



République Algérienne Démocratique Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة ابن خلدون - تيارت  
Université Ibn Khaldoun – Tiaret



Faculté des Sciences de la Matière  
كلية علوم المادة  
Département de Chimie  
قسم الكيمياء

## Mémoire

*Présenté par :*

Mlle KAFI Fatma  
Mr LARBI Aek

*Pour obtenir le diplôme de*

### *Master II*

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie des polymères

Sujet :

**Etude des propriétés physico-chimiques  
d'un bio polymère à base du pullulane  
pour l'inclusion et libération du Principe actif**

Soutenu le : 22/06/2017

Devant le jury:

M <sup>elle</sup> BOUMEFRED .T	M.C.A	Président	UNIV .Tiaret
M <sup>elle</sup> HENNI .M	M.A.A	Examineur	UNIV .Tiaret
M <sup>elle</sup> SEHIL .H	M.A.A	Encadreur	UNIV .Tiaret

Année Universitaire : 2016/2017



# Dédicace

*Je dédie mon travail :*

*A mes chers parents*

*A mes sœurs*

*A mes frères*

*A mes collègues et amis*

*A toute la famille*

*Sans exception*



# Remerciement

*Nos remerciements vont en premier lieu à ALLAH le tout puissant qui nous a donné le courage, la force et la santé pour réaliser ce travail.*

*Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de chimie de la graduation de la Faculté des Sciences de la matière de l'Université Ibn Khaldoun - Tiaret.*

*Nos remerciements vont à notre encadreur Madame SEHIL HAFIDA, qui nous a confié ce sujet, pour ses conseils, ses encouragements, sa patience et son soutien et l'aide précieuse qu'il nous a apporté lors de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous remercions chaleureusement le chef de Spécialité Mlle*

*L. Bennabi , qui a autorisé notre accès au laboratoire.*

*Nous adressons nos remerciements aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'évaluer ce travail : Mlle Boumethered, Mlle Hanni*

*Tous les membres du département sciences de la matière sont vivement remerciés après toutes ces années d'études. On tient aussi à remercier*

*les techniciens du laboratoire pour leurs aides.*

## *Sommaire*

Liste d'abréviation	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale .....	01
Bibliographie .....	03

### *A: Partie Bibliographique*

#### *Chapitre I : Rappel bibliographique sur les hydrogels*

Introduction.....	04
I-1-Considérations générales sur les hydrogels .....	04
I-2-Qu'est-ce qu'un hydrogel .....	05
I-3-Propriétés notables des hydrogels .....	08
I-3-1-Dégradabilité.....	08
I-3-2-Propriétés mécaniques.....	08
I.3.3- porosité .....	09
I-3-4-Hydrogels "intelligents.....	10
I-3-4-1-Les hydrogels sensibles au pH .....	11
I-3-4-2-Les hydrogels sensibles à la température.....	12
I-4-Exemples d'applications des hydrogels .....	12
I-4-1-Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments .....	13
I-4-2-Cosmétique .....	14
Bibliographie .....	15

#### *Chapitre II : Rappel bibliographique sur les formes galéniques et la diffusion type*

##### *Fickienne*

Introduction.....	17
II-1-Rappel bibliographique sur les formes galéniques .....	17
II-1-1- La biodisponibilité et l'activité thérapeutique des principes actifs .....	17
II-1-2-Rythme d'administration et observation des traitements .....	18
II-1-3-Généralités sur les formes galéniques à libération contrôlée .....	18

# Sommaire

---

II-1-3-a- Classification des formes à libération modifiée .....	19.
II-1-3-b-Composition des formes galéniques .....	21
II-1-3-c-Généralités sur le copolymère matrice choisi (excipient .....	21
Bibliographie .....	23

## ***B : Partie expérimentale***

### ***Chapitre I : Synthèse et caractérisation des hydrogels***

Introduction.....	24
I-1-Présentation des produits utilisés .....	24
I-1-1-Polymère utilisées pour l'obtention des hydrogels .....	24
I-1-2-Les principes actifs.....	26
I-1-2-1-La 3-aminopyridine.....	26.
I-1-2-1-1-La Préparation de 3AP.....	26
I-1-2-2-Le Bleu de méthylène .....	27
I-2-La chimie de la réticulation des hydrogels .....	28
I-3-Synthèse des hydrogels.....	29
I-3-1-Protocole de synthèse .....	29
I-3-2-Méthode de caractérisation .....	29.
I-3-2-1-Matériels utilisés.....	29
I-3-2-2-Caractérisation des produits .....	30
I-3-2-2-1-Caractérisation des gels par FTIR.....	30
I-4-Effet des paramètres physico-chimiques sur le gonflement des hydrogels	31
I-4-1-Influence des différents paramètres sur G1 .....	32
I-4-1-1-Effet du pH sur le gonflement .....	32
I-4-1-2-Effet de la force ionique du liquide gonflant .....	33
I-4-1-3-Influence de la température sur le taux de gonflement .....	34
I-4-1-4-Effet des cations métalliques .....	35
I-4-2-Influence des différents paramètres sur G2 .....	36
Bibliographie .....	39

## *Chapitre II : Cinétique de relargage de l'agent actif*

INTRODUCTION .....	41
II-1-Séquestration des principes actifs .....	41
II-1-1-Séquestration du bleu de méthylène .....	41.
II-1-2-Séquestration de la 3AP .....	44
II-2-Conditions expérimentales et techniques d'analyse .....	45
II-2-1-Composition du milieu d'étude .....	45.
II-2-2-Dispositif Expérimental .....	46
II-2-3-Facteurs influençant les transferts de matières.....	46
II-2-3-1-L'agitation du milieu .....	46
II-2-3-2-La température du milieu .....	47
II-2-3-3-La nature du milieu, son pH et son volume .....	47
II-3-Cinétique de relargage du principe actif à partir des hydrogels .....	48
II-3-1-Cinétique de la libération de BM à partir des hydrogels .....	48
II-3-1-Vérification de l'ordre réactionnel .....	50
II-3-2-Cinétique de libération de la 3aminopyridine (3AP) dispersé a l'intérieure du gel...	
.....	53
II-3-2-1-Vérification de l'ordre réactionnel .....	54
Conclusion .....	56
Bibliographie .....	57
Conclusion générale .....	58

### *Liste d'abréviation*

STMP : trimétaphosphate de sodium

Pa : principe actif

3AP : 3-Aminopyridine

BM : Bleu de méthylène

G1 : Gel 0,13M

G2 : Gel 0,26M

D1 : disque 1

D2 : disque 2

D 3 : disque 3

D4 : disque 4



## *Liste des tableaux*

Tableau A-I-1 : Méthodes couramment utilisées pour synthétiser des hydrogels .....	07
Tableau B-I-1 : Des propriétés physico- chimique du 3AP .....	27
Tableau B-I-2 : Les principales caractéristiques physico-chimiques du bleu de méthylène. .....	28
Tableau B-I-3 : Caractéristiques des hydrogels synthétisés, les conditions et taux de gonflement .....	32
Tableau B-II-1 : La masse initiale de principe actif séquestré Pour chaque gel et chaque pH.....	44
Tableau B-II-2 : Les caractéristiques des disques utilisé pour la libération de la 3AP . .....	44

## *Liste des figures*

Figure A- I-1 : Classifications des hydrogels .....	05
Figure A- I-2 : Schéma de formation de deux types d'hydrogels physiques ioniques et un hydrogel polyionique .....	07
Figure A- I-3 : Schéma d'un soluté dans un hydrogel .....	10
Figure A- I-4 : Classification des hydrogels «intelligents» .....	11
Figure A- II-1: Concentration plasmatique obtenue après administration d'un même principe actif présenté sous trois formes galéniques A, B et C.....	17
Figure A- II-2 : Evolution des concentrations plasmatiques d'un médicament administré à raison d'une dose toutes les demi-vies (D : dose.....	18
Figure A-II-3: Profils des concentrations plasmatiques obtenues à partir des différentes formes à libération modifiée.....	19
Figure B- I-1: La structure chimique du pullulane .....	25
Figure B- I-2 : Le mécanisme réactionnel de préparation de 3AP.....	27
Figure B- I-3 : Représentation schématique du pullulane réticulé par le STMP .....	29
Figure B- I-4 : Spectre IR de pullulane.....	30
Figure B- I-5 : Spectre IR de G2.....	30
Figure B-I-6 : Spectre IR du Pullulane .....	31
Figure B- I-7 : Le taux de gonflement du gel 0,13M dans l'eau en fonction du temps .....	32
Figure B-I-8 : Effet de PH sur le taux de gonflement du G1.....	33
Figure B-I-9 : Effet du sel sur la capacité d'adsorption du G1.....	33
Figure B- I-10 : Effet de température sur le taux de gonflement du G1 .....	34
Figure B- I-11 : Effet du cation sur le taux de gonflement du G1.....	35
Figure B-I-12 : Effet de PH sur le taux de gonflement du G2 .....	36
Figure B-I-13: Effet du cation sur le taux de gonflement du G2.....	36
Figure B-I-14: Effet du sel sur le taux de gonflement du G2.....	37
Figure B-I-15 : Effet de température sur le taux de gonflement du G2 .....	37
Figure B-II-1 : Courbe d'étalonnage de BM aux maximums d'absorption dans l'eau .....	42
Figure B-II-2 : Variation de la capacité d'adsorption du BM en fonction du temps.....	43
Figure B-II-3: Variation du pourcentage du BM séquestré en fonction du temps dans le gel 0,26M.....	43
Figure B-II-4: pH et temps de séjour le long du tractus digestif.....	45
Figure B-II-5: Dispositif Expérimental de libération .....	46
Figure B-II-6 : Courbe d'étalonnage pH=1,2 ( $\lambda_{max}= 315 \text{ nm}$ .....	48
Figure B-II-7 : Courbe d'étalonnage pH=8( $\lambda_{max}=288 \text{ nm}$ .....	49
Figure B-II-8 : Pourcentage du principe actif libéré par G1 en fonction du temps .....	49
Figure B-II-9: Variation de pourcentage du principe actif libéré par G2 en fonction du temps .....	50
Figure B-II-10: Concentration du principe actif libéré par G1 en fonction du temps dans le pH=8 .....	51
Figure B-II-11: Ln ( $C_0/C_t$ ) en fonction du temps en fonction du temps pour G1 dans le pH=8.....	51
Figure B-II-12 : ( $1/C_t$ )- ( $1/C_0$ ) en fonction du temps pour G1 en fonction du temps dans le pH=8.....	52

Figure B-II-13 : Pourcentage du principe actif libéré par G1 en fonction de la racine carrée du temps dans le pH=1,2 et pH=8 .....	52
Figure B-II-14: Courbe d'étalonnage de la 3AP dans les deux milieux pH 1,2 à $\lambda=315\text{nm}$ et pH 8 à $\lambda=288\text{nm}$ .....	53
Figure B-II-15 : La quantité du Pa libéré en fonction du temps dans les deux pH=1,2 et 8. ....	53
Figure B-II-16: Concentration du principe actif libéré par D2 en fonction du temps dans le pH=1,2 .....	54
Figure B-II-17: $\ln (C_0/C_t)$ en fonction du temps en fonction du temps pour D2 dans le pH=1,2.....	55
Figure B-II-18: $(1/C_t) - (1/C_0)$ en fonction du temps pour D2 en fonction du temps dans le pH=1,2.....	55
Figure B-II-19 : Pourcentage du principe actif libéré par D2 en fonction de la racine carrée du temps dans le pH=1,2.....	56

A decorative border with floral motifs, including roses and leafy sprigs, framing the page. The border is composed of thin lines with ornate floral designs at the corners and midpoints of each side.

***INTRODUCTION***  
***GENERALE***

# Introduction Générale

---

## INTRODUCTION GENERALE

L'élaboration des systèmes complexes de libération nécessitent l'utilisation de matériaux avec des propriétés favorables au contact avec le tissu humain. De nombreuses études dans le domaine montrent l'importance et l'utilité des polymères, mettant en évidence leurs propriétés de biocompatibilité et d'antigénicité.

Le rôle du polymère n'est pas seulement celui de support pour l'inclusion du médicament, il assure dans le même temps la libération contrôlée/soutenue du principe actif, le maintien constant de sa concentration dans l'organisme à un niveau thérapeutique pour une durée plus longue et dans la majorité des cas il réalise le transport et la protection du principe actif jusqu'à la "cible". Parce que la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des médicaments sont influencées significativement par la nature du "transporteur", le choix du système transporteur est d'une importance capitale pour l'efficacité du traitement. Outre les exigences essentielles en ce qui concerne l'interaction avec l'organisme - la toxicité réduite ou nulle, la biocompatibilité, la formation de produits non toxiques par biodégradation etc... - l'utilisation de ces matériaux polymères est limitée par le rapport prix/qualité.

Dans le but d'élaborer les matrices pour la libération des médicaments nous avons quelquefois utilisé les polymères synthétiques qui présentent l'avantage du contrôle strict des caractéristiques chimiques, ainsi que des propriétés de biocompatibilité, d'adhésivité et une grande diversité de fonctionnalités. Les agents de réticulation chimiques, couramment utilisés dans la synthèse des hydrogels, comme le formaldéhyde [1] et le glutaraldéhyde [2] présentent une certaine toxicité au contact des tissus humains et c'est pourquoi l'attention est focalisée sur l'utilisation de réticulants ioniques comme le sulfate de sodium, le sulfate de magnésium, le tripolyphosphate de sodium ou des agents de réticulation de provenance naturelle. Les liaisons covalentes impriment aux hydrogels formés des propriétés mécaniques meilleures au détriment des propriétés de chargement/libération [3] des médicaments. Par conséquent, le réticulant covalent ne doit pas être complètement remplacé lors de l'obtention des hydrogels, mais substitué jusqu'à la limite à laquelle la stabilité du réseau n'est pas dramatiquement affectée. On doit prendre en compte la capacité des hydrogels à se gonfler en milieu aqueux, caractéristique fortement liée à la capacité de libération des principes actifs.

# Introduction Générale

---

L'objectif principal est de concevoir des hydrogels permettant l'encapsulation et la libération contrôlée de principes actifs et pouvant être modulables en fonction de la nature du principe actif utilisé. Dans cette partie, deux gels ont été préparés à base du pullulane. L'encapsulation et la libération de substances pourra se faire par diffusion passive ou contrôlée. La diffusion contrôlée peut être obtenue, selon la nature du gel, par variation de paramètres extérieurs comme la température, le pH ou la force ionique.

Ce manuscrit est divisé en deux sections. Dans la première, nous présentons une recherche bibliographique sur deux thèmes : les hydrogels et les systèmes à libération contrôlé des principes actifs. La deuxième section est représentée la partie expérimentale, constituée de deux chapitres est consacrée à la synthèse et la caractérisation des hydrogels puis l'inclusion et la libération des principes actifs. Et enfin une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus .



## **Bibliographie :**

- [1]. Solomons K. et Cochrane J.W., *Formaldehyde toxicity. Part II. Review of acute and chronic effects on health*, S. Afr. Med. J., 1984,3, 103-106.
- [2]. Takigawa T. et Endo Y., *Effects of glutaraldehyde Exposure on human health*, Journal of occupational Health, 2006, 48, 75-87.
- [3]. Berjer J., Reist M. et Mayer J.M., *Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications* 2004, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 57, 19-34

A decorative border with floral motifs, including roses and leafy sprigs, framing the page. The border is composed of thin lines with ornate floral designs at the corners and midpoints.

***A : ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE***

A decorative border with floral motifs, including roses and leaves, framing the page. The border is composed of thin lines with ornate floral designs at the corners and midpoints.

# ***CHAPITRE I :***

***Rappel bibliographique sur  
les hydrogels***

## INTRODUCTION

Les hydrogels sont des matériaux avec une structure tridimensionnelle formée des polymères hydrophiles qui présentent la capacité d'incorporer d'importantes quantités d'eau ou des solutions aqueuses [1]. Dans la littérature il y a aussi des études qui montrent la libération graduelle de protéines médicament dans la forme active des matrices polymères hydrophobiques [2].

Les hydrogels ont capté l'intérêt des hommes de science grâce à la capacité d'incorporer les principes actifs dans leur structure et de les libérer dans le milieu biologique dont ils ressemblent. Les hydrogels sont stables après le gonflage dans le milieu aqueux grâce à leur possibilité d'être modifiés physiquement et/ou chimiquement comme réponse aux stimulateurs externes et présentent des propriétés intermédiaires aux liquides et aux solides. Ceux-ci peuvent accumuler des quantités de liquide jusqu'à mille fois leur masse initiale [3].

### 1-Considérations générales sur les hydrogels

Wichterle *et al.* ont élaboré pour la première fois des hydrogels en les utilisant comme lentilles de contact dans les années 1960 [4]. Depuis là, ces matériaux ont connu une ascension particulière dans le domaine biomédical à cause des possibilités de combiner les polymères naturels avec ceux qui sont synthétiques mais aussi à cause de l'existence d'une gamme variée d'agents de réticulation qui peuvent être utilisés pour obtenir des propriétés adéquates à l'application désirée.

Pour le contrôle des propriétés physiques de ces hydrogels on a recours à la réticulation des polymères par des méthodes chimiques et/ou physiques [5,6]. La nature du réseau, de la structure physique, de la réticulation, la source ou le type d'interaction avec les tissus vivants sont des critères qui classifient les hydrogels dans diverses catégories, représentés dans le diagramme de la **Figure I-1**

- La source du polymère : hydrogel naturel ou synthétique.
- La nature de la réticulation : hydrogel chimique ou physique.
- La nature du réseau polymérique : réseau homopolymérique ou copolymérique, réseau de polymères enchevêtrés.

- La charge de l'hydrogel.
- Leur durée de vie dans l'organisme : hydrogel dégradable ou non-dégradable.
- Les propriétés physiques : hydrogel conventionnel ou "intelligent".

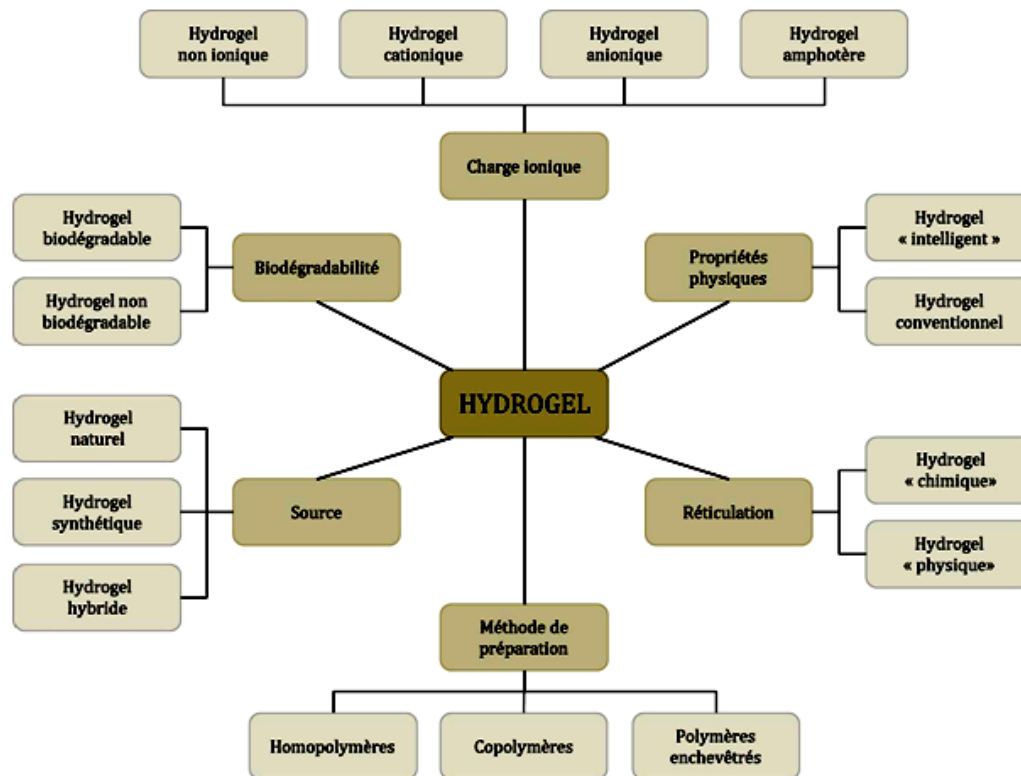


Figure I-1: Classifications des hydrogels [7].

## 2-Qu'est-ce qu'un hydrogel ?

Un hydrogel est un réseau polymérique hydrophile qui peut absorber en eau jusqu'à plusieurs milliers de fois sa masse sèche. Les hydrogels peuvent être stables chimiquement ou peuvent se dégrader et se dissoudre [7].

Les hydrogels sont dits "réversibles" ou "physiques" lorsque le réseau est un enchevêtrement de polymère tenu par des forces secondaires de type liaisons hydrogènes, ioniques ou hydrophobes. Les domaines de réticulation des gels physiques créent des inhomogénéités. Les chaînes de polymères libres représentent un réseau transitoire dans les gels physiques puisque les sites de réticulation ne sont pas permanents. Les hydrogels sont dits "permanents" ou "chimiques" lorsque leur réseau est réticulé de manière covalente.

Comme les hydrogels physiques, les hydrogels chimiques ne sont pas homogènes. Ils contiennent généralement des régions peut gonflées par l'eau où la densité de réticulation est élevée. Ces régions appelées "clusters" sont dispersées parmi des régions à faible densité de réticulation très gonflées en eau. Dans certains cas, en fonction de la composition du solvant, de la température et de la concentration lors de la formation du gel, une séparation de phase peut avoir lieu, formant ainsi des cavités (ou macropores) remplis d'eau dans le gel. Dans les gels chimiques, les chaînes des polymères libres sont des "défauts" dans le réseau et ne contribuent pas à l'élasticité permanente du réseau [7].

Il existe un certain nombre de structures macromoléculaires possibles pour les hydrogels physiques et chimiques, incluant les suivantes : un réseau réticulé ou enchevêtré d'homopolymères linéaires, de copolymères linéaires et de copolymères à blocs ou branchés ; un complexe ployions- multivalent, ployions-ployions ou liaisons hydrogènes ; un réseau hydrophile stabilisé par des régions hydrophobes ; des réseaux interpénétrés (ou mélanges physiques).

D'autres part, les hydrogels peuvent avoir différentes formes physiques, comme par exemple :

- Un solide mou (ex. lentilles de contact).
- Une poudre comprimée (ex. pilules ou capsules pour ingestion orale).
- Des microparticules (ex. vecteurs bioadhésifs ou traitement des plaies).
- Sous forme de revêtement (ex. sur les implants, sur les pilules ou capsules).
- Sous forme de membrane ou de feuille (ex. réservoir dans un patch de libération sous-cutanée, gels d'électrophorèse à 2D).
- Solide encapsulé (ex. pompe osmotique).
- Liquide (formant un gel par chauffage ou refroidissement).

Les hydrogels issus de polymères naturels offrent en général plusieurs avantages inhérents tels que la biocompatibilité et la biodégradabilité, ainsi que la présence de fragments biologiques favorisant l'activité cellulaire. A l'inverse, les hydrogels synthétiques ne possèdent pas de propriétés biologiques intrinsèques. Néanmoins, les polymères synthétiques ont généralement des structures bien définies qui peuvent être ajustées de manière à satisfaire la biodégradabilité et la biofonctionnalité [8].

Il existe différents moyens de synthétiser un hydrogel chimique ou physique, et quelques-unes des principales techniques sont présentées dans le Tableau 1.1 La Figure 1.2



présente schématiquement quelques exemples de formations d'hydrogels physiques et chimiques.

**Tableau I-1 : Méthodes couramment utilisées pour synthétiser des hydrogels.**

Hydrogels physiques :	Hydrogels chimiques :
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chauffage ou refroidissement d'une solution (ex. agarose ou gélatine dans l'eau)</li> <li>• Diminution du pH pour former un gel par liaisons hydrogènes entre deux polymères en solution aqueuse (ex. PEG et PAA)</li> <li>• Mélange de solutions d'un polyanion et d'un polycation pour former un gel sous forme de coacervat complexe (ex. alginate de sodium plus polylysine)</li> <li>• Gélification d'une solution de polyélectrolyte avec un ion multivalent de charge opposée (ex. alginate de sodium + calcium)</li> </ul>	<p>Réticulation de polymères solides ou en solution par :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Radiation (ex. irradiation de PEG dans l'eau)</li> <li>• Réticulation chimique (ex. traitement du collagène avec du glutaraldéhyde)</li> <li>• Copolymérisation d'un monomère par un agent réticulant en solution (ex. HEMA + EGDMA)</li> <li>• Polymérisation d'un monomère dans un polymère solide différent pour former un interpénétré réseau (ex. acrylonitrile + amidon)</li> <li>• Conversion chimique d'un polymère hydrophobe en hydrogel (ex. hydrolyse partielle de poly (acétate de vinyl) PVAc en alcool polyvinylique PVA)</li> </ul>

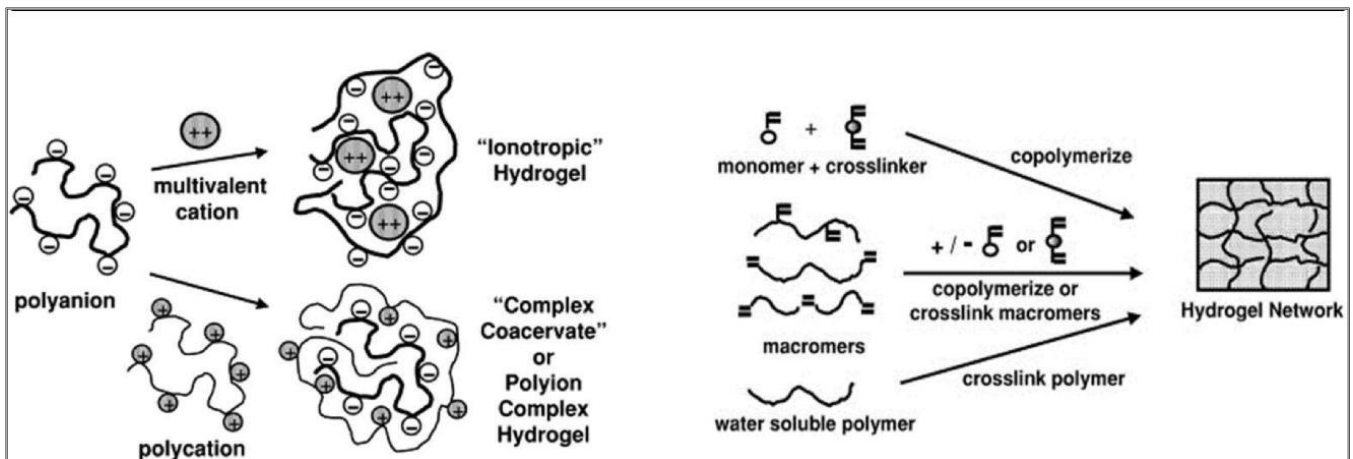


Figure I-2 : (a) Schéma de formation de deux types d'hydrogels physiques ioniques [7]

### **3-Propriétés notables des hydrogels :**

Les hydrogels utilisés comme biomatériaux dans les biotechnologies nécessitent certaines propriétés physico-chimiques que l'on doit pouvoir caractériser et contrôler. Deux caractéristiques importantes sont la biocompatibilité [9] et les propriétés mécaniques [10]. La perméabilité dans les hydrogels est également un paramètre nécessaire à étudier aux vues des applications potentielles d'encapsulation et de relargage [7;8]. Enfin, certains hydrogels dits "intelligents" voient leurs caractéristiques modifiées en réponse à un stimulus extérieur [11].

#### **3-1-Dégradabilité :**

La dégradation du gel peut être contrôlée par des méthodes physiques et/ou chimiques : il est possible de jouer sur la masse molaire des polymères ou leur composition pour contrôler la cinétique de dégradation in vivo. Par exemple, en irradiant un alginate de haute masse molaire, on peut couper sélectivement certains types de liaisons, et ainsi former un gel qui se dégrade plus rapidement. L'utilisation d'enzymes est un exemple de méthode biologique permettant la dégradation des hydrogels [9].

#### **3-2-Propriétés mécaniques :**

Les propriétés mécaniques d'un hydrogel sont très importantes pour le choix du matériau à utiliser au regard d'une application spécifique : les propriétés attendues ne sont pas les mêmes en ingénierie tissulaire ou pour des lentilles de contact (gel mou), pour un épaississant en agroalimentaire (gel très mou), ou encore dans la fabrication de microbilles absorbant l'humidité (gel dur). Pour mieux comprendre le comportement mécanique des hydrogels, on utilise les théories d'élasticité et viscoélasticité basées sur la réponse temporelle du gel soumis à une contrainte. On peut distinguer les gels mous, comme les élastomères, qui sont viscoélastiques et possèdent un faible module d'Young. Ils possèdent une contrainte seuil de plasticité à partir de laquelle la déformation est irréversible : c'est le régime de viscoplasticité. Les gels plus rigides possèdent des modules d'Young supérieurs : ils sont moins déformables et peuvent casser lorsque la contrainte dépasse une contrainte seuil de rupture.

La rigidité d'un polymère réticulé provient essentiellement de la densité de réticulation et de l'énergie des liaisons. On peut par exemple, lorsqu'un hydrogel n'est pas homopolymérique, améliorer la rigidité finale du matériau en augmentant la proportion de monomères plus "solides" et en augmentant ainsi la raideur du squelette de polymères (en remplaçant par exemple des acrylates par des méthacrylates). On peut également augmenter la densité de réticulation d'un gel en augmentant la quantité d'agent réticulant ou la concentration en polymère [10].

Les conditions de formation de l'hydrogel telles que le temps de réaction, la température, la quantité et le type de solvant influent sur la structure finale du gel et peuvent également affecter les propriétés mécaniques du gel. Par exemple, lorsque le temps de réaction avec l'agent réticulant est court, la densité de points de réticulation sera faible et le gel sera moins rigide. Le post-traitement d'un gel (addition d'un composé réagissant avec le(s) polymère(s)) peut changer la structure du réseau polymérique et modifier ses propriétés mécaniques. Enfin, le degré de gonflement d'un réseau d'hydrogel est intimement lié à sa résistance mécanique : plus il est gonflé d'eau, plus la densité de réticulation est faible [10].

### **3-3-Porosité :**

La porosité du gel (taille des pores du réseau) et les paramètres qui affectent la diffusion d'un soluté dans le gel sont donc des caractéristiques importantes à déterminer. Il existe différents modèles mathématiques qui modélisent les phénomènes de transports dans un gel. Les chaînes de polymères bloquent ou retardent le mouvement des solutés en réduisant le volume libre moyen disponible : elles agissent comme une barrière physique et augmentent la longueur du chemin à parcourir [12]. La structure du réseau (taille des pores), la composition du polymère, la nature et la taille des solutés sont autant de paramètres à prendre en compte dans le phénomène de diffusion. Dans le cas de gels à larges pores (supérieurs à la taille des solutés) la diffusion est limitée par la tortuosité du réseau. Lorsque la taille des solutés est de l'ordre de la taille des pores de l'hydrogel, on peut déterminer leur coefficient de diffusion par diverses modélisations dont la forme générale est la suivante :

$$\frac{D_{gel}}{D_{eau}} = f(\alpha, \Phi, \xi)$$

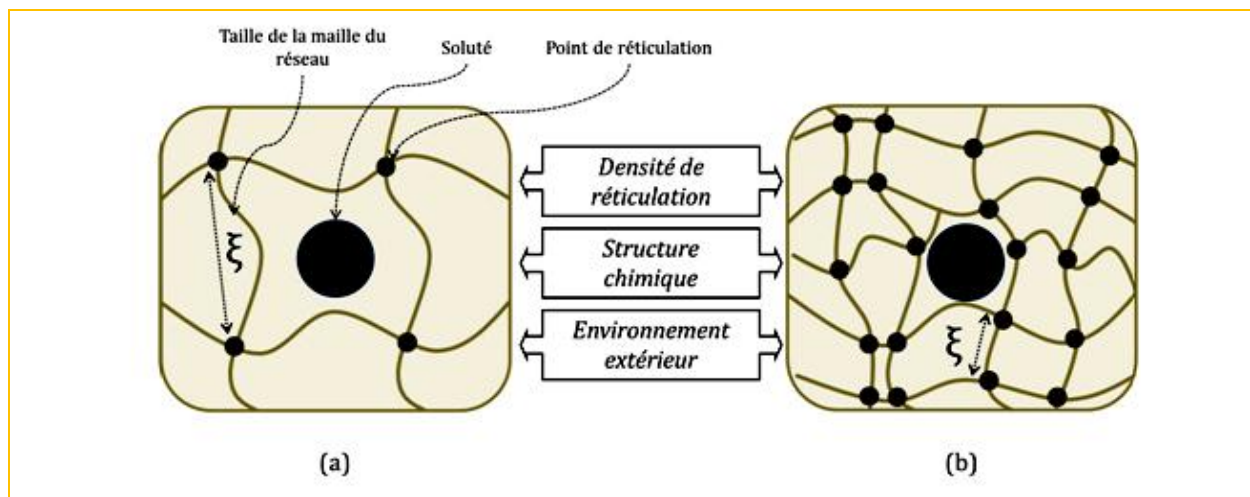
Avec :  $D_{eau}$  (respectivement  $D_{gel}$ ) le coefficient de diffusion du soluté dans l'eau pure (respectivement dans l'hydrogel),

$\alpha$  : la taille du soluté,

$\Phi$  la fraction volumique en polymère dans le gel,

$\xi$  la taille caractéristique de la maille du réseau de l'hydrogel.

En conclusion, il est nécessaire d'adapter la composition du polymère et la densité de réticulation à la taille et la composition du soluté présent dans l'hydrogel.



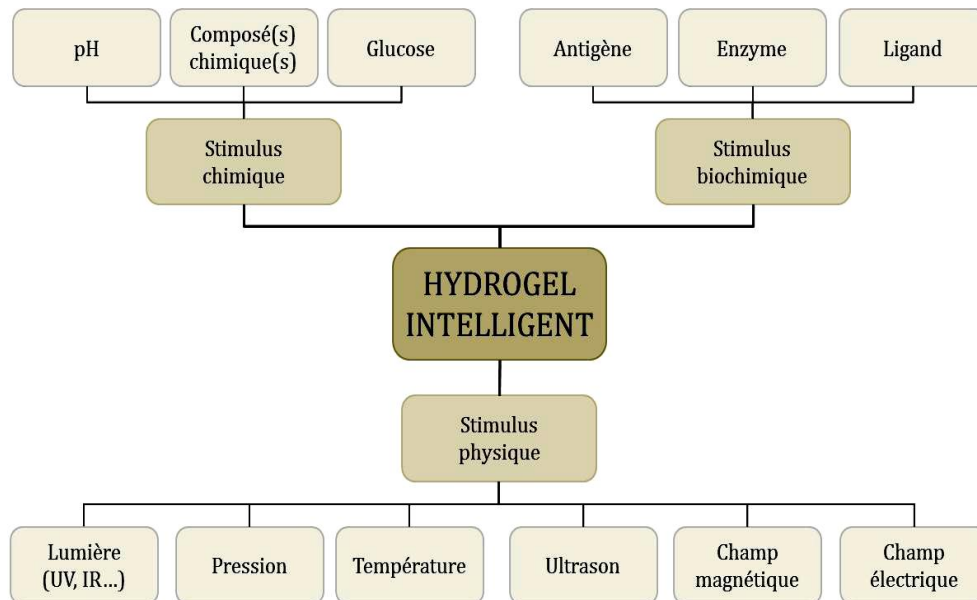
**Figure I-3:** Schéma d'un soluté dans un hydrogel : (a) La taille du soluté est petit par rapport à la maille du réseau, il peut diffuser librement. (b) Le soluté a une taille de l'ordre de la taille de maille du réseau, il est piégé par les polymères.

La porosité du gel peut être "réglée" en jouant sur différents paramètres tels que la densité de réticulation, la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température, force ionique etc...).

### 3-4-Hydrogels "intelligents" :

Certains hydrogels peuvent réagir à des stimuli extérieurs et subir des modifications relativement importantes de leur structure et de leurs propriétés telles que le gonflement, la perméabilité ou encore la résistance mécanique. Ces hydrogels sont

appelés hydrogels "intelligents". Ils peuvent être classés selon les différents types de stimuli (chimiques ou physiques) auxquels ils sont sensibles (voir Figure 1.4)



**Figure 1-4 : Classification des hydrogels «intelligents».**

Les stimuli chimiques, tels que le pH ou l'ajout d'un composé chimique, peuvent changer les interactions entre les chaînes de polymères ou entre le polymère et le solvant à l'échelle moléculaire. Les stimuli d'origine physique, tels que la température, un champ électrique ou magnétique ou encore une contrainte mécanique, peuvent affecter les interactions moléculaires. Certains hydrogels ont été développés pour combiner deux mécanismes de réponse à deux stimuli. On les appelle des réseaux polymères à réponse double. Plus récemment, les stimuli biochimiques sont considérés comme une nouvelle catégorie à part entière. Elle comprend la réponse des hydrogels à des antigènes, des enzymes, des ligands ou d'autres agents biochimiques et présente un grand intérêt pour certaines applications biomédicales. Quatre exemples de types d'hydrogels "intelligents" sont présentés ici.

**3-4-1-Les hydrogels sensibles au pH :**

Sont constitués d'un squelette polymérique comprenant des groupes pendants ioniques qui peuvent accepter/donner des protons en réponse à un changement du pH : le degré d'ionisation est modifié et le changement de la charge nette des groupes pendants peut causer des transitions de volume brusque en générant des forces électrostatiques répulsives entre ces groupes ionisés. Cela donne lieu à un gonflement du gel. Il existe deux types d'hydrogels sensibles au pH : les anioniques, dans lesquels les groupes pendants peuvent être des groupes carboxyliques, ou les cationiques dans lesquels des groupes pendants peuvent être des amines. La charge ionique et le pKa du polymère, ainsi que la force ionique de la solution extérieure sont les principaux facteurs qui influent sur le degré de gonflement d'un gel sensible au pH [13].

**3-4-2-Les hydrogels sensibles à la température :**

Sont des systèmes répondant à une diminution ou à une augmentation de la température. Les hydrogels physiques thermosensibles subissent une transition sol-gel à une température critique. La gélatine est liquide pour des températures typiquement supérieures à 35°C (cette température de transition varie en fonction du grade et de la concentration en polymère). Les hydrogels chimiques thermosensibles répondent quant à eux par un changement de volume plutôt que par une transition sol-gel. Certaines interactions moléculaires, comme les interactions hydrophobes ou les liaisons hydrogènes, jouent un rôle essentiel dans le changement de volume des gels à la température critique : les liaisons hydrogènes entre le polymère et l'eau deviennent défavorables par rapport aux interactions polymère-polymère. Cela entraîne la déshydratation du système (évacuation de l'eau du réseau) et une rétraction de la structure polymérique [11]. Le poly (N-isopropylacrylamide) (PNI-PAAm) est le polymère sensible à la température le plus utilisé puisqu'il présente une transition de phase dans l'eau à 34°C, proche de la température corporelle [13].



#### **4-Exemples d'applications des hydrogels :**

L'objectif de cette partie n'est pas de détailler de manière exhaustive toutes les applications des hydrogels, mais plutôt de donner un aperçu des principales utilisations possibles de ces matériaux en lien avec leurs caractéristiques physico-chimiques, illustrées par quelques exemples dans les domaines du biomédical et de la cosmétique.

##### **4-1-Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments :**

Une des applications importantes des hydrogels est leur utilisation en pharmaceutique pour la libération contrôlée de molécules bioactives. Un système de libération doit pouvoir contrôler le relargage du soluté en fonction du temps. Parmi les biomatériaux disponibles, les hydrogels possèdent un ensemble de caractéristiques qui les rend très adaptés à cette application car la diffusion des molécules actives peut être contrôlée.

Dans la plupart des applications médicales, les hydrogels biodégradables sont favorisés puisqu'ils se dégradent assez rapidement dans des conditions relativement douces, et évitent ainsi une intervention chirurgicale supplémentaire de retrait d'un implant d'hydrogel non dégradable. La prédiction du temps de dégradation des hydrogels est cruciale pour garantir le succès du relargage du médicament et maximiser les effets thérapeutiques [8].

Les systèmes de distribution contrôlée de médicaments à base d'hydrogels peuvent être utilisés pour une application orale, oculaire, sous-cutanée ou épidermique. L'administration de médicaments par voie orale est la méthode la plus utilisée. Cela permet délivrer les substances dans quatre sites spécifiques majeurs : la bouche, l'estomac, l'intestin grêle et le colon. Les propriétés d'adhésion spécifique des hydrogels permettent d'augmenter la concentration locale en médicament et augmentent son absorption dans le corps. Plusieurs types d'hydrogels bioadhésifs ont été développés depuis les années 80 et certains sont sur le marché. Par exemple, le comprimé commercialisé sous le nom de Aftach est composé d'une couche bioadhésive d'hydroxypropyle cellulose et d'acide polyacrylique ainsi que d'une deuxième couche support non adhésive de lactose. C'est un système de délivrance locale de triamcinolone acétonide pour le traitement des aphtes [14].

Les capacités de "sondes" des hydrogels "intelligents" sont très attractives pour les applications biomédicales de relargage contrôlé de médicaments, notamment dans le traitement du diabète ou des problèmes de rythme cardiaque. Dans ces deux cas, la molécule bioactive est relarguée en réponse à des changements métaboliques, ou en présence d'une certaine molécule dans l'environnement. La libération est donc contrôlée par les besoins physiologiques en temps donné et dans un site adéquat (modulation temporelle et ciblage spécifique). De plus, la substance active est protégée par l'hydrogel d'un environnement éventuellement hostile (par exemple des enzymes et du pH acide de l'estomac) avant sa libération. C'est le cas avec les hydrogels sensibles au pH : le pH acide de l'estomac ( $\text{pH} < 3$ ) est différent du pH neutre de la bouche. Cette différence induit un changement de comportement de l'hydrogel polycationique : son gonflement est minimal à pH neutre et le médicament est immobilisé ; dans l'estomac à pH acide, le gel est gonflé par ionisation et le médicament est libéré.

En résumé, les hydrogels jouent un rôle majeur dans les applications de relargage contrôlé de substances médicamenteuses. En jouant sur leurs caractéristiques physicochimiques, il est possible d'ajuster la diffusion des substances actives.

#### **4-2- Cosmétique :**

Les hydrogels sont également très utilisés dans le secteur de la cosmétique. Ils permettent de piéger des ingrédients actifs cosmétiques et de les libérer de manière contrôlée, grâce à un stimulus extérieur comme une variation de pH par exemple. De plus, les actifs piégés dans l'hydrogel sont protégés de l'environnement extérieur pouvant éventuellement les dégrader. Les propriétés mécaniques des hydrogels confèrent aux formulations une stabilité et une résistance utiles pour le stockage pendant plusieurs mois, voire plusieurs années, dans un flacon soumis éventuellement à des contraintes et des chocs (transport). De plus, il est possible de jouer sur la rhéologie des hydrogels et de leur donner des formes et des textures variées et adaptées à l'usage que l'on souhaite en faire (solution viscoélastique, solide plus ou moins mou, membrane fine, billes, etc...).

Les principes actifs cosmétiques sont la plupart du temps des molécules instables dans l'air, sensibles à l'oxygène, aux rayons lumineux, à la chaleur et aux ions métalliques. Ainsi, des efforts considérables ont été faits dans la recherche de moyen d'encapsulation et de protection de ces molécules actives [15] [16] [17].

**Bibliographie :**

- [1].Peppas N.A., Bures P., Leobandung W. et Ichikawa H., *Hydrogels in pharmaceutical Formulations*, Eur. J. Pharm. Biopharm., 2000, 50, 27–46.
- [2].Langer R. et Folkman J., *Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules*, Nature, 1976, 263, 797–800.
- [3].Giri T.K., Thakur A., Alexander A., Ajazuddin, Badwaik H. et Tripathi D.K., *Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications*, Acta Pharmaceutica Sinica B, 2012, 2, 439–449.
- [4].Wichterle O. et Lím D., *Hydrophilic gels for biological use*, Nature, 1960, 185, 117-118.
- [5].Jones A. et Vaughan D., *Hydrogel dressings in the management of a variety of wound types: A review*, Journal of Orthopaedic Nursing, 2005, 9, S1-S11.
- [6].Loh X.J., Peh P., Liao S., Sng C. et Li J., *Controlled drug release from biodegradable thermoresponsive physical hydrogel nanofibers* Journal of Controlled Release, 2010, 143,175–182.
- [7].Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1):3–12.
- [8].Lin, C.C. and Metters, A. T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations : network design and mathematical modeling. *Advanced drug delivery reviews*, 58(12-13) :1379–408.
- [9].Augst, A. D., Kong, H. J., and Mooney, D. J. (2006). Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromolecular Bioscience*, 6(8) :623–633.
- [10].Anseth, K. S., Bowman, C. N., and Brannon-Peppas, L. (1996). Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, 17(17) :1647–1657.
- [11].Patel and Mequanint, 2011 Patel, A. and Mequanint, K. (2011). Hydrogels Biomaterials. In Reza Fazel, P., editor, *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*, chapter 14. Intech edition.
- [12]. Amsden, B. (1998). Solute Diffusion within Hydrogels. *Mechanisms and Models. Macromolecules*, 31(23) :8382–8395.
- [13]. Peppas, N. A., Huang, Y., Torres-Lugo, M., Ward, J. H., and Zhang, J. (2000). Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology. *Annual review of biomedical engineering*, 2 :9–29.

- [14]. Peppas, N. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1) :27–46.
- [15]. Agnely, F., Djedour, A., Bochot, A., and Grossiord, J. (2006). Properties of various thermoassociating polymers : pharmaceutical and cosmetic applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 16(1) :3–10.
- [16]. Kim, D.-G., Jeong, Y.-I., Choi, C., Roh, S.-H., Kang, S.-K., Jang, M.-K., and Nah, J.-W. (2006). Retinol-encapsulated low molecular water-soluble chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 319(1-2) :130–8.
- [17]. Lee, E. and Kim, B. (2011). Smart delivery system for cosmetic ingredients using pH-sensitive polymer hydrogel particles. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28(6) :1347–1350.



# ***CHAPITRE II***

***Rappel bibliographique sur  
les formes galéniques et la  
diffusion type Fickienne***

## Introduction :

Dans la recherche pharmaceutique, l'utilisation des nouvelles formes galéniques a pour objectif principal le contrôle et la modification de la libération du principe actif. Ce type de forme présente un très grand intérêt puisqu'il contribue à l'augmentation de l'efficacité du traitement thérapeutique et à la diminution des effets indésirables des médicaments causés par les inévitables surdosages rencontrés dans la plupart des formes conventionnelles [1-3].

### 1- Rappel bibliographique sur les formes galéniques:

#### 1-1- La biodisponibilité et l'activité thérapeutique des principes actifs:

La notion de biodisponibilité [4] peut être définie simultanément par:

1. La quantité de principe actif inchangée qui administrée à un organisme vivant, atteint intact la circulation générale.
2. La vitesse à laquelle elle y parvient.

En supposant l'administration d'un même principe actif sous trois formes galéniques différentes également dosées, les quantités de ce principe actif atteignant la circulation générale sont identiques pour les trois formes mais avec des vitesses différentes; ceci peut être illustré par la figure suivante:

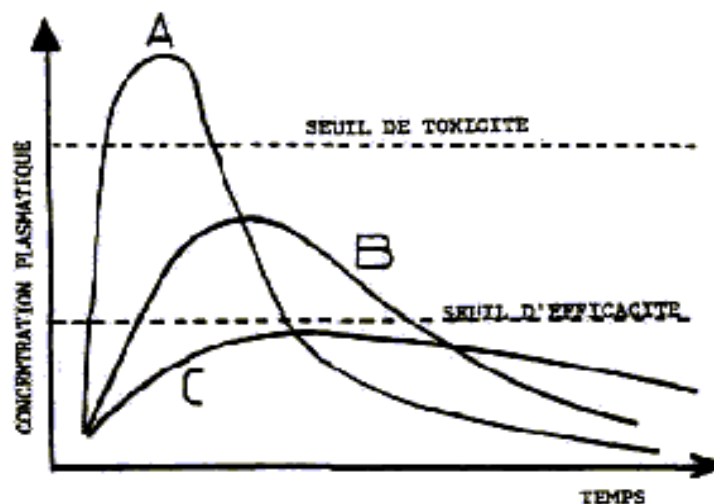


Figure II-1: Concentration plasmatique obtenue après administration d'un même principe actif présenté sous trois formes galéniques A, B et C

- **Forme A :** Le principe actif passe très rapidement dans la circulation générale provoquant une concentration plasmatique supérieure au seuil de toxicité, avec apparition de troubles qui sont liés au surdosage (zone de toxicité potentielle).
- **Forme B :** Elle présente une vitesse de mise à disposition correcte, la concentration plasmatique en principe actif restant située dans la zone thérapeutique.
- **Forme C :** Le principe actif ne passe que très lentement dans le sang et les concentrations plasmatiques n'atteignant pas le seuil d'efficacité (zone non thérapeutique).

### 1-2-Rythme d'administration et observation des traitements :

Afin d'aboutir à un effet retard désiré, on a souvent recours à la technique des doses fractionnées (Figure II-2). En outre, cette technique est lourde et contraignante car, dans la zone thérapeutique, la posologie et la fréquence d'administration doivent être strictement respectées.

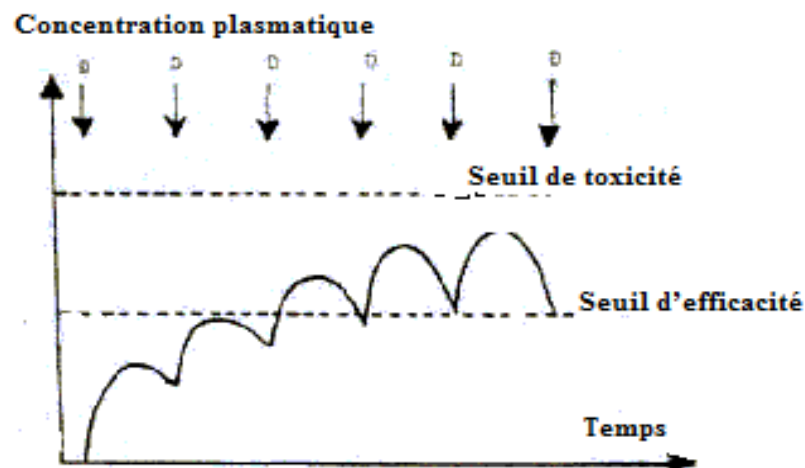


Figure II-2 : Evolution des concentrations plasmatiques d'un médicament administré à raison d'une dose toutes les demi-vies (D : dose).

### 1-3-Généralités sur les formes galéniques à libération contrôlée :

Les formes galéniques, à libération contrôlée, ont été mises au point afin de diminuer le nombre de prises quotidiennes du médicament tout en restant dans la zone thérapeutique au niveau du profil de concentrations plasmatiques en fonction du temps [5].

**1-3-a-Classification des formes à libération modifiée:**

Selon le type de libération, les formes galéniques à libération modifiée ou contrôlée ont été classées en quatre catégories principales [6-9].

➤ **Formes à libération " retardée" ou "différée" :**

Le début de libération est retardée par rapport à la forme classique, son action peut être contrôlée par rapport au lieu de libération et elle ne peut pas être prolongée (ex : formes entériques ou gastro - résistantes).

➤ **Formes à libération « prolongée » ou « progressive »:**

Comparées aux autres formes classiques, elles assurent une concentration plasmatique efficace pendant une durée de temps très longue. Après passage par un maximum, on remarque une diminution plus ou moins lente de la concentration en principe actif dans le sang.

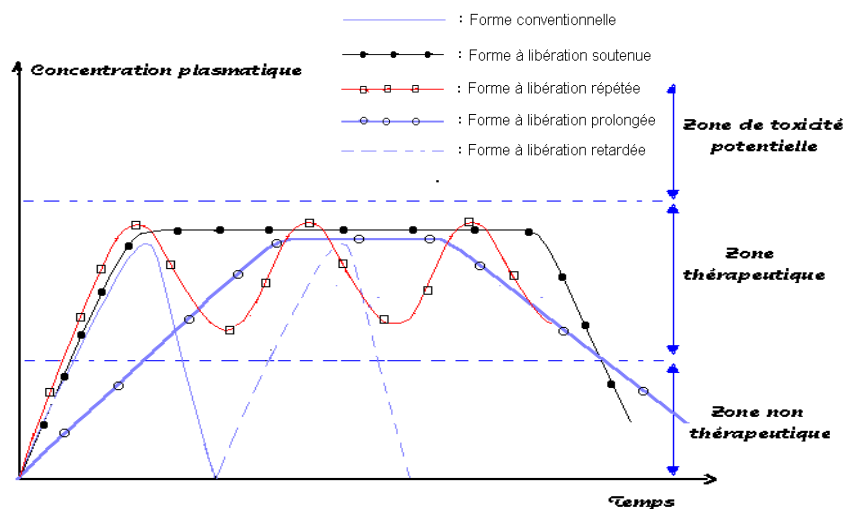
➤ **Formes à libération répétée:**

Une prise unique est suffisante pour l'obtention d'une concentration plasmatique semblable à celle qui correspond à des prises répétées d'une forme conventionnelle. Ce type de formes est avantage par leur simplicité de prise et surtout leur éloignement de la zone toxique.

➤ **Formes à libération « soutenue » ou « Constante » :**

Elles sont appelées aussi formes à libération d'ordre cinétique zéro. Elles offrent une vitesse de libération indépendante du temps et une concentration plasmatique efficace constante pendant une durée de temps très longue ce qui correspond au cas « idéal ».

La figure II-3 représente les profils des concentrations plasmatiques obtenus à partir de ces différentes formes à libération « modifiée » [7]



**Figure II-3: Profils des concentrations plasmatiques obtenus à partir des différentes formes à libération modifiée.**



Selon la manière d'enrober les médicaments, ces formes galéniques sont classées en trois systèmes :

❖ **Systèmes « réservoirs » [4] :**

Ils sont constitués d'une membrane polymérique entourant le principe actif. On pourra donc moduler la libération du principe actif en modifiant la « structure » de la membrane. Leur principal avantage est de pouvoir assurer une cinétique d'ordre zéro mais leur réalisation est difficile et coûteuse. Cependant, cette matrice polymère présente l'inconvénient de ne pas être biodégradable, ce qui nous amène au retrait chirurgical en cas d'implant. De plus, la fragilité d'un tel système cause souvent des « éclatements », ce qui peut entraîner de graves conséquences pour le patient, en raison de la dose importante de médicament contenue dans le réservoir (cas de surdosage (over-dose)).

Il existe plusieurs agents d'enrobage comme les silicones, les hydrogels, l'éthyle cellulose, l'acétate de cellulose et l'éthylène –vinyl -acétate, qui sont classés en :

- Matériaux poreux qui retiennent l'agent actif dans ses pores.
- Matériaux qui subissent une érosion chimique ou biologique (ex : Gélucire)
- Membranes semi-perméables qui engendrent la formation de gradients osmotiques.

Donc la vitesse de libération dépend des facteurs suivants:

- ▶ La concentration initiale en principe actif contenue dans le réservoir.
- ▶ L'épaisseur de la membrane.
- ▶ La nature du polymère et la diffusivité du principe actif à travers le polymère.
- ▶ Les interactions chimiques polymère/ matrice et le principe actif.
- ▶ La masse moléculaire du principe actif
- ▶ La structure et surtout la masse moléculaire du polymère.

❖ **Systèmes « matriciels » :**

Dans ces systèmes, le principe actif est dispersé uniformément dans le polymère « matrice » [2] [10-12]. Le liquide environnant pénètre dans le système, dissout progressivement le principe actif qui diffuse alors à travers la membrane. On peut rencontrer plusieurs types:

- Matrices minérales (formes inchangées).
- Matrices inertes (formes inchangées).
- Matrices lipidiques (érosions partielles).
- Matrices hydrophiles (gonflement par hydratation).

- Matrices mixtes : on distinguera : les Inertes hydrophiles et les Inertes lipidiques.

Avec ces formes galéniques matricielles, on obtient une libération prolongée du principe actif avec une vitesse de libération qui dépend seulement de la diffusion du principe actif dans le polymère. L'intérêt de ces formes est leur facilité de fabrication et leur faible coût.

❖ **Formes " hybrides " :**

Ces formes englobent les deux systèmes précédents. Ils sont constitués d'une membrane enveloppant l'agent actif, lui-même dispersé dans une matrice polymère.

De tels systèmes ont une grande résistance mécanique, ils offrent une cinétique de libération d'ordre zéro.

**1-3-b-Composition des formes galéniques :**

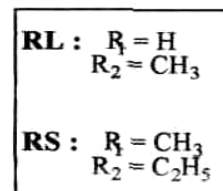
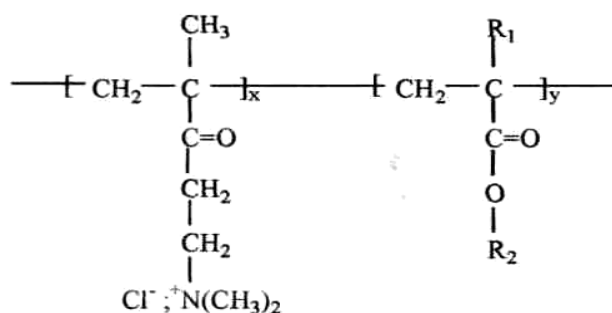
La fabrication des formes galéniques (comprimés, dragées, granulés et pellets) est réalisée en mélangeant le principe actif (médicament) à d'autres matières que sont les excipients.

Les excipients utilisés sont nombreux. Ils peuvent être mélangés directement aux médicaments, ou être utilisés comme matériaux d'enrobage. On citera parmi eux : la gélatine, le dioxyde de titane et la poly-vinyl-pyrrolidone.

La vitesse de dissolution du médicament et de la résorption par le corps humain dépend de la nature des excipients et de leurs propriétés (perméabilité, hydrophilie, granulométrie) ainsi que de l'état physique du principe actif (forme cristalline, degré de finesse des poudres...).

**1-3-c-Généralités sur le copolymère matrice choisi (excipient)**

L'excipient utilisé dans notre cas, comme matrice polymère nécessaire à la fabrication des formes galéniques orales à libération lente est un copolymère méthacrylique, connu sous le nom d'Eudragit et se présente sous deux types RL et RS [1]. Les « Eudragit » RL et RS sont des copolymères de diméthyl-aminoéthyl méthacrylate et d'esters neutres d'acide méthacrylique de faible teneur en groupements ammonium quaternaires de formule suivante :



Ces produits, de poids moléculaire moyen d'environ 150.000, insolubles dans l'eau et les sucs gastro-intestinaux, gonflent dans ces milieux et deviennent perméables aux liquides, ce qui permet la diffusion des agents actifs à travers ces matrices polymères. Ils sont non digestibles car ils sont insensibles aux sécrétions gastro-intestinales et aux enzymes digestives.

Les Eudragits RL et RS peuvent être miscibles en toute proportion et la modification du rapport RL/RS permet de modifier l'hydrophilie et la perméabilité du mélange, d'où une grande possibilité à réaliser des formes galéniques à large éventail quant à la libération contrôlée du principe actif. Ce sont généralement des polymères insolubles en milieux aqueux qui permettent la réalisation de tels systèmes contrôlés (hydroxy-propyl-méthyl cellulose, éthyle cellulose, Eudragit RL et /ou RS). Les Eudragits sont largement utilisés dans l'industrie des comprimés, on peut citer l'exemple de Paralgan, Aspirine pH =8 etc... On remarquera que les lettres RL et RS indiquent le degré de perméabilité de ces produits de mélange et ont pour origine l'allemand Leichtdurchlässig: (hydrophile) pour RL et Schwerdurchlässig (hydrophobe) pour RS.

Dans notre travail, nous avons préparé et étudié des formes galéniques composées d'un monomère ou d'un copolymère support d'agent actif dispersé dans une matrice hydrophile. On a choisi, dans ce cas, l'Eudragit RL, présente sous forme de poudre fine. Il provient de la société Allemande Röhm Pharma [1].

**Bibliographie :**

- [1]. Röhm Pharma. Eudragit RL et RS, « Emploi dans l'industrie Pharmaceutique », Document Inf. RL/RS (1984)
- [2].G. Odian, « Reactions of Polymers, Principles of Polymerization », 2<sup>ème</sup> Ed., John Wiley, New-York (1981).
- [3]. J. M. Ayache, J. Ph. Devissaguet et A. M. Guyot-Hermann, Galencia II, Biopharmacie, Technique et Documentation, Paris, 1<sup>ère</sup> Ed., 584 (1978).
- [4].S. Segot-Chicqs, E. Teillaud et N. A. Peppas, S.T.P. Pharma., 1, 25-36 (1985).
- [5].A.Droin, Thèse d'Etat, Université Claude Bernard Lyon1, U.E.R. Faculté de Pharmacie (1986).
- [6].C. Brossard, D. Lefort des Ylouses, D. Duchène, F. Puisieux et J.T. Carstensen, J. Pharm. Sci., 72, 162-169 (1983).
- [7].P. Buri, J. Suisse de Pharm., 114, 405-411(1976).
- [8].C. Brossard, Labo. Pharma. Prob. Techn., 30, 75-85 (1982).
- [9].N. A. Peppas, C. Bindschaedler, S.T.P Pharma., 2, 38-46, (1986).
- [10]. N. Chafi, J.P. Monthéard and J.M. Vergnaud,International Journal of Pharmaceutics, 67, 265-274 (1991).

A decorative border with floral motifs, including roses and leafy sprigs, framing the page. The border is composed of thin lines with ornate floral designs at the corners and midpoints.

***B : PARTIE  
EXPERIMENTALE***

A decorative border with floral motifs, including roses and leaves, framing the page. The border is composed of thin lines with ornate floral designs at the corners and midpoints.

***CHAPITRE I :***  
***Synthèse et caractérisation***  
***Des hydrogels***

## **Présentation des produits utilisés**

### **Introduction :**

Les hydrogels d'origine naturelle ou synthétique constituent une catégorie particulière des gels qui ont la capacité de gonfler fortement dans un milieu aqueux et qui de ce fait présentent un grand intérêt en tant que biomatériaux.

Les hydrogels étant des structures tridimensionnelles, les points de réticulation peuvent être constitués par des liaisons covalentes, ioniques, hydrogènes, par des cristallites ou simplement par des enchevêtrements, Les propriétés physiques de ces hydrogels proviennent aussi bien de la nature des points de réticulation que des unités monomères constitutives.

Notre objectif est de concevoir des hydrogels à base de pullulane réticulé par du trimétaphosphate de sodium (STMP) [1] permettant l'encapsulation et la libération contrôlée de principes actifs et pouvant être modulables en fonction de la nature du principe actif utilisé.

Le STMP est une molécule cyclique contenant trois phosphores, obtenu par condensation de l'acide phosphorique et du pyrophosphate à haute température. Il est souvent utilisé dans l'industrie alimentaire car non toxique pour l'homme [2] ce qui n'est pas le cas de l'épichlorohydrine généralement employé comme agent de réticulation [3].

L'encapsulation de substances pourra se faire par diffusion passive ou contrôlée et la libération par diffusion passive, contrôlée ou par dégradation du gel. La diffusion contrôlée peut être obtenue, selon la nature du gel, par variation des paramètres extérieurs comme la température, le pH ou la force ionique et la dégradation peut être enzymatique ou chimique.

Une étude des propriétés physico-chimique a été entreprise afin de caractériser le réseau chimique qui influencera la libération des principes actifs.

### **1- Présentation des produits utilisés:**

#### **1-1-Polymère utilisées pour l'obtention des hydrogels :**

Les hydrogels ont capté de plus en plus l'intérêt des chercheurs durant la dernière décennie grâce à leurs propriétés intrinsèques en adéquation avec les applications médicales potentielles. Leur biocompatibilité, la capacité de libération des composés

hydrosolubles et à moduler leurs propriétés physico-chimiques permettent la génération de nouveaux biomatériaux avec des applications dans le domaine de la libération contrôlée des médicaments. En général, les polymères utilisés sont hydrophiles et présentent des propriétés physico-chimiques intéressantes pour leur utilisation dans les applications biomédicales. Parmi eux pullulane sera traité ci-dessous, parce qu'il représente le matériau utilisé dans le cadre de ce mémoire; les méthodes d'obtention seront présentées, puis leurs propriétés et les applications dans lesquelles il est utilisé à présent.

Le pullulane est synthétisé par la levure *Aureobasidium pullulans* [4] et comporte des  $\alpha$ -D-glucane avec des liaisons  $\alpha$ -1,6 linéaires, incluant des molécules de maltotriose et maltotétraose reliées en  $\alpha$ -1,4 [4], la structure chimique est présentée sur la figure I-1 :

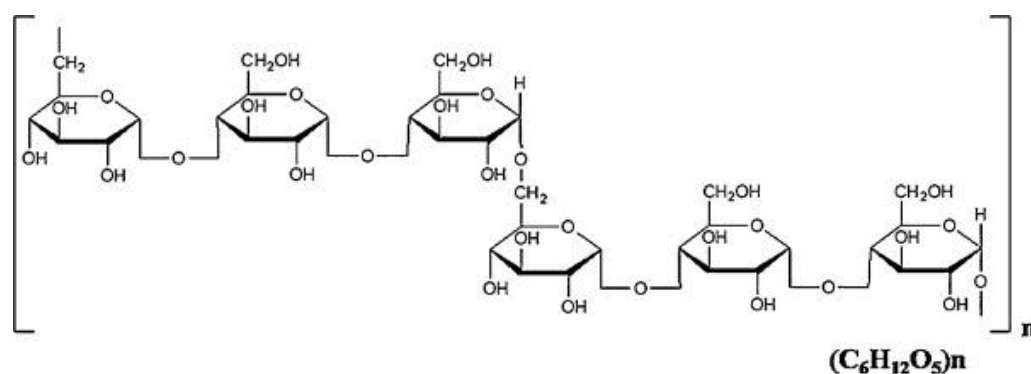


Figure I-1 : La structure chimique du pullulane.

Le pullulane se dégrade approximativement à une température de 250 °C sans montrer de température de transition vitreuse ni de température de fusion.

Un pullulane possédant une masse molaire moyenne en masse de 60 000 g/mol et une distribution étroite avec un indice de polymérisation  $\bar{M}_w / \bar{M}_n = 1,2$ .

Il est soluble dans l'eau mais pas dans les solvants organiques (méthanol, acétone ou éthanol). Le pullulane peut être dégradé par plusieurs enzymes telles que la glucoamylases, la pullulanase, l'isopullulanases et la neopullulanase qui sont produites chez les bactéries à l'exception de la pullulanase qui est produite par des champignons [5]. Le pullulane est utilisé dans l'industrie agroalimentaire en tant que stabilisant et comme emballage alimentaire imperméable au dioxygène évitant l'oxydation et maintenant l'arôme, la saveur et la fraîcheur des produits [6], prolongeant également la conservation en inhibant la moisissure [7]. Grâce à ses propriétés filmogènes ce polymère forme des films incolores, imperméables au dioxygène et résistants à l'huile et aux graisse [8].



Le pullulane est biocompatible et biodégradable [6], il est ainsi utilisé dans plusieurs applications pharmaceutiques et médicales. Il aide à maintenir la pression osmotique du sang, et à ce titre il est envisagé comme substitut de plasma sanguin [9]. Bien que les résultats montrent que le pullulane possède une efficacité thérapeutique supérieure au dextrane en tant que substitut du plasma sanguin, il n'a pas été développé pour une telle application [10,11].

Dans l'organisme, le pullulane n'est pas métabolisé et rapidement éliminé de la circulation sanguine, il s'accumule préférentiellement dans le foie [9] où il est endocytosé [12]. La présence de nombreux groupes hydroxylés permet de modifier chimiquement le pullulane pour améliorer ses propriétés et lui en conférer de nouvelles [13,14] [15] tels que le transport de principes actifs vers des organes cibles [15,16] [17] ou pour encapsuler des médicaments [18].

### **1-2-Les principes actifs :**

Quelle que soit l'origine d'un principe actif, son obtention à l'échelle industrielle est une question de coût. Il est possible d'obtenir certains composés par extraction d'une source naturelle renouvelable ou à partir de bactéries ou de cellules génétiquement modifiées. En revanche, pour des molécules simples, la synthèse chimique est souvent la voie la plus efficace. Entre les deux dernières solutions, il existe la voie de l'hémisynthèse : on extrait un précurseur du principe actif d'une source naturelle renouvelable, puis on le transforme chimiquement pour obtenir la molécule désirée.

#### **1-2-1-La 3-aminopyridine :**

La 3-Aminopyridine, qui est la partie principale de la triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldéhyde thiosemicarbazone) puissant inhibiteur de l'activité ribonucléotidase avec un spectre d'activité anticancéreuse très large. Les aminopyridines sont aussi utilisées pour les traitements des blessures et maladies neurologiques [19,20].

##### **1-2-1-1-La Préparation de 3AP :**

La 3-aminopyridine peut être préparée en chauffant le nicotinamide avec de l'hypobromite de sodium qui est à son tour préparé in situ par réaction d'hydroxyde de

sodium et de brome à 70°C [21], le mécanisme réactionnel présentée sur la figure I-2 suivant :

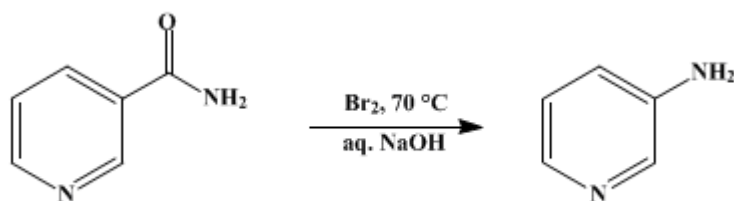


Figure I-2 : Le mécanisme réactionnel de préparation de 3AP.

Le tableau I-1 suivant regroupe les différentes propriétés du 3AP.

Propriétés	
formule chimique	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>
masse molaire	94.12 g·mol <sup>-1</sup>
Apparence	Crystal brun terne
température de fusion	65 °C (149 °F; 338 K)
température d'évaporation	248 °C (478 °F; 521 K)
solubilité dans l'eau	Soluble
Solubilité dans l'alcool	Soluble

Tableau I-1 : Des propriétés physico- chimique du 3AP.

### 1-2-2-Le Bleu de méthylène :

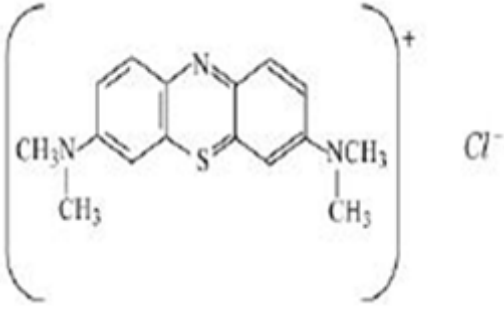
Le bleu de méthylène (ou chlorure de méthylthionium) est un composé organique dont la formule chimique est bis-(diméthylamino)- 3,7 phénazathionium chlorure, de formule brute : C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S, Sa masse molaire est de 319,852 g/mol. Il est soluble dans l'eau (50 g/L à 20 °C) et plus légèrement dans l'alcool (10 g/L dans l'éthanol à 20 °C).

Il est utilisé dans divers domaines :

- Il sert d'indicateur coloré redox : sa forme oxydée est bleue, tandis que sa forme réduite est incolore,
- Il est employé comme colorant, c'est un colorant cationique (basique),
- Comme antiseptique en aquariophilie,
- Comme moyen de lutte contre la méthémoglobine.

Le tableau suivant regroupe les différentes caractéristiques du bleu de méthylène.

Tableau I-2: Les principales caractéristiques physico-chimiques du bleu de méthylène.

Nom	Bleu Méthylène (BM)
Famille	Colorants Basiques
Structure	
Appellation chimique	Chlorure de 3,7- bis (diméthylamino) phénazathionium
$\lambda$ max	664 nm
PH	5,9
Pureté(%) $\geq$ 85	$\geq$ 85
Point de fusion ( $^{\circ}$ C)	180
PKa	3,8

## 2-La chimie de la réticulation des hydrogels :

Il y'a une grande diversité des méthodes de réticulation et des réactions permettant la formation d'un hydrogel. Parmi ces réactions chimiques, certaines réactions font intervenir un agent réticulant tel que le trimétaphosphate de sodium, le STMP c'est un agent biocompatible largement utilisé pour préparer un hydrogel à base de pullulane.

Le STMP est une molécule cyclique qui peut devenir linéaire en milieu alcalin, il forme des liaisons phosphodiester entre les chaînes du pullulane et permet l'obtention d'un hydrogel réticulé [22].

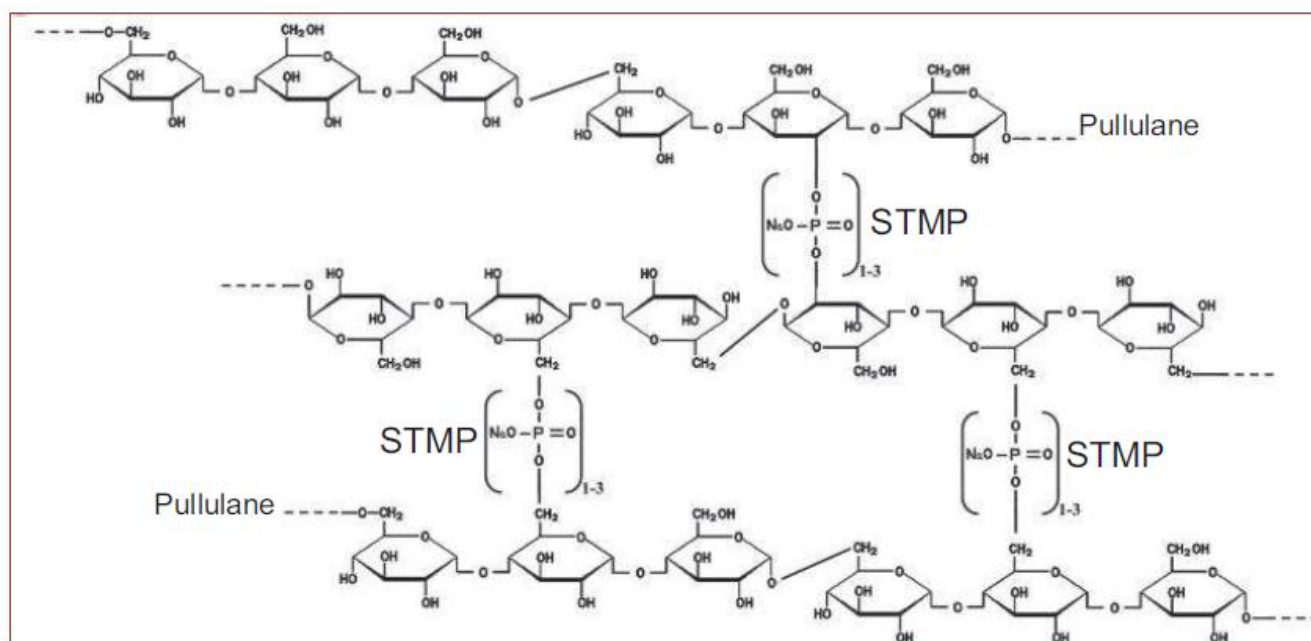


Figure I-3 : Représentation schématique du pullulane réticulé par le STMP [23]

### 3-Synthèse des hydrogels

#### 3-1-Protocole de synthèse :

Dans un bêcher de 50ml on introduit une masse de pullulane et l'eau distillée. On agite jusqu'à la formation d'une solution visqueuse. On y ajoute 1ml solution NaOH, continuant d'agiter pendant 10minutes et on ajoute le STMP jusqu'à ce que l'on obtienne un gel homogène. Les hydrogels obtenus sont alors neutralisés avec une solution d'acide chlorhydrique  $0,1\text{mol.L}^{-1}$  puis dialysés contre de l'eau distillée afin d'éliminer toutes traces de sel ou de STMP n'ayant pas réagi. Le mélange de réaction est introduit dans une étuve à température  $42\text{C}^{\circ}$ .

#### 3-2-Méthode de caractérisation :

##### 3-2-1-Matériels utilisés :

Spectrophotométrie UV-Visible :

L'analyse UV-Visible effectué au laboratoire de chimie SM de l'université IBN KHALDOUN (Tiaret) dans un spectromètre de model (JENWAY 7305)

Spectroscopie IR :

Les spectres IR des produit ont été réalisés sur un appareil Jasco FTIR4200 type A au laboratoire de chimie polymères à l'université ES-SENIA(Oran).Les nombres d'ondes sont exprimés en  $\text{cm}^{-1}$

### 3-2-2-Caractérisation des produits :

#### 3-2-2-1-Caractérisation des gels par FTIR :

L'analyse infrarouge du pullulane et de ces gels a été effectuée pour vérifier la mise en place des nouveaux groupes fonctionnels (Figure I-4,5et 6). En effet le spectre IR du G1 et G2 a montré deux nouvelles bandes. Une bande a été centrée entre 1100 et 1200  $\text{cm}^{-1}$  qui est attribuée à P=O, et la bande entre 900-1050  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée à P-O. Sur le même spectre, il y a la disparition de la bande entre 3200- 3400  $\text{cm}^{-1}$  attribuée à O-H.

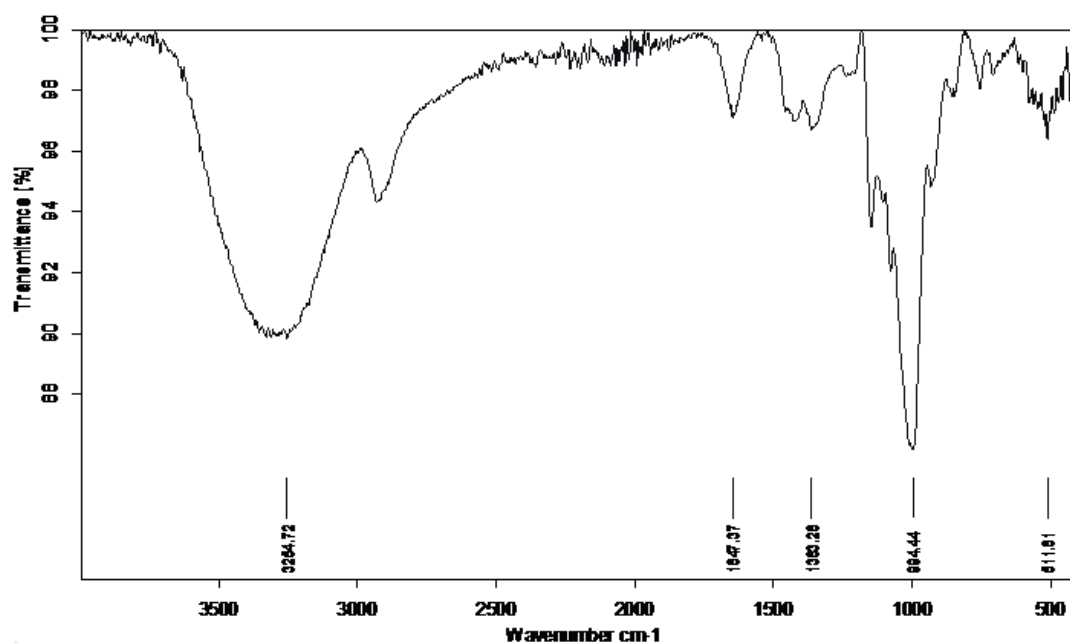


Figure I-4 : Spectre IR du pullulane.

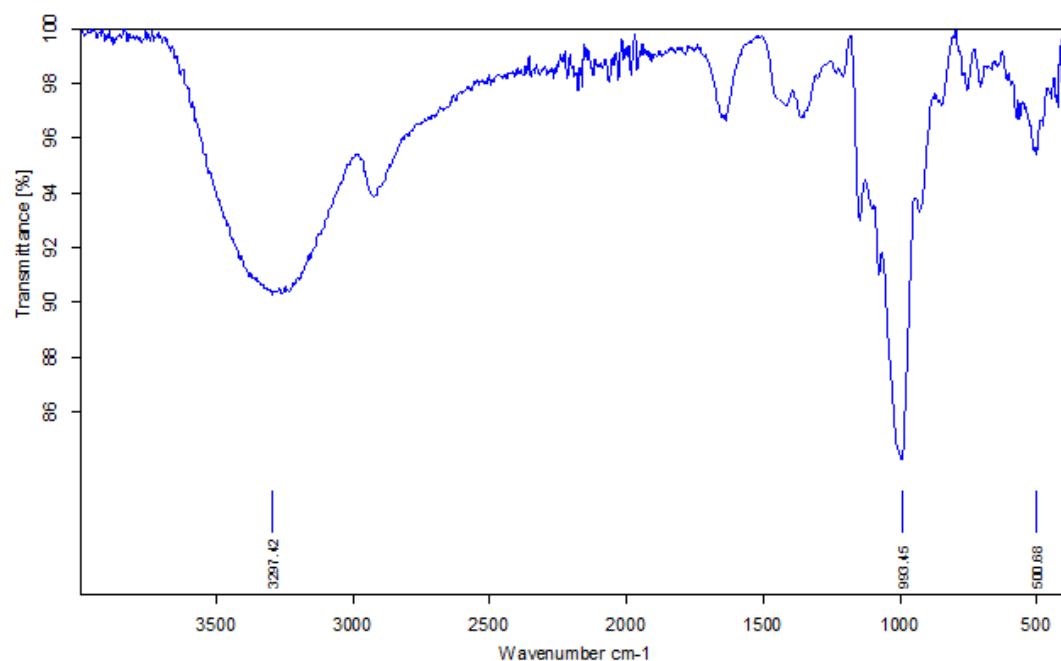


Figure I-5 : Spectre IR du G1.

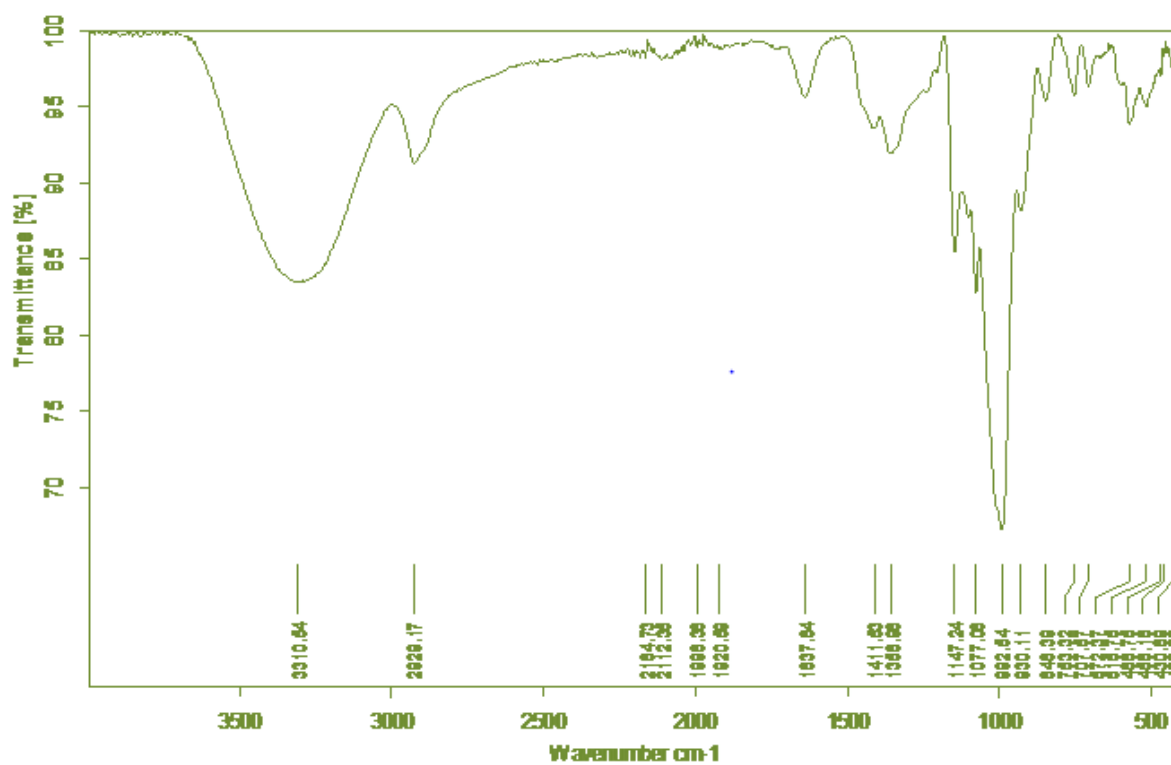


Figure I-6 : Spectre IR du G2.

#### 4-Effet des paramètres physico-chimiques sur le gonflement des hydrogels

La présente étude concerne l'effet des paramètres physico-chimiques sur le gonflement des hydrogels fabriqués au contact d'un milieu aqueux. Cette grande aptitude à se gonfler a été évaluée en fonction des différents paramètres physico-chimiques tels que la température, le pH du milieu, la composition et la concentration en éléments chimiques de la solution absorbée.

Le taux de gonflement du polymère est mesuré de la manière suivante, une masse initiale connue d'échantillon a été immergée dans la solution aqueuse. On ajoute progressivement de la solution jusqu'à apparition et maintien d'eau à la surface de l'échantillon. Une fois l'équilibre de gonflement est atteint, le gel résultant est pesé. Connaissant la masse de l'échantillon sec et celle de l'échantillon saturé en eau, on peut calculer le taux de gonflement (Q) en utilisant la relation suivante:

$$Q = \frac{\text{Masse du polymère à l'état gonflé}}{\text{Masse du polymère à l'état sec}}$$

Une cinétique de gonflement a été réalisée sur un hydrogel 0,13M afin de déterminer un temps minimum de séjour dans l'eau distillée (Figure I-7).

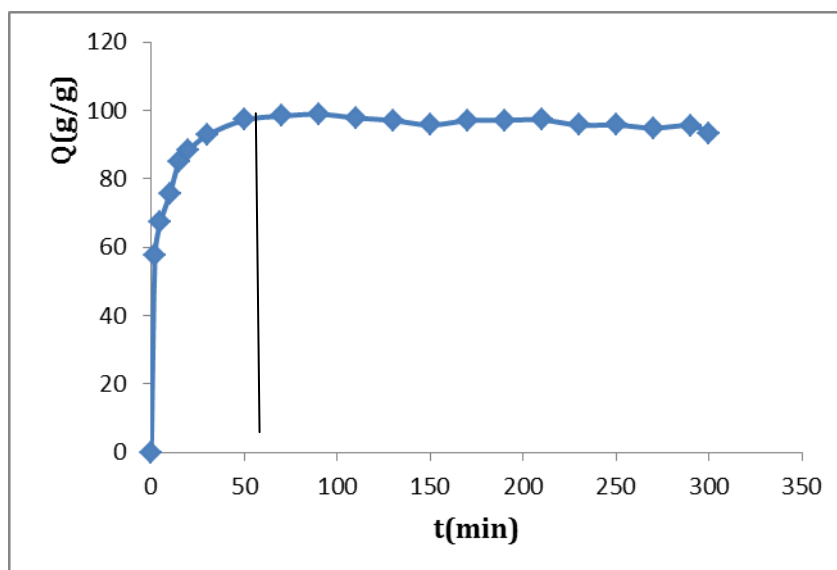


Figure I-7 : Le taux de gonflement du gel 0,13M dans l'eau en fonction du temps.

Au bout de 50 minutes, le gel a atteint son taux de gonflement maximum. Toutefois pour les mesures de gonflement suivantes, nous avons décidé de majorer le temps de gonflement à 24 heures. Toutes ces précautions sont prises afin de s'assurer que le gel soit bien dans un état d'équilibre.

Le tableau I-3 ci-dessous regroupe les principales caractéristiques des gels obtenus, les conditions de synthèse et les taux de gonflement.

Tableau I-3: Caractéristiques des hydrogels synthétisés, les conditions et taux de gonflement.

Echantillons	[Polymère] (g/L)	[NaOH] (mol.L <sup>-1</sup> )	[STMP] (mol.L <sup>-1</sup> )	Q (g/g)
G1	200	0,20	0,13	97,16
G2	200	0,20	0,26	31,36

#### 4-1-Influence des différents paramètres sur G 1 :

##### 4-1-1-Effet du pH sur le gonflement :

Les essais de cinétique ont été réalisés en introduisant une quantité de 0,03g du gel 0,13M dans un volume de 200 mL des différentes solutions de pH, sous une agitation constante de 450 rpm, à température ambiante. Les résultats présentés dans les courbes de la figure I-8 :

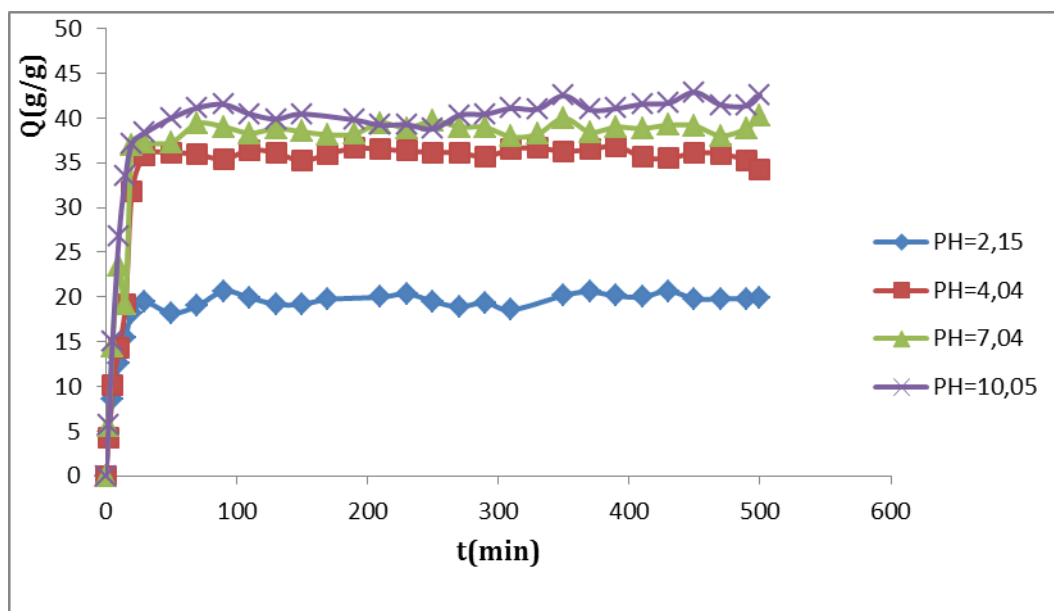


Figure I-8: Effet de PH sur le taux de gonflement du G1.

L'augmentation des valeurs du pH favorise l'ionisation des groupements acides (acides phosphoriques) et par conséquent les répulsions électrostatiques entre sites chargés. Ce qui facilite la pénétration de l'eau dans le gel et augmente son taux de gonflement.



#### 4-1-2-Effet de la force ionique du liquide gonflant :

L'étude de l'effet de sel a été réalisée en présence d'une quantité de 0,03g du G1 pour chaque solution de NaCl à différentes concentrations. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure I-9 :

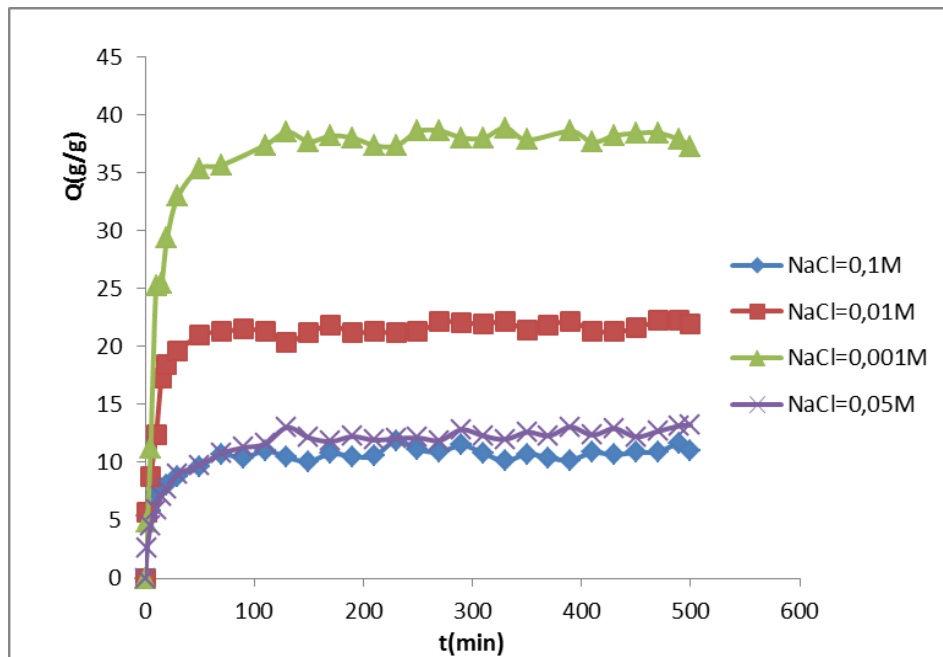


Figure I-9 : Effet du sel sur la capacité d'adsorption du G1.

Il apparaît clair d'après ces résultats que le taux de gonflement chute lorsque la force ionique augmente. Ce phénomène peut s'expliquer d'une part par l'insertion des ions  $\text{Na}^+$  entre les chaînes polymériques provoquant de ce fait un effet d'écran sur les groupes phosphates ce qui réduit l'intensité des répulsions électrostatiques entre les charges négatives ( $\text{POO}^-$ ) et d'autre part, par la différence de concentration entre le milieu interne du polymère et le milieu externe contenant l'eau chargée au sel qui empêche l'eau de pénétrer dans le réseau macromoléculaire : le polymère absorbe moins l'eau chargée de sels qu'il n'absorbe l'eau pure (effet d'osmose).

#### 4-1-3-Influence de la température sur le taux de gonflement :

L'influence de la température sur la capacité d'absorption du polymère a été également étudiée. Les expériences ont été réalisées dans des cellules en verre à double paroi et thermorégulées à différentes températures (25- 60 °C).

Les résultats présents dans les courbes de la figure I-10 :

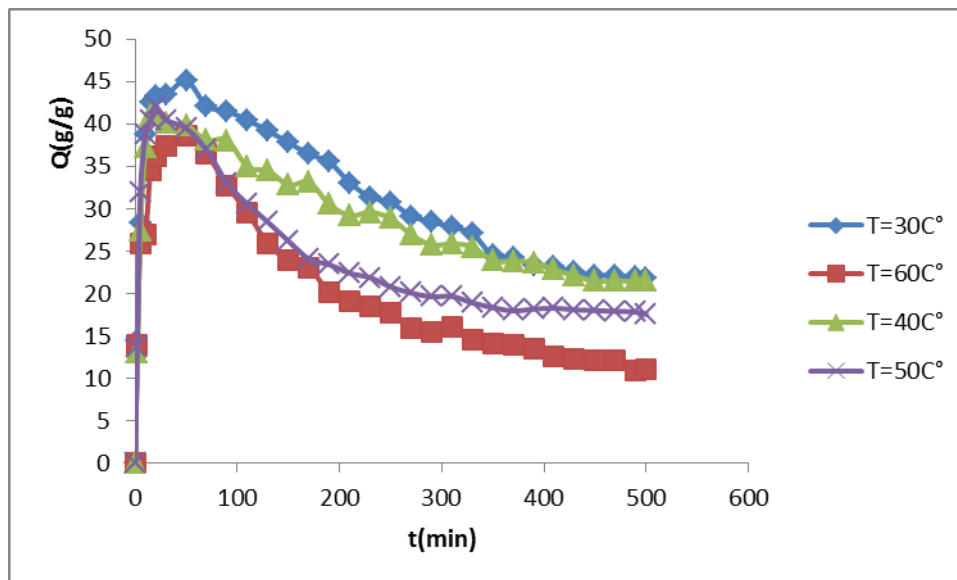


Figure I-10: Effet de température sur le taux de gonflement du G1.

Le taux de gonflement augmente jusqu'à 44 °C, au-delà, il commence à diminuer. Donc, l'élévation de la température provoque une diminution de taux de gonflement par destruction des nœuds de connexion entre les chaînes. Sous l'action de la chaleur une forte contraction du volume a lieu [24].

#### 4-1-4-Effet des cations métalliques:

Trois solutions chargées en ions métalliques de valences différentes ont été préparées à une même concentration (1000ppm): un monovalent ( $\text{Ag}^+$ ), un divalent ( $\text{Cu}^{2+}$ ) et un trivalent ( $\text{Al}^{3+}$ ).

La cinétique de gonflement du G1 pour les trois ions métalliques est représentée sur la figure I-11:

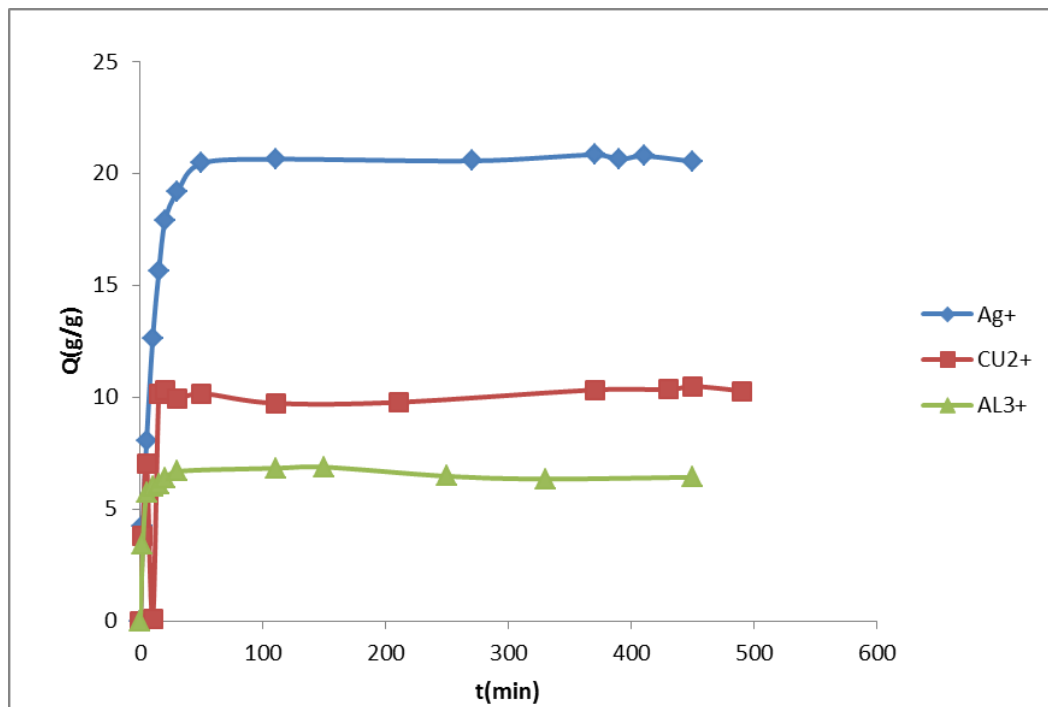


Figure I-11: Effet du cation sur le taux de gonflement du G1.

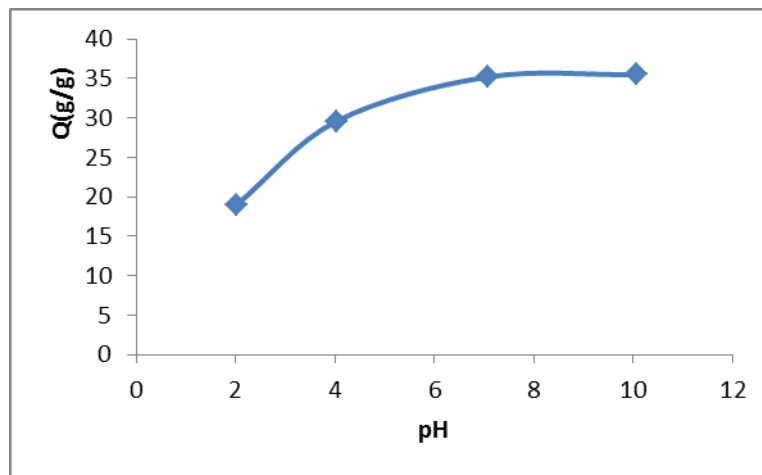
Durant les premières minutes de contact de G1 avec la solution métallique, on constate une augmentation rapide du taux de gonflement. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que le polymère absorbe préférentiellement l'eau par rapport aux ions métalliques. Ensuite, on assiste à la diffusion de ces derniers dans le gel. Leur coordination sur les sites de phosphates provoque un dégonflement du gel à cause de la formation des complexes métalliques interchaînes, ce qui conduit de ce fait à l'expulsion des molécules d'eau en dehors du réseau polymérique.

Les cations divalents et trivalents forment des complexes intermoléculaires entraînant une réticulation supplémentaire du réseau polymérique empêchant par voie de conséquence l'expansion de celui-ci

#### 4-2-Influence des différents paramètres sur G2 :

Le taux de gonflement de ce gel a été déterminé par le même protocole précédent.

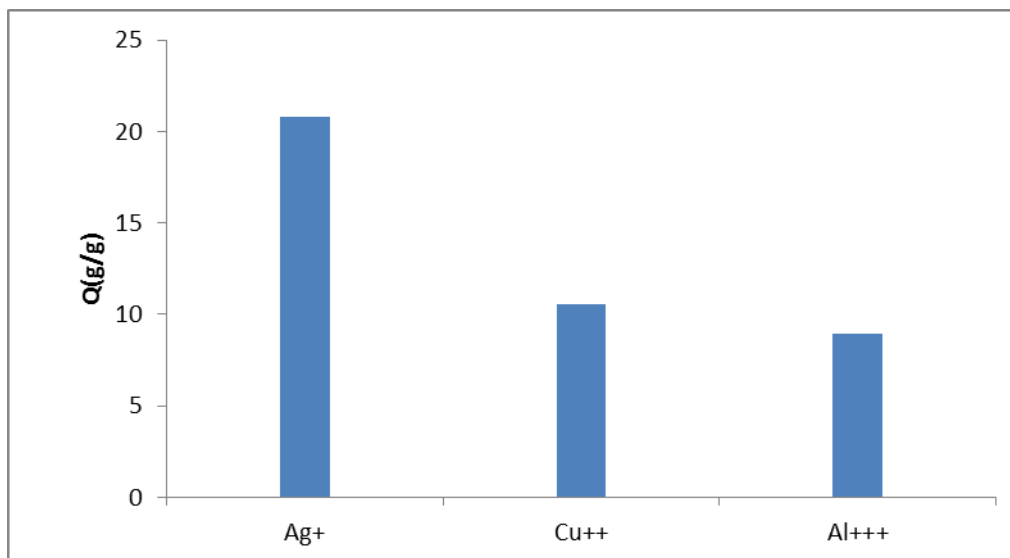
La Figure I-12 ci-dessous représente l'évolution du taux de gonflement de G2 en fonction du pH.



**Figure I-12: Effet de PH sur le taux de gonflement du G2.**

On remarque que l'augmentation des valeurs du pH favorise l'ionisation des groupements acides (acides phosphoriques) et par conséquent les répulsions électrostatiques entre sites chargés. Ce qui facilite la pénétration de l'eau dans le gel et augmente son taux de gonflement.

L'effet de la valence des cations est représenté dans la figure I-13 ci-après :



**Figure I-13: Effet du cation sur le taux de gonflement du G2.**

Comme le gel G1, Les cations divalents et trivalents forment des complexes intermoléculaires entraînant une réticulation supplémentaire du réseau polymérique empêchant par voie de conséquence l'expansion de celui-ci. Leur coordination sur les sites de phosphates provoque un dégonflement du gel à cause de la formation des complexes métalliques interchaînes, ce qui conduit de ce fait à l'expulsion des molécules d'eau en dehors du réseau polymérique.

La Figure I-14 ci-dessous représente l'effet de sel sur le taux de gonflement de G2.

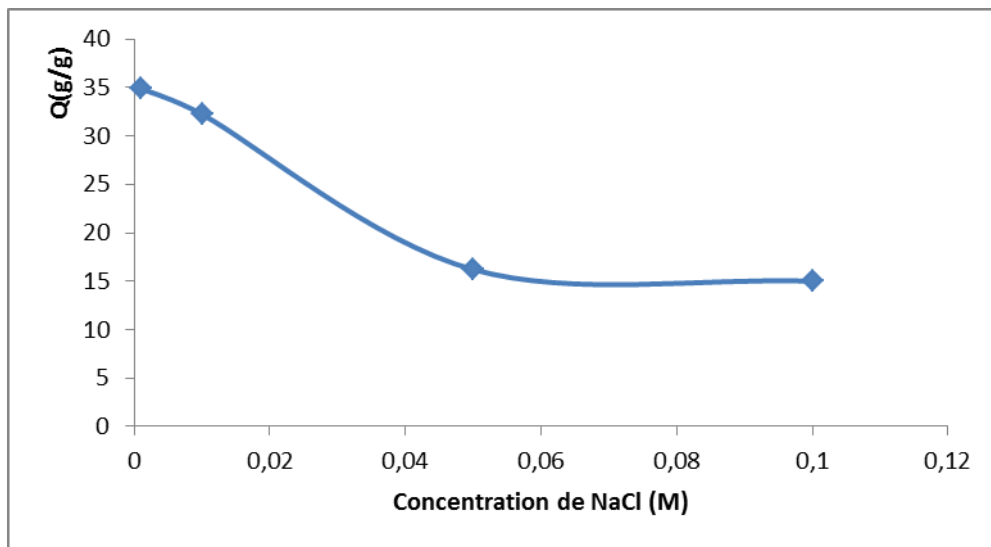


Figure I-14 : Effet du sel sur le taux de gonflement du G2.

Il apparaît clairement, d'après ces résultats que le taux de gonflement chute lorsque la force ionique augmente. Ce phénomène peut s'expliquer par l'insertion des ions  $\text{Na}^+$  entre les chaînes polymériques provoquant de ce fait un effet d'écran de charges ce qui réduit l'intensité des répulsions électrostatiques entre les charges négatives. Aussi, il faut tenir compte de la baisse de la différence des pressions osmotiques interne et externe au gel, ce qui se répercute immédiatement sur le gonflement du gel.

Par la suite, l'effet de la température sur le gonflement de G2 a été entamé, les résultats obtenus sont donnés sur la figure (I-15).

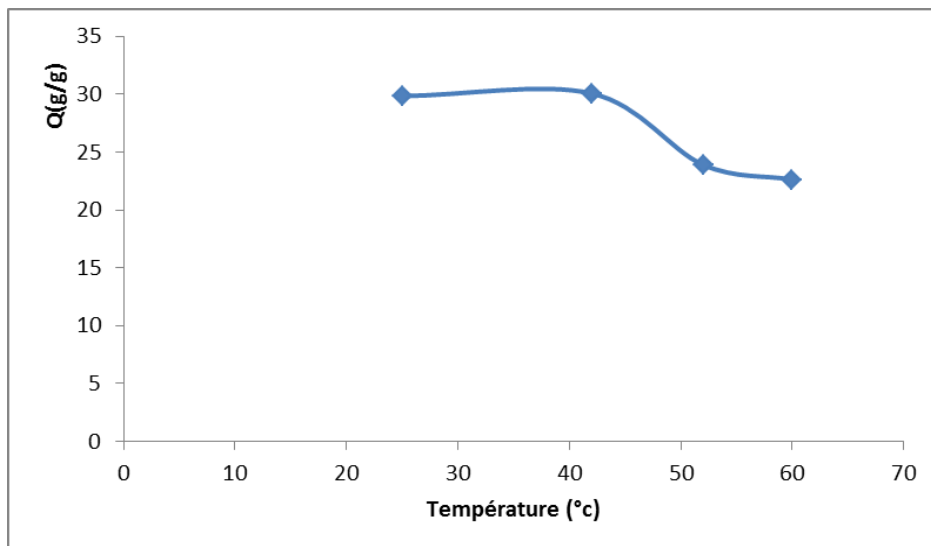


Figure I-15: Effet de température sur le taux de gonflement du G2.

L'élévation de la température provoque une diminution de taux de gonflement. Comme, il a été expliqué pour G1, sous l'action de la chaleur une perte accentuée de masse accompagnée d'une forte contraction du volume a lieu.

**Bibliographie:**

- [1].Gliko-Kabir I.; Yagen B.; Penhasi A.; Rubinstein A. J. *Controlled Release* 2000, 63, 121-127
- [2].Woo K.; Seib P.A. *Carbohydr. Polym.* 1997, 33, 263-271.
- [3].Mocanu G Merle L., Carpov A., Muller G. . *European Polymer Journal*, 2000. 36: p. 2381-2386.
- [4].Finkelman, M.A. and A. Vardanis, *Pullulan Elaboration by Aureobasidium pullulans Protoplasts*. *Appl Environ Microbiol*, 1982. 44(1): p. 121-7.
- [5].Aoki, H., et al. Two components of cell-bound isopullulanase from *Aspergillus niger* ATCC 9642--their purification and enzymatic properties. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1996. 60(11): p. 1795-8.
- [6].Leathers, T.D., *Biotechnological production and applications of pullulan*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003. 62(5): p. 468.
- [7].Singh, R.S., G.K. Saini, and J.F. Kennedy, *Pullulan: Microbial sources, production and applications*. *Carbohydrate Polymers*, 2008. 73(4): p. 515.
- [8].Leathers, T.D., *Pullulan*, in *Biopolymers Online2005*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [9].Tabata, Y., et al., Simple mixing of IFN with a polysaccharide having high liver affinity enables IFN to target to the liver. *J Interferon Cytokine Res*, 1999. 19(3): p. 287-92.
- [10].Sharma, R.M.R.C.P., *Pullulan as a Promising Biomaterial for Biomedical Applications: A Perspective*. *Trends Biomater. Artif. Organs*, 2007. 20(2).
- [11].Tsujiyama, Y.M., M., *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives*. Academic: San Diego ed1993. 447-460.
- [12].Kaneo, Y., et al., Evidence for receptor-mediated hepatic uptake of pullulan in rats. *Journal of Controlled Release*, 2001. 70(3): p. 365.
- [13].Bataille, I., et al., Associative behaviour of hydrophobically modified carboxymethylpullulan derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1997. 20(3): p. 179.
- [14].Glindel, K., et al., Determination of substituents distribution in carboxymethylpullulans by NMR spectroscopy. *Carbohydr Res*, 2000. 328(3): p. 343-54.
- [15].Masuda, K., et al., Evaluation of Carboxymethyl pullulan as a Novel Carrier for Targeting Immune Tissues. *Pharmaceutical Research*, 2001. 18(2): p. 217.
- [16].Nogusa, H., et al., Distribution characteristics of carboxymethyl pullulan-peptide-doxorubicin conjugates in tumor-bearing rats: different sequence of peptide spacers and doxorubicin contents. *Biol Pharm Bull*, 2000. 23(5): p. 621-6.
- [17].Fukui, H., K. Akiyoshi, and J. Sunamoto, O/w-emulsion of alpha-linolenic acid stabilized with hydrophobized polysaccharide. Its effect on the growth of human colon cancer cells. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1996. 7(10): p. 829-38.
- [18].Duval-Terrié, C., et al. Amphiphilic biopolymers (amphibiopols) as new surfactants for membrane protein solubilization. *Protein Science*, 2003. 12(4): p. 681
- [19]. Rick Finch A., Mao C. L., Susan P. G., William C. R., Regina L, Karen M. V, Yung C. C. et Sartorelli C. A. , Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde-thiosemicarbazone): A potent inhibitor of ribonucleotide reductase activity with broad spectrum antitumor activity. *Biochemical Pharmacology*, 2000, 59, 983-991.
- [20]. Li J., Chen S. H., Li X., Niu C. and Doyle T.W, efficient synthesis of ribonucleotide reductase inhibitors 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-ap) and 3-

amino-4-methylpyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-amp) via palladium mediated cross-coupling reactions *Tetrahedron.*, 1998, 54, 393-400.

[21]. *C. F. H. Allen and Calvin N. Wolf (1950). "3-Aminopyridine". Org. Synth. 30: 3.; Coll. Vol., 4, p. 45*

[22].Lack, S.p., et al., High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of polysaccharides crosslinked by sodium trimetaphosphate: a proposal for the reaction mechanism. *Carbohydrate Research*, 2007. 342(7): p. 943.

[23].Autissier, A., D. Letourneur, and C. Le Visage, Pullulan-based hydrogel for smooth muscle cell culture. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2007. 82A(2): p. 336.

[24].Seib P.A.; Woo K. "Reversibly swellable starch products" US PATENT 2001, 6,299,907.



***CHAPITRE II :***  
***Cinétique de relargage***  
***de l'agent actif***



## INTRODUCTION

Les recherches dans le domaine des systèmes de libération contrôlée des médicaments sont d'une grande actualité, réalisant une jonction du domaine médical et de celui de la chimie macromoléculaire. Lors de leur obtention il faut considérer plusieurs aspects, la nature chimique du support polymérique et des interactions entre celui-ci et le composé biologique s'avèrent très importants. [1]. On préfère les supports à base de polymères naturels, avec une attention particulière sur les polysaccharides et leurs dérivés, qui se caractérisent par leur biocompatibilité, leur biodégradabilité et leur absence de toxicité vis-à-vis des organismes vivants [2 - 3]. On peut réaliser le système polymère-médicament par des méthodes variées, impliquant la liaison chimique (ionique ou covalente) du principe actif, l'inclusion physique dans la structure d'un hydrogel, l'enrobage en micro- ou nanoparticules, etc. [4 - 5].

L'objectif de cette partie a été l'obtention d'hydrogels à base de pullulane, réticulés par voie chimique, afin de les utiliser comme matrices pour l'inclusion et libération de principes actifs.

Dans ce chapitre, nous montrerons les résultats prometteurs de ces hydrogels, en ce qui concerne d'une part les propriétés d'hydrogels, essentielles pour l'inclusion et la libération des principes actifs, et d'autre part la modélisation de la cinétique de libération des médicaments dispersés ultérieurement dans ces hydrogels.

A ce stade de l'étude, nous avons choisi la 3-Aminopyridine comme principe actif et le bleu de méthylène (BM) comme modèle organique. Ce dernier est une petite molécule cationique. Son principal avantage tient en sa coloration bleue. Il est ainsi possible de suivre de visu son incorporation dans les hydrogels, ces derniers se colorant rapidement en bleu.

### 1-Séquestration des principes actifs :

#### 1-1-Séquestration du bleu de méthylène :

La séquestration de BM dans les hydrogels a été réalisée par regonflement des gels, ces derniers étant immergés à l'état sec (0,2 g), dans une solution de BM ( $[BM] = 500 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Nous avons suivi la diminution de la concentration en BM de la solution mère par spectrophotométrie, la quantité disparue correspondant à la quantité séquestrée, en utilisant un spectromètre de model (JENWAY 7305) à la longueur d'onde «  $\lambda_{\text{max}} = 664 \text{ nm}$  » du BM.

Pour chaque hydrogel, nous avons calculé la masse initiale de principe actif après la séquestration, la figure suivante représente la quantité de BM séquestré dans les différents hydrogels.

La quantité adsorbée est calculée en utilisant la formule suivante :

$$Q = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m}$$

Avec, q : la capacité d'adsorption (mg/g),

$C_0$  : La concentration initiale de l'adsorbant (mg/L),

$C_e$  : la concentration à l'équilibre en soluté dans la solution (mg/L),

V : le volume de la solution (l)

m: la masse de l'adsorbant (g).

La concentration du BM dans le mélange de réaction a été calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage représenté dans la figure suivante :

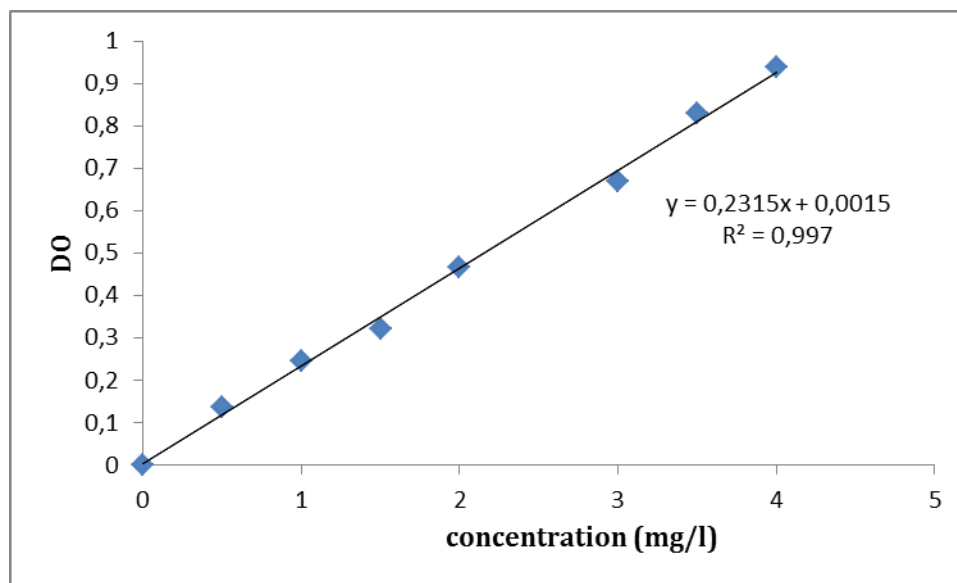


Figure II-1 : Courbe d'étalonnage de BM aux maximums d'absorption dans l'eau.

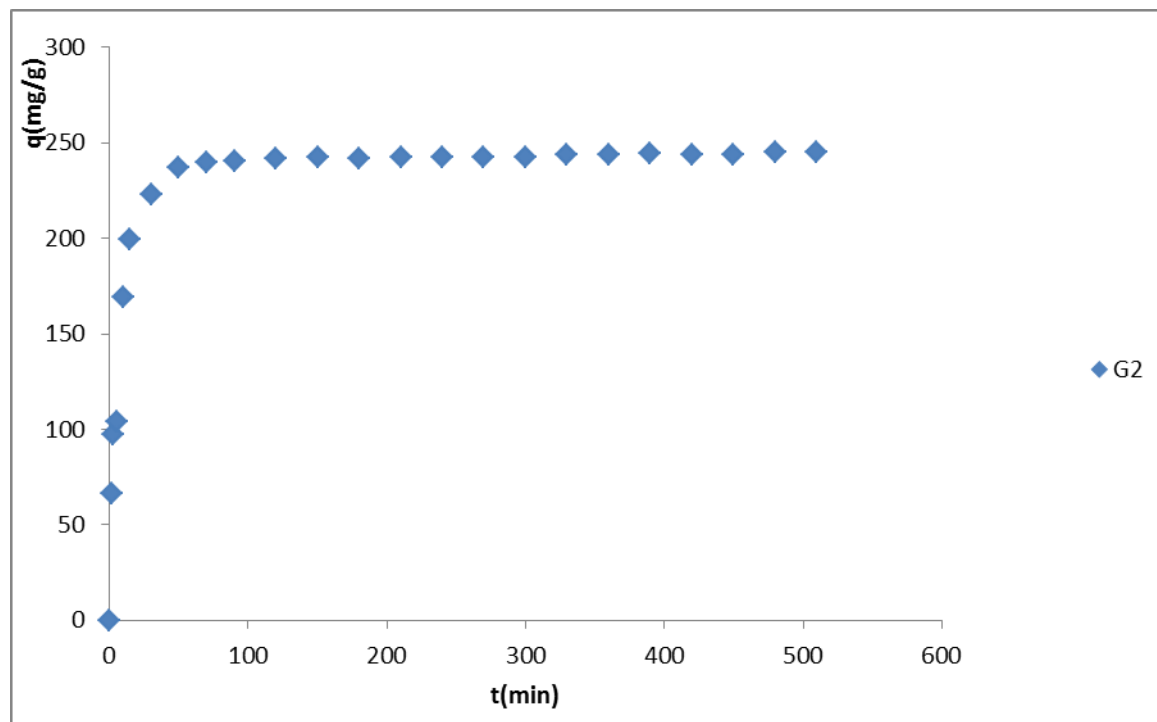


Figure II-2 : Variation de la capacité d'adsorption du BM en fonction du temps.

L'étude de la Séquestration du bleu de méthyle, implique de toute évidence la détermination du temps de contact, temps qui correspond à l'équilibre d'adsorption ou à un état de saturation du support par le substrat.

La courbe représentant la variation du pourcentage de séquestration du BM en fonction du temps dans le gel de concentration 0,26M est représentée dans la figure II-3.

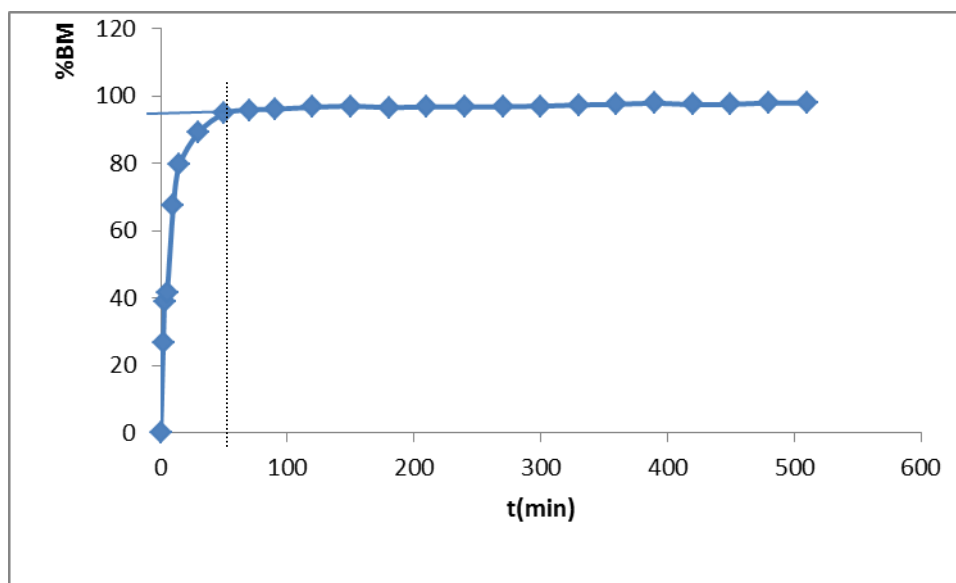


Figure II-3: Variation du pourcentage du BM séquestré en fonction du temps dans le gel 0,26M.

La variation du pourcentage de séquestration du BM en fonction du temps montre que l'équilibre d'adsorption sur le gel est atteint au bout de soixante minutes et que le taux de séquestration est presque de 100 %. Dans la suite de notre étude, nous travaillerons avec un temps de 120 min.

Le tableau II-1: représente la masse initiale de principe actif séquestré Pour chaque gel et chaque pH :

	pH	mi (mg)
<b>G1</b>	1,2	9,47
	8	9,47
<b>G2</b>	1,2	12,2
	8	12,2

### 1-2-Séquestration de la 3AP :

Les premières essais de séquestration de principe ont été réalisé sur la 3aminopyridine par la méthode du regonflement, mais vaine fut notre tentative, pour cela nous avons dispersé ce principe actif directement a l'intérieure du gel lors de sa formation. Par cette méthode, le 3AP est incluse dans le gel sans interaction du celui-ci avec la matrice du polymère.

Pour évaluer la quantité du 3AP libéré et la comparer avec celle libéré dans le cas ou le Pa piégé à l'intérieur du gel par interaction ionique, nous avons formé quatre disques puis étudier la libération de Pa dans les deux milieux physiologiques 1,2 et 8. Le tableau suivant rassemble les caractéristiques de ces formes galéniques.

**Tableau II-2 : les caractéristiques des disques utilisé pour la libération de la 3AP**

DISQUE	[Polymère] (g/L)	[NaOH] (mol.L <sup>-1</sup> )	[STMP] (mol.L <sup>-1</sup> )	3AP (mg)
<b>D1</b>	200	0,20	0,26	200
<b>D2</b>	200	0,20	0,26	200
<b>D3</b>	200	0,20	0,13	200
<b>D4</b>	200	0,20	0,26	100

## 2-Conditions expérimentales et techniques d'analyse :

### 2-1-Composition du milieu d'étude :

Le pH est le facteur le plus important conditionnant l'absorption des médicaments [6]. Les valeurs physiologiques du pH rencontrées dans le tractus gastro-intestinal sont susceptibles de varier selon l'état de réplétion de l'estomac ou selon les cas de pathologie (ulcères, gastrites, etc...). La grande variation de ces valeurs permet la dissolution de la plupart des principes actifs au niveau des zones plus ou moins étendues du tractus gastro-intestinal. Dans l'estomac, le pH varie de 1 à 3 et dans l'intestin de 5 à 8 (Voir Figure II-4 ci-dessous).

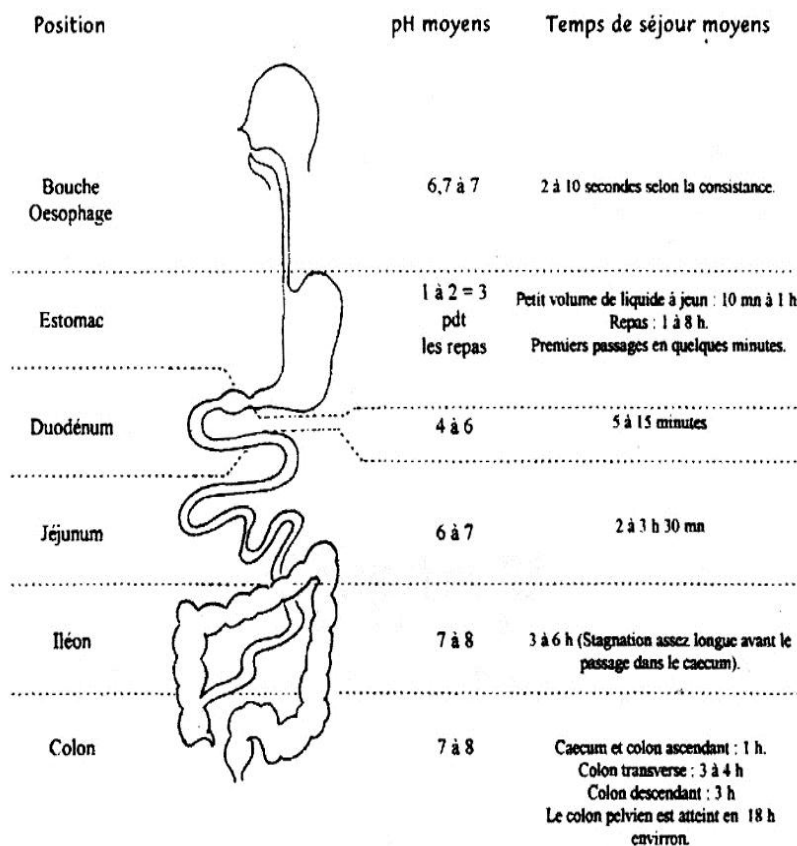


Figure II-4: pH et temps de séjour le long du tractus digestif.

Les liquides artificiels doivent simuler les milieux digestifs, ils sont préparés conformément aux normes décrites par la pharmacopée Américaine U.S.P [7].

### 2-2-Dispositif Expérimental :

La libération de l'agent actif a été suivie dans le dispositif expérimental de libération suivant à une température réglée à 37°C.

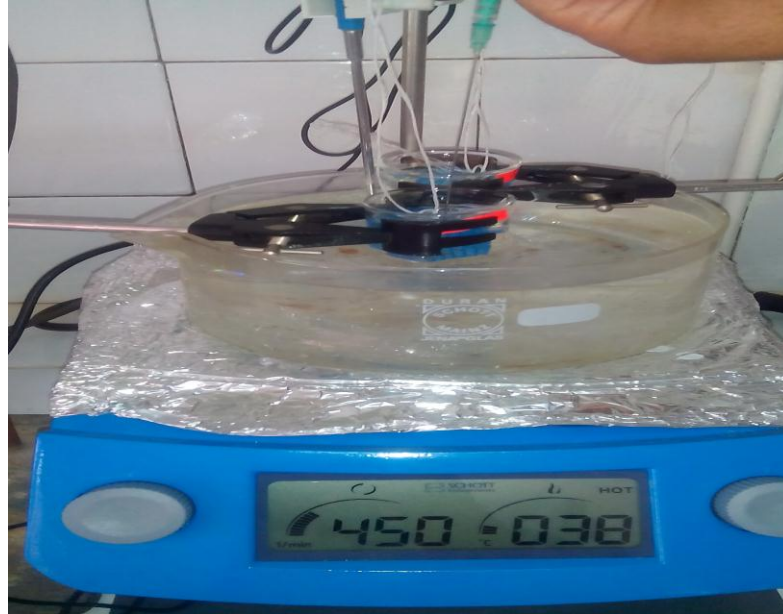


Figure II-5: Dispositif Expérimental de libération.

Ce dispositif expérimental a été adopté à l'ensemble de nos cinétiques.

Le dosage du principe actif libéré s'effectue au cours du temps à partir de solutions diluées obtenues avec les prises du milieu physiologique étudié afin de pouvoir évaluer le taux libéré en fonction du temps. Ce dernier est calculé par rapport à la masse initiale du principe actif piégé dans les différents supports.

La masse libérée à l'instant  $t$  ( $m_t$ ) est donnée par la relation :

$$m_t = D.O \cdot V_d \cdot V_f \cdot M_{Pa} / \epsilon \cdot V_p$$

D.O : Densité Optique lue à chaque prélèvement.

$\epsilon$  : Coefficient d'extinction moléculaire.

$V_d$  : Volume de dilution du prélèvement.

$M_{Pa}$  : Masse Molaire du principe actif.

$V_f$  : Volume du flacon (réacteur) 100ml.

$V_p$  : Volume prélevé.

## **2-3-Facteurs influençant les transferts de matières:**

### **2-3-1-L'agitation du milieu :**

L'agitation joue un rôle important sur les vitesses de transferts de matières. L'influence de l'agitation a été décrite par une étude sur le transport d'un plastifiant à partir d'un polymère plongé dans un liquide [8]. Elle permet d'homogénéiser la température et la composition du liquide environnant et d'éviter ainsi la formation de gradient de concentration et par conséquent éviter les erreurs lors des analyses par spectrophotométrie U.V.

La composition de la solution est maintenue uniforme grâce à l'action d'un agitateur magnétique. Elle est constamment agitée de la même façon.

### **2-3-2-La température du milieu:**

Le facteur de température joue un rôle très important sur le phénomène de diffusion. Il intervient directement sur la solubilité du principe actif donc il influe sur les transferts de matières. Toutes nos expériences ont été effectuées à température constante 37°C température physiologique du corps humain.

### **2-3-3-La nature du milieu, son pH et son volume:**

La nature du milieu, c'est-à-dire son pH et sa composition, de même son volume possèdent un grand effet sur les transferts de matières puisqu'ils agissent énormément sur la solubilité de l'agent actif, sa mobilité et la quantité transférée à l'équilibre.

Concernant le volume du milieu, deux méthodes expérimentales sont souvent utilisées pour l'étude de libérations in-vitro des médicaments:

- La méthode « **non sink** », où le volume est utilisé pour toute la manipulation. La concentration en principe actif augmente au cours de l'expérience.
- La méthode « **sink** », où le volume est constamment renouvelé par du liquide vierge. L'avantage de la première méthode est d'être beaucoup plus facile à mettre en œuvre tandis que la seconde reproduit au mieux les conditions du tube digestif.

Les paramètres suivants doivent être maintenus constants d'une manipulation à l'autre.

- ❖ La composition du milieu d'étude (préparation des grandes quantités afin d'assurer toutes les dilutions avec le même liquide pour toute la durée de l'expérience)
- ❖ La température : maintenue constante à 37°C à l'aide d'un bain thermostaté.
- ❖ L'agitation : constante durant toutes nos expériences, et fixée sur 500 rpm à l'aide d'un agitateur magnétique.

### **3- Cinétique de relargage du principe actif à partir des hydrogels :**

#### **3-1-Cinétique de la libération de BM à partir des hydrogels :**

Nous avons suivi la libération de BM dans les deux milieux artificiellement reconstituée de pH =1,2 et 8,0. Après avoir fourni des conditions opératoires de température (37°C) et d'agitation (450 rpm) similaires pour les deux milieux d'étude, on fait immerger une quantité de 0,05 g de chaque gel dans 100 mL de liquide physiologique de pH : 1,2 ou 8,0, selon le cas. Ce liquide étant placé dans le même dispositif expérimental que celui décrit précédemment. Pour cela, il y a lieu d'arrêter l'agitation un laps de temps (3 à 4 secondes) (pour une meilleure décantation du milieu), on prélève un volume du milieu réactionnel qu'on dilue avec le même pH « Vierge » du milieu d'étude et analysé, par la suite, par spectrophotométrie UV-Vis calibré à la longueur d'onde correspondante au maximum d'absorption du principe actif,(les densités optiques mesurées doivent appartenir à l'intervalle de la gamme étalon). La figure II-6 et 7 représente les deux courbes d'étalonnage du BM dans le pH= 1,2 et le pH=8 respectivement.



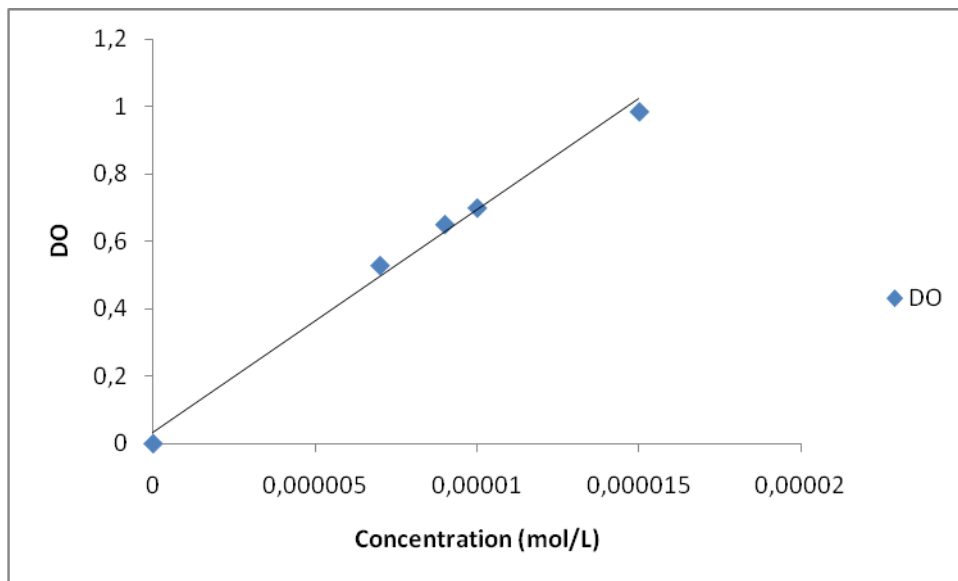


Figure II-6 : Courbe d'étalonnage pH=1,2 ( $\lambda_{max}=315$  nm).

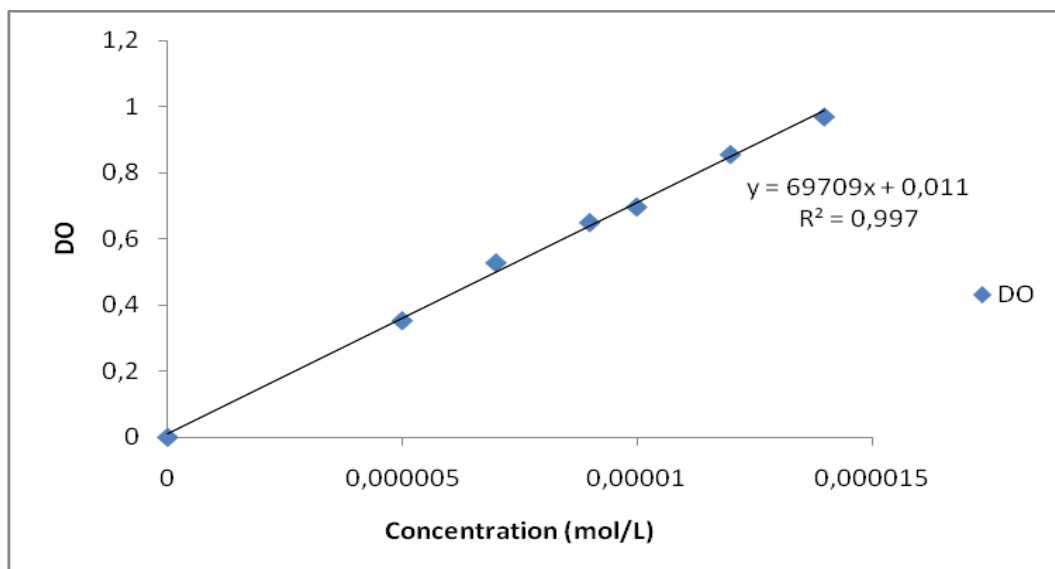


Figure II-7 : Courbe d'étalonnage pH=8( $\lambda_{max}=288$  nm).

En traçant le pourcentage de principe actif libéré (BM) en fonction du temps à partir de deux types des gels préparés, on obtient les courbes expérimentales suivantes :

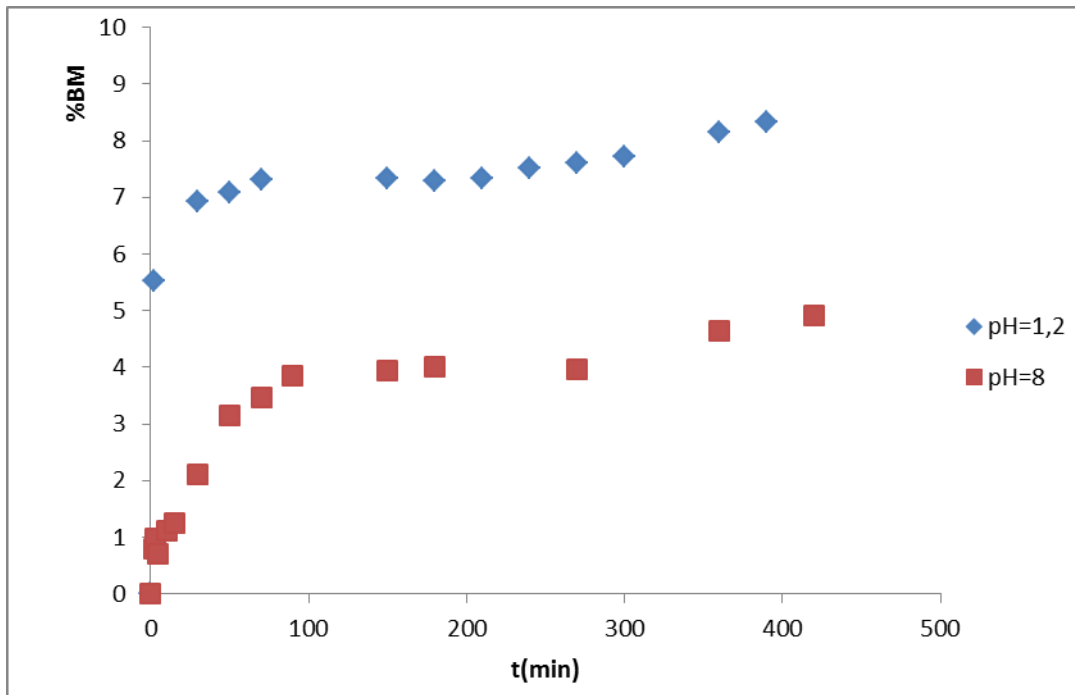


Figure II-8 : Pourcentage du principe actif libéré par G1 en fonction du temps.

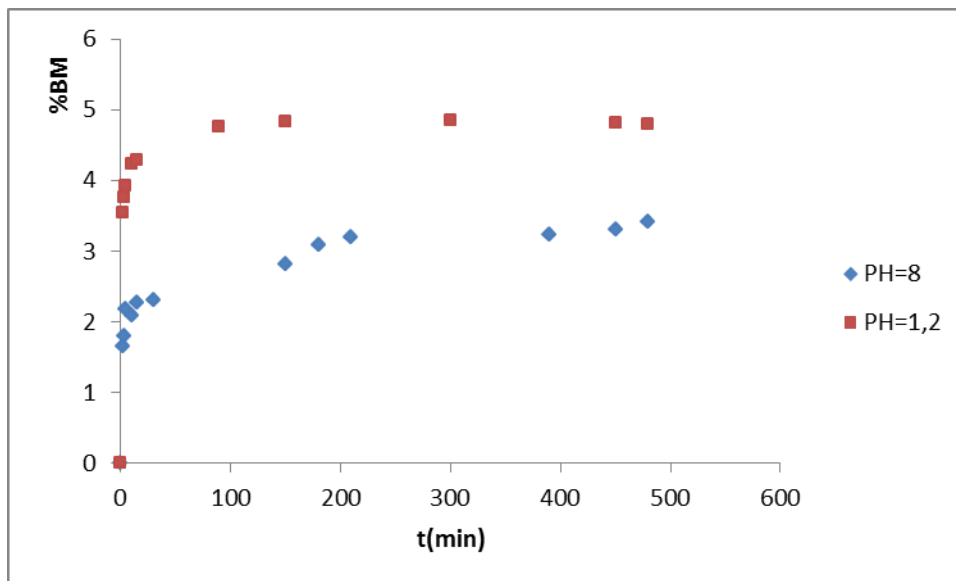


Figure II-9: Variation de pourcentage du principe actif libéré par G2 en fonction du temps.

A partir de ces résultats expérimentaux, on peut relever les remarques suivantes :

Pour tous les hydrogels, nous obtenons le même profil de libération en deux étapes. Durant les cent premières minutes une forte quantité de BM est libérée dans le milieu. Puis la vitesse de libération diminue jusqu'à l'équilibre. Le pourcentage du principe actif libéré est relativement faible ; n'excédant pas les 9 % dans les deux séries des gels.

Le taux d'agent actif libéré pour le même temps de séjour augmente avec la diminution de la concentration de l'agent actif et cette augmentation a été observée dans les

deux milieux d'étude, pH 1, 2 et pH 8. Le BM étant une molécule de petite taille, la taille du maillage ne perturbe pas sa libération, le seul paramètre pouvant contrôler sa vitesse de libération est le pH du milieu d'étude (acide ou basique).

Pour cette série de gels, nous avons remarqué que la libération du principe actif est quasiment deux fois plus en passant de pH 8 au pH 1,2. En effet, le milieu acide est riche en proton, cette protonation rend les associations électrostatiques faibles entre le Pa et la matrice qui fait libérer le BM par échange ionique.

### 3-1-1-Vérification de l'ordre réactionnel :

La libération du principe actif, pour la plupart des formes à libération contrôlée et notamment pour les systèmes polymériques, est contrôlée par la diffusion Fickienne, donc les quantités de matières transférées suivent un processus de diffusion en régime transitoire.

On a essayé d'attribuer un ordre réactionnel classique à ces différentes cinétiques ; mais vaine fut notre tentative. On donne ci-dessous, à titre d'exemple, les courbes obtenues pour les ordres cinétiques classiques  $n=0, 1$  et  $2$  pour le G1 à pH=8. (Figure II-10)

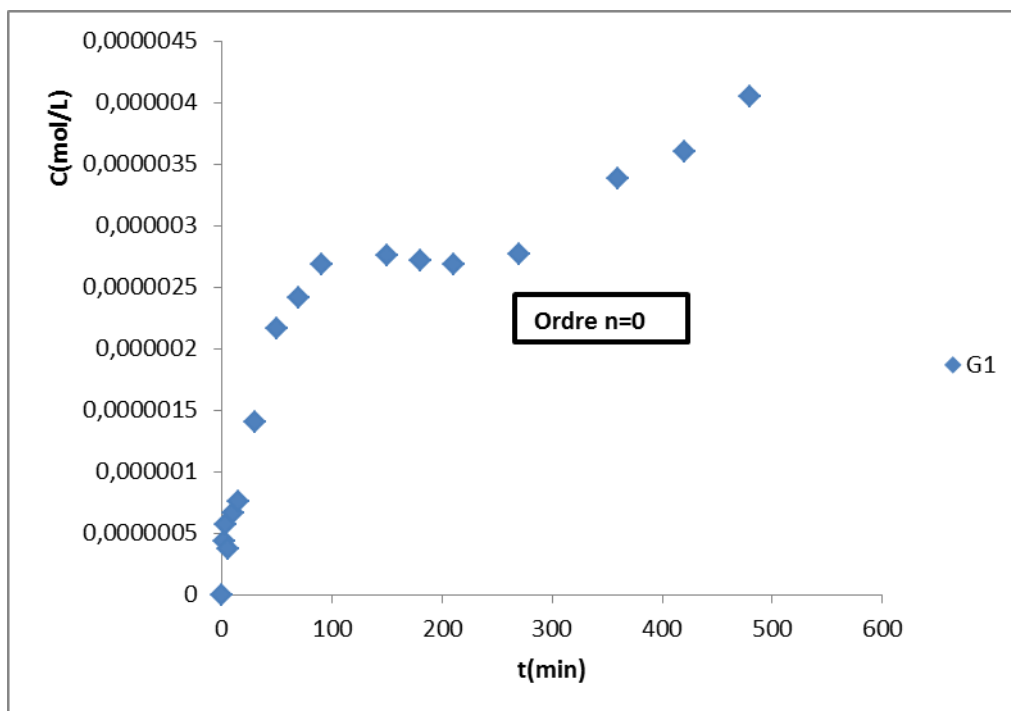


Figure II-10: Concentration du principe actif libéré par G1 en fonction du temps dans le pH=8.

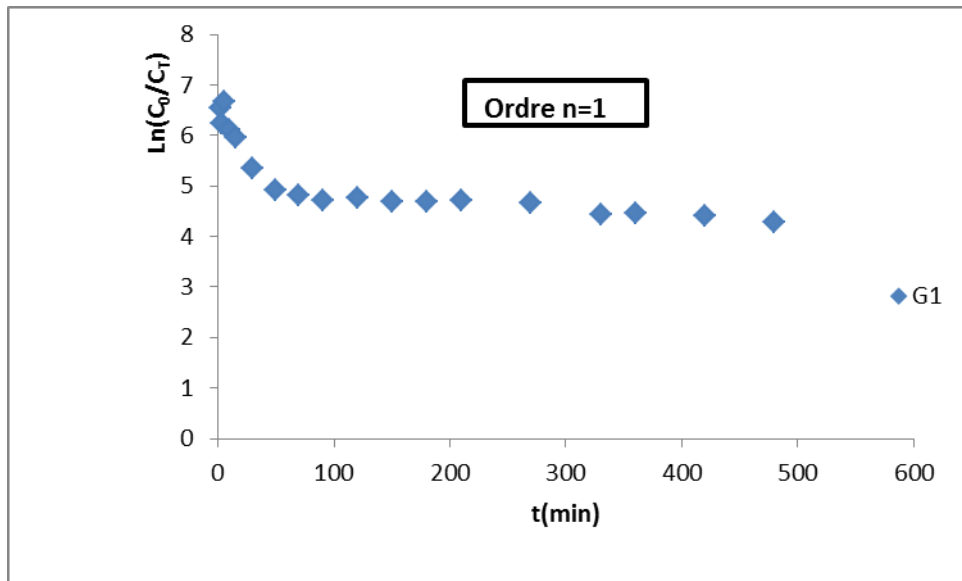


Figure II-11:  $\ln(C_0/C_t)$  en fonction du temps en fonction du temps pour G1 dans le pH=8.

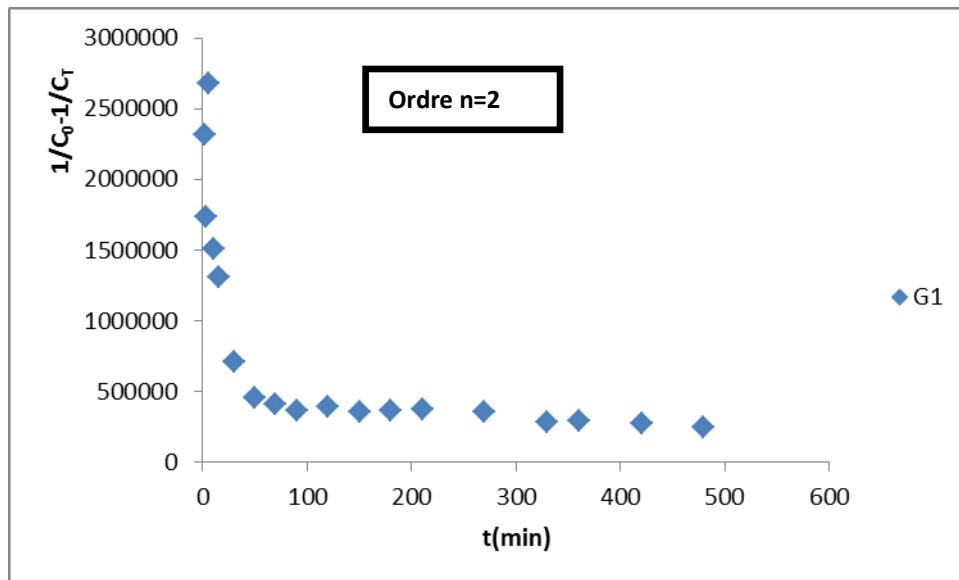


Figure II-12 :  $(1/C_t) - (1/C_0)$  en fonction du temps pour G1 en fonction du temps dans le pH=8.

Ce non linéarité des points expérimentaux par les lois cinétiques classiques, nous a amené à penser au phénomène de diffusion, seul phénomène pouvant décrire ces systèmes. Le tracé du pourcentage de principe actif libéré en fonction de la racine carrée du temps principalement, pour les temps courts, a confirmé notre hypothèse (figure II-13).

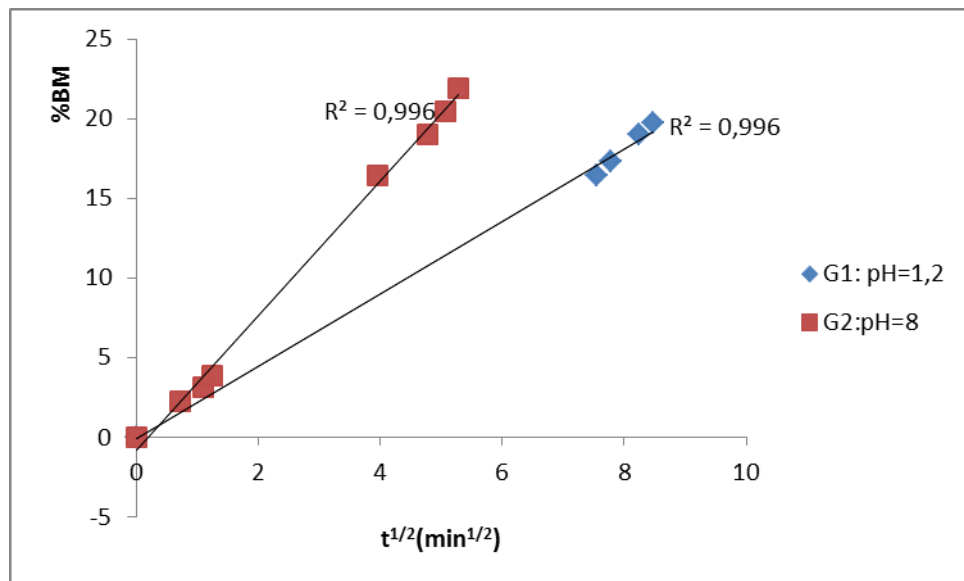


Figure II-13 : Pourcentage du principe actif libéré par G1 en fonction de la racine carrée du temps dans le pH=1,2 et pH=8.

### 3-2-Cinétique de libération de la 3aminopyridine (3AP) dispersé a l'intérieure du gel

Au contraire de la molécule du BM, la 3AP change la longueur d'onde en passant de milieu acide au milieu basique, la figure II-14 suivante représente la courbe d'étalonnage de la 3AP dans les deux pH 1,2 et 8.

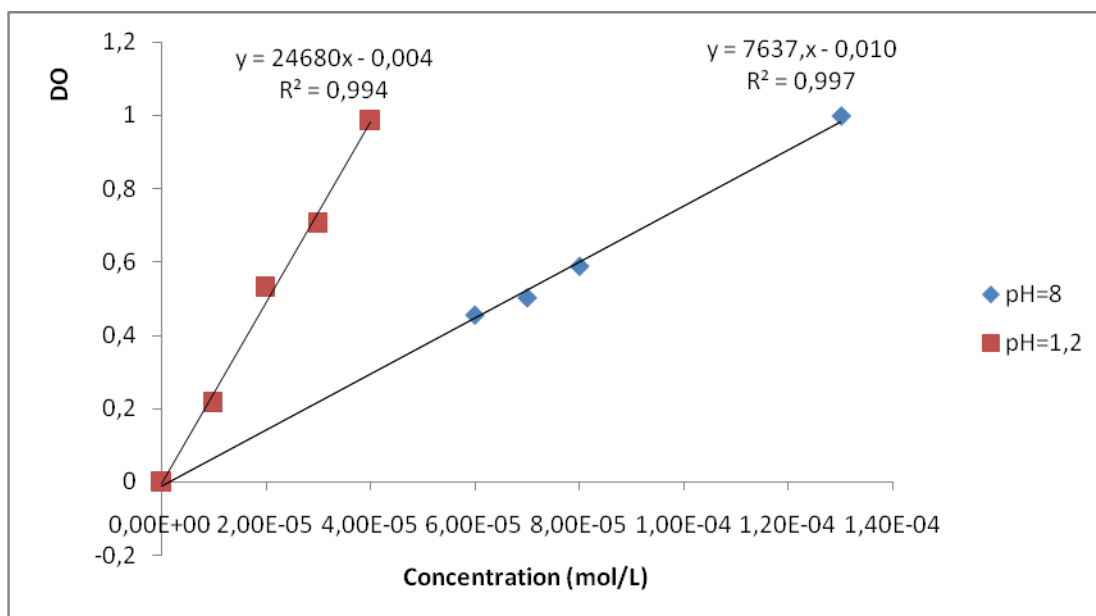


Figure II-14: Courbe d'étalonnage de la 3AP dans les deux milieux pH 1,2 à  $\lambda=315\text{nm}$  et pH 8 à  $\lambda=288\text{nm}$

Le pourcentage de la 3AP libéré en fonction du temps dans les deux milieux physiologiques est représenté dans la figure II-15 :

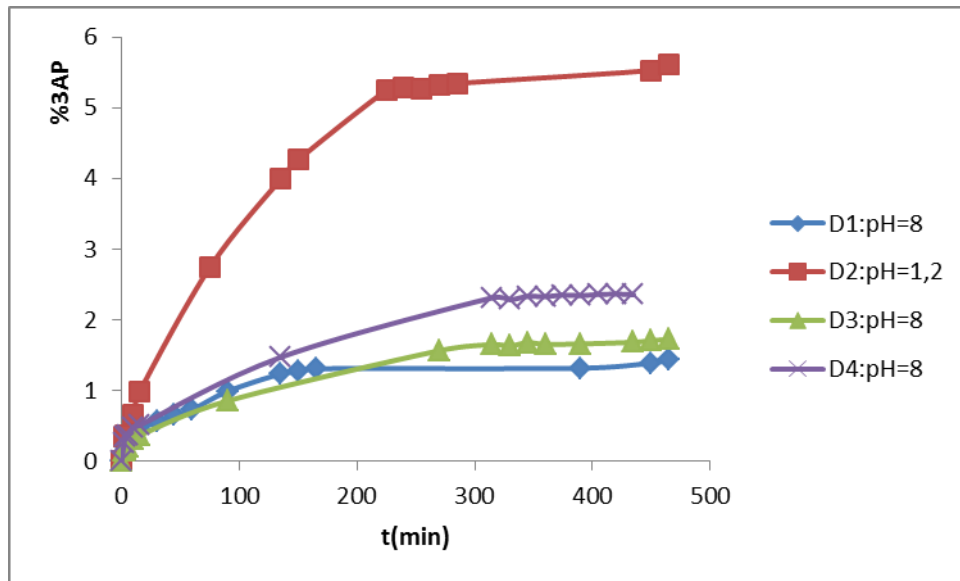


Figure II-15 : La quantité du Pa libéré en fonction du temps dans les deux pH=1,2 et 8.

D'après les résultats, on remarque que la quantité du Pa largué est légèrement supérieure en milieu acide comme la première formulation (séquestration par gonflement). Le pourcentage de la 3AP ne dépasse pas 6 %. c'est une faible quantité malgré qu'il n'y ait pas des interactions ioniques entre 3AP et la matrice du polymère. On remarque aussi que la taille de la maile ne perturbe pas la cinétique de libération, en effet la 3AP est une petite molécule.

Concernant l'influence de la masse initiale du principe actif séquestré, on remarque que le taux de 3AP libéré augmente avec la diminution de la masse initiale séquestré.

### 3-2-1-Vérification de l'ordre réactionnel :

On a essayé d'attribuer un ordre réactionnel classique à ces différentes cinétiques ; mais vaine fut notre tentative. On donne ci-dessous, à titre d'exemple, les courbes obtenues pour les ordres cinétiques classiques  $n=0$ , 1 et 2 pour le D1 à pH=1,2. (Figure II-16).

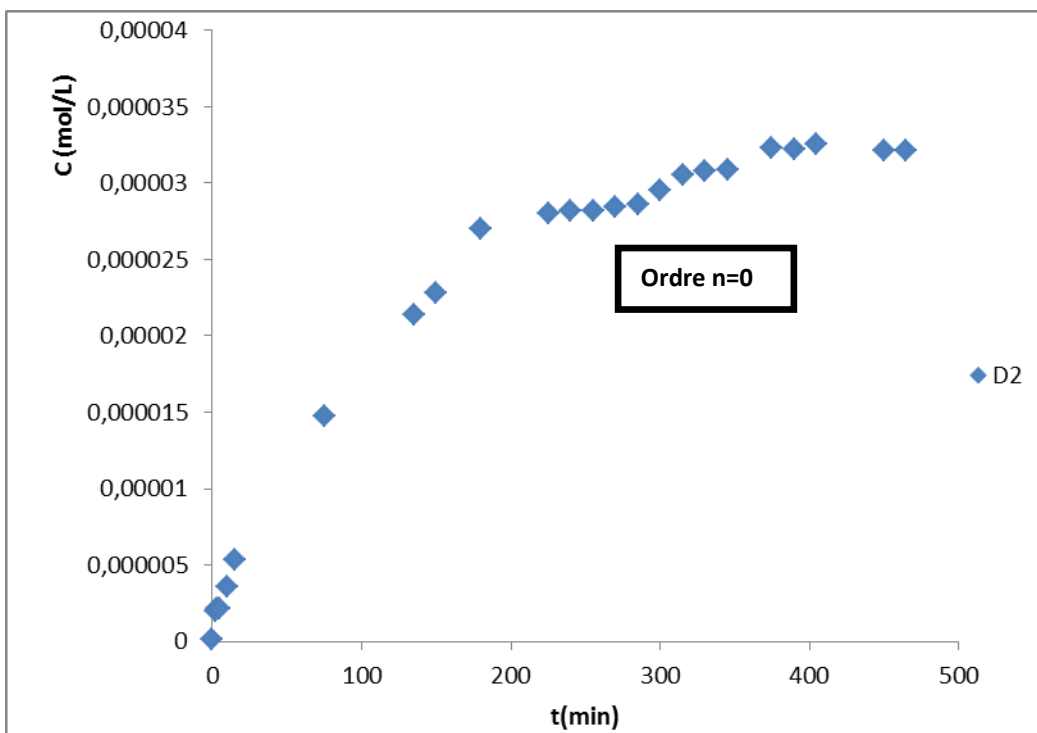


Figure II-16: Concentration du principe actif libéré par D2 en fonction du temps dans le pH=1,2.

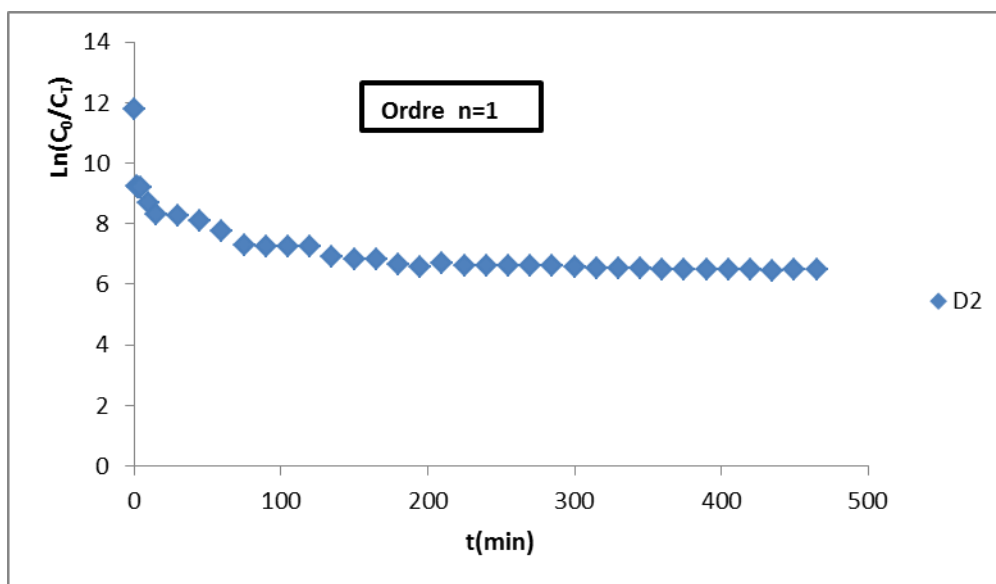


Figure II-17:  $\ln(C_0/C_t)$  en fonction du temps en fonction du temps pour D2 dans le pH=1,2.

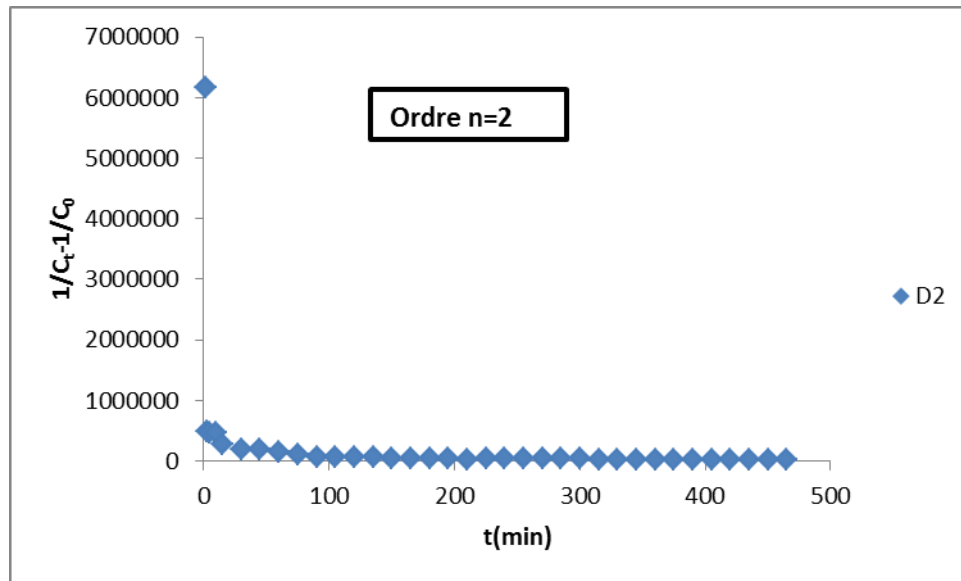


Figure II-18:  $(1/C_t) - (1/C_0)$  en fonction du temps pour D2 en fonction du temps dans le pH=1,2.

Ce non linéarité des points expérimentaux par les lois cinétiques classiques, nous a amené à penser au phénomène de diffusion, seul phénomène pouvant décrire ces systèmes. Le tracé du pourcentage de principe actif libéré en fonction de la racine carrée du temps principalement, pour les temps courts, a confirmé notre hypothèse (figure II-19).

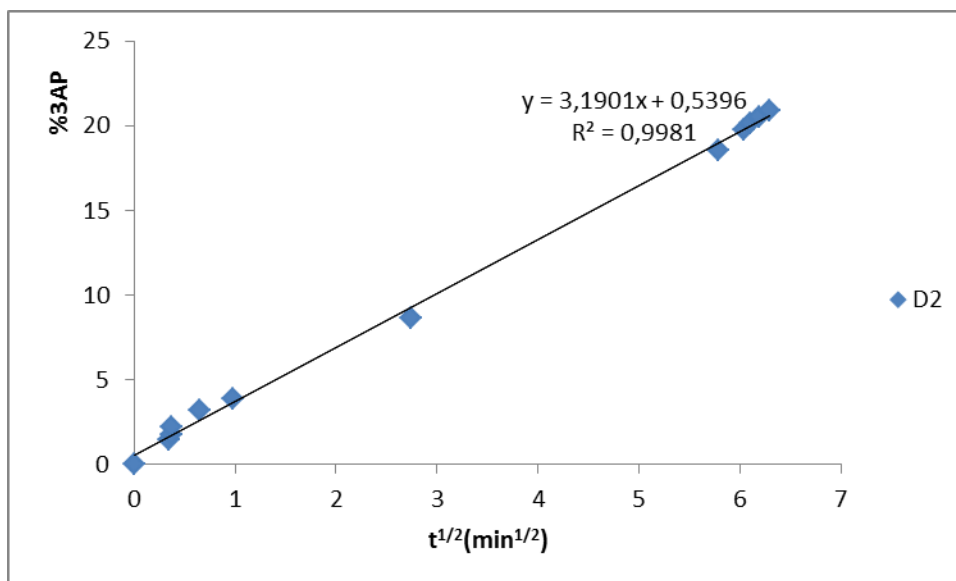


Figure II-19 : Pourcentage du principe actif libéré par D2 en fonction de la racine carrée du temps dans le pH=1,2.

### Conclusion :

L'étude de la libération du principe actif à partir des hydrogels utilisés pour cet objectif montre que la quantité de Pa libéré en fonction du temps est faible quelque soit le support ou le milieu d'étude.



A la fin on peut conclure que l'encapsulation de Pa va grandement dépendre de l'affinité entre le PA et la matrice du système séquestrant. Dans le cas de Pa moléculaire (bleu de méthylène ou 3AP) la taille de la matrice n'a aucune influence sur la libération.

**Bibliographie :**

- [1]. Grecu I., Curea E., – *Interactiuni între substante macromoleculare si medicamentoase*, Ed. Dacia, Cluj Napoca, 1976, pp. 60.
- [2]. *Polysaccharides. Structural Diversity and Functional Versatility.*, (Dumitriu S. ed.), Marcel Dekker Inc., New York, 1998.
- [3]. *Frontiers in Biomedical Polymer Applications* (R. Ottenbrite Ed.), TECHNOMIC Publishing Co.Inc., Lancaster-Basel, 1998.
- [4]. Dumitriu S., Popa M, Popa M.I., Dumitriu M. - *Acta Polymerica*, 1987, 38:2.
- [5]. Dumitriu S., Popa M., Dumitriu M.– *J. Bioact. Compat. Polym.*, 1990, 5:89.
- [6]. A.M.Guyot Hermann, J.M.Ayache, J.Ph. Devissagnet, Galemca II biopharmacie, Technique et Documentation, Paris 1<sup>ère</sup> Ed., P.233-321 (1978).
- [7]. Handbook of Chemistry and physics, CRC press, Florida, 60<sup>th</sup> Ed., (1980).
- [8]. D.Messadi, J.L.Taverdet, J.M. Vergnaud, *I.E.C.Prod.Res.and develop.*, 142-146 (1983).



***CONCLUSION  
GENERALE***

## Conclusion Générale

---

La libération contrôlée permet de maîtriser la vitesse et le site de libération d'un principe actif. Il est possible de moduler les paramètres de libération grâce aux nombreux supports polymériques développés pour des applications pharmaceutiques. Dans cette optique de l'usage de polymères capables de transporter des principes actifs et réguler leur libération, nous avons élaboré des hydrogels à base de pullulane.

L'objectif principal de ce travail est de concevoir des hydrogels à base de polysaccharide permettant l'encapsulation et la libération contrôlée de principes actifs et pouvant être modulables en fonction de la nature du principe actif utilisé.

La matrice choisie est à base du pullulane puisqu'il présente l'avantage d'être biodégradable et biocompatible. En prenant le sodium trimétaphosphate (STMP) comme agent de réticulation, nous avons préparé des matrices anioniques (phosphate).

Le comportement adaptatif de tels systèmes vis-à-vis de stimuli extérieurs tels que la force ionique, le pH ou la température a été étudié, ce comportement semble particulièrement intéressant.

Nous avons finalisé cette étude par la séquestration et la libération de la 3-aminopyridine et le bleu de méthylène qui a été opté comme model. Ainsi, nous avons étudié l'influence des différents paramètres comme le taux d'agent réticulant et le pH sur la libération des principes actifs. Les résultats obtenus montrent que la quantité de Pa libéré est plus efficace dans le pH 1,2 par rapport au pH 8, tandis que cette quantité reste faible dans tous les cas étudiée.

**Résumé:** Ce travail a eu pour objectif la conception de nouveaux matériaux à base de polysaccharide pour la séquestration et la libération contrôlée de principes actifs. Pour cela, des gels ont été préparés par réticulation du pullulane avec le sodium trimétaphosphate STMP. Les hydrogels obtenus ont été caractérisés et leurs propriétés physico-chimiques ont été investiguées.

La séquestration de principes actifs dans les hydrogels a été réalisée par regonflement des gels dans une solution de bleu de méthylène BM ou par dispersion de la 3-aminopyridine 3AP à l'intérieur des gels. L'influence des différents paramètres comme le taux d'agent réticulant et le pH sur la libération des principes actifs a permis de conclure sur la performance des gels comme matrice à libération contrôlée.

L'étude de la libération du principe actif à partir de ces hydrogels montre que la libération du principe actif est régie par un phénomène diffusionnel type Fickienne, la quantité de BM libéré est faible quelque soit le support et le milieu d'étude et que la libération de principe actif était sensible à la quantité de STMP et aux variations du pH.

**Mots clés:** Pullulane, réticulation, hydrogel, principe actif, libération contrôlée.

**Abstract :** This work has aimed at the design of new materials based on polysaccharide for the sequestration and controlled release of active principles. For this, gels were prepared by crosslinking the pullulan with sodium trimetaphosphate STMP. The hydrogels obtained were characterized and their physicochemical properties were investigated.

The sequestration of active principles in hydrogels was carried out by replenishing the gels in a solution of methylene blue (MB) or by dispersing the 3-aminopyridine 3 AP within the gels. The influence of the various parameters such as the level of crosslinking agent and the pH on the release of the active ingredients made it possible to conclude on the performance of the gels as a controlled release matrix

The study of the release of the active principle from these hydrogels shows that the release of the active principle is governed by a diffusion phenomenon Type Fickienne, The amount of BM released is low regardless of the medium and study medium and the release of active ingredient is sensitive to the amount of STMP and pH changes.

**Key words:** Pullulan, crosslinking, hydrogel, active principle, controlled release

### ملخص

يهدف هذا العمل إلى تكوين مواد جديدة قائمة على سكاريد من أجل حبس و مراقبة تحرر المكونات النشطة. لهذا تم إعداد مواد هلامية بنشابك بولولان مع تريميتافسفات صوديوم. المواد الهلامية التي تحصلنا عليها قمنا بمعاينتها و التحقق من خصائصها الفيزيو كيميائية

حبس المكونات نشطة في الهلاميات المائية من خلال إعادة تضخم المواد الهلامية في محلول الميثيلان الأزرق أو بتشتت 3-امينوبردين (3AP) ضمن المواد الهلامية. تأثير معايير مختلفة مثل معدل كيل تشابك و درجة الحموضة في تحرير مكونات نشطة ساعدت في استخلاص أداء المواد الهلامية مثل المصفوفة لمراقبة تحرر و تشير الدراسة لتحرير عنصر نشط من هذه الهلاميات المائية تحكمه ظاهرة الانتشار نوع فيكيان. كمية الميثيلان الأزرق التي تم تحريرها قليلة فمهما كان الوسط الدراسي فان تحرره حساس لكمية (STMP) و تغيرات في درجة الحموضة (pH)

الكلمات المفتاحية : بولولان, تشابك, هلاميات مائية, مكونات نشطة, مراقبة تحرر

