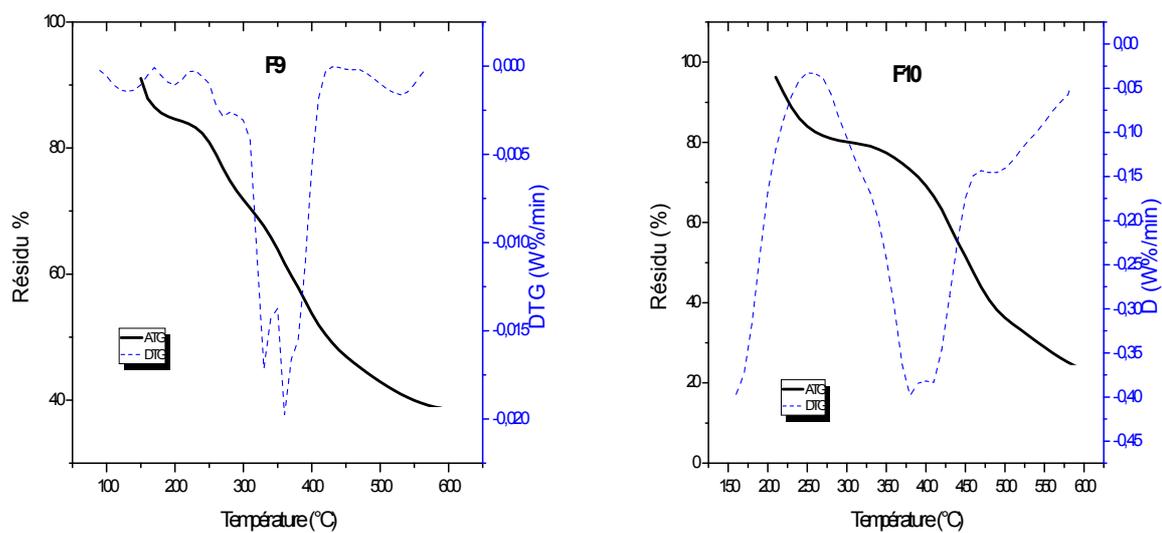


Fig. III.16. Thermogrammes ATG / DTG des composés à base de chlorhydrate de Lévomépromazine : F9 et F10.

Tableau III.5. T_{max} déduits à partir des thermogrammes de la Doxycycline Hyclate, du chlorhydrate de Lévomépromazine et des formulations F1, F5, F7-F10.

Composé	T _{max} (°C)						
	110-180	221-235	260-290	300-330	350-380	409-425	445-489
D	160	221	286	/	/	409	/
L	110-141	222	/	309	370	/	464
F1	/	237	278	312	350	421	/
F5	/	217	/	/	350	422	486
F7	174	221	/	310	351	419	449
F8	174	230	289	/	376	439	489
F9	131	232	268	329	371	/	476
F10	159	222	/	304	380	419	488

III.2. Etudes biologiques

III.2.1. Etude de la perméation du P.A. in vitro

III.2.1.1. Doxycycline Hyclate

La **figure III.17** illustre les valeurs des concentrations de la Doxycycline ayant traversé les barrières biologiques installées au niveau de la cellule de Franz.

La concentration du milieu du compartiment donneur est de 50mg/L ; les courbes de perméation présentent des valeurs qui augmentent avec le temps et qui atteignent dans le compartiment récepteur les 49mg/L pour la perméation à travers l'épithélium buccal et 36mg/L pour la perméation à travers le derme.

Ces résultats prouvent que la Doxycycline Hyclate possède une capacité de perméation à travers les barrières biologiques des parois buccale et dermique avec un pourcentage qui dépasse 99% et 80% respectivement de la concentration initiale pour les 9 premières heures.

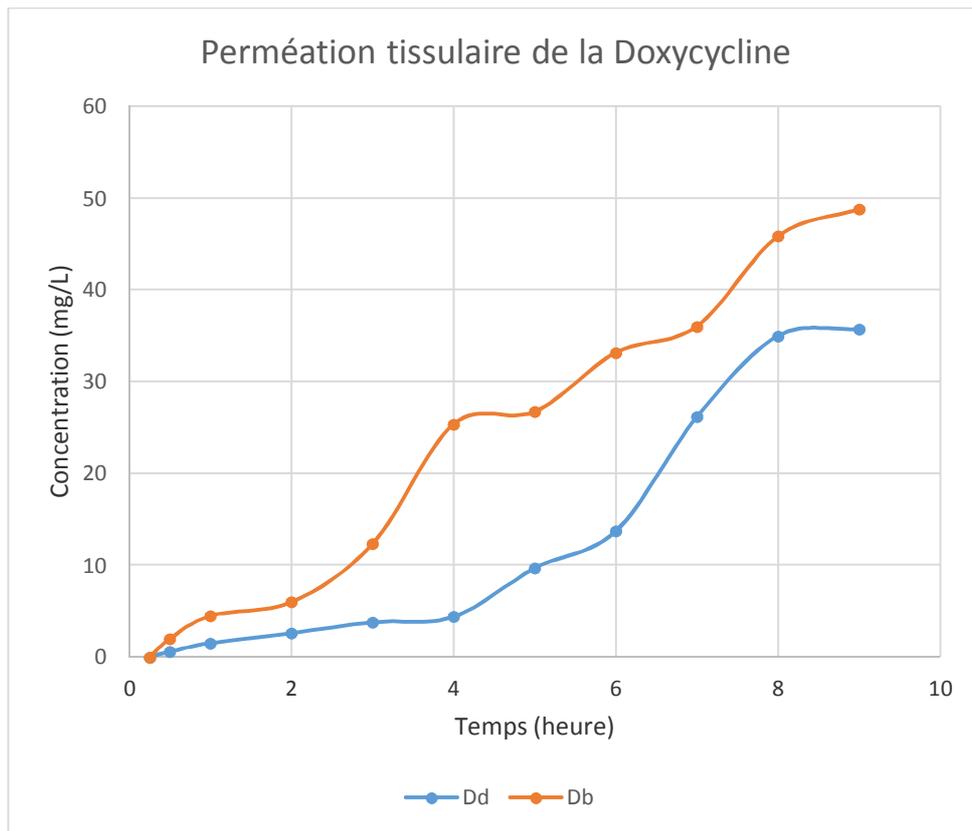


Fig. III.17. Perméation tissulaire de la Doxycycline ; (Dd) : à travers le derme, (Db) : à travers l'épithélium buccal.

III.2.1.2. Chlorhydrate de Lévomépromazine

La **figure III.18** illustre les valeurs des concentrations de la Lévomépromazine dans le compartiment récepteur de la cellule de Franz.

La concentration du milieu du compartiment donneur est de 20 mg/L ; les courbes de perméation présentent des valeurs qui augmentent avec le temps (les concentrations maximales de 2,3mg/L pour la perméation à travers le derme et 1,5 mg/L à travers l'épithélium buccal ; soit des pourcentages maximaux respectifs de 12,5% et 7,5%).

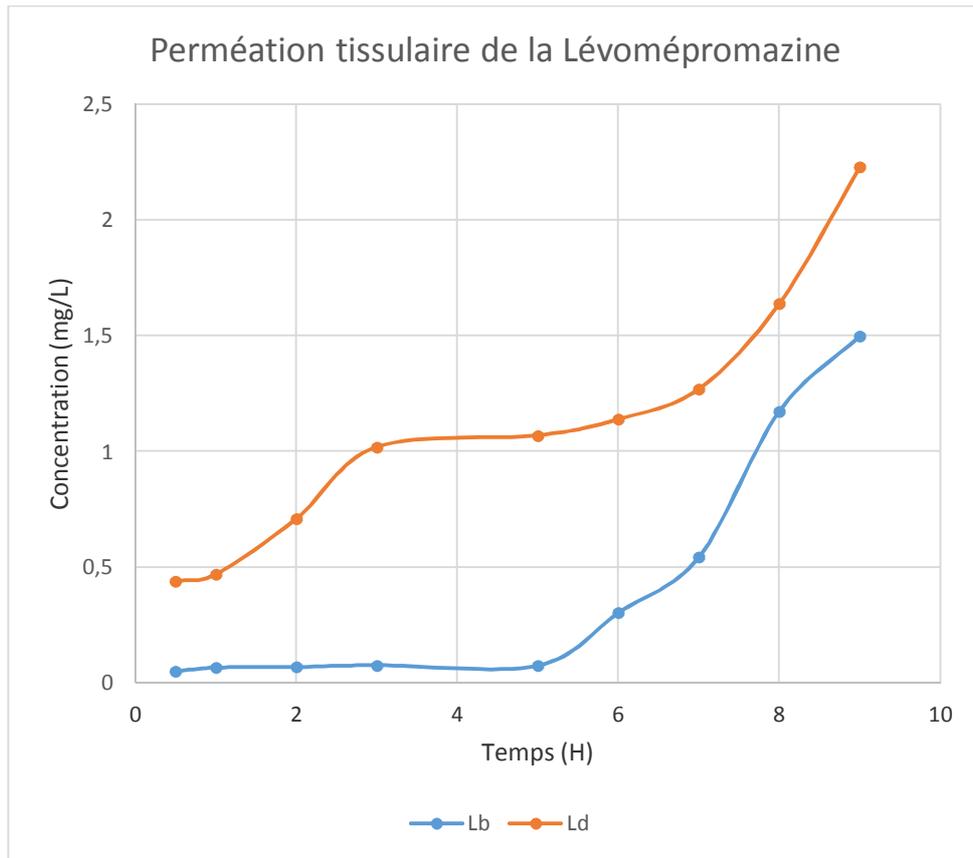


Fig.III.18. Perméation tissulaire de la Lévomépromazine ; (Ld) : à travers le derme, (Lb) : à travers l'épithélium buccal.

III.2.2. Temps d'adhésion sur les tissus biologiques

Les films F7-F10 ont montré une excellente adhésion au derme pendant une période d'essai allant jusqu'à 48h (**Fig.III.19**). Ce phénomène est expliqué selon **Pritchard et al., (1996)** par la présence des groupements -COOH responsables de l'adhésion des polymères aux cellules biologiques par la formation de liaison hydrogène tandis que les patches soumis aux conditions du milieu buccal ont résidé très peu de temps sur la muqueuse buccale (entre 7min et 9min). Cette vitesse de détachement est attribuée à l'influence de la composition ionique du milieu PBS sur la surface des patches inhibant ainsi la formation de liaisons polymères-cellules épithéliales (**Pradesh et al., 2012**).

En revanche, l'essai sur la peau humaine (**Fig. III.20**) a démontré une parfaite adhésion des films sur cette dernière.

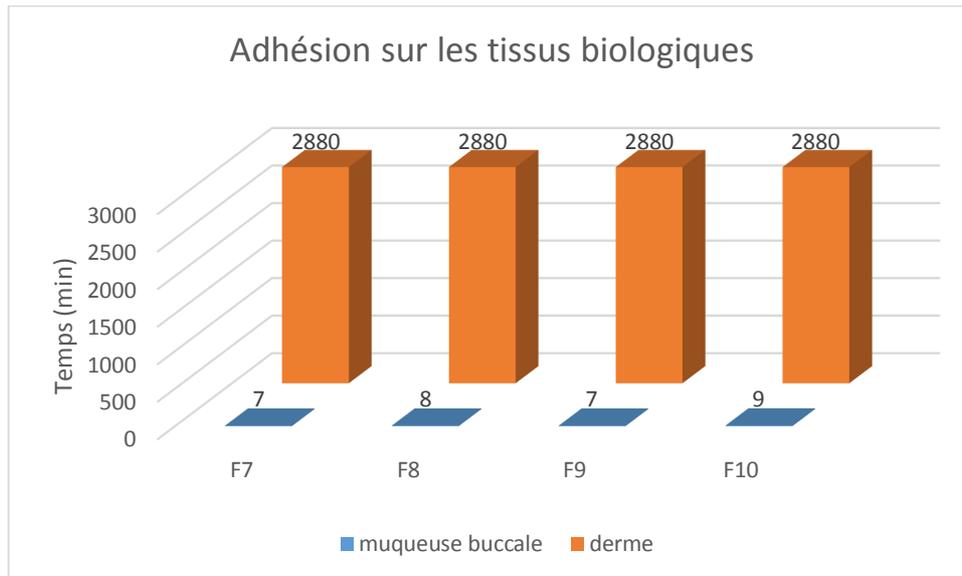


Fig.III.19. Temps d'adhésion des films F7, F8, F9 et F10 sur les tissus biologiques.

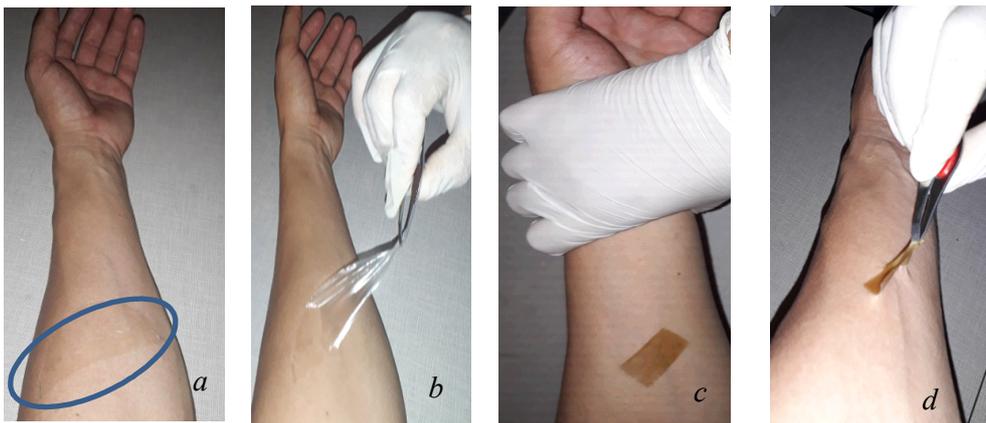


Fig. III.20. Adhésion des patches sur le derme ; **F5** : (a) : film collé et (b) : décollement du film ; **F8** : (c) : film collé et (d) : décollement du film.

III.2.3 Test de libération *in vitro*

III.2.3.1. Doxycycline Hyclate

L'étude *in vitro* de la libération de la Doxycycline Hyclate (**Fig. III.21**) a montré que la libération à partir de la formulation **F8** (OCMC/Gel) s'est avérée plus rapide (35%) que celle obtenue avec la formulation **F7** (CMC/Gel) (25%) au bout de 24h ; cela peut être attribué à

l'augmentation de l'hydrophilie de la CMC après son oxydation, d'une part, et à la diminution de la viscosité de l'OCMC après son oxydation d'autre part (**Chetouani *et al.*, (2017)**). Ce qui est en accord avec **Habib *et al.*, (2017)** qui ont testé la libération de Lornoxicam avec différents polysaccharides et ils ont conclu que la libération du principe actif était plus élevée dans le cas des polymères de faible viscosité permettant ainsi la diffusion du principe actif.

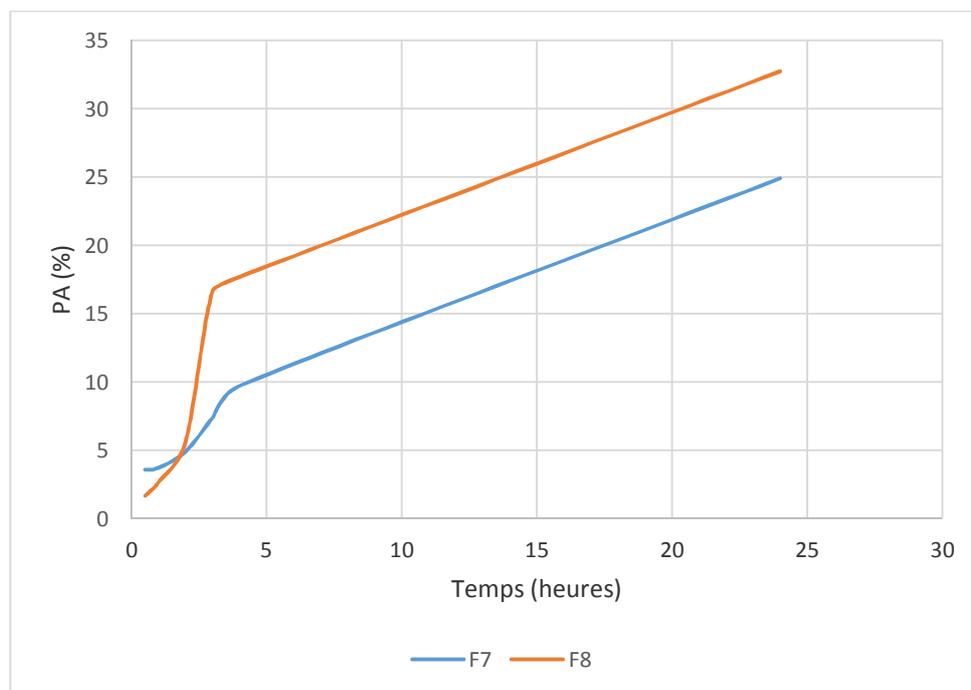


Figure III.21. Libération de la Doxycycline hyclate à partir de F7 et F8.

III.2.3.1. Chlorhydrate de Lévomépromazine

La libération à partir de F9 et F10 de la Lévomépromazine est présentée dans la **Figure III.22**. En effet, l'équilibre entre le milieu récepteur et le réseau macromoléculaire du patch est atteint au bout d'une heure aux environs de 32 % pour la formulation OCMC/Gel (F10) ; alors que la formulation CMC/Gel (F9) a libéré le principe actif d'une façon ascendante tout au long des 24 heures pour atteindre un pourcentage de 29 % à la fin du test.

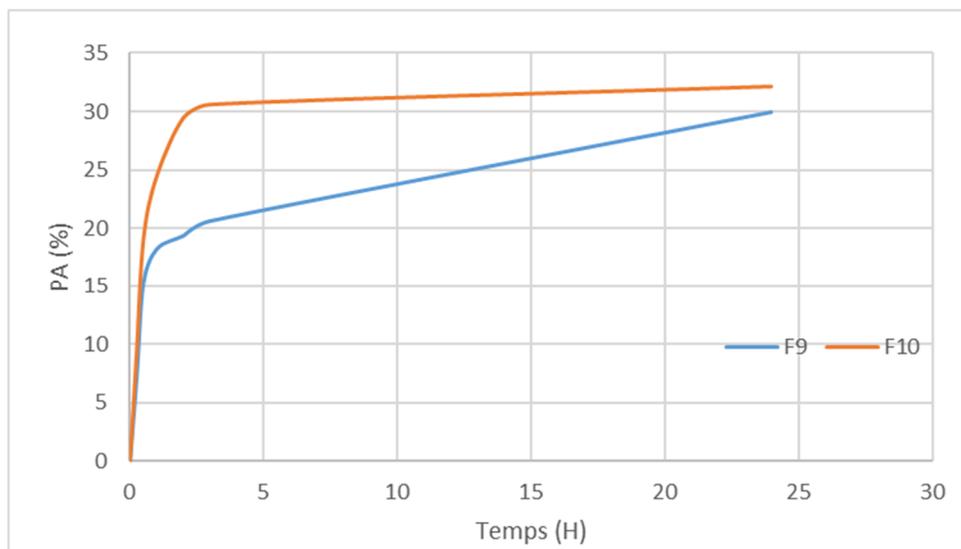


Figure III.22. Libération de la Lévomépromazine à partir des patchs F9 et F10.

III.2.5. Etudes d'irritation cutanée

Les résultats obtenus à partir des films testés (F1, F5 et F7-F10) n'ont révélé aucun signe d'inflammation, d'érythème ou d'œdème, sur la peau du lapin sur une période de 24h ; cette observation est expliquée par la biocompatibilité des matériaux utilisés (**Prabhu *et al.*, 2011**), d'une part et surtout des pHs proches de ceux des milieux physiologiques, d'autre part. Les patchs sont donc jugés dermocompatibles.

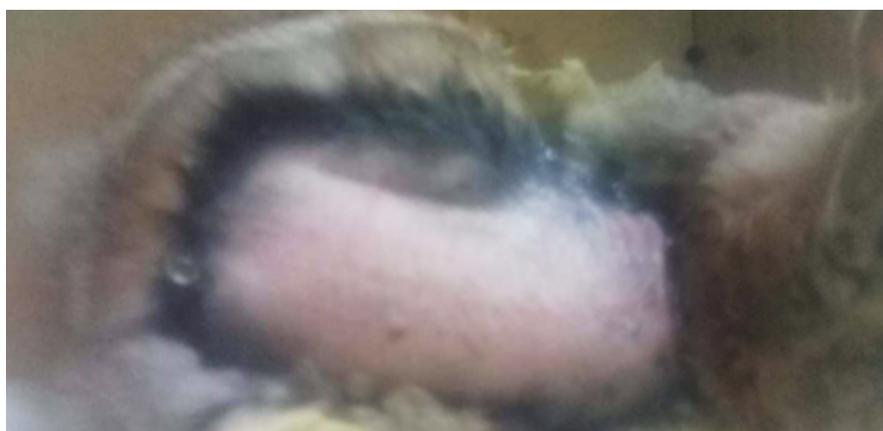


Fig. III.23. Test d'irritation cutanée après l'application des patchs sur le dos d'un lapin au bout de 24heures.

Conclusion

Nous nous sommes consacrés au cours de la réalisation de ce chapitre, dans un premier temps, à la mise au point de la préparation de films hydrogels à base de CMCs (CMC ou OCMC), de gélatine, de PVA et du glycérol. Ces films vont servir, dans un deuxième temps, de supports pour deux principes actifs, la Doxycycline Hyclate et le chlorhydrate de Lévomépromazine.

Après observation des paramètres physiques, il ressort que les films que nous avons choisis possèdent une bonne apparence physique, des pHs neutres proches de ceux des milieux physiologiques et une bonne flexibilité.

Le test gonflement de nos films montre que les réseaux filmogènes de la série OCMC/Gel sont plus résistants et ne présentent aucune désintégration au fil du temps, la stabilité de ces systèmes permet la rétention de l'eau pendant plus de 3 heures. Par ailleurs, Il est à noter que les valeurs du taux de gonflement diminuent avec l'augmentation de la concentration de CMCs pour les deux séries.

En revanche, l'essai de traction nous a fourni des informations précieuses sur le comportement mécanique de nos films. Il a montré que les compositions F1 et F3 possèdent les plus hautes résistances à la traction ($\sigma_{F1} = 18,9 \text{ N/mm}^2$, $\sigma_{F3} = 17,5 \text{ N/mm}^2$). Alors que F2 présente une augmentation rapide de la résistance avec une ductilité faible par rapport à la F5 qui exhibe un comportement plastique ductile de grande déformation, que F6 a un comportement fragile à la rupture d'une faible déformation alors que la F4 manifeste une déformation plus ou moins importante mais qui reste faible par rapport aux autres films en termes de résistance et déformation.

Pour ce qui est des pourcentages élevés de Gmax obtenus à travers le test d'absorption de la salive pour les formulations F1 et F5 (430 et 488% respectivement) par rapport aux Gmax observés dans de l'eau distillée (50 et 287 % respectivement), ils sont dus à la nature ionique du milieu de salive simulée qui est responsable de la formation d'un réseau continu entre les différents composants des films.

Par ailleurs, l'homogénéité de ces derniers est prouvée par les valeurs proches de poids, d'opacité, d'humidité relative et du contenu en principe actif.

La compatibilité entre les différents composants des films et les principes actifs est confirmée par thermogrammes ATG/ATD correspondants.

Cependant, les études de la perméation, de la libération et du contenu en principes actifs ont exprimés de bons résultats prouvant que la Doxycycline Hyclate et le chlorhydrate de Lévomépromazine constituent des choix intéressants pour leur application par voie topique.

En outre, le temps d'adhésion des patchs sur le derme est plus long (de 48h) par rapport à la muqueuse buccale (moins de 10 min). Enfin, le test d'irritation *in vivo* atteste la dermocompatibilité de nos patchs.

Conclusion Générale

Les travaux entrepris dans cette thèse s'intéressent à la carboxyméthylcellulose (NaCMC), un des biopolymères très sollicités dans le domaine alimentaire et pharmaceutique.

Le but global de nos travaux est d'améliorer ou de d'apporter de nouvelles caractéristiques à cet hydrogel par modifications chimiques non destructives et douces tout en respectant également l'environnement en utilisant des solvants et des réactifs non toxiques et en quantités catalytiques.

En premier lieu, une étude bibliographique approfondie nous a permis de s'intéresser aux groupements carboxyles de la CMC jugés responsables de diverses propriétés intéressantes sur les plans physico-chimiques et biologiques de ce biomatériau.

Pour cela, nous avons tout d'abord étudié l'impact de l'acidification de la NaCMC par l'acide chlorhydrique sur les propriétés biologiques. En effet, la réduction de la teneur en Na dans le squelette polysaccharidique a permis d'apercevoir un réarrangement de la conformation structurale de la NaCMC confirmé par les différentes analyses physico-chimiques effectuées (FT-IR, FRX, UV-Vis), d'une part ; et d'autre part, nous avons observé à travers des études de la capacité hémostatique, de la mucoadhésion et de la biodégradation de nettes améliorations par rapport au composé de départ, la NaCMC.

Par ailleurs et dans un second volet de notre thèse, en s'appuyant sur les résultats des travaux de recherche antérieurs qui démontrent que les composés anioniques sont très recherchés dans le domaine du vivant, ces composés interagissent avec les ammoniums des milieux biologiques. Nous nous sommes dans cette optique lancés dans l'augmentation du degré d'oxydation de la CMC par transformation des hydroxyles en C6 en groupements carboxyles. La réaction entreprise est régiosélective dont le système d'oxydation utilisé est le TEMPO/NaOCl/NaBr. L'oxydation a été menée avec succès. Toutes les méthodes de caractérisation confirment que les carboxyles se sont formés. Après isolement de la OCMC, le couplage par réticulation avec le chitosane (CS) a été investigué dans le but d'obtenir un nouveau matériau présentant des caractéristiques exploitables dans le génie tissulaire surtout. Là, une série d'analyses qualitatives et quantitatives a été alors lancée pour caractériser les nouvelles matrices obtenues (dosages chimiques, analyses spectroscopiques, thermiques et mécaniques), les résultats obtenus ont tous confirmé que les CMCs (NaCMC ou OCMC) ont formés de nouveaux réseaux interpénétrés en présence de CS.

En outre, à travers les analyses biologiques effectuées (la biocompatibilité avec le sang humain, le test dynamique de coagulation sanguine, l'activité anti-inflammatoire, l'étude de la mucoadhésion et le test de biodégradation), il s'est révélé que nos matrices sont non

hémolytiques, elles présentent de bonnes propriétés hémostatiques, ont une capacité inhibitrice de la dénaturation des protéines, sont mucoadhésifs et biodégradables.

Enfin et dans un troisième et dernier volet de notre thèse, nous avons conçu de nouveaux films ou patches à base de CMCs. Pour ce faire, nous avons choisi d'améliorer ses propriétés mécaniques par l'ajout de la gélatine, du PVA et du glycérol. Nos films ont servi aussi ensuite de supports pour deux principes actifs, la Doxycycline Hyclate et le chlorhydrate de Lévomépromazine. Les différents tests effectués sur nos films (physiques, chimiques, mécaniques, thermiques et biologiques) ont montré d'excellents résultats en matière de qualité, de stabilité et d'efficacité. Ils sont dermocompatibles, adhésifs à la couche dermique et libèrent les principes actifs choisis de façon continue dans le temps.

En perspective, il est nécessaire dans le futur de compléter ces études pour pouvoir exploiter ces matériaux (industriellement ou dans le domaine de la recherche) par :

- des études de morphologie plus approfondies qui doivent être menées pour mieux comprendre le lien avec les résultats biologiques. Prenons par exemple, les études microscopiques et radiocristallographiques.
- des études de toxicité en faisant appel aux cellules souches, aux organes ou aux animaux.
- des évaluations microbiologiques (bactériologiques ou fongiques).
- des modèles mathématiques pour mieux établir le type de libération médicamenteuse à partir de nos matériaux.

Références bibliographiques

A

- Abdel-Hamid M I, Khairou K S & Hassan R M (2003) Kinetics and mechanism of permanganate oxidation of pectin polysaccharide in acid perchlorate media. *European Polymer Journal* 39(2):381–387. doi:10.1016/s0014-3057(02)00217-3
- Andreopoulos A G (1989) Hydrophilic polymer networks for agricultural uses. *European Polymer Journal* 25:977–979. <https://doi.org/10.1190/segam.2013-0137.1>
- Agarwal T, Narayana SNGH, Pal K, Pramanik K, Giri S & Banerjee I (2015) Calcium alginate-carboxymethylcellulose beads for colon-targeted drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules* 75:409–417. <https://doi.org/10.1016/j.ijbio.mac.2014.12.052>
- 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* 3:623–627. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60126-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60126-4)
- Ankareddi I & Christopher S B (2007) Synthesis and characterization of grafted thermosensitive hydrogels for heating activated controlled release. *International Journal Of Pharmaceutics* 336:241–47. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.11.065>
- Aspinall G O (1970) Classification of polysaccharides. In : The polysaccharides. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-05538-7>
- Azeredo H M C & Waldron K W (2016) Trends in food science & technology crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact A Review. *Trends in Food Science & Technology* 52:109–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.008>

B

- Bajpai A K, Shukla S K, Bhanu S & Kankane S (2008) Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science* 33:1088–1118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.005>
- Barbeck M, Serra T, Booms P, Stojanovic S, Najman S, Engel E & Ghanaati S (2017) Analysis of the *in vitro* degradation and the *in vivo* tissue response to bi-layered 3D-printed scaffolds combining PLA and biphasic PLA/bioglass components—Guidance of the inflammatory response as basis for osteochondral regeneration. *Bioactive Materials* 2(4):208–223. doi:10.1016/j.bioactmat.2017.06.001
- Barreto P L M, Pires A T N & Soldi V (2003) Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. *Polymer Degradation and Stability* 79(1):147–152. doi:10.1016/s0141-3910(02)00267-7
- 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. *Biocybernetics and Biomedical Engineering* 37:94–102. <https://doi.org/10.1016/j.bbe.2016.09.003>
- Billiet T, Vandehaute M, Schelfhout J, Van Vlierberghe S & Dubruel P (2012) A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Biomaterials* 33(26):6020–6041. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.04.050
- Boccaro G (2012) Les patches dans la douleur aigüe. Le congrès: Évaluation et traitement de la douleur. *École du Val-de-Grâce*. https://sofia.medicalistes.fr/spip/IMG/pdf/Les_patches_dans_la_douleur_aigue.pdf
- Borges A F, Silva C, Coelho J F J & Simões S (2015) Oral films: Current status and future perspectives. *Journal of Controlled Release* 206:1–19. doi:10.1016/j.jconrel.2015.03.006
- Bragd P L, Bekkum H V & Besemer A C (2004) TEMPO-mediated oxidation of polysaccharides : survey of methods and applications. *Topics in Catalysis* 27:49-66. <https://doi.org/10.1023/B:TOCA.0000013540.69309.46>
- Buanz A B M, Belaunde C C, Soutari N, Tuleu C, GulM O & Gaisford S (2015) Ink-jet printing versus solvent casting to prepare oral films: Effect on mechanical properties and physical stability.

C

- Cao W, Cheng M, Ao Q, Gong Y, Zhao N & Zhang X (2005) Physical, mechanical and degradation properties, and Schwann cell affinity of cross-linked chitosan films. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 16:791–807.
<https://doi.org/10.1163/1568562053992496>
- Caramella C M, Rossi S & Bonferoni M C (1999) A rheological approach to explain the mucoadhesive behavior of polymer gels. In: Mathiowitz E, Chickering III DE, Lehr CM (eds) *Bioadhesive drug delivery systems fundamentals, novel approaches, and development*. Marcel Dekker, New York, pp 25-65
- Carlsson DO, Lindh J, Nyholm L, Stromme M & Mihranyan A (2014) Cooxidant-free TEMPO-mediated oxidation of highly crystalline nanocellulose in water. *RSC Advances* 4:52289–52298.
<https://doi.org/10.1039/C4RA11182F>
- Casaburi A, Rojo Ú M, Cerrutti P, Vázquez A & Foresti L (2017) Carboxymethyl cellulose with tailored degree of substitution obtained from bacterial cellulose. *Food Hydrocolloids* 75:147-156.
- Castro P M, Fonte P, Sousa F, Madureira A R, Sarmiento B & Pintado M E (2015) Oral films as breakthrough tools for oral delivery of proteins/peptides. *Journal of Controlled Release* 211:63–73. doi:10.1016/j.jconrel.2015.05.258
- Cerchiara T, Abruzzo A, Parolin C, Vitalia B, Biguccia F, Galluccib M C, Nicolettac F P & Luppi B (2016) Microparticles based on chitosan/carboxymethylcellulose polyelectrolyte complexes for colon delivery of vancomycin. *Carbohydrate Polymers* 143:124–130.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.020>
- Chai Q, Jiao Y & Yu X (2017) Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them. *Gels* 3(1):6. doi:10.3390/gels3010006
- Chan A W & Neufeld R J (2009) Biomaterials modeling the controllable pH-responsive swelling and pore size of networked alginate based biomaterials. *Biomaterials* 30(30):6119–29.
- Chang P S & Robyt J F (1996) Oxidation of primary alcohol groups of naturally occurring polysaccharides with 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidine oxoammonium ion. *Journal of Carbohydrate Chemistry* 15(7):819–830. doi:10.1080/07328309608005694
- Chatterjee S & Chi-leung H P (2019) Stimuli-responsive hydrogels: an interdisciplinary overview. hydrogels-smart materials for biomedical applications.
doi:10.5772/intechopen.80536
- 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. doi:10.1016/j.carbpol.2009.05.019
- Chetouani (2015) Élaboration et bio évaluation de nouvelles classes d'hydrogels à base de pectine avant et après son oxydation par le periodate et/ou par le chlore actif et étude de leurs effets sur les comportements physico-chimiques et biologiques de la gélatine et du chitosane. *Doctorat en Sciences. Université Sétif-1*.
- Chetouani A, Elkolli M, Bounekhel M & Benachour D (2017) Chitosan/oxidized pectin/PVA blend film: mechanical and biological properties. *Polymer Bulletin* 74:4297–4310.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00289-017-1953-y>
- Chetouani A, Follain N, Marais S, Rihouey C, Elkolli M, Bounekhel M, Benachour D & Le Cerf D (2017) Physicochemical properties and biological activities of novel blend films using oxidized pectin/chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* 97:348–356. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.018
- Crini G (2005) Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. *Progress in Polymer Science* 30(1):38–70.
doi:10.1016/j.progpolymsci.2004.11.002

D

- Dang Z, Zhang J & Ragauskas A J (2007) Characterizing TEMPO-mediated oxidation of ECF bleached softwood kraft pulps. *Carbohydrate Polymers* 70:310–317.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.04.014>
- Daniele M A, Adams A A, Naciri J, North S H & Ligler F S (2014) Biomaterials interpenetrating networks based on gelatin methacrylamide and PEG formed using concurrent thiol click chemistries for hydrogel tissue engineering scaffolds. *Biomaterials* 35(6):1845–56.
- Danneels B, Tanghe M, Joosten H-J, Gundinger T, Spadiut O, Stals I & Desme T (2017) A quantitative indicator diagram for lytic polysaccharide monooxygenases reveals the role of aromatic surface residues in H₂LPMO9A regioselectivity. *PLoS ONE* 12(5):e0178446.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178446>
- Ding B, Cheng J, Wang K, Luo J & Jiang B (2008) TEMPO-mediated selective oxidation of substituted polysaccharides — an efficient approach for the determination of the degree of substitution at C-6. *Carbohydrate Research* 343(18):3112–16.
- Ding R, Yu X, Wang P, Zhang J, Zhou Y, Cao X & Tang H (2016) RSC advances hybrid photosensitizer based on amphiphilic block copolymer stabilized silver nanoparticles for highly efficient photodynamic inactivation of bacteria. *RSC Advances* 6:20392–20398.
- Dixit R P & Puthli S P (2009) Oral strip technology: Overview and future potential. *Journal of controlled release* 139(2):94–107.
- Duan J & Kasper D L (2011) Oxidative depolymerization of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen species. *Glycobiology* 21(4):401–9.
- Duhoanimana E, Karangwa E, Lai L F, Xu X, Yu J, Xia S, Zhang X, Muhoza B & Habinshuti I (2017) Effect of sodium carboxymethylcellulose on complex coacervates formation with gelatin: Coacervates characterization, stabilization and formation mechanism. *Food Hydrocolloids* 69: 111–120.

E

- El-Kamel A H, Ashri L Y & Alsarra I A (2007) Micromatrical metronidazole benzoate film as a local mucoadhesive delivery system for treatment of periodontal diseases. *AAPS PharmSciTech* 8(3):E184–E194. doi:10.1208/pt0803075
- El-sayed S K, Mahmoud H, Fatah A A & Hassen A (2011) DSC, TGA and dielectric properties of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blends. *Physica B: Physics of Condensed Matter* 406(21):4068–4076.

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: 2119-2132.
<https://doi.org/10.1163/092050611X611675>
- Fan L, Yang H, Yang J & al. (2016) Preparation and characterization of chitosan/gelatin/PVA hydrogel for wound dressings. *Carbohydrate Polymers* 146(1):427-434.
DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.03.002.
- Feurtet A (2016) Des formes topiques classiques aux formes transdermiques : formulation et procédés. *Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Joseph-Fourier de Grenoble.*
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01366767/document>
- Floor M, Schenk K M, Kieboom A P G & Van Bekkum H (1989) Oxidation of maltodextrins and starch by the system tungstate-hydrogen peroxide. *Starch-Stärke* 41(8):303–309.
doi:10.1002/star.19890410806

G

- Ghasemi M, Laleh, Molamma P, Prabhakaran & Mohammad M (2008) Biomaterials for nerve tissue engineering. *Progress Polymer Science* 29:4532–39. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.08.007
- Gil E S & Hudson S M (2004) Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Progress Polymer Science* 29:1173–1222. doi:10.1016/j.progpolymsci.2004.08.003
- Gu Hongbo, Jinmei He, Yudong Huang & Zhanhu Guo (2013) Fabrication of oxidized sodium carboxymethylcellulose from viscose fibers and their viscosity behaviors. *Fibers and Polymers* 14(8):1266–67. doi:10.1007/s12221-013-1266-1
- Güngör S, Sedef M & Zsoy Y (2012) Plasticizers in transdermal drug delivery systems. *Recent Advances in Plasticizers*. doi:10.5772/38156
- Guo R, Du X, Zhang R, Deng L, Dong A & Zhang J (2011) Bioadhesive film formed from a novel organic–inorganic hybrid gel for transdermal drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 79:574–83.
- Gupta P, Vermani K & Garg S (2002) Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today* 7(10):569–579. doi:10.1016/s1359-6446(02)02255-9

H

- Habib F, Abdel Azeem M, Fetih G & Safwat M (2017) Mucoadhesive buccal patches of lornoxicam : I- Development and in-vitro characterization. *Bulletin Pharmaceutical Sciences* 33(1):59-68.
- Hamidi M, Azadi A & Rafiei P (2008) Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60(15):1638–1649. doi:10.1016/j.addr.2008.08.002
- Hanif M, Zaman M & Chaurasiya V (2014) Polymers used in buccal film: A Review. *Designed Monomers and Polymers* 18(2):105–111. doi:10.1080/15685551.2014.971389
- Hao J, Lu J, Xu N, Linhardt R J & Zhang Z (2016) Specific oxidation pattern of soluble starch with TEMPO-NaBr-NaClO system. *Carbohydrate Polymers* 146:238–244. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.040>
- Hashemi M, Ramezani V, Seyedabadi M, Ranjbar A M, Jafari H, Honarvar M & Fanaei H (2017) Formulation and optimization of oral mucoadhesive patches of Myrtus communis by box Behnken design. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 7(3):441–450. doi:10.15171/apb.2017.053
- 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. Doi:10.1021/Jo01152a023
- He N, Wang R, He Y & Dang X (2012) Fabrication, structure and surface charges of albumin-chitosan hybrids. *Science China Chemistry* 55:1788–1795. <https://doi.org/10.1007/s11426-012-4604-z>
- 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. doi:10.1016/j.carbpol.2010.09.057

I

- Irfan M, Rabel S, Bukhtar Q, Qadir M I, Jabeen F & Khan A (2016). Orally disintegrating films: A modern expansion in drug delivery system. *Saudi Pharmaceutical Journal* 24(5):537–546. doi:10.1016/j.jsps.2015.02.024
- Isogai A, Saito T, Shibata I, Masahiro Y, Yumiko k, Kengo M & Naoto H (2005) TEMPO-mediated oxidation of celluloses. *In: Appita Annual Conference*. pp 237–241

J

- J Swarbrick (2002) Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. ed. *Dekker*
- Jantratid E, Strauch S, Becker C, Dressman J B, Amidon G L, Junginger H E & Kopp S (2009)

Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms : Doxycycline Hyclate. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99(4):1639–53.

- 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. doi:10.1016/j.ijbiomac.2006.06.021
- Jiang J, Meng F Y, He Z, Ning Y L, Li X H., Song H & Zhou R (2014). Sulfated modification of long an polysaccharide and its immunomodulatory and antitumor activity in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules* 67:323–329. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.03.030
- Jiang X, Yang Z, Peng Y, Hana B, Lia Z, Lia X & Liu W (2016) Preparation, characterization and feasibility study of dialdehyde carboxymethylcellulose as a novel crosslinking reagent. *Carbohydrate Polymers* 137:632–641. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.064>

K

- Kamel S & Jahangir K (2007) Optimization of carboxymethylation of starch in organic solvents. *International Journal of Polymeric Materials* 56(5):511–519. doi:10.1080/00914030600945770
- Karki S, Kim H, Na S J, Shin D, Jo K & Lee J (2016) Thin films as an emerging platform for drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 11(5):559–574. doi:10.1016/j.ajps.2016.05.004
- Kathe K & Kathpalia H (2017) Film Forming Systems for Topical and Transdermal Drug Delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* 12(6):487–97.
- Kato Y, Kaminaga J, Matsuo R & Isogai A (2004) TEMPO-mediated oxidation of chitin, regenerated chitin and N-acetylated chitosan. *Carbohydrate Polymers* 58:421–426. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.011>
- Khairnar A, Parridhi J, Dheeraj B & Dinesh J (2014) Development of mucoadhesive buccal patch containing aceclofenac : *In vitro* evaluations. *International Journal of PharmTech Research* 1(4): 978-981
- Kharazmi A, Faraji N, Mat Hussin R, Saion E, Yunus W M M & Behzad K (2015) Structural, optical, opto-thermal and thermal properties of ZnS–PVA nanofluids synthesized through a radiolytic approach. *Beilstein: Journal of Nanotechnology* 6:529–536. doi:10.3762/bjnano.6.55
- Kim M S, Hyun J Y, Mi K Y, Kim N S, Shim B S & Kim H M (2004) Inhibitory effect of water-soluble chitosan on TNF- α and IL-8 secretion from HMC-1 cells. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 26:401–409. <https://doi.org/10.1081/IPH-200026887>
- Kulikowska A, Wasiak I & Ciach T (2014) Synthesis of Carboxymethylcellulose Nanoparticles Using Various Coiling Agents. *Biomedical Engineering* 53(4):268-269.
- Kirsti P, Leppänen A S , Andmajja T N, Leena P, Reunanen M, Willfor S & Tenkanen M (2010) Oxidation of polysaccharides by galactose oxidase. *Food Sciences* 58:262–71.
- Klein-Koerkamp C, Granet R, Zerrouki R, Villandier N, Jérôme F, Barrault J & Krausz P (2009) Efficient oxidative modification of polysaccharides in water using H₂O₂ activated by iron sulfophthalocyanine. *Carbohydrate Polymers* 78(4):938–944. doi:10.1016/j.carbpol.2009.07.021
- Klouda L & Mikos A G (2008) Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 68(1):34–45. doi:10.1016/j.ejpb.2007.02.025
- Kumar D, Pandey J, Raj V & Kumar P (2017) A review on the modification of polysaccharide through graft copolymerization for various potential applications. *The Open Medicinal Chemistry Journal* 11(1):109–126. doi:10.2174/1874104501711010109
- Kumar M N (2000) A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers* 46:1–27. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)

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* 184:219–226. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(99\)00098-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00098-8)

L

Laschet M, Plog J P, Clasen C, Kulicke W M (2004) Examination of the flow behaviour of HEC and hmHEC solutions using structure-property relationships and rheo-optical methods. *Colloid and Polymer Science* 282:373–380. <https://doi.org/10.1007/s00396-003-0949-3>

Le Roux J (2003) Modification Des Fibres Cellulosiques Amélioration Des Propriétés Hydrophiles Des Pates Bisulfites. *Thèse de Doctorat en Chimie Organique. Université Bordeaux 1.*

Lee D, Powers K & Baney R (2004) Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 58:371–377. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.06.033>

Li H, Wu B, Mu C & Lin W (2011) Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethylcellulose. *Carbohydrate Polymers* 84:881–886. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.026>

Li L, Gu J, Zhang J, Xie Z, Lu Y, Shen L & Wang Y (2015) Injectable and Biodegradable pH-Responsive Hydrogels for Localized and Sustained Treatment of Human Fibrosarcoma. *ACS Applied Materials & Interfaces* 7(15):8033–8040. doi:10.1021/acsami.5b00389

Lin Q, Gao M, Chang J & Ma H (2016) Adsorption properties of crosslinking carboxymethylcellulose grafting dimethyldiallylammonium chloride for cationic and anionic dyes. *Carbohydrate Polymers* 151:283–294. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.064>

Liu Y, Tang Q, Duan X, Tang T, Ke Y, Zhang L & Hu B (2018) Antioxidant and anticoagulant activities of mycelia polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* after sulfated modification. *Industrial Crops and Products* 112:53–60. doi:10.1016/j.indcrop.2017.10.064

Liu Y, You Y, Li Y, Zhang L, Tang T, Duan X & Chen D (2017) Characterization of carboxymethylated polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* and their antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods* 38:355–362. doi:10.1016/j.jff.2017.09.050

Liuyun J, Yubao L & Chengdong X (2009) Preparation and biological properties of a novel composite scaffold of nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethylcellulose for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Science* 10:1–10. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-16-65>

Lu G, Kong L, Sheng B, Wang G, Gong Y & Zhang X (2007) Degradation of covalently cross-linked carboxymethylchitosan and its potential application for peripheral nerve regeneration. *European Polymer Journal* 43:3807–3818. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.06.016>

Lü S, Liu M & Ni B (2010) An injectable oxidized carboxymethylcellulose/N-succinyl-chitosan hydrogel system for protein delivery. *Chemical Engineering Journal* 160(2):779–787. doi:10.1016/j.cej.2010.03.072

M

Madhavi B R (2013). Buccal film drug delivery system-an innovative and emerging technology. *Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research* 1(3). doi:10.4172/2329-9053.1000107

Madsen F (1998) A rheological examination of the mucoadhesive/mucus interaction: the effect of mucoadhesive type and concentration. *Journal of Controlled Release* 50(1-3):167–178.

doi:10.1016/s0168-3659(97)00138-7

- Mahboob M B H, Riaz T, Jamshaid M, Bashir I & Zulfiqar S (2016) Oral films: A comprehensive review. *International Current Pharmaceutical Journal* 5(12):111. doi:10.3329/icpj.v5i12.30413
- Matanović M R, Kristl J & Grabnar P A (2014) Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics* 472(1-2):262–275. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.06.029
- Maniruzzaman M, Joshua S, Boateng M, Snowden J & Dennis D (2012) A review of hot-melt extrusion : process technology to pharmaceutical products. *ISRN Pharmaceutics*. 2012:436763-436772. doi: 10.5402/2012/436763. Epub 2012 Dec 27.
- Martínez-Camacho A P, Cortez-Rocha M O, Ezquerro-Brauer J M, Graciano-Verdugo A Z, Rodríguez-Félix F, Castillo-Ortega M M & Plascencia-Jatomea M (2010) Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers* 82(2):305–315. doi:10.1016/j.carbpol.2010.04.069
- Misra A & Shahiwala A (2014) Applications of Polymers in Drug Delivery Drug Delivery. Smithers Rapra Technology.
- Mohammadi Amin M, Bhaskar Gangurde A & Alai V (2015) Oral film technology : challenges and future scope for pharmaceutical industry. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research* 3(3):183-203.
- Murakami Y & Mizuo M (2005) DNA-responsive hydrogels that can shrink or swell. *Biomacromolecules* 6(6):2927–29.
- Muyonga J H (2004) Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates Niloticus*). *Food Chemistry* 86:325–32.
- Muzzarelli R A A, Tanfani F, Emanuelli M & Mariotti S (1982) N-(carboxy-methylidene)chitosans and N-(carboxymethyl)chitosans: Novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. *Carbohydrate Research* 107:199–214. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80539-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80539-X)

N

- Niyaz U, Hameed S , Elango K & Nadu T (2018) Oral fast dissolving films-an innovative drug delivery system. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences* 7(11):881– 907.
- De Nooy A E J, Besemer A C & Van Bekkum H (1995) Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans. *Carbohydrate Research* 269(1):89–98. doi:10.1016/0008-6215(94)00343-e

P

- Painter T J (1977) Preparation and periodate oxidation of C-6-oxycellulose: conformational interpretation of hemiacetal stability. *Carbohydrate Research* 55(1):95–103. doi:10.1016/s0008-6215(00)84446-8
- Pal K, Banthia A K & Majumdar D K (2007) Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-gelatin hydrogel membranes for biomedical applications. *AAPS PharmSciTech* 8(1):E142–E146. doi:10.1208/pt080121
- Pandey M P & Kim C S (2011) Lignin depolymerization and conversion: A review of thermochemical methods. *Chemical Engineering and Technology* 34(1):29–41.
- Park K M, Kim Y N, Choi S J, Park J H & Chang P S (2015) Chemoselective oxidation of c6 primary hydroxyl groups of polysaccharides in rice bran for the application as a novel water-soluble dietary fiber. *International Journal of Food Properties* 18:1664–1676. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.926370>

- Pasqui D, De Cagna M & Barbucci R (2012) Polysaccharide-based hydrogels: the key role of water in affecting mechanical properties *Polymers* 4(4):1517–1534. <https://doi.org/10.3390/polym4031517>
- Patel D, Chaudhary S A, Parmar B & Bhura N (2012) Transdermal drug delivery system : A review. *The Pharma Innovation Journal* 1(4):66-75.
- Patel R P, Grishma P & Baria A (2009) Formulation and evaluation of transdermal patch of aceclofenac. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology* 1:41–51.
- Pawar S N & Edgar K J (2012). Alginate derivatization: a review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials* 33(11):3279-3305.
- Pei J, Yin Y, Shen Z, Bu X & Zhang F (2016) Oxidation of primary hydroxyl groups in chitoooligomer by a laccase–TEMPO system and physico-chemical characterisation of oxidation products. *Carbohydrate Polymers* 135:234–238. doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.099
- Peng S, Shuxuan L, Yujun S, Xiang N, Jiang X & Hou L (2018) Facile preparation and characterization of poly(vinyl alcohol)-NaCl-glycerol supramolecular hydrogel electrolyte. *European Polymer Journal* 106:206–13.
- Peppas N (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50(1):27–46. doi:10.1016/s0939-6411(00)00090-4
- Peppas N A & Sahlin J J (1996). Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials* 17(16):1553–1561. doi:10.1016/0142-9612(95)00307-x
- Perumal V A, Govender T, Lutchman D & Mackraj I (2008) Investigating a New Approach to Film Casting for Enhanced Drug Content Uniformity in Polymeric Films. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 34(10):1036–1047. doi:10.1080/03639040801928952
- Poupard N (2017) Conception de polysaccharides sulfatés inhibiteurs de l'héparanase pour le traitement de l'angiogénèse tumorale. *Thèse de Doctorat en Sciences pour l'Environnement Gay-Lussac. Université de La Rochelle.*
- Prabhakar D, Sreekanth J & Jayaveera K (2013) Transdermal Drug Delivery Patches: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 3(4):231-221. <https://doi.org/10.22270/jddt.v3i4.590>
- Prabhu P, Shah S & Gundad S (2011) Formulation development and investigation of domperidone transdermal patches. *International Journal of Pharmaceutical Investigation* 1(4):240. doi:10.4103/2230-973x.93008
- Pritchard K, Lansley A B, Martin G P, Helliwell M, Marriott C & Benedetti L M (1995) Evaluation of the bioadhesive properties of hyaluronan derivatives : detachment weight and mucociliary transport rate. *International Journal of Pharmaceutics* 129(1-2):137-145.

R

- Ramanathan S & Block L H (2001) The use of chitosan gels as matrices for electrically-modulated drug delivery. *Journal of Controlled Release* 70(1-2):109–123. doi:10.1016/s0168-3659(00)00333-3
- Rathbone M J, Şenel S & Pather I (2015) Oral Mucosal Drug Delivery and Therapy. 1st ed. US: Springer, (Chapter 4). DOI: 10.1007/978-1-4899-7558-4.
- Rawas-Qalaji M & Williams C A (2012) Advances in Ocular Drug Delivery. *Current Eye Research* 37(5):345–356. doi:10.3109/02713683.2011.652286
- Raymond L, Morin F G, Marchessault R H (1993) Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. *Carbohydrate Research* 246:331–336. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)84044-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)84044-7)
- Regiani A & Pawlicka A (2003) Carboxymethylcellulose derivatives with low hydrophilic properties.

Polimery-Warsaw 48: 273–279.

- Ren J L, Sun R C & Peng F (2008) Carboxymethylation of hemicelluloses isolated from sugarcane bagasse. *Polymer Degradation and Stability* 93:786–793. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.01.011>
- Rodrigue J (2008) Oxydation de matériel lignocellulosique par le système NaOCl/NiO(OH). *Thèse de Doctorat. Université du Québec à Trois-Rivières. Canada.*
- Roshan K R, Mathai G, Kim J, Tharun J, Park G A & Park D W (2012) A biopolymer mediated efficient synthesis of cyclic carbonates from epoxides and carbon dioxide. *Green Chemistry* 14(10):2933-2940.

S

- Saito T & Isogai A 2005 TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. In *Appita Annual Conference*. 3: 337–40.
- Saito T, Hirota M, Tamura N, Kimura S, Fukuzumi H, Heux L & Isogai A (2009) Individualization of nano-sized plant cellulose fibrils by direct surface carboxylation using TEMPO catalyst under neutral conditions. *Biomacromolecules* 10(7):1992–1996. doi:10.1021/bm900414t
- Salamatmiller N, Chittchang M & Johnston T (2005) The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57(11):1666–1691. doi:10.1016/j.addr.2005.07.003
- Sathiyarayanan P, Karunakaran R J, Gomathi T & Sudha P N (2015) Synthesis and characterization of carboxymethylcellulose/polyethylene glycol/montmorillonite clay blends. *International Journal Of Novel Trends In Pharmaceutical Sciences* 5(2):36–41.
- Seok C, Hyun D, Kyung D, Ki H, Chul I & Hwan Y (2005) Characterization of Gelatin Nanofiber Prepared from Gelatin–Formic Acid Solution. *Polymer* 46(14):5094–5102. doi:10.1016/j.polymer.2005.04.040
- Sharma D, Daljit K, Shivani V, Davinder S, Mandeep S & Gurmeet S (2015) Fast Dissolving Oral Films Technology: A Recent Trend For An Innovative Oral Drug Delivery System. *International Journal of Drug Delivery* 7:60–75.
- Shen J N, Yu C C, Zeng G N, Van Der Bruggen B (2013) Preparation of a facilitated transport membrane composed of carboxymethylchitosan and polyethylenimine for CO₂/N₂ separation. *International Journal Molecular Science* 14:3621–3638. <https://doi.org/10.3390/ijms14023621>
- Shen Y, Li X, Huang Y, Chang G, Cao K, Yang J & Ye X (2016). pH and redox dual stimuli-responsive injectable hydrogels based on carboxymethylcellulose derivatives. *Macromolecular Research* 24(7):602–608. doi:10.1007/s13233-016-4077-6
- Siddiqui M D N, Garg G & Sharma P K (2011) A short review on " A novel approach in oral fast dissolving drug delivery system and their patents. *Advances in Biological Research* 5 (6):291-303.
- Silverstein R M, Webster F X & Kiemle D (2005) Spectrometric identification of organic compounds. 7th ed. John Wiley & Sons. New York.
- Sonntag V C (1980) Free-Radical Reactions of Carbohydrates as Studied by Radiation Techniques. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 37:7–77. doi:10.1016/s0065-2318(08)60019-0
- Soppimath K S, Aminabhavi T M, Dave A M, Kumbar S G & Rudzinski W E (2002) Stimulus-responsive “smart” hydrogels as novel drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 28(8):957–974. doi:10.1081/ddc-120006428
- Sournac M & Belhadj-Tahar H (2005) Les dispositifs transdermiques dans l’arsenal thérapeutique patches nicotine et sevrage tabagique. *Actualité Chimique* 284:25–32.

T

- Taaca K L M & Vasquez M R V (2017) Hemocompatibility and cytocompatibility of pristine and

- plasma-treated silver-zeolite-chitosan composites. *Applied Surface Science* 432:324–321.
- Tabari M (2017) Investigation of carboxymethylcellulose (CMC) on mechanical properties of cold water fish gelatin biodegradable edible films. *Foods* 6(6):41.
doi:10.3390/foods6060041
- Takahashi M, Shimazaki M & Yamamoto J (2000) Thermoreversible gelation and phase separation in aqueous methyl cellulose solutions. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 39(1):91–100.
doi:10.1002/1099-0488(20010101)39:1<91::aid-polb80>3.0.co;2-c
- Takeuchi H, Yamamoto H & Kawashima Y (2001) Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 47:39–54.
[https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00120-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00120-4)
- Talbi Y (2018) Conception d'un Patch Transdermique Intelligent Pour Le Monitoring et l'aide à La Prise de Médicament. *Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse*.
- Taleb M F A, El-Mohdy H L A & El-Rehim H A A (2009) Radiation preparation of PVA/CMC copolymers and their application in removal of dyes. *Journal of Hazardous Materials* 168(1):68–75. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.02.001
- Taubner T, Synytsya A & Čopíková J (2015) Preparation of amidated derivatives of carboxymethylcellulose. *International journal of biological macromolecules* 72:11–18.
- Teotia A T (2012) Modification of carboxymethylcellulose through oxidation. *Carbohydrate Polymers* 87(1):457–460. doi:10.1016/j.carbpol.2011.08.005
- Tokarev I & Minko S (2009) Stimuli-responsive hydrogel thin films. *Soft Matter* 5(3):511–524.
doi:10.1039/b813827c
- Tranquilan-Aranilla C, Barba B J D, Vista J R M & Abad L V (2016). Hemostatic efficacy evaluation of radiation crosslinked carboxymethyl kappa-carrageenan and chitosan with varying degrees of substitution. *Radiation Physics and Chemistry* 124:124–129.
doi:10.1016/j.radphyschem.2016.02.003
- Tunç S & Duman O. (2010) Applied Clay Science Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. *Applied Clay Science* 48:414–424.

V

- Van Der Linden H J, Herber S, Olthuis W & Bergveld P (2003) Stimulus-sensitive hydrogels and their applications in chemical (micro)analysis. *The Analyst* 128(4):325–331. doi:10.1039/b210140h
- Venkatalakshmi R, Sudhakar Y, Madhuchudana C C, Sasikala C & Varma M M. (2012) Buccal drug delivery using adhesive polymeric patches. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 3(1):35–41.
- Verma N & Chattopadhyay P (2012) Preparation of Mucoadhesive Patches for Buccal Administration of Metoprolol Succinate : In Vitro and In Vivo Drug Release and Bioadhesion. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 11:9–17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.065>

W

- Wang J, Bao A, Xinhua M, Hongyun G, Zhang Y, Zhao Y, Kong W, Liang J, Yao J & Zhang J (2017) An efficient approach to prepare sulfated polysaccharide and evaluation of anti-tumor activities in vitro. *Carbohydrate Polymers* 184:366–375. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.065>
- Wang M J, Xie Y L, Zheng Q D & Yao S J (2009) A novel, potential microflora-activated carrier for a colon-specific drug delivery system and its characteristics. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 48:5276–5284. <https://doi.org/10.1021/ie801295y>
- Wang Q Z, Chen X G, Li Z X, Wang S, Liu C S, Meng X H, Liu C G, Lv Y H & Yu L J (2008) Preparation and blood coagulation evaluation of chitosan microspheres. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 19(3):1371–1377.

Wang Y, Hou G, Li Ji, Surhio M M, & Ye M (2018) Structure characterization, modified cation through carboxymethylation and sulfation, and in vitro antioxidant and hypoglycemic activities of a polysaccharide from *Lachnum* Sp. *Process Biochemistry* 72:177-187. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.06.002>

Wu Z, Zhang S, Zhang X, Shu S, Chu T & Yu D (2011) Phenylboronic acid grafted chitosan as a glucose-sensitive. *Journal Of Pharmaceutical Sciences* 100(6):2278-2286.

X

Xia H, Hajime U, Akehata T & Hirasa O (1988) Effect of salt solution on swelling or shrinking behavior of poly(vinylmethylether) gel(PVMEG). *Journal Of Chemical Engineering Of Japan* 21(1):10-14.

Xu Y, Wu Y, Sun P L, Zhang F M, Linhardt R J & Zhang A Q (2019) Chemically modified polysaccharides: synthesis, characterization, structure activity relationships of action. *International Journal of Biological Macromolecules* 132:970-977.

Y

Yoshida T, Tsz C L, Kwon G S & Sako K (2013) PH- and ion-sensitive polymers for drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* 10(11):1-17.

Yi H, Wu L Q, Bentley W E, Ghodssi R, Rubloff G W, Culver J N & Payne G F (2005) Biofabrication with chitosan. *Biomacromolecules* 6(6):2881-2894. <https://doi.org/10.1021/bm050410l>

Z

Zamani A, Henriksson D & Taherzadeh M J (2010) A new foaming technique for production of superabsorbents from carboxymethylchitosan. *Carbohydrate Polymers* 80:1091-1101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.029>

Zhao Y L & Stoddart J F (2009) Azobenzene-based light-responsive hydrogel system. *Langmuir* 25(15):8442-8446.

Zhu Z, Guan Z, Jia S, Lei Z, Lin S, Zhang H, Yanli M, Zhong-qun T & Chaoyong J Y (2014) Au@Pt nanoparticle encapsulated target-responsive hydrogel with volumetric bar-chart chip readout for quantitative point-of-care testing. *Angewandte Chemie International Edition* 53(46):12503-12507.

Zohuriaan M J & Shokrolahi F (2004) Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing* 23:575-579.

Annexes

Annexe 1 : Dosages chimiques

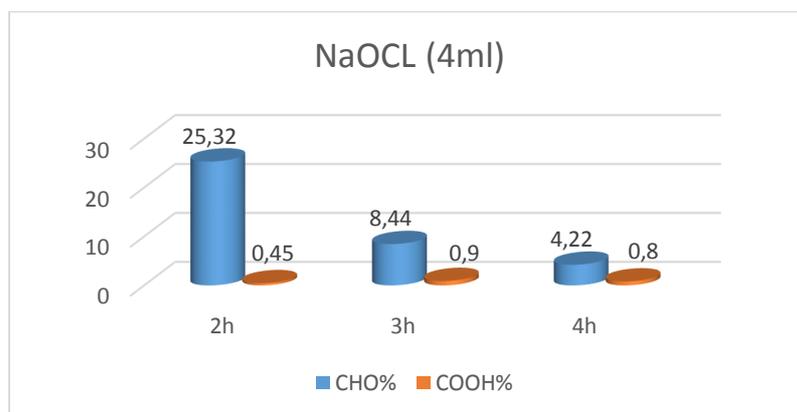


Fig .A1.1. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO et NaOCl (4 mL) à T =27°C, pH= 10,5 en fonction du temps.

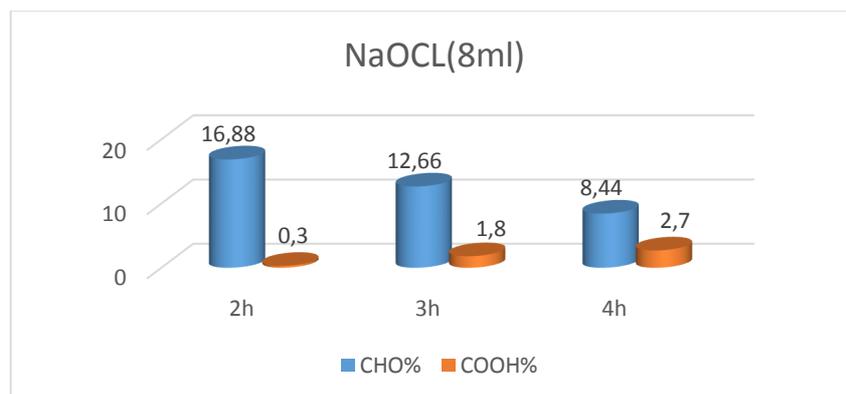


Fig. A1.2. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO et NaOCl (8 mL) à T =27°C, pH= 10,5 en fonction du temps.

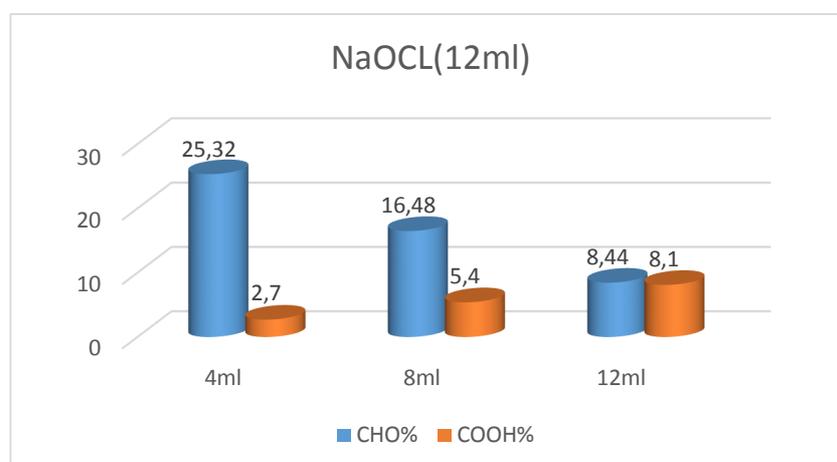


Fig. A1.3. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO et NaOCl (12 mL) à T =27°C, pH= 10,5 en fonction du temps.

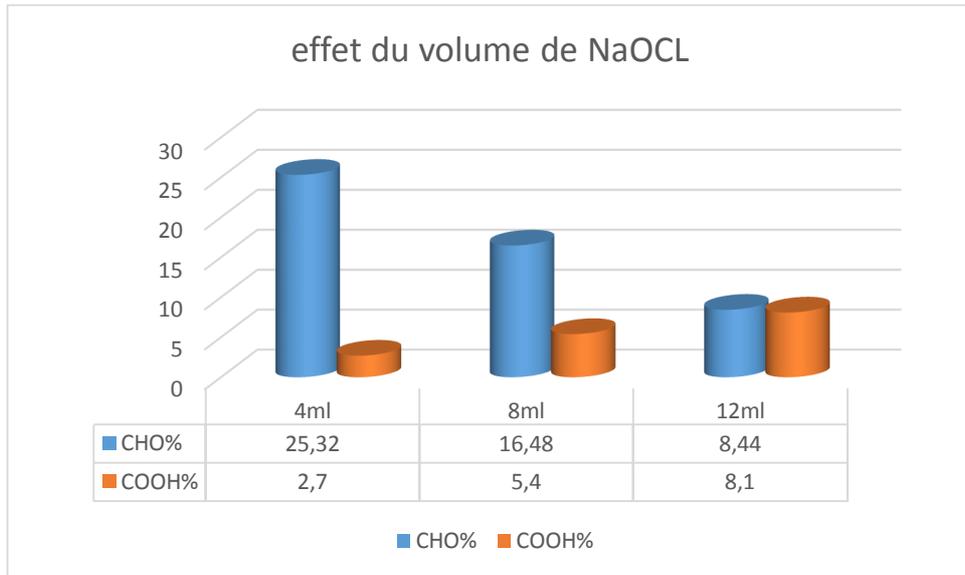


Fig. A1.4. Teneurs en aldéhyde et en carboxyle des CMC oxydées par le TEMPO à $T = 27^{\circ}\text{C}$, $t = 4\text{H}$, $\text{pH} = 10,5$ en fonction du volume de NaOCl (4mL, 8mL et 12mL).

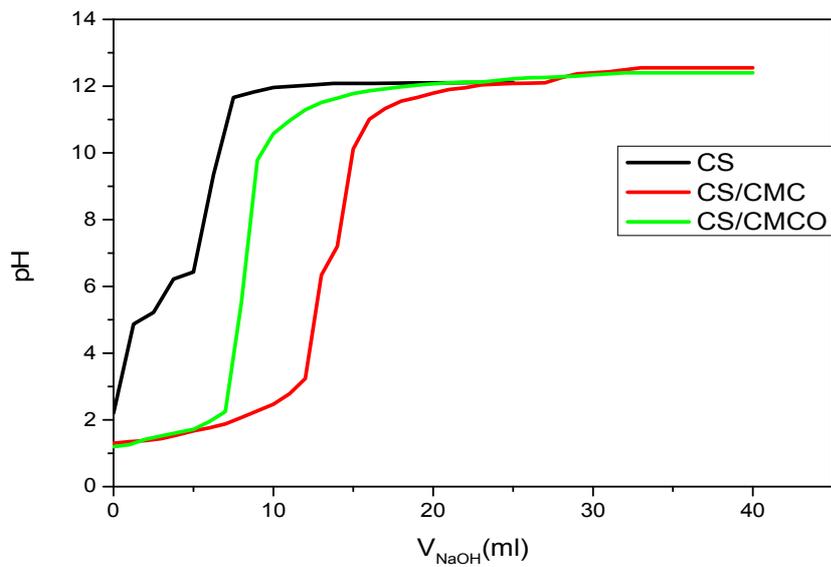


Fig. A2.5. Titration de pH du CS, CS/CMC et CS/CMCO.

Annexe2 : Spectres UV-VIS.

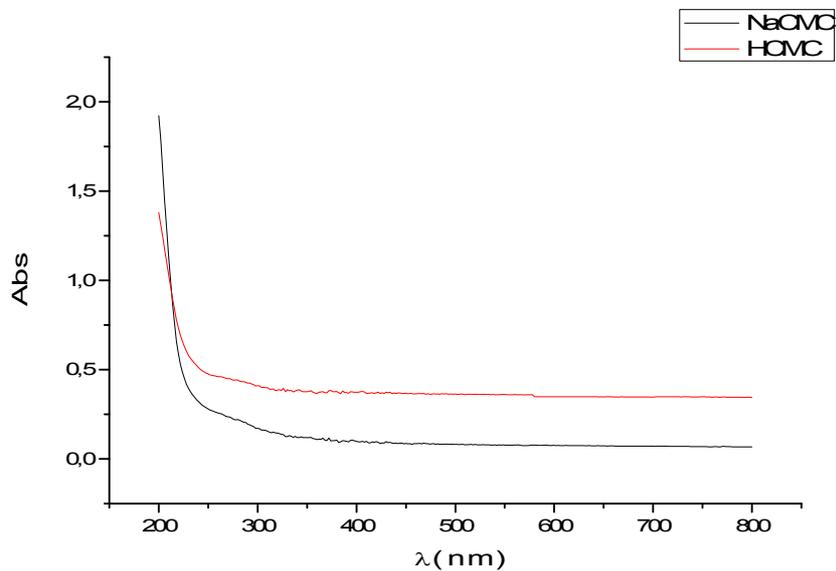


Fig. A2.1. Spectre UV-VIS/ opacité des films NaCMC et HCMC.

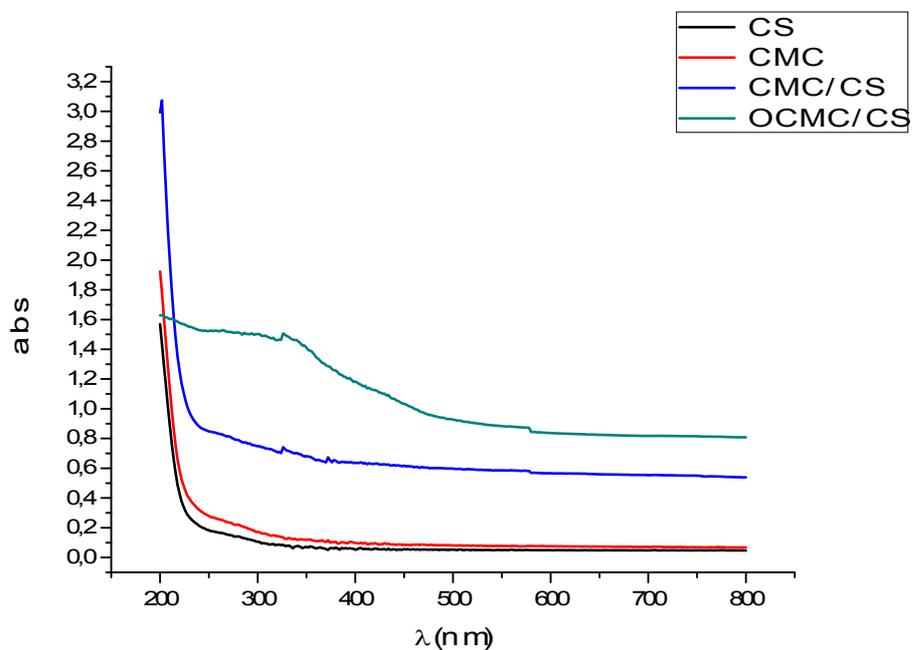


Fig. A2.2. Spectres UV-Vis des films CS, CMC, CMC/CS et OCMC/CS.

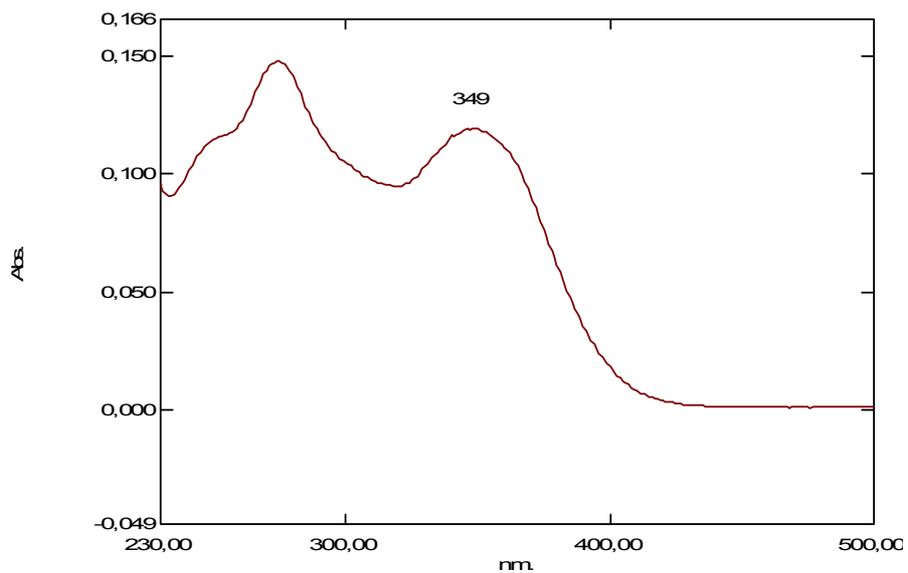


Fig.A2.3. Spectre UV-VIS de d'une solution de Doxycycline Hyclate de concentration 25 μ g/L scannée entre 200 et 500 nm.

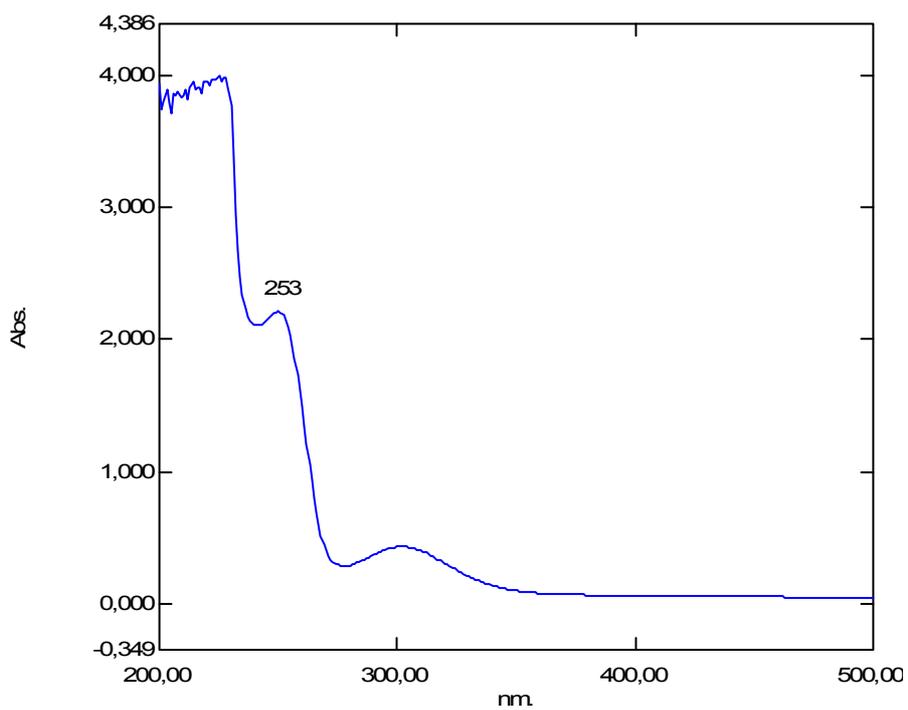


Fig.A2.4. Spectre UV-VIS de d'une solution de chlorhydrate de Lévomépromazine de concentration 0.3mg/L scannée entre 200 et 500 nm.

Annexe 3 : Spectres FT-IR.

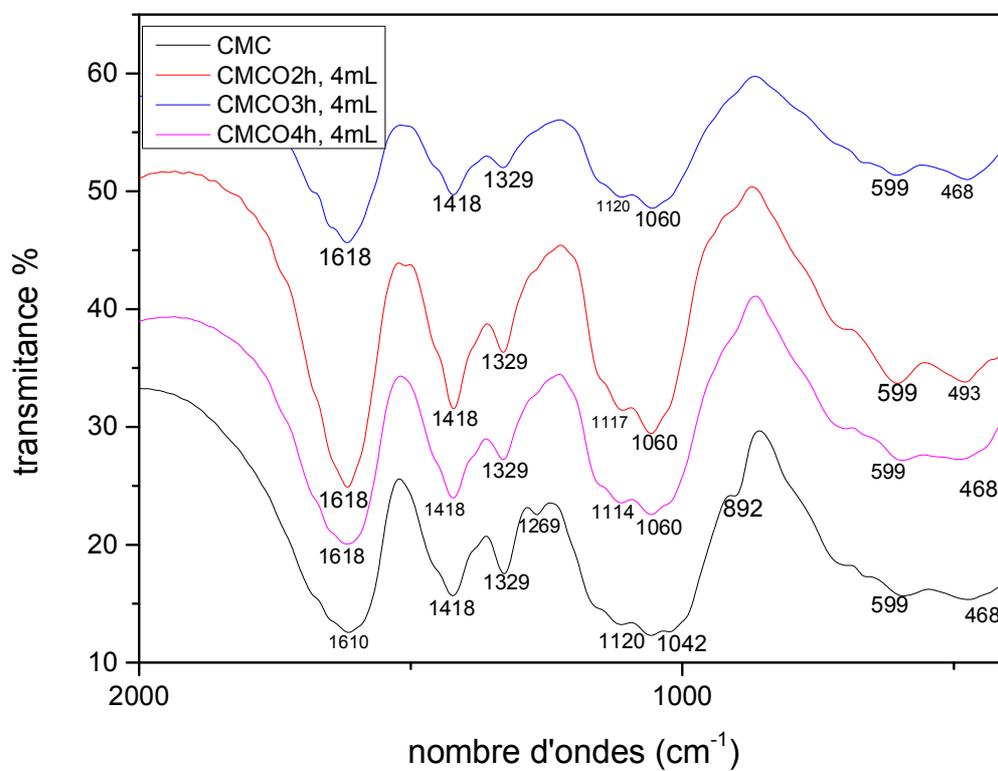
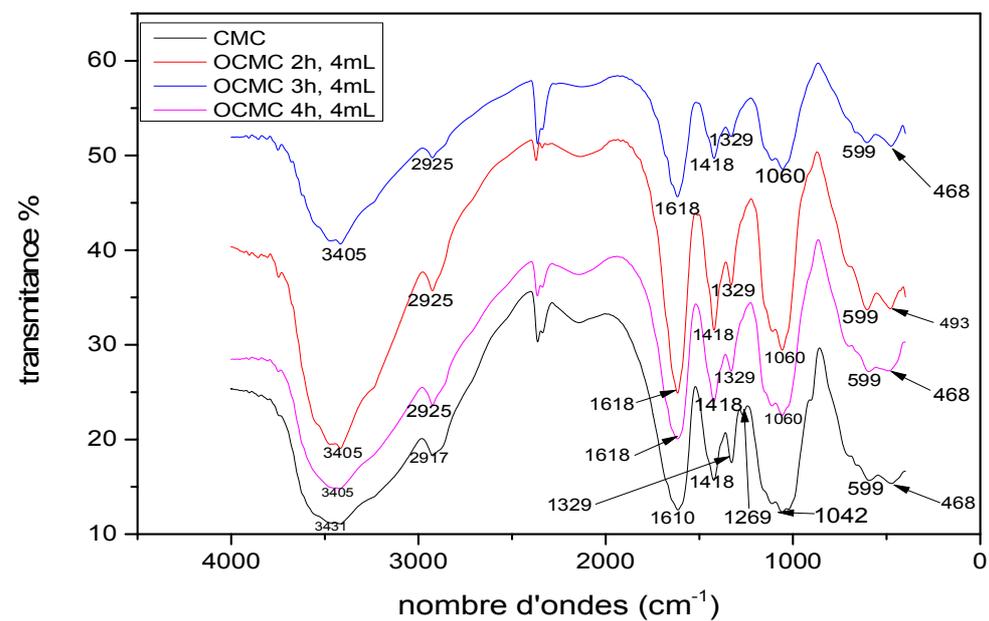


Fig. A3.1. Spectres IR de la poudre de la CMC et des OCMC ; NaOCl (4mL) à t=2h, 3h, 4h.

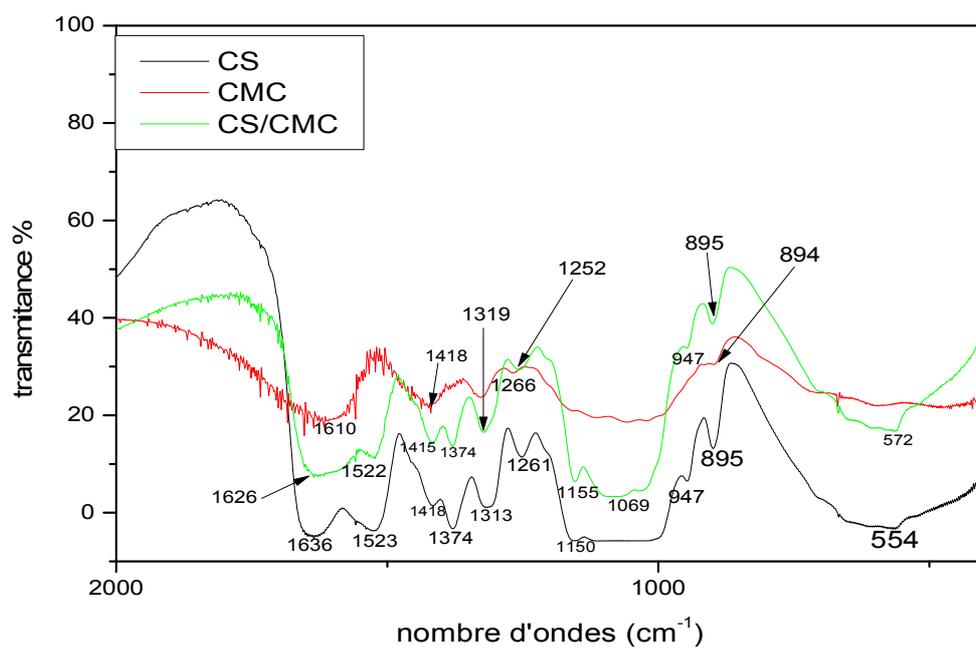
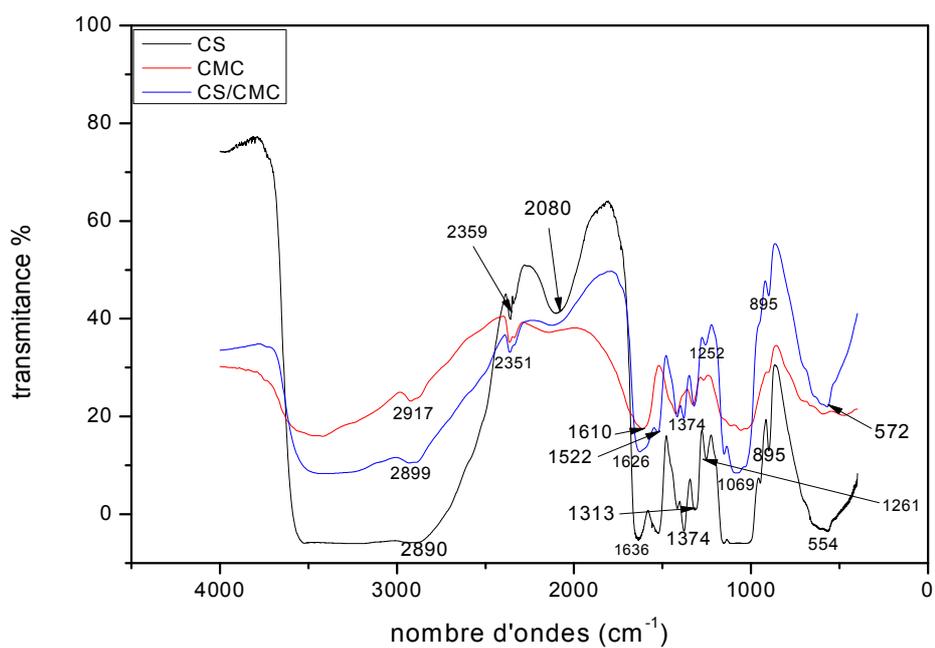


Fig. A3.2. Spectres IR des films de CS, CMC et CMC/CS.

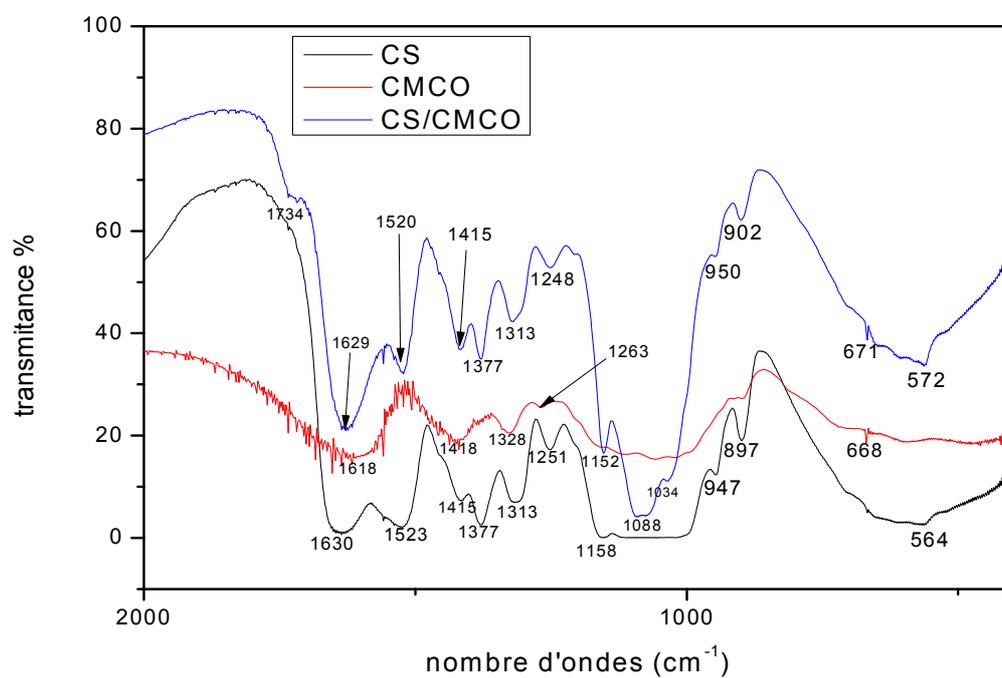
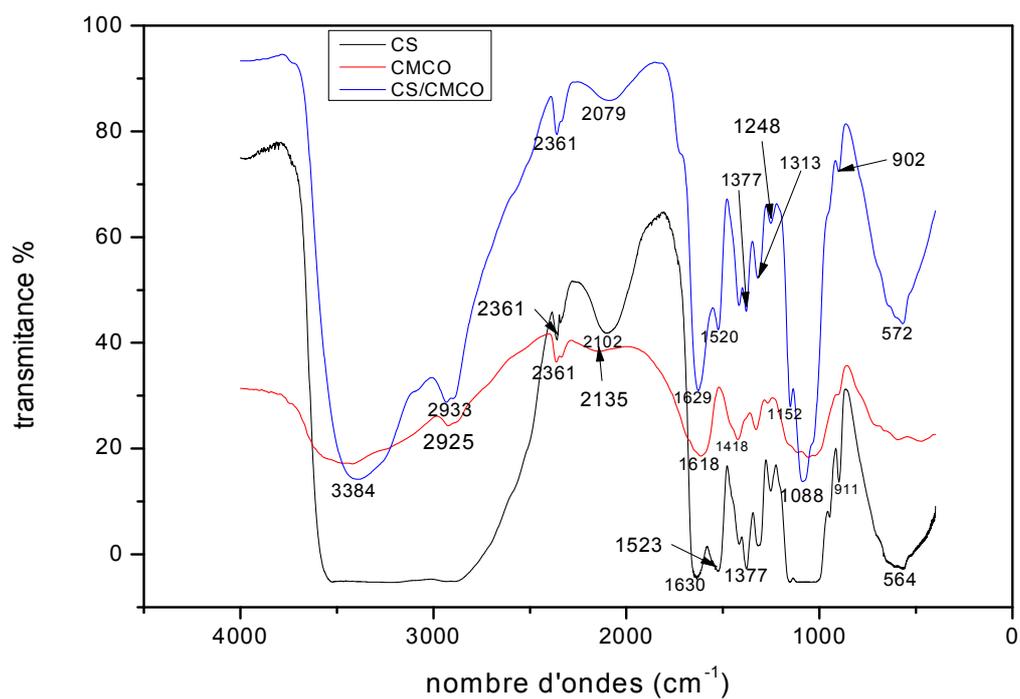


Fig. A3.3. Spectres IR de CS, OCMC et OCMC/CS.

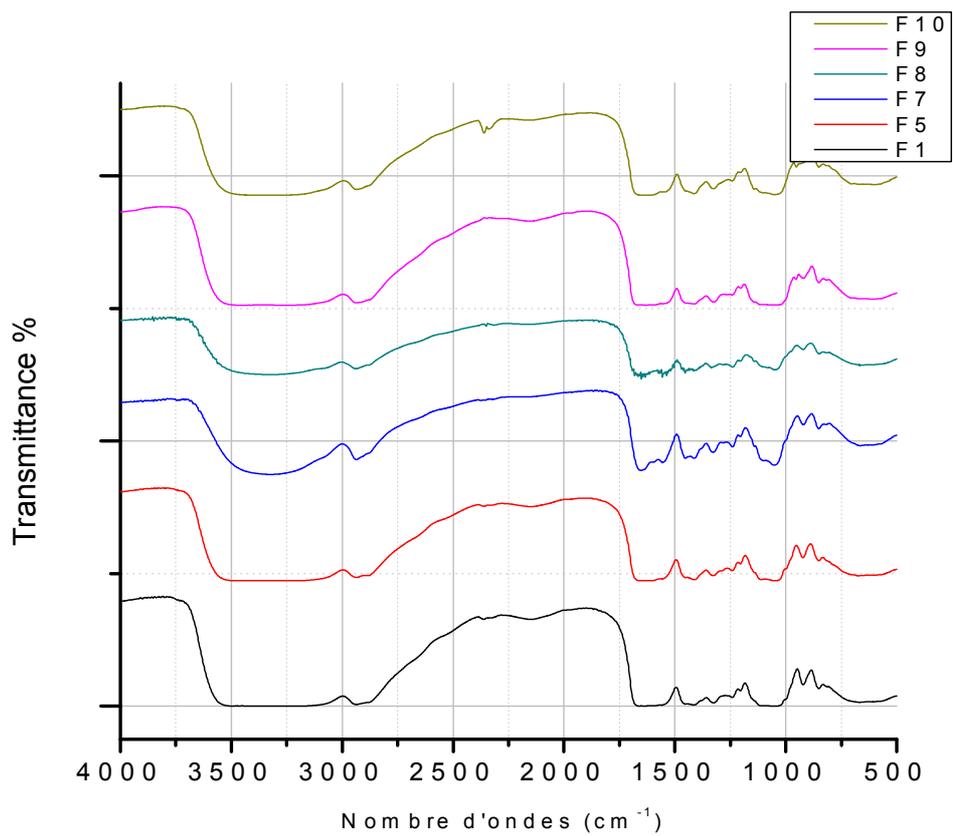


Fig.A3.4. Spectres IR-TF des films F1, F5, F7, F8, F9 et F10

Annexe 4 : Analyses Thermiques

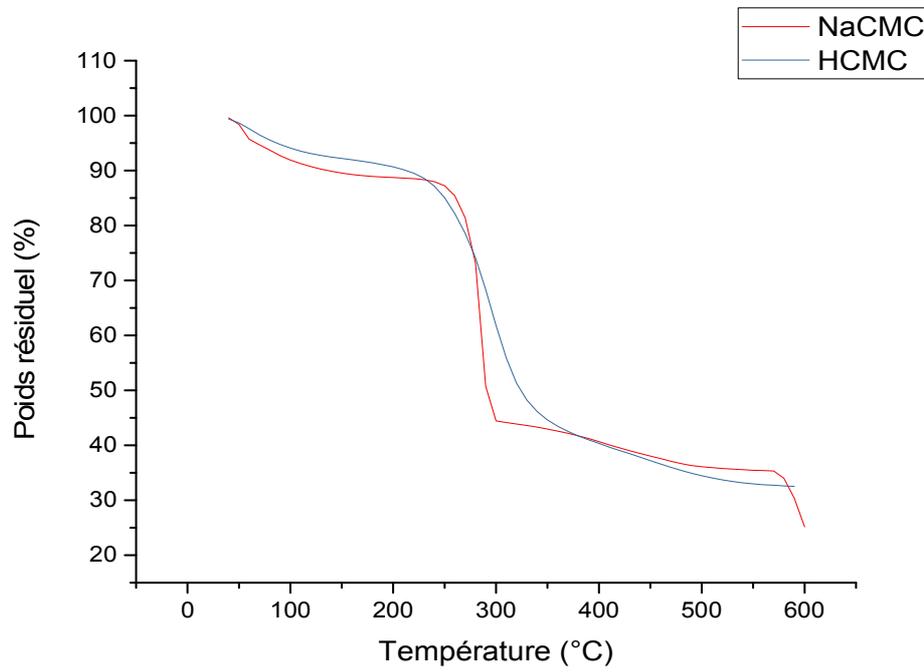


Fig. A4.1. Thermogrammes ATG de la NaCMC et HCMC.

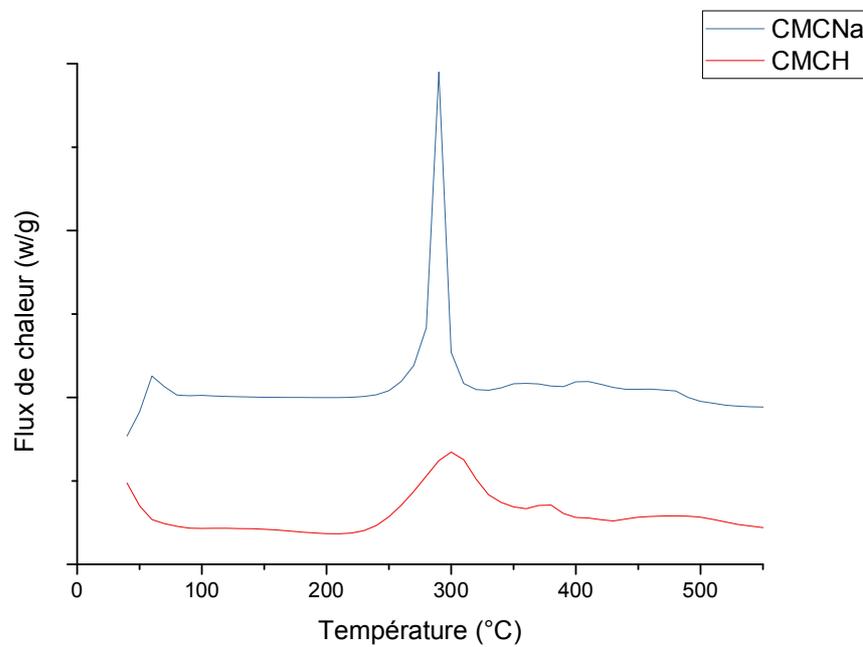


Fig. A4.2. Thermogrammes DSC de la NaCMC et HCMC.

Annexe 5 : Gonflement

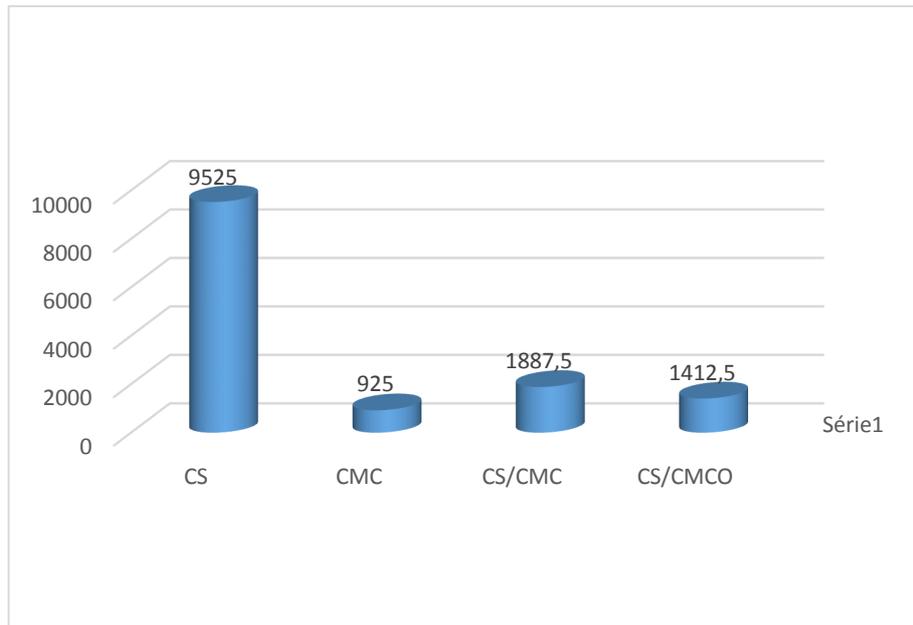


Fig. A5.1. Valeurs Gmax des films CS, CMC, CMC/CS et OCMC.

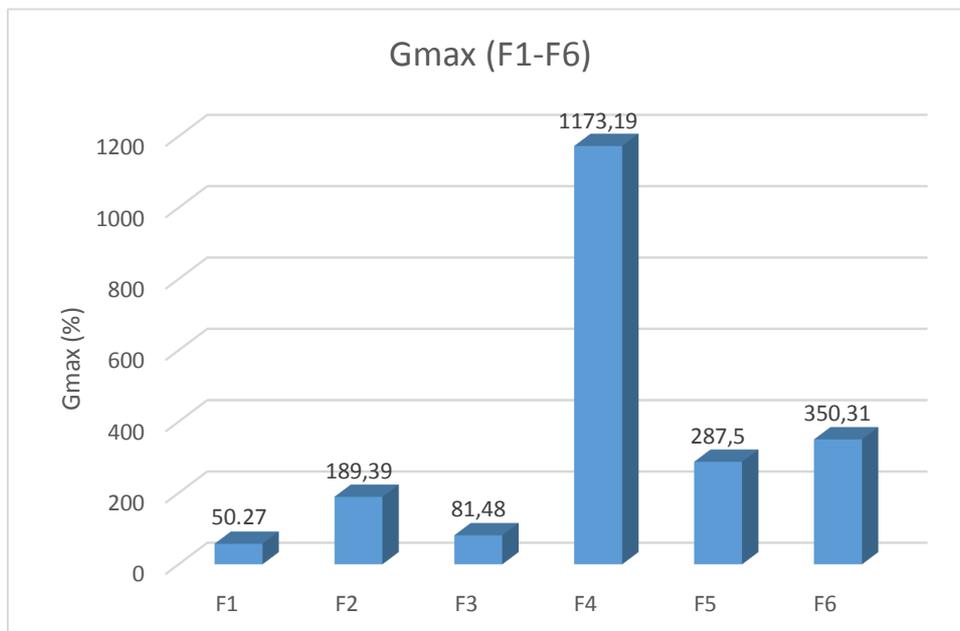


Fig.A5.2. Les Gmax des formulations F1-F7 après 120min.

Annexe 6 : Divers

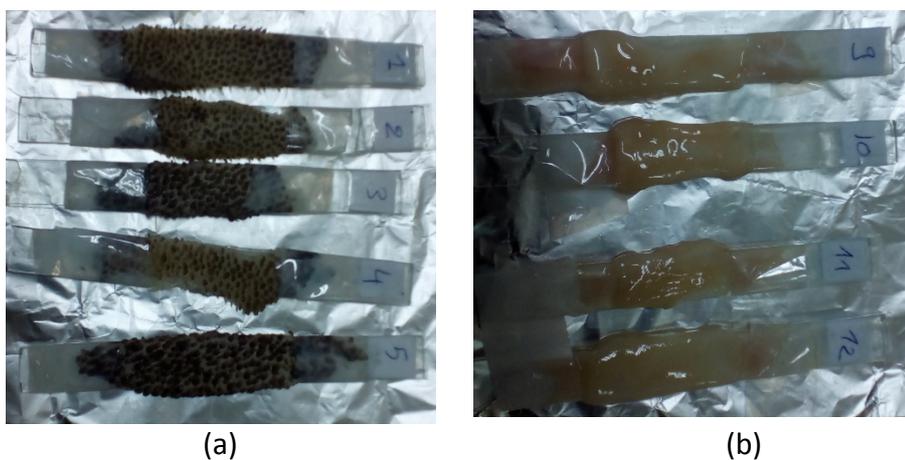


Fig.A6.1. Montage des tissus pour le test de la mucoadhésion,
(a) : muqueuse gastrique, (b) : muqueuse intestinale.

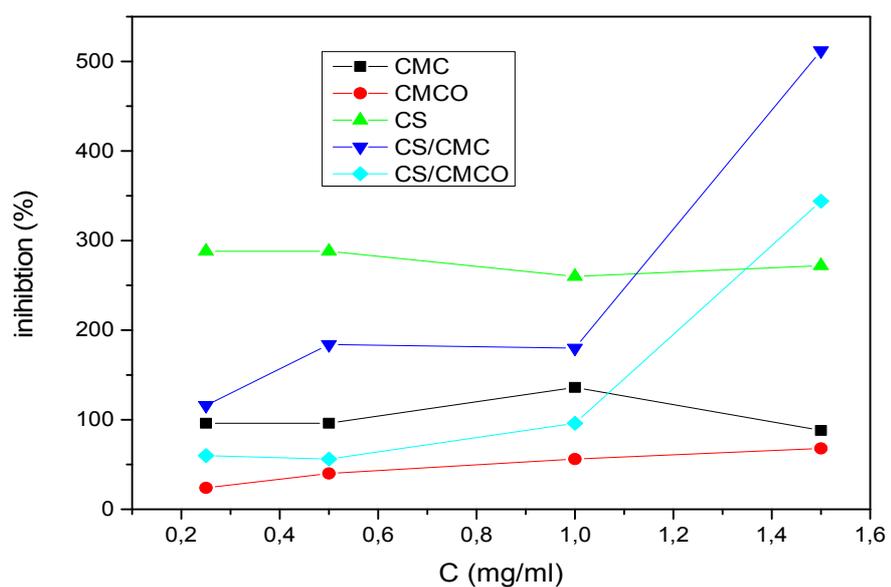


Fig. A6.2. Activité anti-inflammatoire- Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des composés CMC, OCMC, CS, CMC/CS et OCMC/CS.

Travaux scientifiques réalisés

Publications internationales :

- **Mansouri, L., Benghanem, S., Elkolli, M., & Mahmoud, B. (2019) “Chemical and biological behaviours of hydrogels based on oxidized carboxymethylcellulose coupled to chitosan”**. Polymer Bulletin.doi:10.1007/s00289-019-02712-3.

Communications internationales:

- **L.Mansouri, M.El Kolli, (2019) “Effect of acidification on mucoadhesion and biodegradability of sodium carboxymethylcellulose”** The first International Workshop on Environmental Engineering (IWEE 2019, 16-17 November 2019; Sétif – Algérie)
- **L.Mansouri, M.El Kolli, (2019) “Characterization of hydrogels based on oxidized carboxymethylcellulose coupled to chitosan”** International Workshop on Polymeric Materials 2019 (IWPM’2019, 23-24 Novembre 2019; Sétif – Algérie)
- **L.Mansouri, M.El Kolli, Z.Bouanane “Oxydation chimique du chitosane et étude de son impact sur son comportement biologique”** international symposium on materials chemistry (ISy Mc, 19-21 Mars 2018 ; Boumerdas –Algérie.)
- **L.Mansouri, M.El Kolli, Z.Bouanane (2016), “Etudes chimique de l’effet des bis-pyrazolo-quinoxalines sur le chitosane”** International Workshop on Chemical Engineering (IWCE 2017), 02, 03 December 2017, Université Ferhat Abbes, Sétif 1.

Communications nationales:

- **L.Mansouri, M. Badaoui, A.Merdas (2019) “Caractérisation par IR-TF et DRX de l’argile locale de Sétif pour l’élaboration de matériaux de construction”** Journées D’études Technologiques Sur Les Matériaux De Construction” (JETMC 2019, 26-27 Novembre2019 Université Ferhat Abbes, Sétif 1)
- **L.Mansouri, M.El Kolli, Z.Bouanane (2018), “Etude de l’effet de la chloration d’un biopolymère sur ses proprietes biologiques”, 8^{ème} Journée du Doctorant (JD’18). 06 Mai 2018, Université Ferhat Abbes, Sétif 1- Algérie.**
- **L.Mansouri, M.El Kolli, Z.Bouanane (2017), “Modification chimique des polysaccharides et étude de leur comportement biologique”**. 1^{ère} Ecole d’Automne sur les Matériaux Emergents (EAME 2017), 27-28 Novembre 2017, Université Ferhat Abbes. Sétif, Algérie.

- **L.Mansouri**, M.El Kolli, Z.Bouanane (2017), “Etudes chimique de l’effet des bis-pyrazolo-quinoxalines sur le chitosane”. 7^{ème} Journée du Doctorant (JD’17), 10 Mai 2017, Université Ferhat Abbas, Sétif 1.

Encadrement de mémoires de fin d’études en licence :

- **2017-2018** : «L’usage de la carboxymethyl -cellulose comme excipient dans le domaine pharmaceutique »
- **2018-2019** : «Les excipients en pharmacie ; exemple de la carboxymethyl -cellulose et du chitosane »
- **2019-2020** : « Formes pharmaceutiques, voies et modes d'absorption des médicaments

ملخص:

يهدف العمل المنجز في سياق أطروحة الدكتوراه LMD في الهندسة الصيدلانية إلى دراسة التعديل الكيميائي للكريوبكسيل ميثيل سلولوز بطريقتين. يتعلق الأول بتحمض CMC والثاني مكرس لتفاعل الأكسدة لهذا السكر في وجود هيبوكلوريت الصوديوم كعامل مؤكسد و TEMPO / NaBr كحفز للتفاعل. واستخدمت طرق الفحص: هيدروكسيل أمين وحمض الأساس لتحديد مجموعات الألدريد والكربوكسيل، على التوالي. ثم تم اقتران الشيتوزان بـ CMC و CMC المؤكسد. تم تقدير مجموعات أمين الحرة التي تحملها الشيتوزان عن طريق قياس الجهد والسلوك. توصيف وتحديد الهلاميات المائية التي تم الحصول عليها بهذه الطريقة يتم بواسطة IR-TF و FRX و ATG / DSC. تم فحص التشكل عن طريق اختبار التعقيم. ومع ذلك، فقد تم التحقيق في السلوكيات البيولوجية للمواد الحيوية الجديدة من خلال دراسات مختلفة مثل التوافق الحيوي مع دم الإنسان؛ جميع المركبات لدينا هي غير انحلالية. يشير النشاط المضاد للالتهابات الذي أجراه اختبار أولي لزلال البيض أيضًا إلى أن مكوناتنا عبارة عن أجهزة تتمتع بقدرة مثبطة لتكسير البروتينات. نُظهر اختبارات الغشاء المخاطي زيادة ملحوظة في أوقات الالتصاق لـ HCMC و CMC / CS و OCMC / CS على الغشاء المخاطي المعوي مقارنة بـ CMC و CS. أخيرًا، تظهر نتائج اختبارات التحلل الأحيائي أن الهلاميات المائية لدينا قابلة للتحلل الحيوي ويمكن إزالتها من السوائل البشرية خلال فترة زمنية قصيرة نسبيًا.

تم تأكيد النجاح في إعداد أفلام ذات الذوبان الفموي والأشرطة الجلدية من الدوكسيسيسكلين وليفومبرومازين على أساس CMC/Gel/PVA أو OCMC/Gel/PVA من خلال الاختبارات الميكانيكية والبيولوجية المختلفة التي أجريت خلال دراستنا.

الكلمات المفتاحية: كريوكسي ميثيل سلولوز، الشيتوزان، الجيلاتين، الأكسدة، الأنشطة البيولوجية، الخواص الميكانيكية، الخواص الفيزيائية والكيميائية، أفلام ذات الذوبان الفموي والأشرطة الجلدية

Résumé :

Le travail réalisé dans le cadre de notre thèse de Doctorat LMD en Génie Pharmaceutique a pour but d'étudier la modification chimique de la carboxymethylcellulose par deux méthodes. La première concerne l'acidification de la CMC et la deuxième est consacrée à la réaction d'oxydation de ce polysaccharide en présence de l'hypochlorite de sodium comme agent oxydant et le TEMPO/NaBr comme catalyseur de réaction. Des méthodes de dosage par l'hydroxylamine et acido-basique ont été utilisées pour quantifier respectivement les groupements aldéhydes et carboxyles. Le chitosane a été ensuite couplé avec la CMC et la CMC oxydée. 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, FRX et ATG/DSC. La morphologie a été examinée par le test de l'opacité. Toutefois, les comportements biologiques des nouveaux biomatériaux ont été investigués par différentes études tel que La biocompatibilité avec le sang humain ; tous nos composés sont non hémolytiques. L'activité anti-inflammatoire effectuée par un test préliminaire sur l'albumine d'œuf indique également que nos composants sont des dispositifs ayant une capacité inhibitrice à dénaturer les protéines. Les tests de mucoadhésion démontrent une nette augmentation des temps d'adhésion des composés HCMC, CMC/CS et OCMC/CS sur la muqueuse intestinale par rapport aux CS et CMC. Enfin, les résultats des tests de biodégradation montrent que nos hydrogels sont biodégradables et peuvent être éliminés des fluides humains sur une période relativement courte.

La réussite à la préparation des patchs transdermiques de Doxycycline et de Lévomépromazine à base de CMC/Gel/PVA ou OCMC/Gel/PVA a été confirmée par les différents essais mécaniques et biologiques entrepris au cours de nos études.

Mots clés : carboxyméthylcellulose, chitosane, gélatine, oxydation, activités biologiques, propriétés mécaniques, propriétés physicochimiques, films oraux, patchs transdermiques.

Abstract :

The work done in the context of our LMD PhD thesis in Pharmaceutical Engineering aims to study the chemical modification of carboxymethylcellulose by two methods. The first concerns the acidification of CMC and the second is devoted to the oxidation reaction of this polysaccharide in presence of sodium hypochlorite as oxidizing agent and TEMPO/NaBr as a reaction catalyst. Hydroxylamine and acid-base assay methods were used to quantify the aldehyde and carboxyl groups, respectively. Chitosan was then coupled with CMC and oxidized CMC. Free amine groups carried by chitosan were estimated by potentiometry and conductimetry. Characterization and identification of hydrogels thus obtained are made by IR-TF, FRX and ATG / DSC. The morphology was examined by opacity test. However, the biological behaviors of new biomaterials have been investigated by different studies such as biocompatibility with human blood; all our compounds are non-hemolytic. The anti-inflammatory activity performed by a preliminary test on egg albumin also indicates that our components are devices with inhibitory ability to denature proteins. Mucoadhesive tests show a marked increase in the adhesion times of HCMC, CMC / CS and OCMC / CS on the intestinal mucosa compared to CS and CMC. Finally, the results of the biodegradation tests show that our hydrogels are biodegradable and can be removed from human fluids over a relatively short period of time.

The success in the preparation of Doxycycline and Levomepromazine transdermal patches based on CMC / Gel / PVA or OCMC / Gel / PVA was confirmed by the various mechanical and biological tests undertaken during our studies.

Key words: carboxymethylcellulose, chitosan, gelatin, oxidation, biological activities, mechanical properties, physicochemical properties, oral films, transdermal patches.