

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Hassiba Benbouali de Chlef

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie pharmaceutique

Thème :

Formulation et caractérisation d'un hydrogel innovant à base de polymère biodégradable pour la délivrance de médicament

Présenté par

**HADDAD Sabrina
HARICHANE Aya**

Soutenue publiquement le 24/06/2025 devant le jury composé de :

Mr. L. MAHMOUDI

MCB/UHB-Chlef

Président

Mme. S.DJELLOULI DELLA

MAA/UHB-Chlef

Examinatrice

Mr. M. DELLALI

MCA/UHB-Chlef

Encadrant

Mme. Kh. ZANOUNE

MCA/UHB-Chlef

Co-encadrant

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant toute chose, Nous commençons par remercier le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et la patience afin de réaliser ce modeste travail.

Nos vifs remerciements s'adressent tout d'abord à mes encadrateurs Monsieur Dr.DÉLLALI Mohammed et Mme Dr K.ZANOÛNE pour la confiance qu'il nous a accordé en acceptant de diriger ce travail, pour son écoute et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Nos vifs remerciements s'adressent au président de jury Mr L.MAHMOUDI, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance et l'examinatrice Mme S.DJELLOULI DÉLLA, qui nous ont fait l'honneur d'examiner notre travail.

J'adresse également mes remerciements au responsable du laboratoire HENNI CHABRA Fatima Elbatoul pour le temps qu'il a consacré et pour les précieuses informations qu'il nous a prodiguées avec intérêt et compréhension.

Nous remercions également tous les enseignants, personnels et collègues du département de Génie des procédés de l'université Hassiba ben Bouali Chlef, pour la qualité de leur enseignement et pour leurs efforts afin d'assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nos grands remerciements s'adressent à nos familles pour leurs soutiens tout au long de notre cursus et pendant la réalisation de ce travail, sans leurs apports financiers ce travail n'aurait pas vu le jour. Enfin, nous tenons à remercier sincèrement toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux biomatériaux composites sous forme de films hydrogels, destinés à des applications cutanées dans le domaine biomédical. Des films hydrogels ont été préparés à base du complexe CMC/AC/CSN par réaction d'estérification en utilisant différents rapports volumiques entre les fonctions hydroxyles et carboxyles de CMC/AC et les groupements amines de CSN par réticulation en formant des répulsions électrostatiques entre les chaînes de ces composés. Plusieurs paramètres d'influence ont été mis en jeu et ont été étudiés tels que le rapport volumique entre les groupements fonctionnels engagés en réaction, le temps et la température de réticulation. Les films obtenus ont été caractérisés par la spectrophotométrie infrarouge (IR-TF), la spectrophotométrie ultraviolet visible (UV-Vis) et la microscopie optique. La capacité de gonflement des films obtenus (CMC/AC/CSN) dans les solutions aqueuses dépasse 500% indiquant une hydrophilie importante qui influence directement le degré de réticulation du réseau polymère. L'extrait de gingembre (EG) et le kétoprofène (KTP) ont été incorporés dans les matrices élaborés à base de CMC/AC/CSN avec des taux d'encapsulation dépassant respectivement 61 % et 72 %. La cinétique de libération de l'EG et de KTP à partir des hydrogels obtenus a été évaluée *in vitro* dans une solution tampon de pH=5,5 avec une libération de 50 % pour l'EG et de 67 % pour le KTP. L'activité antioxydante des films chargés du principe actif a été améliorée en raison de la présence de biopolymères.

Mots clés: chitosane; carboxyméthylcellulose ; hydrogel ; kétoprofène ; encapsulation ; système de libération.

Abstract

In this work, we have been interested in the synthesis of new composite biomaterials in the form of hydrogel films, intended for topical applications in the biomedical field. These films were prepared from a CMC/CA/CSN complex through an esterification reaction, using various volume ratios between the hydroxyl and carboxyl groups of CMC/CA and the amino groups of CSN, followed by crosslinking through electrostatic repulsion between the polymer chains. Several influencing factors such as the volume ratio, the cross-linking temperature, and time were studied. The selected films were characterized by infrared spectrophotometry (IR-TF), ultraviolet visible spectrophotometry (UV-Vis) and optical microscopy. The swelling capacity of the obtained CMC/CA/CSN films in aqueous solutions exceeded 500%, indicating significant hydrophilicity, which directly influences the degree of polymer network crosslinking. Ginger extract (GE) and ketoprofen (KTP) were incorporated into the CMC/CA/CSN-based matrices, with encapsulation efficiencies exceeding 61% and 72%, respectively. The in vitro release kinetics of GE and KTP from the hydrogels were evaluated in a buffer solution at pH 5.5, showing release rates of 50% for GE and 67% for KTP. The antioxidant activity of the drug-loaded films was enhanced due to the presence of biopolymers.

Keywords : chitosan; carboxymethylcellulose; hydrogel; ketoprofen; encapsulation; delivery system.

ملخص

في إطار هذا العمل التجريبي ، تم الاهتمام بتحضير وتطوير مواد حيوية مركبة جديدة على شكل أغشية هيدروجينية (هلاميات مائية) ، موجهة للاستخدام في التطبيقات الجلدية في المجال الطبي الحيوي. تم تحضير هذه الأغشية انطلاقاً من مركب مكون من الكربوكسي ميثيل سليلوز ، حمض الستريك والكيروزان ، وذلك عبر تفاعل الأسترة باستخدام نسب حجمية مختلفة بين مجموعات الهيدروكسيل والكربوكسيل الموجودة في (الكربوكسي ميثيل سليلوز ، حمض الستريك) والمجموعات الوظيفية الأمينية للكيروزان من خلال عملية تشابك (رابط متقاطع) تتضمن تكوين تنافات شحنية بين سلاسل هذه المركبات. لقد تمت دراسة عدة عوامل مؤثرة، من بينها النسب الحجمية بين المجموعات الوظيفية المشاركة في التفاعل، الزمن ودرجة حرارة التشابك. العينات المحصل عليها تم اختبارها وفحصها بتقنيات مختلفة ، نذكر منها تقنية التحليل الطيفي لأشعة تحت الحمراء ، و تقنية التحليل الطيفي فوق البنفسجية وأيضاً تقنية التحليل المجهرى الضوئي. لقد تجاوزت قدرة انتفاخ الهلاميات المائية المتشكلة في المحاليل الموقية نسبة 500% والتي تؤثر بشكل مباشر على درجة التشابك في الشبكة البوليميرية. وبعد ذلك تم تثبيت وتحميل مستخلص الزنجبيل وأيضاً دواء الكيتوبروفين في الأغشية الهلامية المحصل عليها بنسب تتراوح 61% و 72% على التوالي . وأخيراً قمنا بدراسة سرعة تحرر وإطلاق هاتين المادتين الفعالتين المحملتين في الأغشية الهلامية المحضرة بدلالة الزمن في وسط حمضي حيث بلغت نسبة التحرر 50% بالنسبة لمستخلص الزنجبيل و 67% بالنسبة لدواء الكيتوبروفين . تم تحسين نشاط مضادات الأكسدة للأغشية المحملة بالدواء بسبب وجود البوليمرات الحيوية

الكلمات المفتاحية: كيتوزان ، كربوكسي ميثيل سليلوز ، الاغشية الهلامية ، تثبيت المادة الفعالة ، تقنية تحرير وإطلاق الدواء.

Table des matières

Liste des abréviations et des symboles

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Contexte et généralités sur les polysaccharides et leurs utilisations

I.1. Introduction

3

I.2. Généralités sur les polysaccharides

3

I.3. Origine des polysaccharides

4

I.3.1. Polysaccharides animaux

4

I.3.2. Polysaccharides d'origine végétale

5

I.3.3. Polysaccharides des algues

5

I.3.4. Polysaccharides bactérienne et fongique

5

I.4. Classification des polysaccharides

5

I.5. Propriétés des polysaccharides

6

I.6. Les applications des polysaccharides

7

I.6.1 Industrie agroalimentaire

7

I.6.2 Médecine et pharmacie

7

I.6.3 Biomatériaux et ingénierie tissulaire

7

I.6.4 Industrie textile et cosmétique

7

I.6.5 Industrie papetière et emballages biodégradables

8

I.7. Chitosane

8

I.7.1 Source et structure chimique du chitosane

8

I.7.2. Propriétés du chitosane

9

I.7.2.1. Propriétés physico-chimiques

9

I.7.2.2. Propriétés biologiques du chitosane

9

I.7.3. Modification du chitosane

10

I.7.4. Principales applications du chitosane

10

I.8. Le carboxyméthylcellulose

11

I.8.1. Obtention du carboxyméthyl cellulose

12

I.8.2. Les propriétés du carboxyméthylcellulose	12
1.8.3. Les applications du carboxyméthylcellulose	13
I.9. Conclusion	13

Chapitre II : Hydrogels à base de biopolymères : propriétés et applications biomédicales

II.1. Introduction	14
II.2. Définition des hydrogels et caractéristiques	14
II.3. Classification des hydrogels	15
II.3.1. Selon la source	16
II.3.2. Selon la préparation	16
II.3.3. Selon la charge ionique	17
II.3.4. Selon le type de réticulation	18
II.3.5. Selon les propriétés physiques	20
II.3.6. Selon la biodégradabilité	21
II.3.7. Selon la sensibilité aux stimuli	21
II.4. Méthodes de préparation des hydrogels	22
II.5. Caractéristiques requises d'un biomatériau hydrogel	22
II.6. Utilisation des hydrogels	23
II.7. Propriétés des hydrogels à base de biopolymères	24
II.7.1. Propriétés physico-chimiques	24
II.7.2. Propriétés mécaniques	26
II.7.3. Propriétés biologiques	26
II.8. Intérêt des biopolymères pour les hydrogels	27
II.9. Hydrogels –supports macromoléculaires pour l'obtention des systèmes à libération contrôlée/ soutenus des médicaments	28
II.9.1. Libération contrôlée de substances bioactives ou de médicaments	28
II.9.2. Encapsulation et libération de principes actifs	29
II.10. L'avenir des hydrogels dans les applications biomédicales	29
II.11. Conclusion	29

Partie expérimentale

Chapitre III: Matériel et méthodes expérimentales

III.1. Introduction	30
III.2. Matériaux et produits utilisés	30
III.3. Méthodes d'obtention des hydrogels biocomposites	33
III.3.1. Elaboration des films hydrogels à base de carboxyméthylcellulose (CMC) et de chitosane (CSN) réticulés avec l'acide citrique (AC)	33
III.3.2. Procédé d'extraction du principe actif (gingembre)	37
III.4. Formulation des films hydrogels à base du complexe (CMC/AC/CSN) chargé du principe actif	38
III.4.1. Hydrogels (CMC/AC/CSN) chargé de l'extrait de gingembre	38
III.4.2. Hydrogels (CMC/AC/CSN) chargé de kétoprofène	39
III.5. Méthodes de caractérisation physico-chimique des hydrogels obtenus	40
III.5.1. Caractérisation macroscopique et microscopique	40
III.5.2. Etude structurale	41
III.5.2.1. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)	41
III.5.2.2. Spectrophotométrie ultraviolet visible (UV-Vis)	42
III.5.3. Détermination des caractéristiques de gonflement des films hydrogels	43
III.6. L'encapsulation du principe actif (extrait de gingembre) dans les films hydrogels à base de (CMC/AC/CSN)	45
III.7. L'encapsulation du principe actif (kétoprofène) dans les films hydrogels à base de (CMC/AC/CSN)	46
III.8. Etude de la cinétique de libération de l'extrait de gingembre dans les films hydrogels préparés à base de (CMC/AC/CSN)	47
III.9. Etude de la cinétique de libération de du kétoprofène dans les films hydrogels préparés à base de (CMC/AC/CSN)	47
III.10. Etude de l'activité antioxydante de l'extrait de gingembre libre et encapsulé dans les films obtenus de CMC/AC/CSN	48
III.10.1. Le test de piégeage du radical	48
III.10.2. Mode opératoire	49
III.10.3. Détermination des IC50	49
III.11. Conclusion	49

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Introduction	50
IV.2. Obtention des hydrogels sous forme de films à base de carboxyméthylcellulose, chitosane et de l'acide citrique	50
IV.3. Structure chimique des hydrogels par la réticulation du complexe polyélectrolyte CMC/AC/CSN	51
IV.4. Méthodes de caractérisation des hydrogels obtenus	52
IV.4.1. Caractérisation macroscopique et microscopique	52
IV.4.2. Analyse spectrale FTIR des hydrogels composites obtenus (CMC/AC/CSN)	54
IV.4.3. Etude de la cinétique de gonflement des films hydrogels (CMC/AC/CSN) dans les solutions aqueuses	56
IV.5. Paramètres d'influence sur le taux de réticulation des matrices hydrogels à base de CMC/CSN réticulé avec l'acide citrique	56
IV.5.1. Influence de la température de réticulation sur le degré de gonflement des films	56
IV.5.2. Influence du temps de la réticulation sur le degré de gonflement	57
IV.5.3. Influence du rapport volumique sur le degré de gonflement	58
IV.6. Capacité des hydrogels d'encapsuler et de libérer le médicament	59
IV.6.1. Capacité des films d'encapsuler l'extrait de gingembre	60
IV.6.2. Capacité des films d'encapsuler le kétoprofène	60
IV.7. Analyse du degré de gonflement dans la solution tampon des films hydrogels à base de CMC /AC/CSN chargé de l'extrait de gingembre.	61
IV.8. Analyse du degré de gonflement dans la solution tampon des films hydrogels à base de CMC /AC/CSN chargé du kétoprofène.	62
IV.9. Cinétique de libération contrôlée du principe actif <i>in vitro</i>	63
IV.9.1. Cinétique de libération contrôlée de l'extrait de gingembre	63
IV.9.2. Cinétique de libération contrôlée de kétoprofène	64
IV.10. Détermination de l'activité antioxydante du principe actif	65
IV.11. Conclusion	67
Conclusions générales et perspectives	68
Références bibliographiques	70

Liste des abréviations et des symboles

A , **Abs** : Absorbance

AC : Acide citrique

AH : Antioxydant phénolique

ABS : Solutions tampons acétate

C : Concentration

CSN : Chitosane.

CMC : Carboxyméthylcellulose

DD : Degré de désacétylation (%)

DA : degré d'acétylation.

DP : Degré de polymérisation.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DS: Degré de substitution.

EG : Extrait de gingembre

E: Vitamine E

FTIR : Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier

GLY : Glycérol

KTP : Kétoprofène

MCA : Acide monochloroacétique

pH : Potentiel hydrogène

PM : Poids moléculaire (g/mol)

PMN : Polymorphonucléaires

PA : principe actif.

PSA : Polysaccharide

R : Rapport volumique

T : Température

t: Temps de réticulation

UV : Spectrophotométrie ultra-violet visible

V : Volume

% : Pourcentage

λ_{\max} : Longueur d'onde maximale (nm)

Liste des figures

Figure I.1	Structure générale des polysaccharides.	4
Figure I.2	Origine des principaux polysaccharides.	8
Figure I.3	Structures chimiques du chitosane	8
Figure I.4	Différentes sources du chitosane	9
Figure I.5	Prévisions de l'évolution du marché américain du chitosane par domaine d'application de 2014 à 2025 (milliards USD).	10
Figure I.6	Exemple de carboxyméthylcellulose.	11
Figure I.7	Schéma réactionnel de la carboxyméthylation de la cellulose	14
Figure II.1	Structure de l'hydrogel	15
Figure II.2	Les principales catégories d'hydrogels	16
Figure II.3	Les chaînes réticulées : d'hydrogel (a) physiquement (b) et chimiquement (c)	16
Figure II.4	Réticulation ionique entre les chaînes de l'alginate	21
Figure II.5	Représentation des principales méthodes de synthèse des hydrogels chimiques	22
Figure II.6	Mécanismes de gélification physique in situ	23
Figure II.7	Familles d'hydrogels selon leurs dimensions	24
Figure II.8	Classification des hydrogels selon leur morphologie	24
Figure III.1	Préparation de la solution de chitosane (CSN)	25
Figure III.2	Préparation de la solution de carboxyméthylcellulose (CMC)	27
Figure III.3	Procédé d'extraction de l'extrait de gingembre.	28
Figure III.4	Les étapes de préparation des films à base de (CS/AC/CMC) chargé par l'extrait de gingembre.	31

Figure III.5	Les étapes de préparation des films à base de (CMC/AC/CSN) chargé par le kitoprofène	31
Figure III.6	Pied à coulisse digital.	39
Figure III.7	La microscopie optique (Optika)	41
Figure III.8	Appareil du spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourrier de type Bruker Vertex FT-IR.	43
Figure III.9	Appareil du spectrophotomètre UV-visible.	44
Figure III.10	Test de gonflement	44
Figure III.11	Courbe d'étalonnage $A = f(C)$ de l'extrait de gingembre dans une solution tampon acétate pH=5,5 à 285 nm.	46
Figure III.12	Courbe d'étalonnage $A = f(C)$ de kétoprofène dans une solution tampon acétate pH=5,5 à 275 nm.	47
Figure III.13	La radication du DPPH par oxydation	48
Figure IV.1	Schéma de structure chimique de la réaction de réticulation des hydrogels composite obtenus entre (CMC/CSN)	49
Figure IV.2	Réaction de réticulation par interaction ionique du carboxyméthylcellulose/ chitosane avec l'acide citrique.	50
Figure IV.3	Spectres infrarouges (FTIR) du CMC, CSN, AC , polymère hybride M0 (CMC/CSN) et la matrice hydrogel M1 (CMC/CA/CSN)	52
Figure IV.4	Evolution au cours du temps des taux de gonflement pour les films obtenus de type F3 à différentes températures de réticulation (temps de réticulation = 2.5 h) dans un pH = 5,5.	52
Figure IV.5	Evolution au cours du temps des taux de gonflement pour les films de type F3 obtenus à différents temps de réticulation dans le milieu (pH =5,5). (Tréaction =45°C).	53

Figure IV.6	La variation du degré de gonflement avec le temps en fonction de différents rapports volumiques des hydrogels obtenus (CMC/AC/CSN) ; F1, F2 et F3 dans une solution de pH = 5,5, (t = 2.5 h, T _{réact} = 45°C).	56
Figure IV.7	L'efficacité de chargement (encapsulation) de l'EG dans le complexe à base de CMC/AC/CSN pour différents rapports volumiques (NH ₃ ⁺ /COO ⁻), (t réaction = 3h; T = 45 °C).	57
Figure IV.8	L'efficacité de chargement (encapsulation) de kétoprofène dans le complexe à base de CMC/AC/CSN pour différents rapports volumiques (NH ₃ ⁺ /COO ⁻), (t réaction = 3 h; T réaction = 45 °C).	59
Figure IV.9	Variation du degré de gonflement en fonction du temps pour les films du complexe (CMC/AC/CSN) de types F5 (EG), F6 (EG) et F7(EG) (temps de réticulation de 3h, T _{réaction} = 45 °C) dans un pH = 5,5.	62
Figure IV.10	Variation du degré de gonflement en fonction du temps pour les films du complexe (CMC/AC/CSN) de types F9 (KTP), F10 (KTP) et F11(KTP) (t= 3h, T _{réaction} = 45 °C) dans un pH = 5,5.	63
Figure IV.11	La cinétique de libération de l'extrait de gingembre pour les 3 films biopolymères: F5 (EG), F6 (EG) et F7(EG) à pH = 5,5.	64
Figure IV.12	La cinétique de libération de kétoprofène pour les 3 films biopolymères: F9 (KTP), F10 (KTP) et F11(KTP) à pH = 5,5.	65
Figure IV.13	Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices IC ₅₀ des différents échantillons analysés en (mg/mL).	66

Liste des tableaux

Tableau I.1	Classification des polysaccharides selon la charge	6
Tableau I.2	Classification des polysaccharides selon la structure	6
Tableau I.3	Principales applications du chitosane	10
Tableau I.4	Applications de carboxyméthylcellulose dans le domaine principal de l'industrie	13
Tableau III.1	Liste des produits et des réactifs utilisés	31
Tableau III.2	Plan expérimental utilisé pour l'obtention des films à base de deux biopolymères CSN, CMC réticulés avec AC, sans et avec le principe actif encapsulé.	36
Tableau III.3	Les épaisseurs de différents films hydrogels	40
Tableau IV.1	Aspect microscopique des films hydrogels	53

Introduction

générale

Introduction générale

Au cours de la dernière décennie, les avancées dans le domaine de la chimie des polymères naturels ont conduit au développement de matériaux biocompatibles et biodégradables, ouvrant la voie à de nombreuses applications en pharmacologie et en biomédecine. Ces polymères, issus de ressources renouvelables, présentent des caractéristiques particulièrement intéressantes, notamment leur non-toxicité, leur biodégradabilité et leur compatibilité avec les tissus biologiques. Parmi eux, les polysaccharides occupent une place centrale. Grâce à leur structure chimique riche en groupes fonctionnels, ils peuvent former des gels, moduler la libération de substances actives, participer à la régénération tissulaire ou encore capter des molécules toxiques. Utilisés couramment dans les industries pharmaceutique et cosmétique, ces polymères naturels sont capables de former des films protecteurs, d'augmenter la viscosité des solutions, et d'agir comme agents gélifiants. L'ensemble de ces propriétés confère aux polysaccharides un fort potentiel pour la conception de systèmes complexes d'encapsulation et de libération contrôlée des principes actifs, en particulier lorsqu'une interaction sûre avec les tissus humains est requise [1,2].

Les hydrogels de polymères naturels sont une classe de biomatériaux dans lesquels une certaine quantité d'eau est retenue par une quantité généralement beaucoup plus faible (0,1 à 10 %) de polymères ayant formé un réseau tridimensionnel. Ils sont à la base de nombreuses applications industrielles dans l'agro-alimentaire, le biomédical [3], les cosmétiques et l'industrie pharmaceutique...

L'intérêt de cette partie de mémoire est de mener notre étude sur un biomatériau d'hydrogel particulier à base de polysaccharides. Outre sa qualité de servir d'exemple d'hydrogel, le gel de chitosane et de carboxyméthylcellulose possède des caractéristiques propres de grand intérêt. Le carboxyméthylcellulose et le chitosane, étant deux polymères biodégradables et biocompatibles, très abondant dans la nature [4, 5], ont reçu une attention spéciale afin de les impliquer avec succès dans la fabrication des médicaments, en exploitant le maximum leurs propriétés physico-chimiques dans la protection du principe actif dans l'organisme et même dans le contrôle de la libération du médicament.

Les hydrogels de carboxyméthylcellulose et de chitosane constituent une classe de biomatériaux avec un large spectre d'applications dans plusieurs domaines: L'alimentaire ou encore l'environnement et dans le domaine biomédical... [6].

L'objectif de ce travail consiste à l'obtention de nouveaux biomatériaux composites à caractère d'hydrogel réticulés de manière ionique à partir du complexe polyélectrolyte ; carboxyméthylcellulose (CMC) , chitosane (CSN), et de l'acide citrique (AC), chargés de médicament. Ces films hydrogels ont été élaborés et caractérisés par les différentes techniques telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), la spectrophotométrie ultraviolet visible (UV-Vis), l'analyse par la microscopie optique et la détermination de la capacité de gonflement en milieu aqueux. L'étude d'encapsulation et la cinétique de libération du principe actif (extrait de gingembre et kétoprofène) à partir des hydrogels obtenus ont été étudiées dans un milieu de pH = 5,5 à 37 °C jusqu'à l'équilibre. L'activité antioxydante, exprimée par IC50, des films d'hydrogels avec ou sans principe actif encapsulé a été déterminée.

Notre travail traduit alors les résultats des différentes étapes de notre démarche dans l'obtention des hydrogels sous forme de film avec le chitosane (CSN), carboxyméthylcellulose (CMC) et/ou l'acide citrique (AC).

Ce manuscrit est structuré en quatre principaux chapitres comme suit :

Nous avons donné au premier chapitre des généralités sur les polysaccharides et leurs utilisations. Nous y avons aussi présenté à travers les données bibliographiques les principales propriétés physico-chimiques et biologiques de ces biopolymères ainsi que l'intérêt qu'ils représentent au niveau industriel.

Le second chapitre est consacré aux hydrogels à base de biopolymères, en mettant l'accent sur leurs mécanismes de formation, leurs propriétés physico-chimiques et leurs applications dans la délivrance contrôlée de médicaments.

Au troisième chapitre, nous avons exprimé les matériels utilisés ainsi que les techniques expérimentales mises en œuvre pour la synthèse de l'hydrogel, son étude morphologique et structurale, ainsi que l'évaluation de ses performances d'encapsulation et de libération du principe actif.

Au quatrième et dernier chapitre, nous avons discuté en illustrant les principaux résultats expérimentaux obtenus.

Une conclusion générale termine ce travail, elle résume les différents résultats obtenus et les perspectives projetées à partir de ce travail.

Partie

bibliographique

Chapitre I

I.1.Introduction

Les polysaccharides sont connus et exploités depuis de nombreuses années du fait de leur abondance, de leur caractère renouvelable, de leur non-toxicité, et de leur biodégradabilité. Les polymères naturels suscitent ces dernières années un grand intérêt vu l'importance de leur utilisation dans des domaines d'applications diverses.

Les polysaccharides hydrosolubles souvent qualifiés d'hydrocolloïdes peuvent être extraits de plantes terrestres, de champignons, de levures, de bactéries, d'algues (micro- et macroalgues), de lichens ou d'animaux. Ces macromolécules disposent de propriétés texturantes exceptionnelles qui les rendent incontournables comme additifs alimentaires et auxiliaires technologiques [7].

En effet, il convient de dresser un aperçu général sur des connaissances actuelles de cette classe de polymères naturels, dont l'attrait s'explique par ses propriétés physico-chimiques et biologiques remarquables ainsi que ses utilisations sous différentes formes dans un contexte d'applications potentielles. Nous insisterons sur le chitosane et l'alginate de sodium comme des polysaccharides pour préparer des biomatériaux (hydrogels) dans le cadre de la réalisation de ce mémoire.

I.2. Généralités sur les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères composés d'unités monosaccharidiques, dont le nombre et le degré de polymérisation varient selon la source. Leur structure est influencée par de nombreux facteurs. La nature de l'unité de base (monosaccharide), les liaisons glycosidiques, les groupes fonctionnels (carboxyle, sulfate, etc.) et le poids moléculaire influencent directement les propriétés du polysaccharide (figure I.1). Les polysaccharides sont présents dans les algues et les plantes, ou sont synthétisés par des micro-organismes produisant respectivement de l'alginate, de l'amidon et de la gomme xanthane. Les β -glucanes sont une classe de polysaccharides présents dans de nombreuses sources différentes (plantes, champignons, levures, etc.) et ont été largement étudiés. Ils présentent tous les mêmes caractéristiques structurelles : ils sont principalement composés de β -D-glucose, mais le type de liaisons glycosidiques et le poids moléculaire varient considérablement.[8]

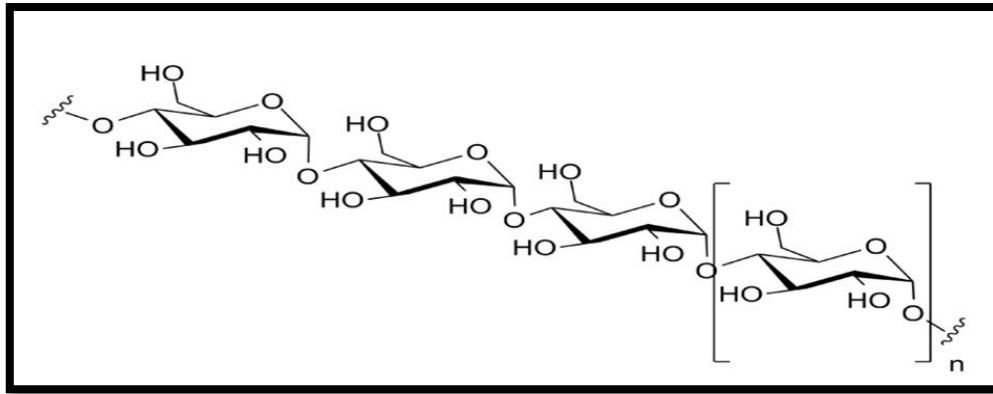


Figure I.1 : Structure générale des polysaccharides.

I.3. Origine des polysaccharides

Les principales sources de polysaccharides sont évidemment les plantes, mais on trouve également des animaux, des algues et des bactéries (figure I.2).

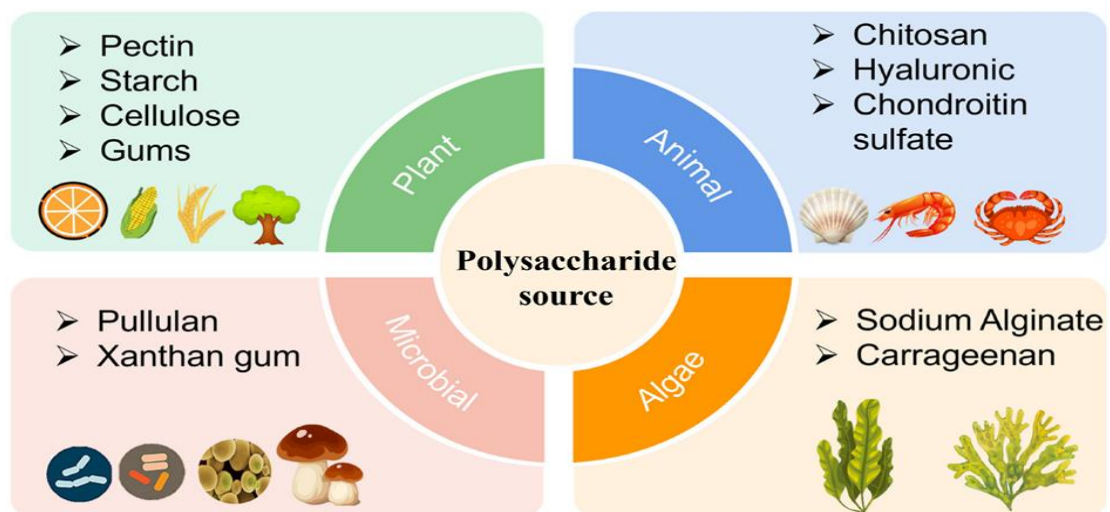


Figure I.2 : Origine des principaux polysaccharides.

I.3.1. Polysaccharides d'origine animal

Les polysaccharides animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycane et sont dérivés des protéoglycane. Ces polymères interviennent dans la structure du tissu conjonctif ou, par leurs propriétés fonctionnelles (héparine et sulfate d'héparine), dans les mécanismes de communication cellulaire. Le chitosane est un exemple de polysaccharide d'origine animale.[9]

I.3.2. Polysaccharides d'origine végétale

Les polysaccharides des végétaux appartiennent à trois groupes principaux ; les polysaccharides de structures (propriétés biomécanique) qui composent la paroi pectocellulosique des cellules (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon, caroube, inuline) constituant des formes de stockage de carbone, les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages.[10]

I.3.3. Polysaccharides des algues

Les algues sont riches en polysaccharides sulfatés, dont certains sont devenus des additifs de valeur dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés rhéologiques comme agents gélifiants et épaississants. En outre, des polysaccharides sulfatés possèdent un certain nombre d'activités biologiques, dont des activités anticoagulante, antivirale, et immuno-inflammatoire qui peuvent trouver un intérêt dans les aliments (nutritifs) et des applications cosmétiques et pharmaceutiques.[11]

I.3.4. Polysaccharides bactérienne et fongique

Les micro-organismes produisent une grande variété d'exopolysaccharides ayant des caractéristiques physiques et chimiques uniques. Ces exopolysaccharides peuvent être des homopolysaccharides ou des hétéropolysaccharides [12]. Globalment, la biomasse fongique représente un pourcentage majeur de (jusqu'à environ 75%) de polysaccharide. Ces biopolymères assurent un rôle de soutien ou forment une gaine protectrice. De même les bactéries synthétisent plusieurs types de polysaccharides qui peuvent être classés en trois grands groupes selon leur localisation dans la cellule :

- Un groupe rassemble les polysaccharides du cytosol, ils servent de source de carbone et d'énergie à la cellule.
- Un groupe concerne les constituants de la paroi tels que les acides téichoïques et les peptidoglycanes.
- Un groupe qui réunit les polysaccharides élaborés par la cellule est secrétés dans le milieu[13][10].

I.4. Classification des polysaccharides

Les polysaccharides peuvent être classés de plusieurs manières, notamment par structure, propriétés, source et application.[14]. Les tableaux I.1 et I.2 illustrent cette classification.

Tableau I.1 : Classification des polysaccharides selon la charge

Classification	Types	Exemples
Selon la charge	polysaccharides anioniques	carboxyméthylcellulose
	polysaccharides cationiques	Chitosane
	polysaccharides non-ioniques	Cellulose

Tableau I.2 : Classification des polysaccharides selon la structure

Classification	Types	Structure	Exemples
Selon la structure	Linéaire	Chaîne simple	Cellulose
	ramifié	Chaîne principale avec des ramifications	Amylopectine
	Mixte	Combinant Linéaire et ramifié	Amidon

I.5. Propriétés des polysaccharides

La principale propriété des polysaccharides est leur capacité à modifier les propriétés de l'eau ou de l'environnement [15]. Par exemple, ils peuvent épaissir, émulsifier, stabiliser, encapsuler, flocculer, gonfler et suspendre, ou former des gels, des films et des membranes. Les polysaccharides sont de plus en plus utilisés dans la formulation de produits alimentaires, biomédicaux et cosmétiques en raison de leur biocompatibilité, biodégradabilité, bioadhésivité et non-toxicité, ainsi que de leur grande disponibilité et de leur faible coût général. De par leur structure chimique, les polysaccharides présentent des propriétés uniques et intéressantes dans certaines applications industrielles. Parmi elles, la biodégradabilité est la plus importante.

- **Perméabilité à la vapeur d'eau :** la plupart des polysaccharides sont hydrophiles, ce qui les rend perméables à la vapeur d'eau.
- **Biodégradabilité :** La plupart des polysaccharides présentent une biodégradabilité due à la présence de liaisons aisément séparables, une caractéristique qui est particulièrement utile pour certaines applications spécifiques.

- **Biorésorbabilité et biocompatibilité:** Les polysaccharides se dégradent naturellement dans l'organisme humain via hydrolyse, libérant des molécules absorbables et non nocives.

I.6. Les applications des polysaccharides

I.6.1 Industrie agroalimentaire

- **Épaississants et gélifiants :** Des polysaccharides comme l'amidon, la pectine, l'agar et la carraghénane sont utilisés pour donner de la texture aux aliments (ex: confitures, sauces, yaourts).
- **Agents de stabilisation et d'émulsifiations :** La gomme xanthane et la gomme gaur sont ajoutées aux produits alimentaires pour stabiliser les émulsions et empêcher la séparation des phases.
- **Substituts de matières grasses :** Certains polysaccharides, comme l'inuline, sont utilisés dans les produits allégés pour imiter la texture des lipides.[16]

I.6.2 Médecine et pharmacie

- **Agents bioactifs :** L'acide hyaluronique est utilisé dans les Traitements anti-âge, la cicatrisation et la lubrification des articulations.
- **Excipients pharmaceutiques:** Les polysaccharides comme la cellulose microcristalline sont utilisés pour formuler des comprimés et des gélules.
- **Systèmes de libération de médicaments :** Les alginates et les chitons sont utilisés pour encapsuler et libérer progressivement des principes actifs.[17]

I.6.3 Biomatériaux et ingénierie tissulaire

- **Substituts de tissus :** Le chitosane et le collagène sont utilisés pour la fabrication de pansements et de supports pour la régénération tissulaire.
- **Nanotechnologies médicales :** Les nanoparticules de polysaccharides sont utilisées pour le ciblage des cellules cancéreuses.[18]

I.6.4 Industrie textile et cosmétique

- **Finitions textiles :** Les polysaccharides sont utilisés comme agents de finition pour améliorer la résistance et la souplesse des tissus.
- **Cosmétiques :** L'acide hyaluronique et l'agar sont employés dans les crèmes hydratantes et les masques faciaux.[19]

I.6.5. Industrie papetière et emballages biodégradables

- **Renforcement du papier** : La cellulose est essentielle dans la fabrication du papier et du carton.
- **Emballages biodégradables** : Des films à base d'amidon et de chitosane sont développés comme alternatives aux plastiques conventionnels.[20]

I.7. Chitosane

On trouve rarement le chitosane dans la nature. On le trouve dans la paroi cellulaire de certains champignons zygomycètes ainsi que dans le mycélium du *Mucor rouxii*, du *Rhizopus oryzae* et de l'*Absidia coerulea*. Il est également signalé uniquement dans les exosquelettes de quelques insectes, comme la paroi abdominale des reines termites. Il n'existe donc pas de source primaire de chitosane utilisable, la production se faisant par le biais de la transformation des résidus de pêche. D'ailleurs, une grande partie du chitosane disponible sur le marché est issue du processus de désacétylation de la chitine [21].

I.7.1. Source et structure chimique du chitosane

Le chitosane est un polysaccharide à structure linéaire, issu de la désacétylation de la chitine. Il se compose de monomères de D-glucosamine et de N-acétyl-D-glucosamine unis par des liaisons $\beta(1\rightarrow4)$ (figure I.3).

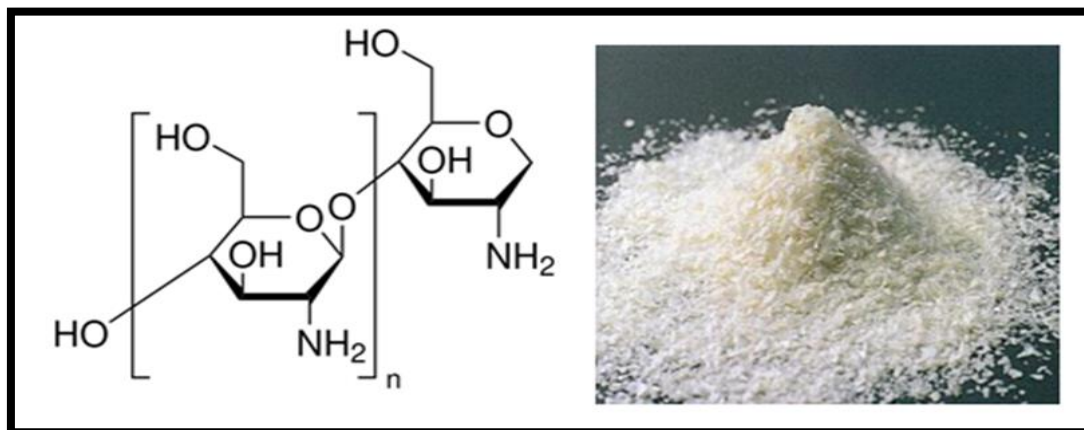


Figure I.3 : Structure chimique du chitosane.

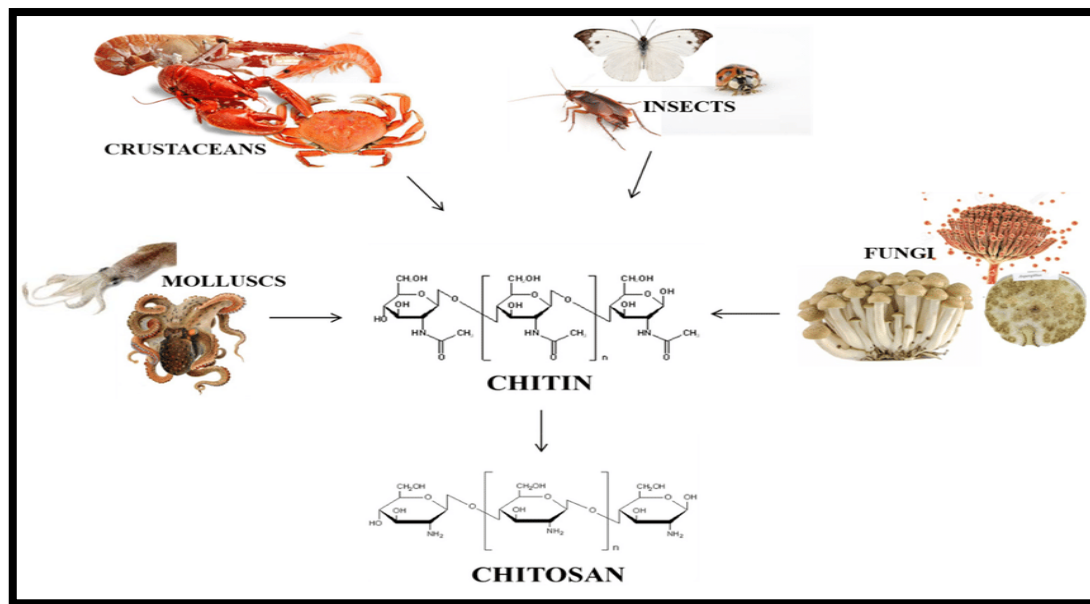


Figure I.4: Différentes sources du chitosane.

I.7.2. Propriétés du chitosane

I.7.2.1. Propriétés physico-chimiques

- **Degré de Désacétylation (DD)** : plus il est élevé, plus le chitosane est soluble, réactif, et bioactif.
- **Solubilité**: soluble en milieu acide ($\text{pH} < 6.5$), insoluble en milieu neutre ou basique.
- **Cristallinité** : semi-cristallin ; diminue avec l'augmentation du DD.
- **Viscosité** : dépend du poids moléculaire, de la concentration et du pH ; augmente avec la masse molaire.
- **Polyélectrolyte en milieu acide**: devient cationique (NH_3^+), ce qui permet de former des complexes avec des substances anioniques [21]

I.7.2.2 Propriétés biologiques du chitosane

- **Biocompatibilité** : non toxique, utilisé en contact avec des cellules vivantes (applications biomédicales).
- **Biodégradabilité** : dégradé naturellement par les enzymes comme la lysozyme.
- **Activité antimicrobienne** : effet contre de nombreuses bactéries et champignons, par interaction électrostatique avec les membranes microbiennes.
- **Effet hémostatique** : favorise la coagulation du sang.[21]

I.7.3. Modification du chitosane

Le chitosane est un matériau relativement facile à modifier physiquement ou chimiquement (par greffage de groupes fonctionnels spécifiques). Ces modifications visent à accroître l'efficacité de liaison (augmentation du nombre de sites fonctionnels), à améliorer la sélectivité (par l'ajout de groupes spécifiques susceptibles de modifier le mécanisme de liaison), à accélérer le transfert (en minimisant la résistance à ces mécanismes), à stabiliser le matériau (en limitant la dégradation ou la dissolution du polymère) ou à étendre le champ d'application du bio adsorbant (notamment en modifiant la plage de pH).

I.7.4. Principales applications du chitosane

Les applications du chitosane sont nombreuses et variées. On cite des domaines de traitement des eaux, agriculture et alimentaire, médecine, cosmétique, super absorbant, phase stationnaire pour la chromatographie, capteur ou encore support pour la catalyse [22][23].

Tableau I.3 : Principales applications du chitosane.

Domaine	Champ d'application
Alimentaire	Agent de conservation , stabilisateur antimicrobien Enrobage protecteur
Biopharmaceutique	Anticoagulants , libération contrôlées (matrices)
Domaine agriculture	Stimule la croissance des plantes Libération de fertilisants et nutriments.
Domaine cosmétique	Crème de traitement de l'acné , formulation de dentifrices, formulation de shampooing.
Domaine Médical	Structures chirurgicales , implants dentaires. Peaux artificiels
Traitement des eaux	Diminution de la turbidité Diminution des odeurs bactéricides

D'après un récent rapport du Grand View Research Inc [24][25] , la forte demande du marché global de chitosane est attribuée à la hausse des champs d'applications dans le secteur du traitement de l'eau et des effluents (chélation des métaux lourds et autres contaminants par floculation), dans le pharmaceutique, biomédical, cosmétique et l'agroalimentaire (figure I.5).

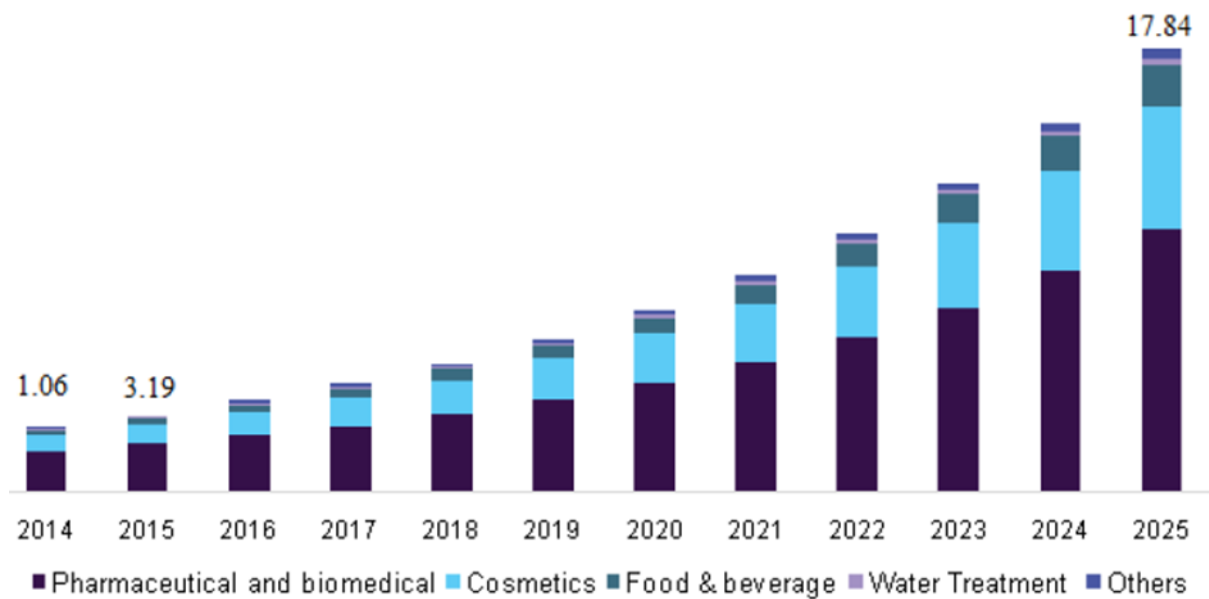


Figure I.5: Prévisions de l'évolution du marché américain du chitosane par domaine d'application de 2014 à 2025 (milliards USD) [24].

I.8. Le carboxyméthylcellulose CMC

Le carboxyméthyl cellulose (CMC) a été préparé pour la première fois en 1918 et commercialisé au début des années 1920 dans l'Allemagne [26]. C'est un dérivé de la cellulose naturelle (figure I.6). La CMC purifiée est une substance granuleuse blanc grisâtre qui se présente sous forme de poudre inodore, hydrosoluble, renouvelable, non toxique, biodégradable et biocompatible. Elle ne provoque pas de réactions allergiques chez l'homme. Contrairement à la cellulose, la CMC peut être dissoute dans l'eau chaude ou froide. Elle est disponible en différentes viscosités.[27]

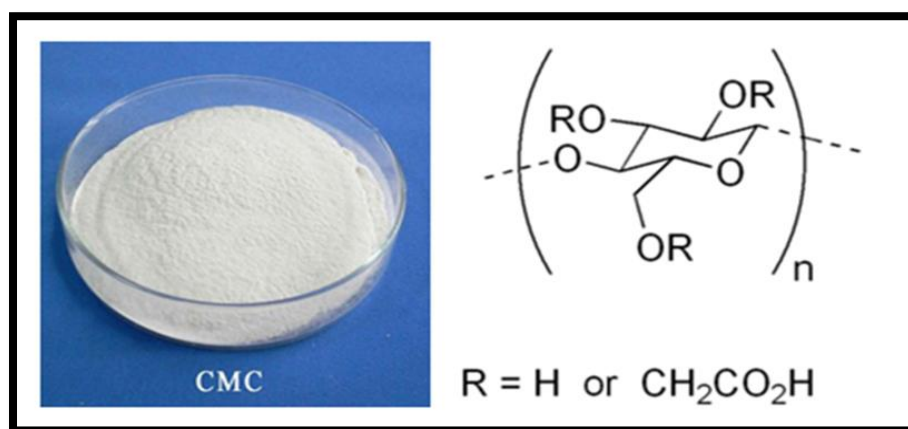


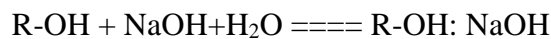
Figure I.6: Exemple de carboxyméthylcellulose.

1.8.1 Obtention du carboxyméthyl cellulose (CMC)

Le carboxyméthylcellulose sodique est généralement obtenue par réaction de cellulose pure avec de l'acide monochloroacétique et/ou du monochloroacétate de sodium (MCA) en présence de soude caustique, en deux étapes : alcalinisation et étherification. L'hydroxyde de sodium joue un double rôle : d'une part, il rend la cellulose réactive en formant de la cellulose alcaline, et d'autre part, il neutralise l'acide chlorhydrique ainsi obtenu.[28]

❖ La première étape : Alcalinisation

La cellulose est mise en suspension dans un alcali pour ouvrir la chaîne cellulosique liée, permettant ainsi à l'eau de pénétrer. Le traitement de la cellulose exposée à la soude caustique consiste à décomposer les groupes cristallins et à obtenir un complexe alcali-cellulose, un substrat permettant l'accès à la réaction suivante : la carboxyméthylation.



❖ La deuxième étape : Étherification

Au cours de cette étape, on fait réagir la cellulose alcaline avec du monochloroacétate de sodium pour obtenir de la carboxyméthylcellulose de sodium. (figure I.7) [29]

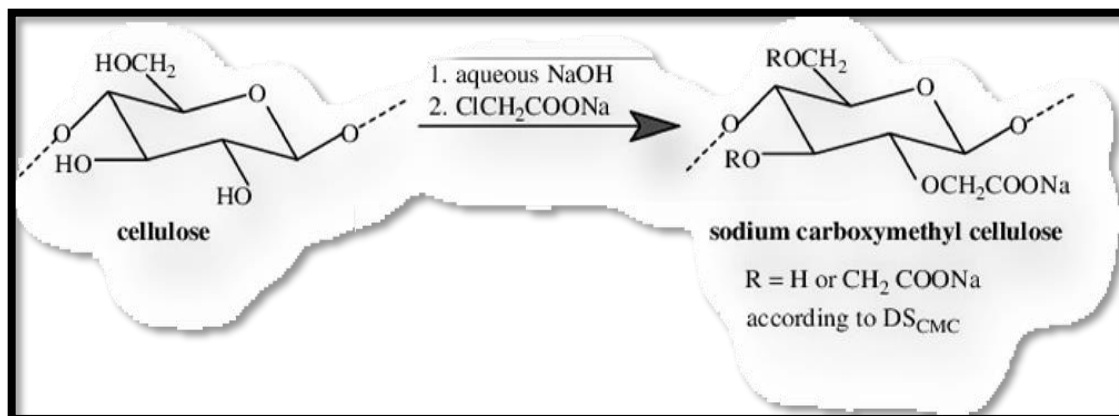


Figure I.7: Schéma réactionnel de la carboxyméthylation de la cellulose [30].

1.8.2. Les propriétés du carboxyméthylcellulose

Le carboxyméthyl cellulose a des propriétés comme suite :

- ✓ Il possède d'excellentes propriétés de rétention, formant une pâte très épaisse, insoluble dans les solvants organiques.
- ✓ Il peut atteindre une viscosité élevée à faible concentration et peut agir comme épaississant et tensio-actif. [28]

- ✓ Le carboxyméthylcellulose sodique se dissout facilement dans l'eau froide comme dans l'eau chaude. [27] Il présente une bonne adhérence et est facile à extraire.
- ✓ Il est non toxique, hypoallergénique, biodégradable et peu coûteux à produire.

1.8.3. Les applications du carboxyméthylcellulose (CMC)

Le CMC est un polymère à large application comme indiqué dans le tableau I.4

Tableau I.4 : Applications de carboxyméthylcellulose dans le domaine principal de l'industrie [31].

Industries	Domaines d'applications
Papiers	Additives internes
Detergents	Blanchisserie- Il contribue à briser la saleté dans les tissus de coton ou d'autres cellulose en créant une barrière de charge négative empêche la saleté de déposer sur la fibre.
Cosmétiques	Dentifrice.
Textiles	Pate impression, teinture.
Aliments	Desserts congelés -substitut des matières grasses, du sucre ou encore des œufs dans les crèmes.
Applications médicaux	Indiqué contre la sécheresse oculaire, il est utilisé dans la composition de larmes de substitution.

I.9. Conclusion

Le travail de ce chapitre est une synthèse bibliographique consacrée à un rappel de la structure des principaux polysaccharides décrits à ce jour, à leur classification ainsi qu'à leurs propriétés physico-chimiques et biologiques...

Enfin, on peut conclure que les polysaccharides sont des composés biologiques complexes et diversifiés qui jouent un rôle crucial dans de nombreuses fonctions biologiques. Leur structure et leurs propriétés uniques permettent d'avoir des applications variées dans différents domaines. L'étude des polysaccharides continue d'être un domaine de recherche important pour mieux comprendre leur fonctionnement biologique et explorer leurs applications potentielles dans divers domaines.

Chapitre II

II.1. Introduction

Les hydrogels à base de biopolymères suscitent un intérêt croissant dans le domaine biomédical en raison de leur structure tridimensionnelle réticulée, capable d'absorber et de retenir de grandes quantités d'eau tout en conservant leur intégrité structurelle. Constitués principalement de polymères naturels tels que l'alginate, le chitosane ou encore le carboxyméthylcellulose..., ces matériaux se distinguent par leur excellente biocompatibilité, leur biodégradabilité, leur faible toxicité et leur similitude avec la matrice extracellulaire des tissus biologiques. Sur le plan physico-chimique, les hydrogels offrent une flexibilité remarquable en termes de composition, de porosité, de réponse aux stimuli externes (pH, température, enzymes), ainsi qu'une capacité de réticulation contrôlable, permettant une adaptation précise à des applications spécifiques. Ces propriétés leur confèrent un potentiel considérable pour l'administration contrôlée de médicaments, l'ingénierie tissulaire, la cicatrisation des plaies...ect. L'utilisation de biopolymères naturels dans la formulation des hydrogels représente une alternative prometteuse aux polymères synthétiques, notamment pour des applications cliniques exigeant des matériaux fonctionnels, adaptables et respectueux de l'environnement.

II.2. Définition des hydrogels et caractéristiques

Un hydrogel est une matrice polymérique tridimensionnelle et hydrophile capable d'absorber une grande quantité d'eau et de liquides biologiques [32]. Il se distingue par une capacité de gonflement exceptionnelle, pouvant atteindre jusqu'à 90 % de sa structure (figure II.1). Les hydrogels peuvent être synthétisés à partir d'une large gamme de polymères naturels ou synthétiques. Grâce à leurs propriétés physico-chimiques proches du milieu biologique, ainsi qu'à leur forte perméabilité à l'oxygène, aux nutriments et aux métabolites solubles dans l'eau, ils sont largement utilisés dans les applications biomédicales et environnementales [33].

La structure d'un hydrogel repose sur un réseau tridimensionnel (3D) de chaînes polymères interconnectées par une réticulation chimique ou physique. Cette réticulation est essentielle pour :

- Empêcher la dissolution du matériau en solution aqueuse,
- Assurer ses propriétés mécaniques,
- Maintenir sa stabilité structurelle.

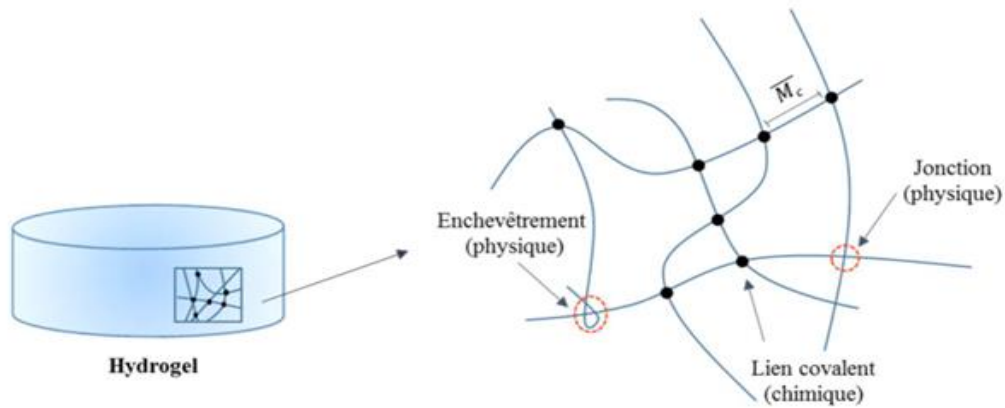


Figure II.1 : Structure de l'hydrogel [34].

II.3. Classification des hydrogels

La classification des hydrogels varie selon plusieurs critères comme a été présenté dans la figure II.2.

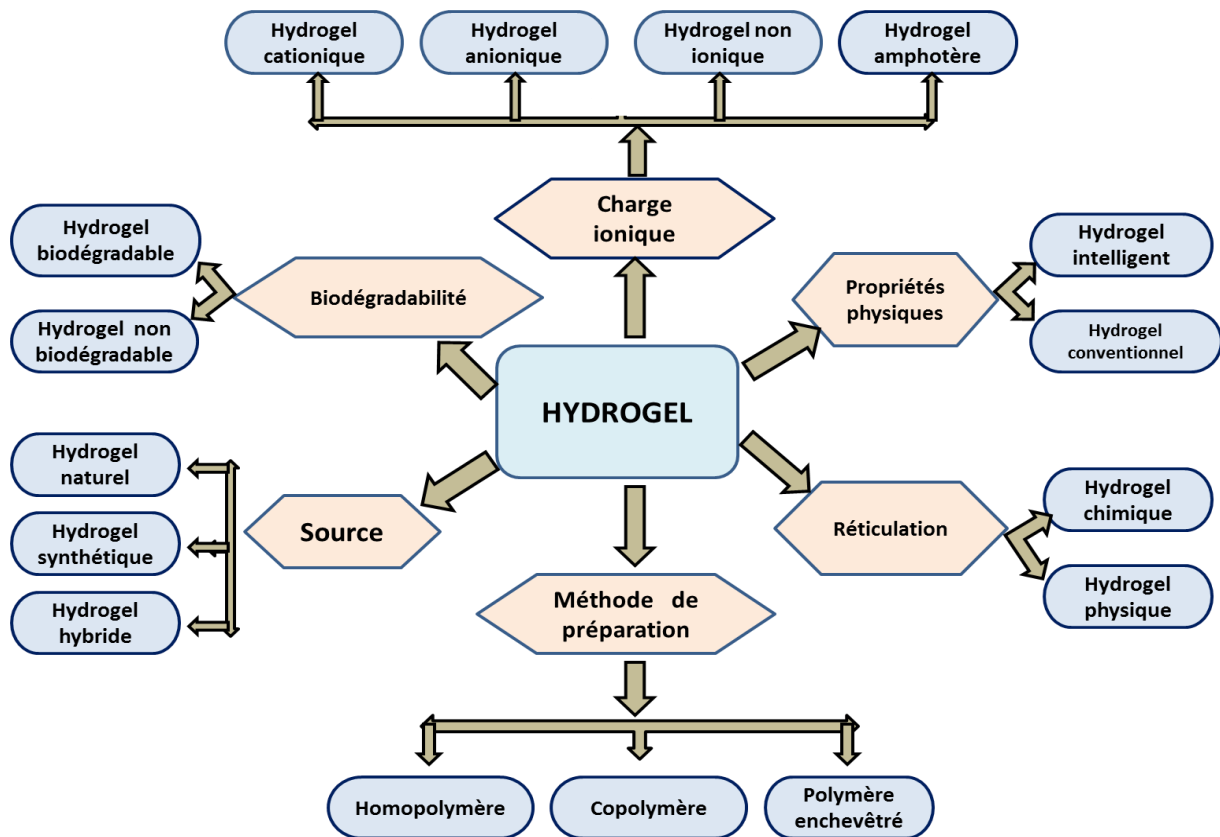


Figure II.2 : Les principales catégories d'hydrogels [35]

II.3.1. Classification selon la source

- Hydrogels naturels :

Les hydrogels naturels sont d'origine naturelle et sont préparés à partir de polymères naturels tels que les protéines et les polysaccharides, comme l'alginate, la chitosane et le dextrane [36].

- Hydrogels synthétiques:

Les hydrogels synthétiques sont d'origine artificielle et sont obtenus par polymérisation chimique de monomères synthétiques. Ces hydrogels peuvent être homopolymères, copolymères ou multipolymères. Un exemple d'hydrogel synthétique est celui à base de poly(éthylène glycol)-polylactide-poly(éthylène glycol) [36].

- Hydrogels hybrides:

Les hydrogels hybrides sont fabriqués en combinant des polymères naturels avec des polymères synthétiques. Par exemple, Wang et al. ont synthétisé un hydrogel hybride à base de protéine réticulée avec du 2-hydroxypropyl méthacrylamide [36].

II.3.2. Classification selon la préparation

- Hydrogels homopolymères :

Les hydrogels homopolymères sont des réseaux polymériques réticulés dérivés d'un seul type de monomère. Leur structure dépend de la nature du monomère, de la technique de polymérisation et du réticulant utilisé (figure II.3). Un exemple d'hydrogel homopolymère est celui à base de polyéthylène glycol, largement utilisé dans la libération contrôlée de médicaments, de biomolécules et de protéines, notamment dans les systèmes d'administration de médicaments [36]. Les hydrogels à base de polyéthylène glycol (PEG), sensibles aux stimuli externes, sont efficaces pour la libération contrôlée de médicaments, biomolécules, protéines et facteurs de croissance. Une nouvelle technique de formation des hydrogels de PEG, introduite par Lin et Anseth, est appelée « Click chemistry ». Cette méthode présente l'avantage d'une réaction rapide, spécifique et polyvalente en bio-conjugaison [37].

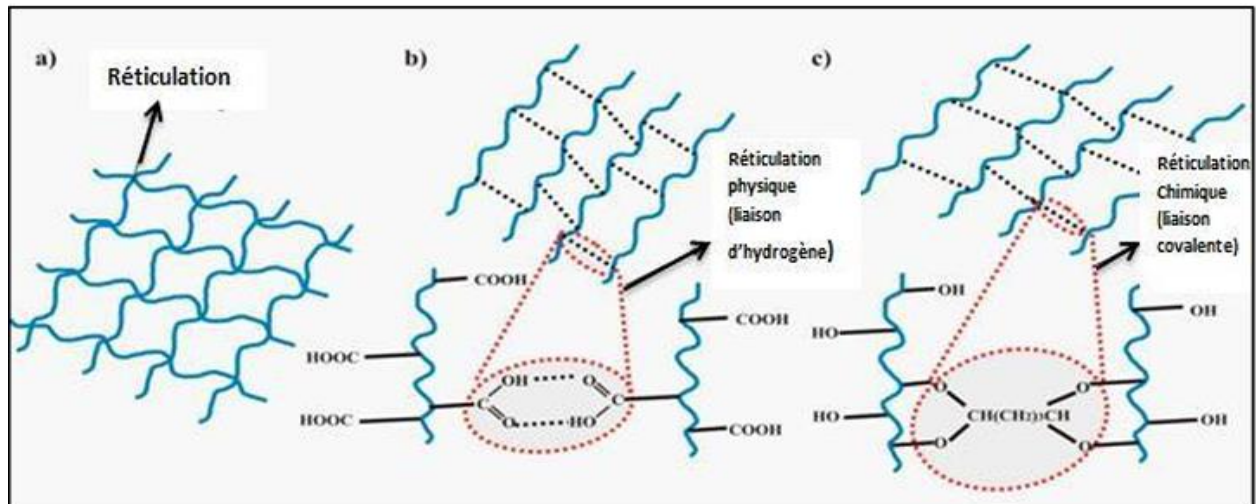


Figure II.3 : Les chaînes réticulées : d'hydrogel (a) physiquement (b) et chimiquement (c) [38].

- Hydrogels copolymères:

Les hydrogels copolymères sont fabriqués à partir de deux types de monomères, dont l'un est hydrophile et confère à l'hydrogel sa capacité de gonflement. Ces monomères peuvent être disposés selon différentes configurations : greffées, aléatoires, en blocs ou alternées. Ces hydrogels sont synthétisés chimiquement par polymérisation ou réticulation des deux monomères à l'aide d'un initiateur et d'un agent réticulant. Ils peuvent également être réticulés physiquement par différentes forces telles que l'agrégation des chaînes, les liaisons hydrogène, les interactions ioniques et les complexations ion-polymère. Un exemple d'hydrogel copolymère est celui à base de carboxyméthylcellulose et de carboxyméthylchitosane, utilisé pour l'adsorption des ions métalliques [39].

II.3.3. Classification selon la charge ionique

Les hydrogels sont classés en trois groupes en fonction de la nature de la charge électrique sur leurs chaînes réticulées :

- Hydrogels non ioniques :

Les hydrogels neutres ne portent aucune charge sur leur squelette ou leurs groupes latéraux [36].

- Hydrogels cationiques:

Les hydrogels cationiques contiennent des groupes chargés positivement (par exemple, amines et acide sulfonique) et présentent une augmentation de leur gonflement à pH bas [36].

- Hydrogels anioniques :

Les hydrogels anioniques contiennent des groupes chargés négativement (acide carboxylique, acide sulfonique) et montrent une augmentation du gonflement à pH élevé [36].

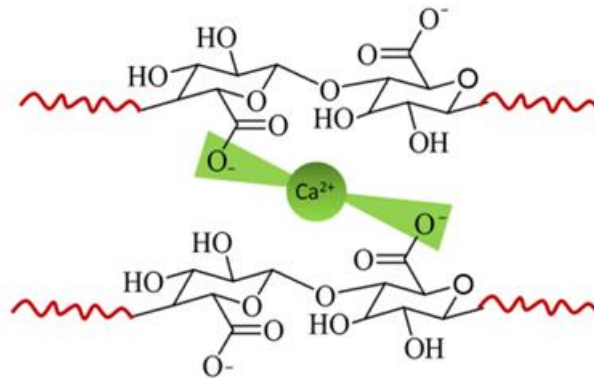


Figure II.4 : Réticulation ionique entre les chaînes de l'alginate [40]

II.3.4. Classification selon le type de réticulation

En fonction de la nature de la réticulation, les hydrogels se divisent en deux catégories :

- Hydrogels réticulés chimiquement:

Dans ces hydrogels, des liaisons covalentes existent entre différentes chaînes polymériques, ce qui les rend stables et insolubles dans la plupart des solvants, sauf si les points de réticulation covalente sont rompus. Contrairement aux hydrogels physiquement réticulés, dont la conception est limitée par des paramètres difficiles à dissocier (temps de gélification, taille des pores, fonctionnalisation chimique et temps de dégradation), les hydrogels chimiquement réticulés offrent une résistance mécanique élevée et peuvent présenter des temps de dégradation prolongés en fonction des liaisons chimiques présentes (figure II.5) [39].

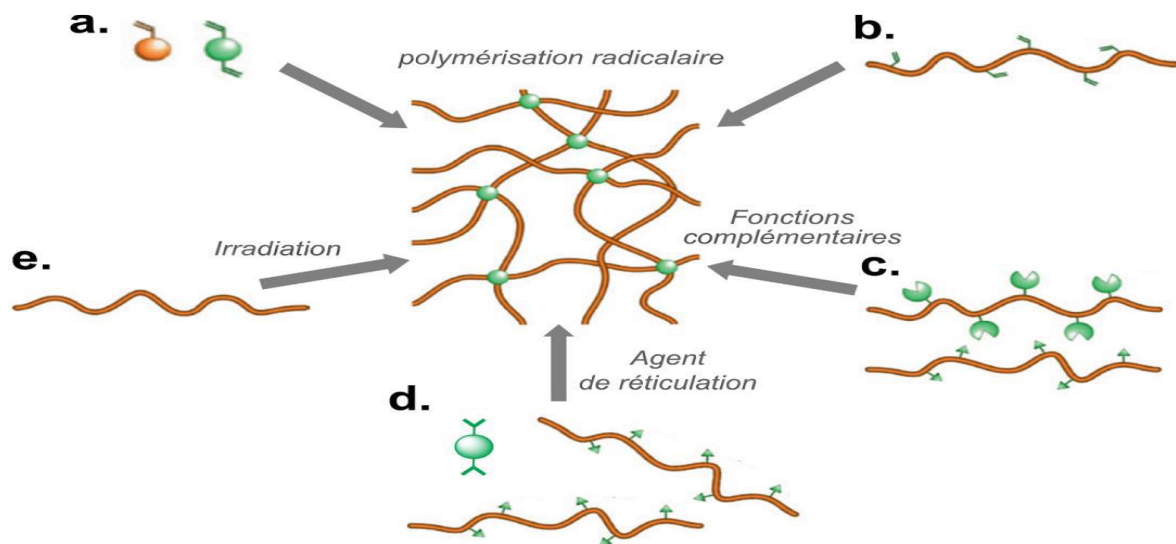


Figure II.5 : Représentation des principales méthodes de synthèse des hydrogels chimiques :

(a) polymérisation radicalaire de monomères (ici monomères vinyliques),
 (b) polymérisation radicalaire de polymères fonctionnalisés, (c) réactions chimiques entre fonctions complémentaires, (d) ajout d'un agent de réticulation (en vert) et (e) irradiation .[41].

- Hydrogels réticulés physiquement:

Également appelés gels réversibles, ces hydrogels sont appréciés pour leur facilité de fabrication et l'absence d'agents de réticulation dans leur processus de synthèse. Leur dissolution est empêchée par des interactions physiques entre les chaînes polymériques (figure II.6). Le choix du type d'hydrocolloïde, sa concentration et le pH influencent la formation de textures de gels variées. Ces hydrogels sont particulièrement étudiés dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et biomédical, où l'évitement des agents de réticulation est un atout [39].

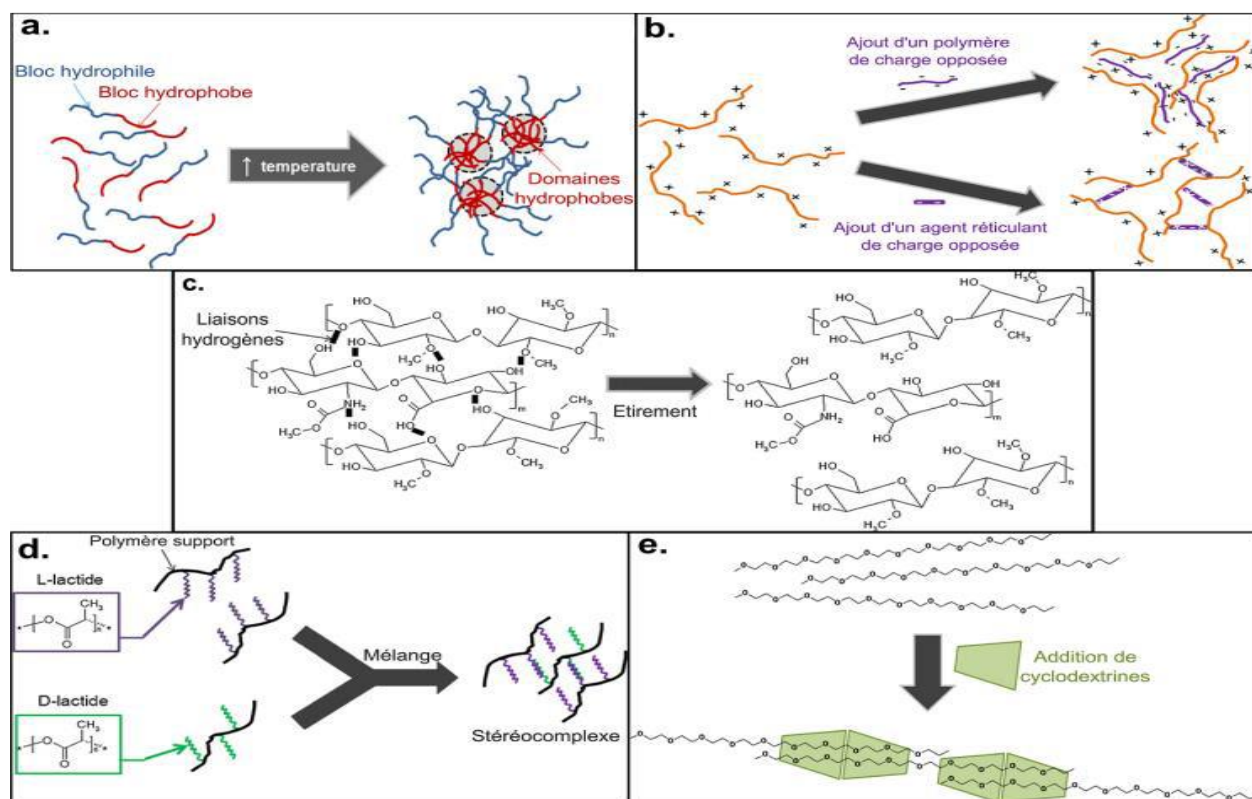


Figure II.6 : Mécanismes de gélification physique in situ par (a.) interactions hydrophobes, (b.) interactions de charges, (c.) liaisons hydrogène, (d.) stéréocomplexation et (e.) assemblage supramoléculaire [42]

II.3.5. Classification selon les propriétés physiques

- Hydrogels intelligents:

Ces hydrogels possèdent des groupes chimiques et structuraux réactifs, leur permettant de répondre à divers stimuli externes tels que la température, le pH, la concentration ionique, la lumière, les champs magnétiques et électriques, ainsi que certains produits chimiques. Des polymères combinant plusieurs mécanismes de réponse ont également été développés. Les hydrogels intelligents modifient leur structure et leur volume en réponse à ces stimuli, ouvrant de nombreuses perspectives en recherche scientifique et en applications technologiques avancées [43].

- Hydrogels conventionnels :

Contrairement aux hydrogels intelligents, les hydrogels conventionnels montrent peu de variation de gonflement face aux changements environnementaux. À l'inverse, les hydrogels stimuli-réactifs

peuvent gonfler ou se contracter brusquement sous l'effet de faibles variations de température ou de pH [44].

II.3.6. Classification selon la biodégradabilité

- Hydrogels biodégradables:

Ces hydrogels se décomposent sous des conditions aérobies ou anaérobies grâce à l'action des micro-organismes ou des enzymes. Ils sont souvent fabriqués à partir de matériaux tels que l'amidon, la cellulose et les polyesters. Les polyesters aliphatiques sont les polymères biodégradables les plus couramment utilisés [45].

- Hydrogels non biodégradables:

Ces hydrogels sont composés de longues chaînes de carbone et d'hydrogène. Ces molécules forment des liaisons interatomiques solides, résistantes à la dégradation microbienne, nécessitant ainsi une longue période pour leur décomposition [45].

II.3.7. Classification selon la sensibilité aux stimuli [46]

- Hydrogels chimiquement réactifs :

- Sensibles au pH
- Sensibles au glucose
- Sensibles aux oxydants

- Hydrogels biochimiquement réactifs :

- Sensibles aux antigènes
- Sensibles aux enzymes
- Sensibles aux ligands

- Hydrogels physiquement réactifs :

- Sensibles à la température
- Sensibles à la pression
- Sensibles à la lumière
- Sensibles au champ électrique
- Sensibles au champ magnétique

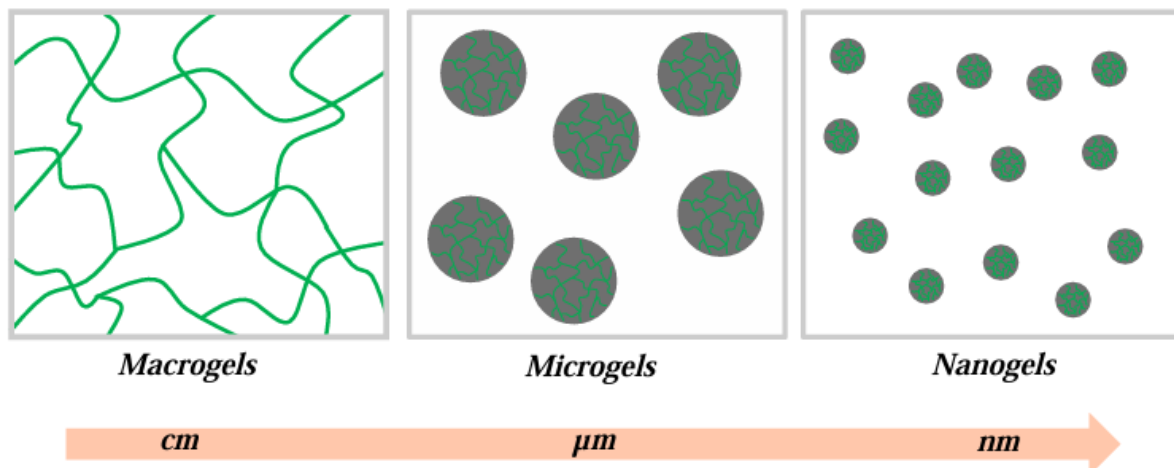


Figure II.7: Familles d'hydrogels selon leurs dimensions. Figure adaptée d'Yallapu et al. (2011). Copyright (2011) Elsevier.[47]

II.4. Méthodes de préparation des hydrogels

Les hydrogels sont constitués d'un réseau polymérique réticulé interagissant avec l'eau, ce qui leur confère une structure élastique. Pour produire un hydrogel, diverses techniques permettant de former un polymère réticulé sont utilisées [48]. La méthode standard pour la réticulation est la polymérisation radicalaire libre. D'autres techniques incluent :

- La liaison des chaînes polymériques par réaction chimique
- L'utilisation de radiations ionisantes pour générer des radicaux libres dans la chaîne principale, qui peuvent se recombinaison en points de réticulation
- Des interactions physiques, comme les forces électrostatiques [49]

II.5. Caractéristiques requises d'un biomatériau hydrogel

Un hydrogel idéal doit répondre à plusieurs exigences fonctionnelles en fonction de son application [50]. Les principales caractéristiques attendues sont les suivantes :

- ✓ Capacité d'absorption et de rétention de liquide adaptée aux besoins spécifiques de l'application.
- ✓ Excellente absorption sous charg dans des solutions salines.
- ✓ Faible teneur en monomère résiduel, garantissant une meilleure biocompatibilité.

- ✓ Haute durabilité et stabilité dans l'environnement de gonflement et pendant le stockage.
- ✓ Biodégradabilité optimale, sans libération de substances toxiques lors de la dégradation.
- ✓ Coût réduit, favorisant une production économiquement viable.
- ✓ Neutralisation du pH après gonflement dans l'eau, évitant toute acidification ou alcalinisation.
- ✓ Matériau inodore et non toxique, compatible avec les applications médicales et environnementales.
- ✓ Bonne capacité de remouillage (si nécessaire), permettant soit de restituer la solution absorbée, soit de la retenir, en fonction des exigences de l'application (ex. agriculture, produits hygiéniques).

Cependant, il est impossible pour un hydrogel unique de remplir simultanément toutes ces exigences. Le choix du matériau dépend donc du contexte d'utilisation et des propriétés prioritaires recherchées.

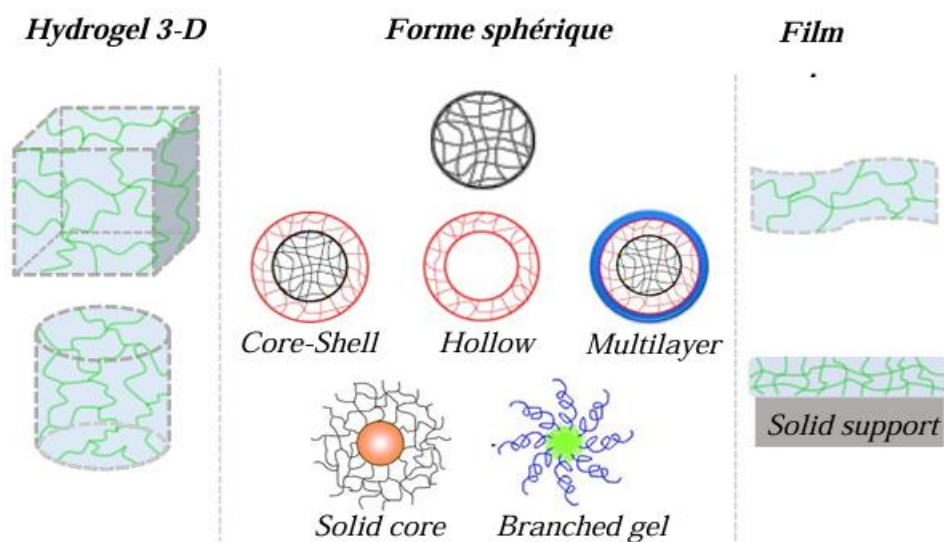


Figure II.8 : Classification des hydrogels selon leur morphologie. Copyright (2012), (2007), (2007) Elsevier. [51]

II.6. Utilisation des hydrogels

Depuis la création des premiers hydrogels synthétiques par Wichterle et Lim en 1954 [52], ces matériaux ont trouvé un large éventail d'applications dans divers domaines. Ils sont notamment utilisés dans les produits d'hygiène [53], l'agriculture [54], les systèmes de libération contrôlée de médicaments [53], [55], l'étanchéité [53], la déshydratation du charbon [56], la neige artificielle [53], les additifs alimentaires [57], les produits pharmaceutiques [58], ainsi que dans de

nombreuses applications biomédicales telles que l'ingénierie tissulaire, la médecine régénérative [59], [60], les diagnostics [61], les pansements [62], la séparation de biomolécules ou de cellules [61], les matériaux barrières pour contrôler les adhérences biologiques [64], et les biocapteurs. Les hydrogels utilisés dans les produits d'hygiène sont principalement élaborés à partir d'acide acrylique et de ses sels, tandis que l'acrylamide constitue un composant central dans les hydrogels destinés à un usage agricole .

De nombreuses études ont examiné en détail les différentes méthodes de synthèse et les applications des hydrogels. Un aperçu complet de la chimie des hydrogels et des techniques de synthèse correspondantes est proposé dans une compilation dirigée par Peppas [65]. Des recherches plus récentes, telles que celles de Khoylou [66], ont mis en avant la production d'hydrogels par radio polymérisation et greffage. Par ailleurs, Mi-Ran Park s'est intéressée à la préparation et aux propriétés chimiques des hydrogels en contexte agricole, tandis que Vijayalakshmi et Kenichi ont exploré leur potentiel dans les capteurs. Dimitrios et al. [67], de leur côté, ont mis en lumière la personnalisation des hydrogels pour des applications médicales spécifiques.

II.7. Propriétés des hydrogels à base de biopolymères

II.7.1. Propriétés physico-chimiques

Les hydrogels sont des réseaux polymériques capables de fixer l'eau grâce à la formation de liaisons hydrogène. Ils sont constitués de molécules contenant des groupes hydrophiles, dont les chaînes polymères sont en état colloïdal dans le milieu de dispersion.

Ces matériaux présentent des propriétés modulables en fonction de divers paramètres, notamment

- La forme,
- Les propriétés mécaniques,
- La flexibilité.

Les hydrogels peuvent être obtenus à partir de matériaux naturels et/ou de polymères synthétiques, qui se transforment en gel sous l'effet de facteurs externes tels que :

- La température,
- La force ionique,

- Le pH,
- L'irradiation UV.

La grande hydrophilie des polymères permet la formation d'une structure tridimensionnelle unique [64].

➤ **Taux de gonflement**

Le taux de gonflement est l'une des propriétés physico-chimiques les plus importantes pour caractériser un hydrogel. Il détermine sa capacité d'absorption d'eau et influence directement ses propriétés mécaniques.

Les propriétés de gonflement sont influencées par :

- Le type de polymère,
- La concentration du polymère,
- La densité de réticulation,
- Les facteurs environnementaux :
 - Température,
 - pH,
 - Force ionique.

➤ **Interaction polymère-eau et gonflement**

Les chaînes polymériques des hydrogels interagissent avec les molécules d'eau, ce qui les pousse à se dilater. Cependant, le réseau polymérique réticulé (physiquement ou chimiquement) exerce des forces attractives, qui retiennent les chaînes et limitent leur expansion [64].

➤ **Porosité et perméabilité**

La porosité est un paramètre essentiel, car elle influence :

- La migration, l'attachement et la prolifération des cellules,
- Le transport des nutriments,
- L'incorporation de médicaments dans les hydrogels [64].

II.7.2. Propriétés mécaniques :

Les hydrogels doivent être suffisamment résistants pour supporter les contraintes corporelles, sans pour autant devenir cassants ou fragiles.

La rigidité des hydrogels est généralement évaluée par :

- Leur module élastique (module de Young),
- Des tests en cisaillement et en compression,
- Plus rarement, des tests en tension.

Facteurs influençant la rigidité des hydrogels

- Concentration en polymère,
- Méthode de préparation,
- Taux de gonflement,
- Mode et degré de réticulation .

II.7.3. Propriétés biologiques :

Les hydrogels sont largement utilisés dans le domaine biologique, principalement en raison de leur grande capacité de rétention d'eau, qui leur permet de :

- Protéger les protéines et les cellules sans altérer leurs caractéristiques,
- Favoriser leur maintien et leur fonctionnalité [57].

Actuellement, la recherche biomédicale s'intéresse particulièrement aux hydrogels dotés de propriétés biologiques [57]. De nombreux hydrogels avancés, à base de polymères naturels, ont été développés, chacun présentant :

- Une structure unique,
- Une capacité de gonflement élevée dans l'eau,
- Une forte teneur en oxygène,
- Une bonne perméabilité,
- Une biocompatibilité améliorée,
- Une diversité structurelle,
- Une facilité de chargement et de libération de principes actifs [57].

II.8. Intérêt des biopolymères pour les hydrogels

Grâce à leur structure chimique, les biopolymères possèdent des propriétés uniques et intéressantes pour des applications spécifiques dans l'industrie plastique. Parmi ces propriétés, on peut citer :

2.4.1. Biodégradabilité

La biodégradabilité est l'une des propriétés essentielles pour évaluer l'impact environnemental d'un produit organique. Il s'agit d'un processus naturel de décomposition de la matière organique, facilité par la présence de liaisons facilement clivables, telles que les liaisons esters ou amides, qui conduisent à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille [64].

Quatre éléments principaux influencent ce processus :

- Les micro-organismes, indispensables à toute biodégradation,
- L'humidité,
- L'oxygène,
- La température.

La durée nécessaire à la biodégradation complète d'un matériau est un facteur clé, notamment pour son assimilation biologique. En fonction de l'application du matériau, une dégradation trop rapide ou trop lente peut être inadaptée [68]. La biodégradabilité peut être particulièrement utile dans certaines applications agricoles, comme le paillage, même en l'absence de compostage.

2.4.3. Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui peut remplir une fonction spécifique sans provoquer d'effets indésirables dans l'environnement biologique où il est utilisé [69]. Dans le domaine médical, on recherche également des matériaux biorésorbables, capables de se décomposer naturellement dans l'organisme humain et d'être remplacés par un tissu vivant après leur résorption. Les biopolymères se dégradent naturellement dans l'organisme par hydrolyse enzymatique, libérant ainsi des molécules assimilables et non toxiques.

2.4.4. Propriétés chimiques

La présence de groupes fonctionnels chimiques sur les molécules confère aux biopolymères des propriétés spécifiques et une réactivité accrue avec d'autres molécules. Leur réactivité est principalement due à la présence de groupements fonctionnels tels que : Alcool (-OH), acide (-COOH), amine (-NH₂), aldéhyde (-CHO). Ces groupements contiennent des sites nucléophiles et électrophiles, facilitant leurs interactions et réactions chimiques [70]. Par ailleurs, la présence d'insaturations et de groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation, menant ainsi à la synthèse de polymères tels que : (Polyuréthanes, polyamides, polyesters). Cette fonctionnalisation permet de modifier les propriétés physiques et mécaniques des polymères, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles applications industrielles.

II.9. Hydrogels –supports macromoléculaires pour l'obtention des systèmes à libération contrôlée/ soutenus des médicaments

Les hydrogels sont des matériaux constitués d'une structure tridimensionnelle formée de polymères hydrophiles, capables d'absorber et de retenir de grandes quantités d'eau ou de solutions aqueuses [45]. La littérature scientifique rapporte également des études démontrant que des matrices polymères hydrophobes peuvent permettre la libération progressive de protéines thérapeutiques sous leur forme active [46]. L'intérêt croissant que suscitent les hydrogels auprès de la communauté scientifique s'explique par leur capacité à incorporer des principes actifs dans leur réseau polymérique et à les libérer progressivement dans un environnement biologique similaire à celui du corps humain. Une fois gonflés dans un milieu aqueux, ces matériaux restent stables grâce à la possibilité d'être modifiés, tant sur le plan physique que chimique, en réponse à des stimuli externes. Par ailleurs, les hydrogels présentent des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et des solides, et peuvent absorber jusqu'à mille fois leur masse initiale en eau [48].

II.9.1. Libération contrôlée de substances bioactives ou de médicaments

Les hydrogels jouent un rôle essentiel en pharmacie, notamment dans la libération contrôlée des molécules bioactives. Un système de libération efficace doit permettre un relargage maîtrisé du soluté au fil du temps. Parmi les biomatériaux disponibles, les hydrogels se distinguent par leurs propriétés uniques, qui les rendent particulièrement adaptés à cette application, en offrant un contrôle précis sur la diffusion des substances actives. Les systèmes de distribution contrôlée de médicaments à base d'hydrogels peuvent être administrés par différentes voies : orale, oculaire, sous-cutanée ou épidermique.

II.9.2. Encapsulation et libération de principes actifs

La structure poreuse des hydrogels constitue une matrice idéale pour le piégeage et la protection des principes actifs contre des environnements défavorables. La taille et la quantité des pores peuvent être ajustées en modulant la densité de réticulation ainsi que les conditions de ce processus. Le taux de libération des principes actifs un paramètre clé dans ce type d'application dépend principalement du coefficient de diffusion du composé à travers le réseau polymérique. Dans certains systèmes intelligents, cette libération peut également être régulée par des stimuli externes tels que la température ou le pH. Par ailleurs, la vectorisation ciblée peut être assurée grâce à l'intégration de molécules spécifiques, permettant une meilleure efficacité thérapeutique. L'utilisation de polymères naturels, notamment les polysaccharides, permet de garantir la biodégradabilité des matrices. L'ensemble de ces caractéristiques confère aux hydrogels un fort potentiel dans le domaine de l'encapsulation et de la libération contrôlée de principes actifs [71].

II.10. L'avenir des hydrogels dans les applications biomédicales

Les hydrogels sont parmi les biomatériaux les plus prometteurs dans le domaine biomédical. Cependant, des recherches approfondies restent nécessaires, notamment dans les domaines de l'ingénierie tissulaire et de l'administration des médicaments. Récemment, des chercheurs ont développé un dispositif hydrogel ingérable inspiré du poisson-globe. Cet hydrogel à expansion rapide est composé d'acide polyacrylique encapsulé dans une membrane hydrogel en alcool polyvinylique. Il peut être utilisé pour surveiller la température gastrique et permettre une libération prolongée des médicaments. En outre, cet hydrogel peut servir à mesurer les signaux biologiques, à visualiser le tractus gastro-intestinal à l'aide d'une micro-caméra intégrée et à suivre les schémas de prise de médicaments [71].

II.11. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté des généralités sur les biomatériaux (les hydrogels) à base de polysaccharides et leurs principales propriétés, leurs utilisations et quelques exemples d'applications dans les domaines du biomédical ainsi que des diverses propriétés et activités biologiques du principe actif. En résumé, on peut dire que les hydrogels à base de polysaccharides offrent un moyen prometteur et polyvalent de libérer des principes actifs de manière contrôlée. Leur combinaison de propriétés chimiques, physiques et biologiques en fait des candidats attrayants pour diverses applications pharmaceutiques, médicales et biotechnologiques.

Partie

expérimentale

Chapitre III

III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser à la conception et le développement des séries de film hydrogels biocompatibles et biodégradables en utilisant un complexe polyélectrolyte entre le chitosane (CSN) et carboxyméthylcellulose (CMC) avec l'addition de l'acide citrique (AC) en différents rapports volumiques par une réticulation ionique. Toutes les membranes hydrogels obtenues seront testées afin de sélectionner celles qui présentent les meilleures performances.

L'objectif principal de ce travail expérimental était d'optimiser les conditions de réaction pour obtenir des biomatériaux (films hydrogels) à base de biopolymères CMC/CSN et CMC/AC/CSN avec les meilleures caractéristiques physico-chimiques et de les utiliser comme systèmes de délivrance pour une libération contrôlée et prolongée de médicament.

III.2. Matériaux et produits utilisés

❖ Moyens et matériels nécessaires

L'appareillage utilisé pour notre expérimentation est comme suit :

- Balance analytique (OHAUS)
- Agitateur magnétique chauffant
- Agitateur Vortex (NEUATION ISTIR MS10A)
- Plaque chauffante agitatrice (IKA LOBORTE CHNIK)
- Microscope optique (OPTIKA) *10
- Spectrophotomètre UV visible (Lecteur de microplaques VEG 500)
- Spectrophotomètre infra-rouge
- pH-mètre (ADWA)
- Soxhlet (WISD, HEATING MANTLE)
- Rota vapeur (Lbx instruments)
- Étuve (Memmert)
- Centrifugeuse (EBA iii ttetticH)
- Ultrason (J.P.SELCTA,s,a,u)
- Pied à coulisse digital
- Vortex

❖ Verrerie et petit matériel de laboratoire


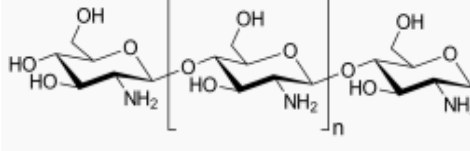

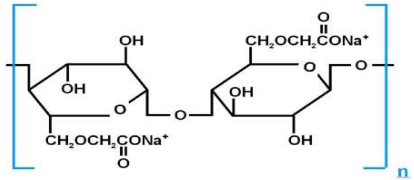
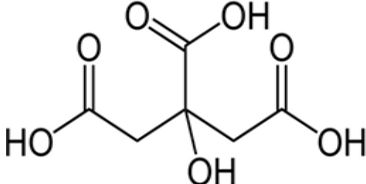
La verrerie et les accessoires utilisés pour notre expérimentation sont comme suit :

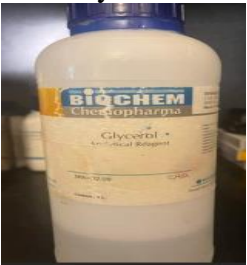
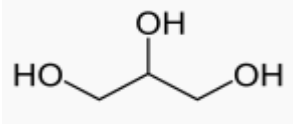
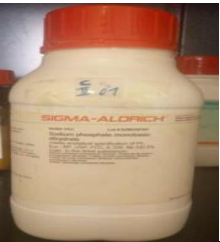
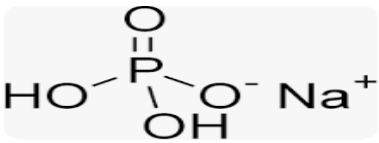

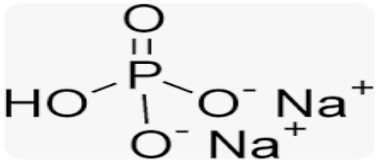

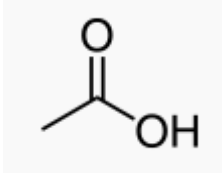
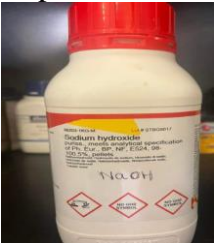
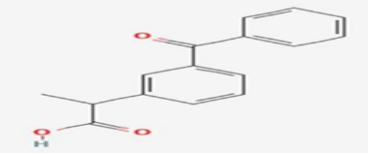
- Pipettes graduées de 2ml, 5ml et 10ml.
- Fioles jaugées de 10ml, 25ml, 100ml, 250ml.
- Bêchers de 250ml

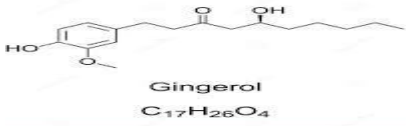
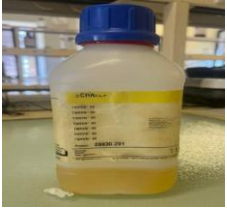
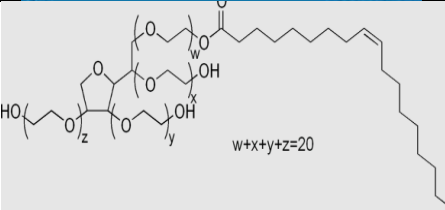

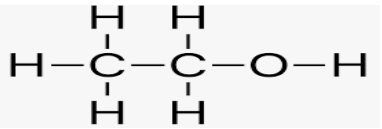

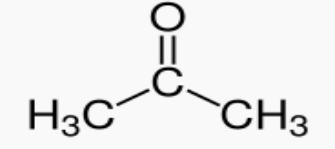


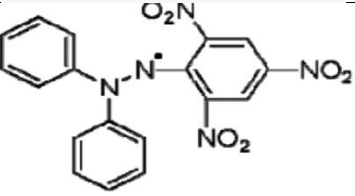
- Erlenmeyer de 250ml
- Thermomètre
- Compte-gouttes
- Entonnoir
- Spatules
- barreaux magnétiques
- Verre de montre
- Pissette
- papier filtre
- Baguette de verre
- Boite à pétri
- Micropipette
- Microplaquette
- Seringue de 5ml, papier filtre, papier absorbant, para film.

❖ Produits et réactifs utilisés

Tableau III.1 : Liste des produits et des réactifs utilisés

Produit	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
<p>Chitosane (CSN)</p> 	$C_{56}H_{103}N_9O_{39}$	2000	 <p>degré de N-désacétylation de 75% viscosité moyenne est de 200 cps , pKa = 6,2</p>
<p>Carboxyméthylecellulose (CMC)</p> 	$[C_6H_8O_4(OH)_3CH_2COONa]$	265	
<p>Acide citrique (AC)</p>	$C_6H_8O_7$	192,124	

<p>Glycérol</p> 	$C_3H_8O_3$	<p>92,09382</p>	
<p>Di-hydrogénophosphate de sodium</p> 	NaH_2PO_4	<p>119,98</p>	
<p>Di-sodium Hydrogénophosphate</p> 	Na_2HPO_4	<p>141,96</p>	
<p>Acide acétique</p> 	CH_3COOH	<p>60,052</p>	
<p>Hydroxyde de sodium de pureté 100 %</p> 	$NaOH$	<p>39,997</p>	<p>Na-O-H</p>
<p>Kétoprofène (KTP)</p>	$C_{16}H_{14}O_3$	<p>254,28</p>	

Gingembre	$C_{17}H_{26}O_4$	294,4	 Gingerol $C_{17}H_{26}O_4$
Surfactant (Tween 80) 	$C_{64}H_{124}O_{26}$	1227,54	 $w+x+y+z=20$
Ethanol de pureté 96% 	C_2H_6O	46,068	
Acétone 	C_3H_6O	58,08	
Eau distillée	H_2O	18	
Dpph 	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	394,32	

III.3. Méthodes d'obtention des hydrogels biocomposites

III.3.1. Elaboration des films hydrogels à base de carboxyméthylcellulose (CMC) et de chitosane (CSN) réticulés avec l'acide citrique (AC)

❖ Préparation de la solution du carboxyméthylcellulose (CMC), chitosane (CSN) et de l'acide citrique (AC)

Tous les hydrogels sont préparés en solubilisant le chitosane (CSN) à une température ambiante dans une solution acide pH= 2.5. Au départ, 1 g de chitosane a été pesé puis versé dans un bécher. La solubilisation se fait en ajoutant d'une solution d'acide acétique à pH = 2.5 sous une très faible agitation afin d'éviter la formation de bulles d'air pendant 24 heures pour assurer une homogénéisation du mélange. La solution de pH = 2.5 a été préparée en utilisant l'acide acétique glacial pour ajuster le pH. Puis, on a centrifugé la solution du

chitosane pour obtenir une solution homogène et limpide (figure III.1). La quantité de CS non dissoute résultante par la centrifugation, puis nous l'avons pesé et la concentration de la solution a été ajustée à 1%. Après on ajuste la solution obtenue à un pH=4.5 par l'addition de la solution de NaOH.

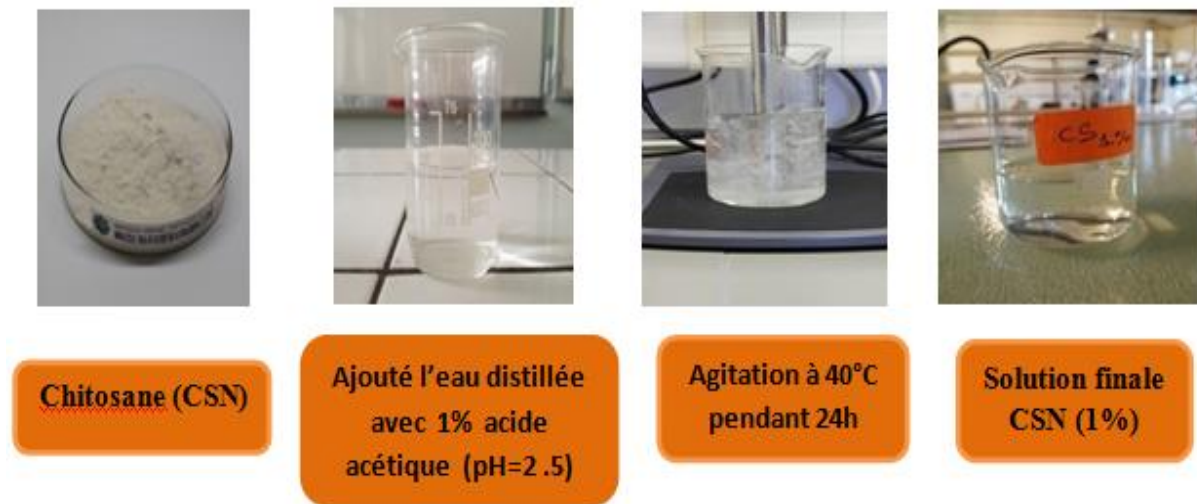


Figure III.1: Préparation de la solution de chitosane (CSN)

Une masse de 0.5 g de Carboxyméthylcellulose (CMC) a été dissoute dans l'eau distillée par agitation magnétique pendant 2H jusqu'à la solubilisation totale (figure III.2).

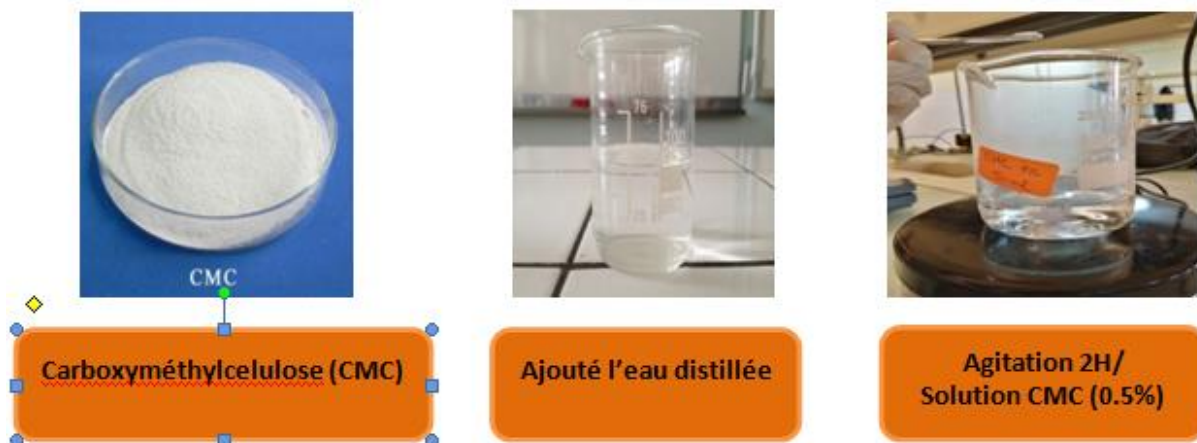


Figure III.2: Préparation de la solution de carboxyméthylcellulose (CMC)

D'un autre côté, la solution de réticulant ionique l'acide citrique (AC) a été préparée par dissolution d'une quantité précise (0.5g) de AC dans un volume d'eau distillée (100ml) pendant 15 min pour obtenir une solution homogène et transparente d'une concentration fixé.

❖ Préparation de la solution du Carboxyméthylcellulose / chitosane

Nous avons choisi de préparer les biomatériaux d'hydrogels à base de chitosane et carboxyméthylcellulose par la méthode de gélification chimique [72], une technique très simple, légère et utilisée couramment pour la préparation des films de chitosane réticulés. Le phénomène de gélification est la conséquence de l'association intermoléculaire de polymères.

Dans un bécher de 30 ml, un volume de 5 ml de la solution de chitosane (1%) a été introduit, après à l'aide d'une seringue 8 ml de carboxyméthylcellulose a été additionné doucement pour éviter la précipitation du polymère, puis 1.5% (m/m) de glycérol a été ajouté pour obtenir des films non cassables. La solution a été mélangée par une agitation magnétique pendant 2.5 heure ce qui conduit à la gélification du mélange, et met dans l'ultrason 10 min avec température de 20 C°. La solution filmogène obtenue a été coulée dans des boîtes pétries en silicone et après a été laissée à l'air libre et dans l'étuve jusqu'à évaporation totale du solvant. A la fin, Le film sec à base de CMC/CSN a été démoulé et conservé.

❖ Préparation de la solution finale du complexe Carboxyméthylcellulose / acide citrique/chitosane

Dans un bécher de 50 mL, on introduit un volume de 5mL de carboxyméthylcellulose (CMC), puis on place le bécher sur un agitateur magnétique réglé à faible vitesse afin d'assurer une agitation douce. Simultanément, 3mL de la solution de l'agent réticulant d'acide citrique (AC) (0.5%) a été versée goutte à goutte lentement à l'aide d'une seringue, tout en maintenant l'agitation continue. Le mélange obtenu (CMC/AC) est ensuite agité magnétiquement pendant 30 minutes afin de garantir une homogénéisation complète de la solution.

La solution précédente (CMC/AC) à été versée goutte à goutte dans un volume de 5ml de chitosane avec une moyenne agitation pendant 2.5 h , puis 2% (m/m) de glycérol a été ajouté pour obtenir des films non cassables. La solution finale a été passée dans l'ultrason pendant 10 min avec température de 20 C° sous légère agitation magnétique. Enfin la solution obtenue du complexe CMC/AC/CSN a été coulée dans des boîtes pétries en silicone et après a été laissée à l'air libre et dans l'étuve jusqu'à évaporation totale du solvant. A la fin, Le film sec à base de CMC/AC/CSN a été démoulé et conservé.

❖ Dépôt du film hydrogel à base du complexe polyélectrolyte (CMC/AC/CSN)

La solution obtenue du complexe (CMC/AC/CSN) a été versée dans une boîte de Pétri en polystyrène ou en plastique (10 cm de diamètre) et a été laissée de sécher à l'air libre pendant 3 à 4 jours (figure III.4). L'épaisseur des films hydrogels après le séchage est environ 0,3 mm. Les films ainsi obtenus sont tamponnés avec du papier absorbant pour éliminer les traces d'eau, et on les détachés attentivement pour éviter toute déformation du film. Après avoir expérimentalement maîtrisé la technique d'élaboration des films hydrogels à base de (CSN), (CMC) et de (AC), nous nous sommes intéressés dans un second temps à l'encapsulation du principe actif dans les films préparés à base de CMC/AC/CSN. L'extrait de gingembre (EG) et le kétoprofène (KTP) ont été directement inclus dans le film pendant son obtention. Le programme expérimental d'obtention de films d'hydrogel a été présenté dans le tableau III.2.

Tableau III.2: Plan expérimental utilisé pour l'obtention des films à base de deux biopolymères CSN, CMC réticulés avec AC, sans et avec le principe actif encapsulé.

Code des échantillons (Films hydrogels)	Rapport Volumique (CMC/AC/CSN)	Volume du CS1% (ml)	Volume AC 0.5 % (ml)	Volume du CMC 0.5 % (ml)	Principe actif 1 (EG) (mg)	Principe actif 2 (KTP) (mg)
F1 (CMC/AC/CSN)	R(1/0.5)	3	3ml	6	/	/
F2 (CMC/AC/CSN)	R(1/1)	5		5		
F3 (CMC/AC/CSN)	R(1/1.5)	6		4		
F4 (CMC/AC/CSN)	R(1/2)	8		4		
F5 (CMC/AC/CSN/EG)	R(1/0.5)	3	3ml	6	0.3	/
F6 (CMC/AC/CSN/EG)	R(1/1)	5		5		
F7 (CMC/AC/CSN/EG)	R(1/1.5)	6		4		
F8 (CMC/AC/CSN/EG)	R(1/2)	8		4		
F9 (CMC/AC/CSN/KTP)	R(1/0.5)	3	3ml	6	/	0.5
F10 (CMC/AC/CSN/KTP)	R(1/1)	5		5		
F11 (CMC/AC/CSN/KTP)	R(1/1.5)	6		4		
F12 (CMC/AC/CSN/KTP)	R(1/2)	8		4		

III.3.2. Procédé d'extraction du principe actif (gingembre)

La préparation des extraits organiques a été effectuée par macération dont la procédure consistait à mélanger 10 g de la poudre avec 100 ml de solvant organique (éthanol) avec agitation pendant 1h à température ambiante (figure III.3). Le mélange obtenu est ensuite filtré à travers le papier filtre pour séparer la solution. Pour obtenir l'extrait de gingembre, nous avons opté pour le protocole décrit par Romani et al.[73] en y apportant quelques modifications.

- Peser 15g de gingembre poudre , verser le gingembre dans un grand erlenmeyer (200mL)
- Ajouter 75mL d'éthanol , et fermer le b cher ou le couvrir avec l'aluminium pour limiter l'évaporation
- Agiter le mélange à l'aide d'un agitateur magnétique
- Macération : laisser reposer le mélange à température ambiante à l'abri de la lumière 24h
- Filtrer le mélange dans un erlenmeyer à l'aide de coton (filtration macromolécules)
- Filtrer avec du papier filtre
- Placer l'extrait filtré dans un évaporateur rotatif
- Conserver l'extrait final à l'abri de la lumière et à température ambiante.

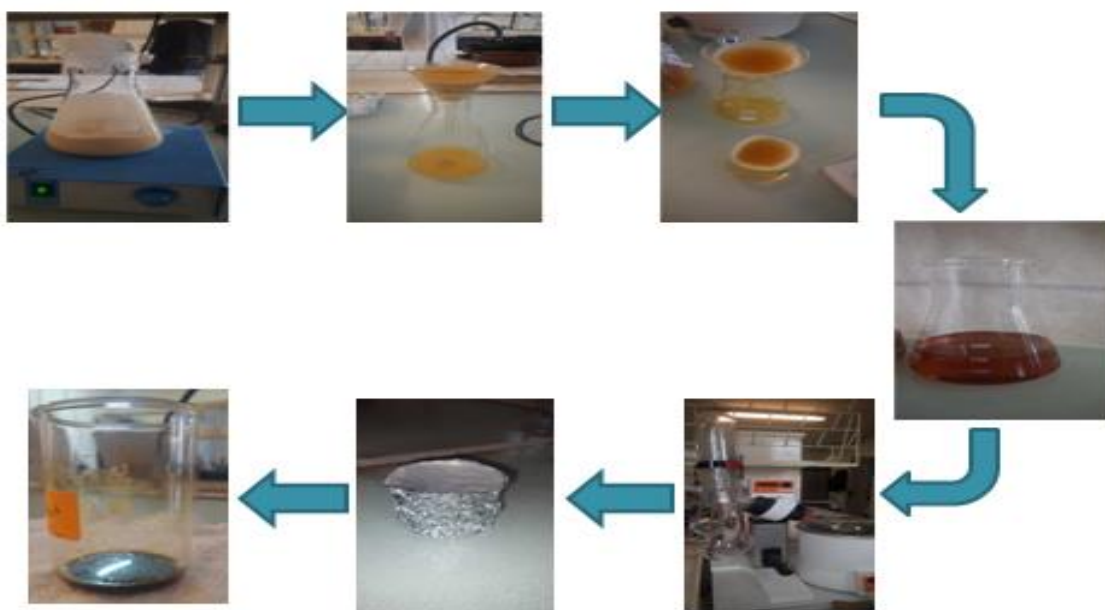


Figure III.3 : Procédé d'extraction de l'extrait de gingembre.

III.4. Formulation des films hydrogels à base du complexe (CMC/AC/CSN) chargé du principe actif

III.4.1. Hydrogels (CMC/AC/CSN) chargé de l'extrait de gingembre

Une masse de 200 mg du principe actif (extrait de gingembre) a été dispersée en 20ml de la solution d'éthanol sous une agitation magnétique pendant 30 min jusqu'à la dissolution totale. La solution de l'extrait de gingembre obtenue a été ajoutée de 3 ml goutte à goutte sur la solution précédente préparée à base de CMC/AC/CSN et que cette solution a été encapsulée totalement dans le mélange du complexe polyélectrolyte CMC/AC réticulé avec le CS. La réaction de l'immobilisation se fait sous une faible agitation magnétique à une température de 40 °C pendant 2 h pour obtenir une solution homogène, et aussi pour assurer l'inclusion du principe actif. La solution finale à base de (CMC/AC/CSN/ EG) a été coulée dans une poite pétri en silicone bien nettoyé avec acétone et laissée sécher à l'air libre pendant 3 à 4 jours et dans l'étuve jusqu'à évaporation totale du solvant. (Voir la figure III.4). La solution finale de CS/AC/CMC chargé de principe active (extrait de gingembre) a été obtenue par diffusion du principe active dans la matrice polymère. La quantité encapsulé dans les films hydrogels est dispersée dans chaque mélange polymère après on a ajouté l'agent de réticulation ionique.

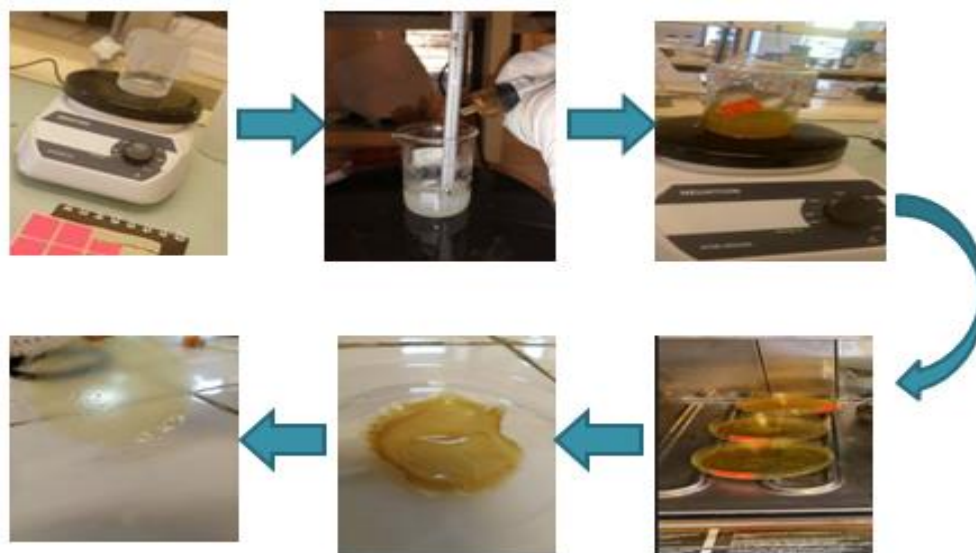


Figure III.4 : Les étapes de préparation des films à base de (CS/AC/CMC) chargé par le principe actif (extrait de gingembre).

III.4.2. Hydrogels (CMC/AC/CSN) chargé de kitoprofène

Une masse de 75 mg du principe actif (kitoprofène) a été dispersée en 15 ml de la solution d'éthanol sous une agitation magnétique pendant 20 min jusqu'à la dissolution totale du kitoprofène. La solution du kitoprofène obtenue a été ajoutée de 3 ml goutte à goutte et a été encapsulée totalement dans la matrice précédente préparée à base de (CMC/AC/CSN). (figure III.5).

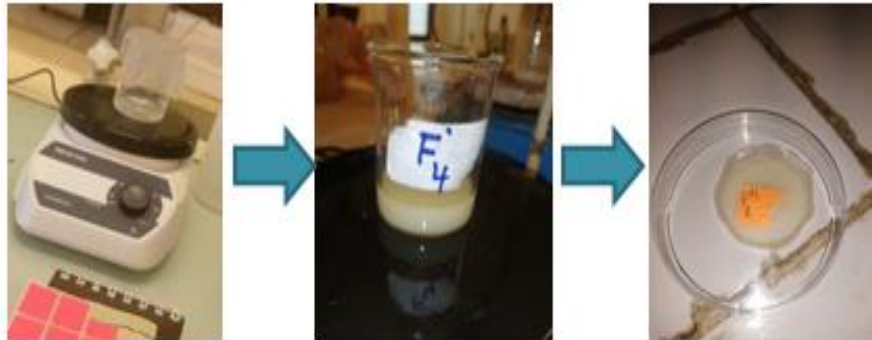


Figure III.5 : Les étapes de préparation des films à base de (CMC/AC/CSN) chargé par le principe actif (kitoprofène)

L'épaisseur des films hydrogels après le séchage est environ 0,3 mm. Les films ainsi obtenus ont été tamponnés avec du papier absorbant et on les retirés attentivement pour éviter toute déformation du film. Les épaisseurs des films ont été mesurées par pied à coulisse digital (figure III.6). Le tableau suivant résume les valeurs moyennes des épaisseurs des différents films.



Figure III.6 : Pied à coulisse digital.

Tableau III.3 : Les épaisseurs de différents films hydrogels.

Echantillon	Epaisseur (mm)
F2 (CMC/AC/CSN) , R(1/1)	0.157
F3 (CMC/AC/CSN) , R(1/1,5)	0.182
F6 (CMC/AC/CSN/EG) , R(1/1)	0.348
F7 (CMC/AC/CSN/EG) , R(1/1.5)	0.382
F10 (CMC/AC/CSN/KTP) , R(1/1)	0.266
F11 (CMC/AC/CSN/KTP) , R(1/1.5)	0.284

III.5. Méthodes de caractérisation physico-chimique des hydrogels obtenus

III.5.1. Caractérisation macroscopique et microscopique

❖ Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des films hydrogels obtenus est une observation visuelle; une caractéristique importante pour vérifier la taille, la forme, l'état de surface et la couleur des échantillons préparés (opaque ou transparent). Les échantillons préparés sont analysés à l'état humide et après séchage.

❖ Aspect microscopique

A l'aide d'un microscope optique à caméra (optika), l'étude morphologique des biomatériaux synthétisés a été examinée. Cette partie du travail permet de visualiser l'homogénéité de la surface du film hydrogel nano-composite avant et après l'incorporation du principe actif à différents taux d'encapsulation. Des observations ont été réalisées pour l'ensemble des essais de formulation (figure III.7). Ce qui permet d'évaluer la taille et la forme des biomatériaux composite préparées. Après avoir étalé les échantillons soigneusement sur une lame de verre, nous les avons observées directement au microscope optique binoculaire après séchage permettant l'acquisition des images obtenues.



Figure III.7 : La microscopie optique (Optika)

III.5.2. Etude structurale

III.5.2.1. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)

a. Principe.

C'est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels (par l'apparition de bandes de vibration caractéristiques), le contrôle de la pureté, et l'analyse quantitatives des substances chimiques (par la hauteur des bandes) et qualitative (par la position des bandes). Elle représente également un moyen important dans l'étude des structures moléculaires. Les vibrations créent un champ électromagnétique de même fréquence. Le phénomène d'absorption dans le domaine de l'infrarouge est causé par la vibration et la rotation des molécules.

Les spectres FT-IR sont directement enregistrés à partir de CMC, CSN, AC, et des films basés sur le CMC/AC réticulé avec CSN qui ont été broyés sous forme de poudres et ensuite pressés sous forme de pastilles et mélangés avec le KBr.

b. Appareil.

Dans cette étude, les analyses FTIR ont été réalisées avec un appareil spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourrier de type Bruker Vertex FT-IR avec ATR (figure III.8) sur une plage de fréquences de 400 à 4000 cm^{-1} à une résolution de 4 cm^{-1} .



Figure III.8 : Appareil du spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourrier de type Bruker Vertex FT-IR.

III.5.2.2. Spectrophotométrie ultraviolet visible (UV-Vis)

a. Principe.

La spectrométrie d'absorption dans le domaine ultra-violet-visible a toujours été une technique de mise en œuvre facile, en s'appuyant sur la structure électronique d'un composé ou plutôt d'une fraction de ce composé pour mettre en évidence sa présence (analyse qualitative) et de connaître sa concentration (analyse quantitative). Son emploi est de plus en plus réservé à l'analyse quantitative via la loi de Beer-Lambert. Le domaine concerné s'étale de 80 à 800 nm. L'intervalle du visible s'étale de 400 nm (bleu) à 800 nm (Rouge). L'intervalle de l'UV proche s'étale de 200 nm à 400 nm et le domaine de l'UV lointain de 10 nm à 200 nm.

En spectroscopie UV-visible lorsque la cuve contenant la solution est placée dans un spectroscope, elle reçoit un rayonnement d'intensité I_0 . Une partie de cette lumière incidente est absorbée par le milieu et le reste, noté I , est transmis. L'intensité (I) du rayonnement issu de la cuve est donc inférieure à l'intensité du rayonnement initial (I_0).

La fraction de la lumière incidente absorbée par une substance de concentration C contenue dans une cuve de longueur L est donnée par la loi de Beer-Lambert (eq III.1) :

$$A = \varepsilon L C \dots \dots \dots \text{(eq III.1)}$$

Avec :

A : Absorbance ;

C : Concentration de l'entité chimique absorbante ;

L : Longueur du trajet de la lumière (épaisseur de la cellule ou de l'échantillon) ;

ϵ : Coefficient d'extinction molaire.

b. Appareil.

Dans cette étude, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis à double faisceau (figure III.9).



Figure III.9 : Appareil du spectrophotomètre UV-visible.

III.5.3. Détermination des caractéristiques de gonflement des films hydrogels

Le gonflement est l'une des caractéristiques les plus importantes des gels. Il peut être expliqué par la pénétration graduelle de l'eau dans les particules solides, suivie d'une plastification, et ensuite, du gonflement de la matrice [74].

Les caractéristiques et la cinétique de gonflement dans l'eau des hydrogels obtenus (le degré maximum de gonflement et le taux d'eau de l'hydrogel à l'équilibre) ont été effectuées par gravimétrie dans une solution tampon 0,1M à pH=5,5 (ABS, simulant un pH de la peau) comme des agents gonflants. Pour cela les films hydrogels synthétisés ont été coupés en petits morceaux et pesés à des masses bien déterminés (M_0) et ont ensuite été placés dans une solution tampon de 5 ml de différentes valeurs de pH à 37 °C jusqu'à l'équilibre (figure III.10). Les mesures du poids avec précision se font en fonction du temps à la température ambiante. A des intervalles de temps consécutifs, l'échantillon a été retiré du milieu liquide et sa surface a été tamponnée avec du papier filtre pour enlever et éliminer l'eau absorbée en surface.

Le degré de gonflement a été exprimé comme le rapport entre la quantité de solution retenue dans les films à chaque intervalle de temps mesuré et la quantité de film complètement sec, en utilisant l'équation III.2 [74].

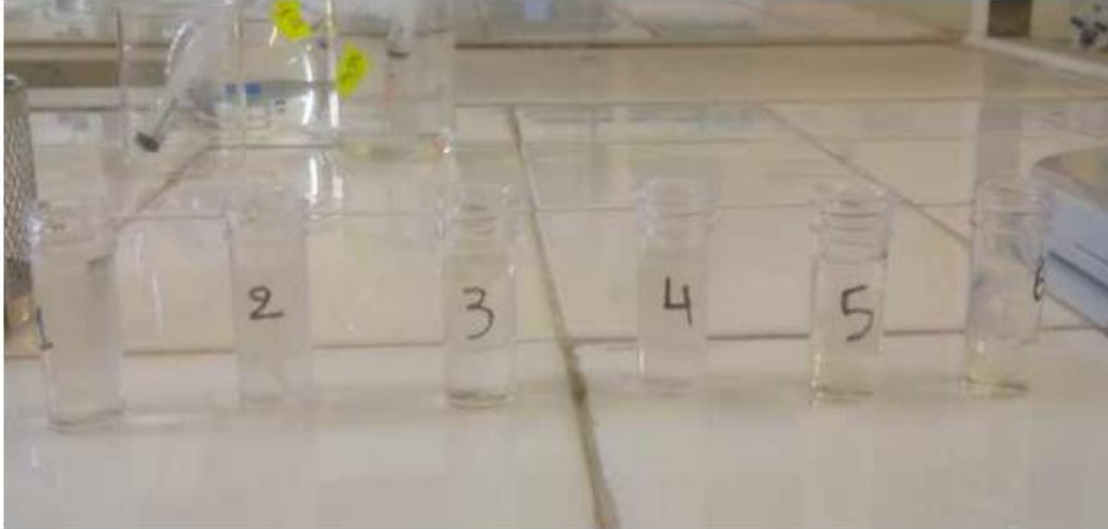


Figure III.10 : Test de gonflement.

L'influence de la température de réticulation, du temps de réticulation et du rapport molaire sur les valeurs du degré de gonflement a été étudiée. [75]

$$Q_t(\%) = \left(\frac{M_t - M_0}{M_0} \right) * 100\% \dots\dots\dots (eq III.2)$$

Avec Q_t : degré de gonflement en (%) ;

M_t : Masse du film gonflé dans le solvant pendant un temps t en (g) ;

M_0 : Masse initiale du film hydrogel sèche à ($t=0$) en (g).

Solution ABS (pH=5,5) :

C'est une solution tampon acétate pH=5,5 (ABS). Préparer une solution de dihydrogénophosphate de sodium (soit 9,08 g de NaH_2PO_4 par litre) et une solution de disodium hydrogénophosphate (9,47 g de Na_2HPO_4 par litre). 10 ml de Na_2HPO_4 mélangé avec 190 ml de NaH_2PO_4 et on ajuste le pH à 5,5.

III.6. L'encapsulation du principe actif (extrait de gingembre) dans les films hydrogels à base de (CMC/AC/CSN)

L'inclusion de l'extrait de gingembre (EG) dans les matrices hydrogels à base du complexe CMC/AC/CSN a été réalisée par diffusion et d'évaporation d'éthanol. Une quantité de 0.3 mg de l'EG a été dissoute dans 5 ml d'éthanol sous une moyenne agitation, et les films obtenus précédemment ont été coupés en petits morceaux à des masses bien déterminées et ont ensuite été mis en suspension et immergés dans la solution du médicament et maintenus pendant 24 heures à 40 °C pour l'évaporation de l'éthanol. Après 24 heures, les films secs ont été placés pendant une minute dans 20 ml de solution tampon phosphate à pH = 5,5 pour éliminer le principe actif trouvé sur la surface du film qui n'a pas été encapsulé. Afin de déterminer la quantité de principe actif qui a été immobilisée aux films, 20 ml d'éthanol a été ajouté au récipient (la solution de EG) dans lequel l'encapsulation du principe actif a eu lieu. La quantité de EG contenue dans le surnageant (extraite dans l'éthanol) a été abaissée et la quantité exacte de composé trouvée dans les films hydrogels analysés a été déterminée. La concentration du principe actif testé dans la solution initiale a été mesurée par spectroscopie UV à une longueur d'onde d'absorption de 285 nm à partir de la solution aqueuse contenant de l'EG. Avant de procéder au suivi de la cinétique de la libération du principe actif (EG), nous avons au départ tracé la courbe d'étalonnage $A = f(C)$ à $\lambda_{\max} = 285$ nm à partir des solutions aqueuses contenant de l'extrait de gingembre à 2 % m/v (figure III.11).

➤ **Courbe d'étalonnage de l'encapsulation de l'extrait de gingembre à pH=5.5.**

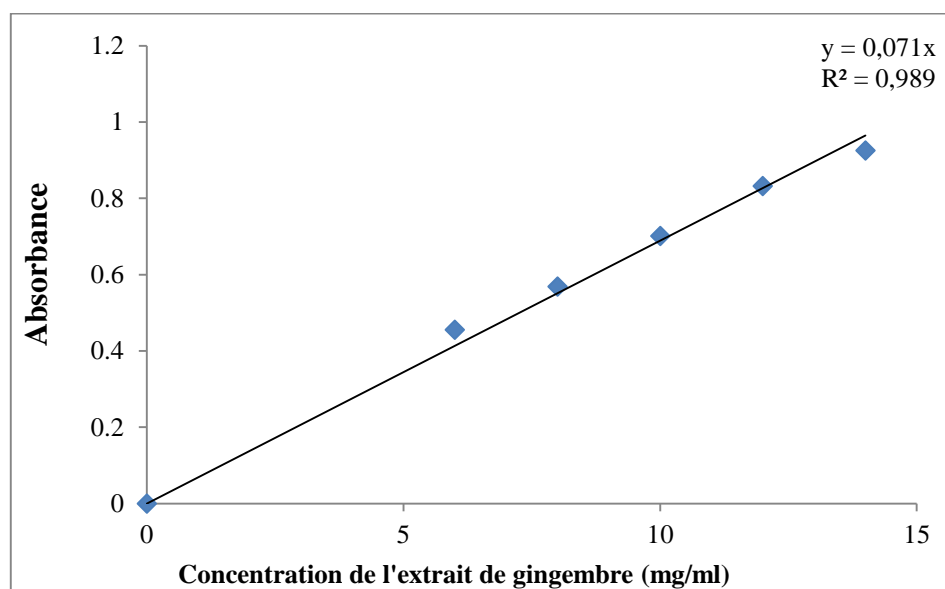


Figure III.11 : Courbe d'étalonnage $A = f(C)$ de l'extrait de gingembre dans une solution tampon acétate pH=5,5 à 285 nm.

III.7. L'encapsulation du principe actif (kétoprofène) dans les films hydrogels à base de (CMC/AC/CSN)

L'inclusion du kétoprofène dans les films hydrogels à base du complexe CMC/AC/CSN a été réalisée par diffusion et d'évaporation d'éthanol. Une quantité de 0.5 mg de médicament (kétoprofène) a été dissoute dans un mélange de 10 ml (eau/éthanol) sous une moyenne agitation selon la même méthode mentionnée avec l'encapsulation de l'extrait de gingembre.

Avant de procéder au suivi de la cinétique de la libération du principe actif (kétoprofène), nous avons au départ tracé la courbe d'étalonnage $A = f(C)$ à $\lambda_{\max} = 275$ nm à partir des solutions aqueuses contenant de la kétoprofène à 2 % m/v (figure III.12).

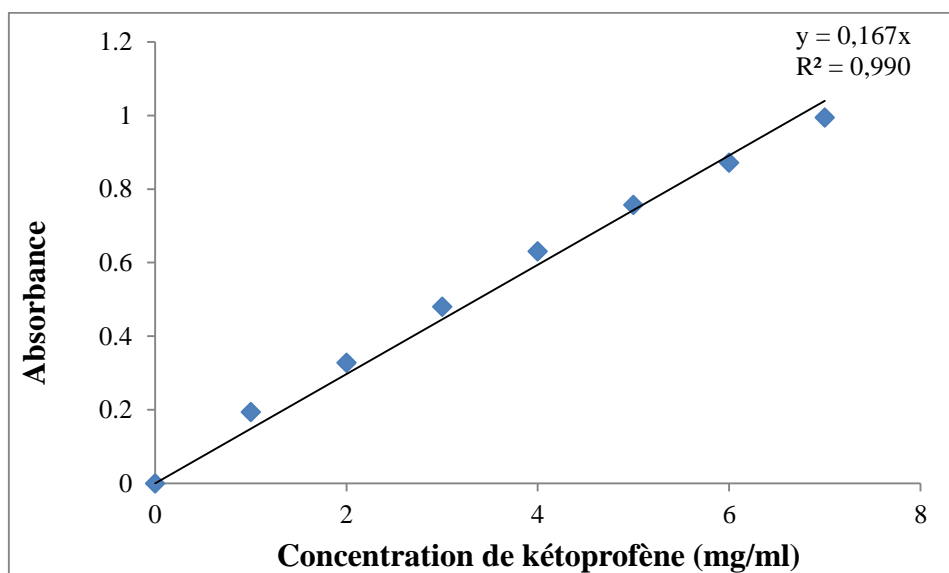


Figure III.12 : Courbe d'étalonnage $A = f(C)$ de kétoprofène dans une solution tampon acétate pH=5,5 à 275 nm.

La quantité du principe actif encapsulé et le pourcentage d'encapsulation dans les films d'hydrogels ont été calculés par les équations (III.3 et III.4), respectivement.

La quantité ou bien la masse encapsulée du principe actif a été calculée par la formule [76] :

$$(\text{Masse encapsulée}) (m_{cf}) = (m_i - m_s) \dots \dots \dots (\text{éq III.3})$$

Dans ce cas, l'efficacité d'encapsulation a été calculée en utilisant la formule suivante (éq III.4) [76]:

$$\text{Taux d'encapsulation : } Ef(\%) = \left(\frac{mcf}{mi} \right) * 100\% \dots\dots\dots (\text{éq III.4})$$

Avec Ef (%) : Efficacité d'encapsulation.

mi : La quantité du principe actif initiale (la masse totale).

ms : La quantité du principe actif dans le surnageant (la masse filtrée).

mcf : La quantité du principe actif encapsulée dans les films.

III.8. Etude de la cinétique de libération de l'extrait de gingembre dans les films hydrogels préparés à base de (CMC/AC/CSN)

La cinétique de libération de l'EG *in vitro* à partir des films d'hydrogels obtenus (CMC/AC/CSN) a été étudiée dans la solution ABS de 0,1 M à pH = 5,5 (similaire au pH de la peau). Les biomatériaux obtenus à base du complexe polyélectrolyte (CMC/AC/CSN) chargés par l'extrait de gingembre ont été coupés en petits morceaux à des masses bien déterminées et ont ensuite été placés et immergés dans 10 mL de la solution tampon pH = 5,5 avec 1% de Tween 80. L'opération se fait sous une faible agitation et à une température de 37°C jusqu'à l'équilibre en fonction du temps. De temps en temps, un échantillon de solution de 0,5 ml a été prélevé, dilué à 0,5 ml avec même milieu physiologique et la concentration de l'EG rechargée et libérée a été mesurée à partir de la courbe d'étalonnage UV de l'EG effectué par mesure des absorbances des étalons à différentes concentrations. La quantité de l'EG libérée est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 285 nm en utilisant un spectrophotomètre UV.

III.9. Etude de la cinétique de libération de du kétoprofène dans les films hydrogels préparés à base de (CMC/AC/CSN)

La cinétique de libération du kétoprofène *in vitro* à partir des films d'hydrogels obtenus (CMC/AC/CSN) a été étudiée dans la solution ABS de 0,1 M à pH = 5,5 (similaire au pH de la peau). La quantité de kétoprofène libérée est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 275 nm en utilisant un spectrophotomètre UV.

La libération du médicament exprimée en (%) a été calculée selon l'équation suivante [77] (éq III.5):

$$\text{Taux de libération (\%)} = \left(\frac{M_L}{M_e} \right) * 100\% \dots\dots\dots (\text{éq III.5})$$

M_L : La quantité du principe actif libérée par les films (mg)

M_e : La quantité du principe actif totale dans les films (mg).

III.10. Etude de l'activité antioxydante de l'extrait de gingembre libre et encapsulé dans les films obtenus de CMC/AC/CSN

De nombreuses méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. Ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de réduction du DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle), en utilisant l'acide ascorbique comme étalon. [78]

III.10.1. Le test de piégeage du radical DPPH

Le test DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante, il repose sur l'utilisation du radical libre DPPH, qui présente une coloration violette intense en l'absence d'antioxydant (figure III.13). La couche électronique de ce radical est saturée lorsqu'elle est en contact avec un antioxydant, ce qui entraîne la disparition de la coloration violette. Cette décoloration reflète la capacité de l'extrait de la plante à piéger ce radical et donc son pouvoir antioxydant. [78]

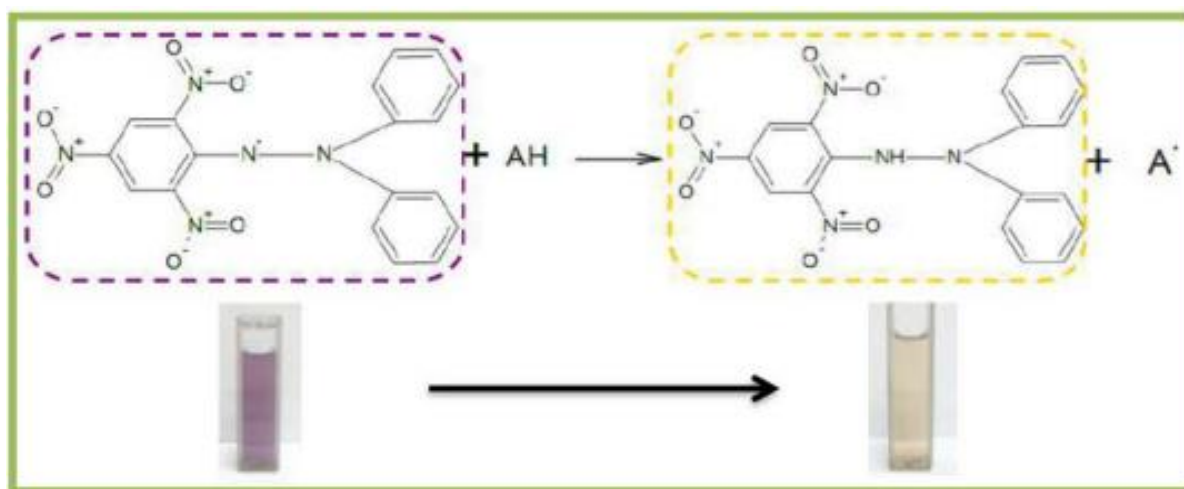


Figure III.13: La radication du DPPH par oxydation [78].

III.10.2. Mode opératoire

Dans un volume de 1 ml, différentes concentrations de l'extrait à tester sont préparées dans du méthanol. Ensuite, 2 ml de solution de DPPH· de concentration 0,1 mM sont ajoutés. Après une agitation vigoureuse, le mélange est incubé pendant 1 heure dans l'obscurité et à température ambiante. Ensuite, l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Une solution contenant 1 ml de méthanol et 2 ml de DPPH·, considérée comme blanc analytique, est préparée en parallèle.

III.10.3. Détermination des IC₅₀

Les résultats de l'activité anti-radicalaire ou de l'inhibition des radicaux libres sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%), estimé selon l'équation suivante (éq III.6) [79]:

$$I (\%) \text{ d'inhibition} = \left(\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}}{\text{Abs contrôle}} \right) * 100\% \dots\dots\dots (\text{éq III.6})$$

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Contrôle : Absorbance de la solution de DPPH au temps 0.

Abs test : Absorbance de l'extrait.

III.11. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit les modes opératoires et les conditions expérimentales utilisées pour la préparation de différents hydrogels sous forme de films à base du complexe polyélectrolyte de (carboxyméthylcellulose /chitosane) réticulés avec l'acide citrique sont présentées, ensuite, les différentes analyses et principales techniques de caractérisation de biomatériaux préparés à base du complexe polyélectrolyte (CMC/AC) réticulé ioniquement avec le chitosane chargés du médicament (kitoprofène) et du principe actif d'extrait de gingembre. Enfin, nous avons détaillé les méthodes d'encapsulations et l'étude de la cinétique de libération contrôlée des principes actifs dans notre étude.

Chapitre IV

IV.1. Introduction

Le présent travail expérimental a pour but d'obtenir différents hydrogels par la variation du rapport volumique entre les groupements amines protonés ($-\text{NH}_3^+$) du chitosane (CS) et les groupements hydroxyles et carboxyles de carboxyméthylcellulose (CMC) en utilisant l'acide citrique comme agent de réticulation qui réagissent pour favoriser des répulsions électrostatiques entre les groupements fonctionnels par formation de la réaction d'estérification (CMC/AC). L'intérêt de ce chapitre est de présenter les différents résultats obtenus dans le présent travail expérimental réalisé et de les interpréter tout en faisant les discussions.

IV.2. Obtention des hydrogels sous forme de films à base de carboxyméthylcellulose, chitosane et de l'acide citrique

Nous avons donc décidé de procéder à la synthèse de nouveaux hydrogels composites à base des deux biopolymères naturels, le chitosane (CS) et la carboxyméthylcellulose (CMC), en présence de l'acide citrique (AC) en tant qu'agent de réticulation ionique. Ce dernier joue un double rôle : il agit d'une part comme partenaire interactif de la CMC dans la formation du réseau réticulé, et d'autre part comme véritable agent de réticulation. Son caractère totalement non toxique en fait un choix particulièrement adapté aux applications biomédicales.

Dans la synthèse de ces biomatériaux, nous avons adopté par conséquent la méthode de la gélification chimique par la réaction de la réticulation ionique entre les groupes complémentaires, ça veut dire, en milieu acide les groupes amines de chitosane s'ionisent et se transforment en NH_3^+ qui peuvent interagir avec les anions de la structure du réticulant. Le CMC chargé négativement (COO^-) est attiré électrostatiquement vers les groupes NH_3^+ de chitosane pour produire des hydrogels de chitosane réticulés ioniquement [80]. Des films d'hydrogels à base du complexe polyélectrolyte de CMC/AC/CSN ont été obtenus à $\text{pH} = 4$ et à une température de réaction à $50\text{ }^\circ\text{C}$. Les différents paramètres expérimentaux que nous avons fait varier pour élaborer des hydrogels à base de CMC, AC et de CSN ont été présentés dans le tableau III.1.

La réaction de réticulation ionique est influencée par quelques paramètres tels que: le temps de réticulation où la température de réticulation et la quantité de l'agent réticulant utilisée (le rapport volumique entre les cations du CS et les anions dans le CMC) [80].

IV.3. Structure chimique des hydrogels par la réticulation du complexe polyelectrolyte CMC/AC/CSN

Le carboxyméthylcellulose (CMC), en tant que un polyelectrolyte anionique, interagit avec le chitosane (CSN), de nature cationique, par le biais de forces électrostatiques, conduisant à la formation d'un complexe polyelectrolytique (CMC/CSN) caractérisé par une compensation des charges intermoléculaires (figure IV.1). L'addition de l'acide citrique (AC) dans ce système induit, en plus de ces interactions ioniques, une réaction d'estérification, rendue possible par la présence simultanée de groupes hydroxyle ($-OH$) et carboxyle ($-COOH$). Cette double fonctionnalité favorise la formation de liaisons covalentes entre les chaînes polymériques, entraînant ainsi la gélification du réseau et la stabilisation de la structure tridimensionnelle obtenue (figure IV.2). Il est reconnu que les groupes hydroxyles primaire porté par l'acide carboxylique de l'AC présentent une réactivité plus élevée que les groupes $-OH$ présents dans les membranes non réticulées de CMC/CS, ce qui facilite la réaction d'estérification avec l'AC. Ce processus de réticulation a pour objectif d'augmenter la densité des groupes fonctionnels ($-OH$) et ($-COOH$) au sein du réseau polymérique. [81].

Les réactions chimiques possibles entre les deux biopolymères ; chitosane et carboxyméthylcellulose en présence de l'agent de réticulation (acide citrique) peuvent être schématisées dans les figures IV.1 et IV.2 comme suit [81 , 82] :

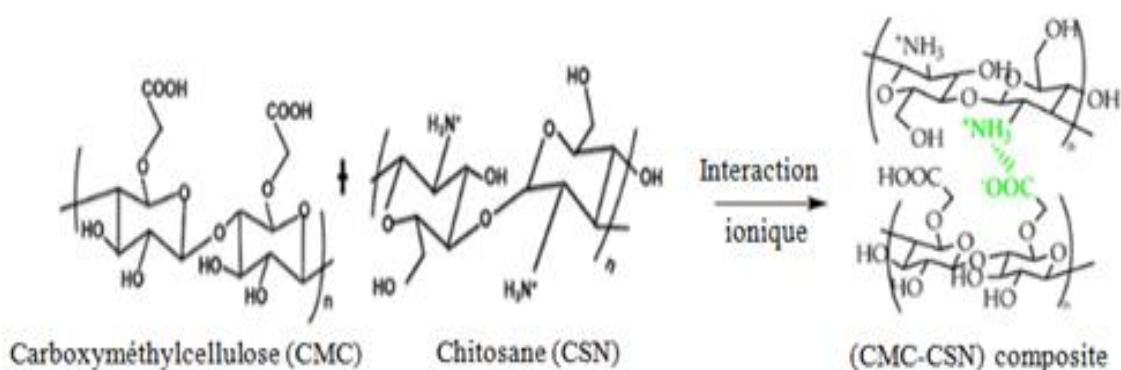


Figure IV.1: Schéma de structure chimique de la réaction de réticulation des hydrogels composites obtenus entre chitosane (CSN) et carboxyméthylcellulose (CMC).

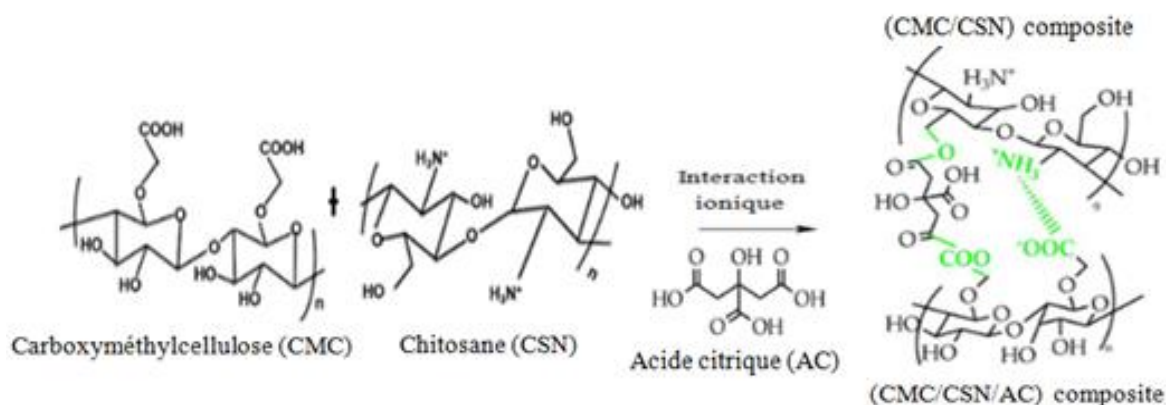


Figure IV.2 : Réaction de réticulation par interaction ionique du carboxyméthylcellulose/chitosane avec l'acide citrique.

IV.4. Méthodes de caractérisation des hydrogels obtenus

Les nouveaux biomatériaux sous forme de films hydrogels préparés ont été caractérisés par les différentes techniques tel que la spectroscopie infrarouge à transformée de fourier à l'état solide (FTIR), la spectrométrie ultra-violet-visible (UV), l'analyse par la microscopie optique et l'étude du degré de gonflement dans des fluides biologiques...etc

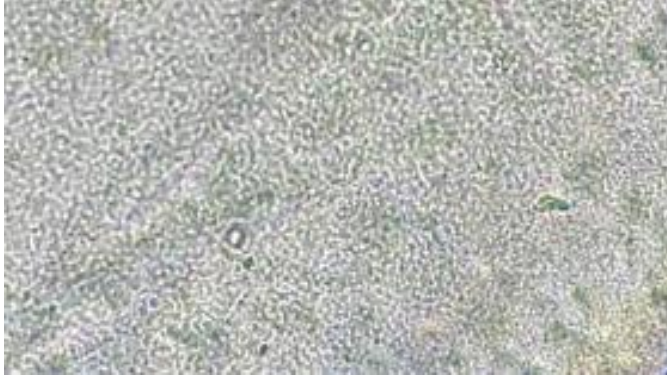


IV.4.1. Caractérisation macroscopique et microscopique

Les hydrogels obtenus sont caractérisés sur le plan macroscopique et microscopique (appréciation de la forme et taille des échantillons). Suite à cela, une marge de concentrations respectives des composants est choisie, selon des critères de sélection (forme plane et taille micrométrique). Le but est de fixer le domaine expérimental dans lequel nous pouvons envisager lancer nos formulations en vue d'obtenir la formule optimale.

Les matrices hydrogels élaborés se présentent macroscopiquement sous forme de films lisses et homogènes. Les films de CMC/AC/CSN sont planes, transparentes et flexibles. Les films de (CMC/AC/CSN) sont pas fragiles et légèrement opaques, ayant une structure discontinue.

Les films formés lors de notre étude ont été caractérisés par microscopie optique avec un grossissement de 10 fois. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VI.1.

Tableau VI.1 : Aspect microscopique des films hydrogels

Essais	Aspect microscopique grossissement x10
F2(CMC/AC/CSN)	
F10(CMC/AC/CSN/KTP)	
F6(CMC/AC/CSN/EG)	

➤ **Observation et interprétation des résultats obtenus par microscopie optique**

L'analyse microscopique des échantillons analysés indique la présence de films élaborés sous forme plane, de taille relativement différente. De plus, la taille des films augmente avec l'augmentation de la quantité des biopolymères dans le complexe CMC/AC/CSN.

La qualité de la surface des films chargés du principe actif a été analysée et la dispersion du principe actif dans le complexe est présentée sur le tableau (essais 2 et 3). Les images illustrées sur la figure présentant une distribution aléatoire du principe actif dans le

complexe CMC/AC/CSN. Cette observation explique une bonne incorporation du principe actif dans le complexe qui pourrait être due à la création de petits microdomaines uniformes au sein de la matrice.

IV.4.2. Analyse spectrale FTIR des hydrogels composites obtenus (CMC/AC/CSN)

Pour identifier la structure des hydrogels synthétisés, nous avons analysé le chitosane (CS), le carboxyméthylcellulose (CMC), l'acide citrique (AC) et les films réticulés ; (CMC/AC), (CMC/AC/CSN) à un rapport volumique R(1/1) . Les spectres FTIR enregistrés étant discutés par comparaison avec les biopolymères de départ (CMC, CSN) et des films obtenus, qui peuvent être limités uniquement à la plage de nombre d'ondes entre 600 et 1800 cm^{-1} , où les différences étaient attendues. Les spectres sélectionnés pour l'analyse sont présentés dans la figure IV.3.

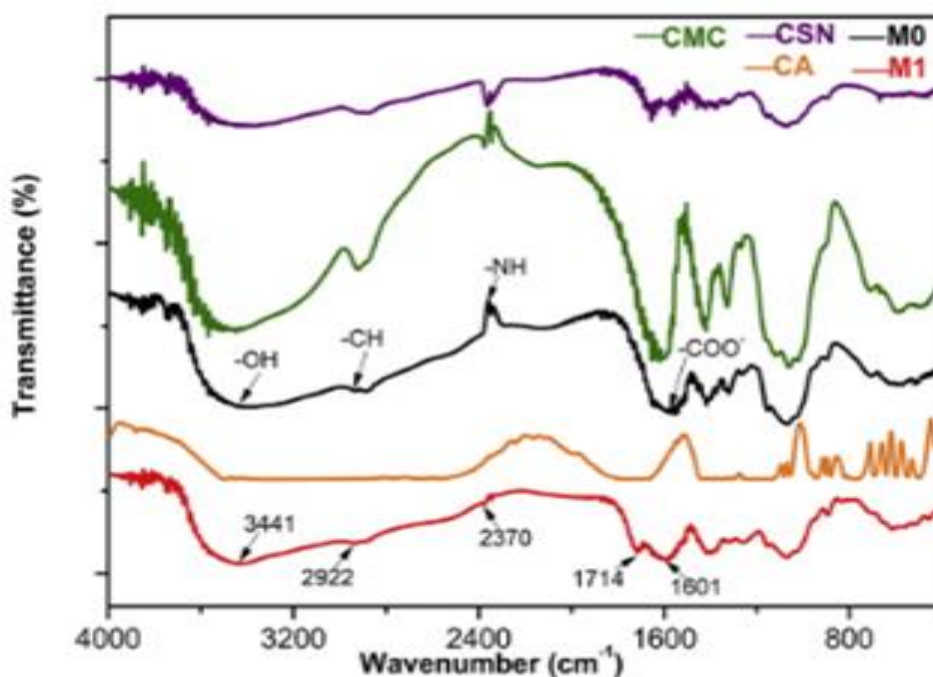


Figure IV.3: Spectres infrarouges (FTIR) du CMC, CSN, AC , polymères hybrides M0 (CMC/CSN) et la matrice hydrogel M1 (CMC/CA/CSN).

Les spectres FTIR de carboxyméthylcellulose (CMC), du chitosane (CSN) , de l'acide citrique (AC), de la matrice polymère M0 (CMC/CSN) et de la matrice du complexe composite (CMC/AC/CSN) sont présentés dans la figure IV.3.

➤ Carboxyméthylcellulose (CMC) :

- Bande large à 3411 cm^{-1} : vibration d'élongation des groupes -OH .
- Bande à 2922 cm^{-1} : vibrations C-H .

- Bande à 1600–1720 cm^{-1} : vibrations d'élongation du groupe carboxylate ($-\text{COO}^-$) ou C=O du groupe acide.
- Chitosane (CSN) :
- Bande à 3400 cm^{-1} : groupes OH et NH_2 chevauchés.
 - Bande à 1590–1650 cm^{-1} : vibration du NH_2 (déformation) et C=O (groupes amide I/II si déacétylation partielle).
 - Bande vers 1375 cm^{-1} : déformation du CH_3 .
- Acide citrique (AC) :
- Pic à 1730 cm^{-1} : vibration C=O du groupe acide carboxylique.
 - Bande large autour de 3400 cm^{-1} : vibrations OH (acide).
- Matrice hydrogel M0 (CMC/CSN) :
- Bande large et intense à 3411 cm^{-1} indiquant les interactions hydrogène (OH et NH_2 des deux polymères).
 - Disparition ou déplacement des pics caractéristiques des polymères purs (CMC et CSN), indiquant une interaction ionique ou liaison hydrogène.
 - Bande à 1600 cm^{-1} liée aux groupes (COO^-) du CMC et peut-être aux amines protonées du CSN, ce qui suggère une complexation polyanion/polication.
- Matrice hydrogel M1 (CMC/CA/CSN):
- Apparition d'une bande à 1714 cm^{-1} , traduisant la présence de liaisons ester ($\text{COO}-\text{R}$) formées entre les groupes carboxyles de l'AC et les groupes OH du CMC/CSN : preuve de réticulation chimique.
 - Déplacement ou atténuation des pics à 2920 cm^{-1} , 3441 cm^{-1} : modification de l'environnement chimique des chaînes polymériques.
- **Formation du réseau hydrogel :**
- L'interaction ionique entre les groupes amine du CSN et les groupes carboxyles du CMC (matrice M0) est bien mise en évidence par le déplacement ou disparition de pics caractéristiques.
 - L'introduction de l'acide citrique (AC) permet une réticulation covalente (formation de liaisons ester), ce qui est confirmé par les nouveaux pics C=O à 1714–1730 cm^{-1} .

IV.4.3. Etude de la cinétique de gonflement des films hydrogels (CMC/AC/CSN) dans les solutions aqueuses

L'étude de la capacité de gonflement des hydrogels composites en milieu aqueux a été réalisée par la méthode gravimétrique, comme cela a été indiqué dans le paragraphe III.5.3. L'influence du rapport volumique, du temps de réticulation et de la température de réticulation sur les valeurs du degré de gonflement a été étudié et suivie par des milieux aqueux, à une valeur du pH =5.5 pour établir les paramètres optimaux pour l'obtention d'hydrogels biocompatibles pour une libération contrôlée et prolongée de principes actifs.

IV.5. Paramètres d'influence sur le taux de réticulation des matrices hydrogels à base de CMC/CSN réticulé avec l'acide citrique

La présente étude concerne l'effet des paramètres physico-chimiques sur le gonflement des hydrogels fabriqués au contact d'un milieu aqueux. Le taux de réticulation est important pour les applications biomédicales des hydrogels, parce qu'il influence la capacité des hydrogels de gonfler dans des milieux aqueux, et d'ici, leur capacité d'inclure des médicaments hydrosolubles. Sa valeur pourrait être influencée par plusieurs paramètres physico-chimiques à savoir le rapport volumique entre les deux polymères et l'agent de réticulation ionique, le temps de réaction et la température de réticulation, la composition et la concentration en éléments chimiques de la solution absorbée, et nous nous sommes proposés d'étudier cet aspect.

IV.5.1. Influence de la température de réticulation sur le degré de gonflement des films

Afin de voir l'influence de la température de réticulation sur le taux de gonflement dans la solution tampon, les hydrogels ont été pesés et immergés dans une solution tampon acétate (ABS) pH =5,5. On a déterminé le degré de gonflement à des intervalles du temps bien établis.

Le degré de gonflement a été déterminé par gravimétrie à des intervalles de temps bien établis jusqu'à l'équilibre. Nous avons choisi pour cette étude le film F3 à base du complexe polyélectrolyte de la matrice (CMC/AC/CSN), et nous avons analysé quatre films de ce type obtenus par réticulation à différentes températures entre 20 °C, 30 °C , 45 °C et 60 °C, du point de vue du processus de rétention de l'eau. L'étude de la cinétique de gonflement des quatre films hydrogels dans le milieu (pH =5.5) est représentée dans la figure IV.4.

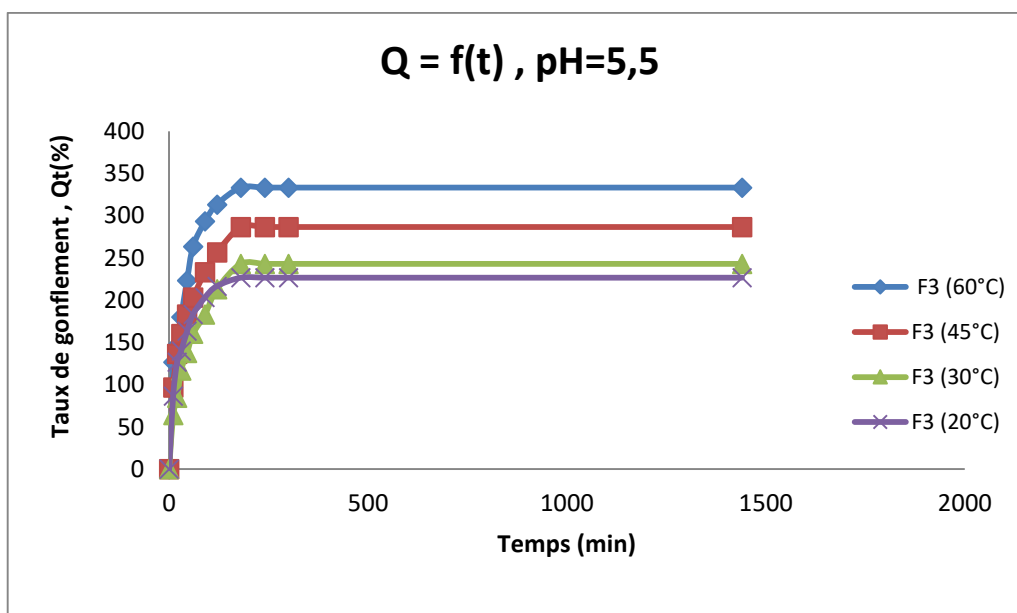


Figure IV.4 : Evolution au cours du temps des taux de gonflement pour les films obtenus de type F3 à différentes températures de réticulation (temps de réticulation = 2.5 h) dans une solution tampon acétate à pH = 5,5.

L'examen de la figure IV.4 comme première observation nous permet de vérifier que les films du complexe polyélectrolyte de la matrice (CMC/AC/CSN) préparés à différentes températures présentent une capacité élevée de rétention de l'eau à pH = 5,5 et les valeurs du degré maximal de gonflement dépendent de la température de réticulation. Nous pouvons remarquer que le gel obtenu atteint un taux de gonflement plus accéléré à une valeur maximale au bout de 180 minutes puis plus lentement avec une tendance à atteindre un plateau vers 24h. Le degré de gonflement dépend du taux de réticulation en diminuant avec sa croissance.

IV.5.2. Influence du temps de la réticulation sur le degré de gonflement

Nous avons étudié l'influence de temps sur le degré de gonflement dans la solution tampon des hydrogels de type F3. Ces hydrogels ont été élaborés à différentes périodes de temps de réticulation lors de la préparation (2h, 3h, 4.5h et 6h).

On a établi la cinétique de gonflement dans une solution tampon (pH =5.5). Les résultats obtenus sont regroupés dans la figure IV.5.

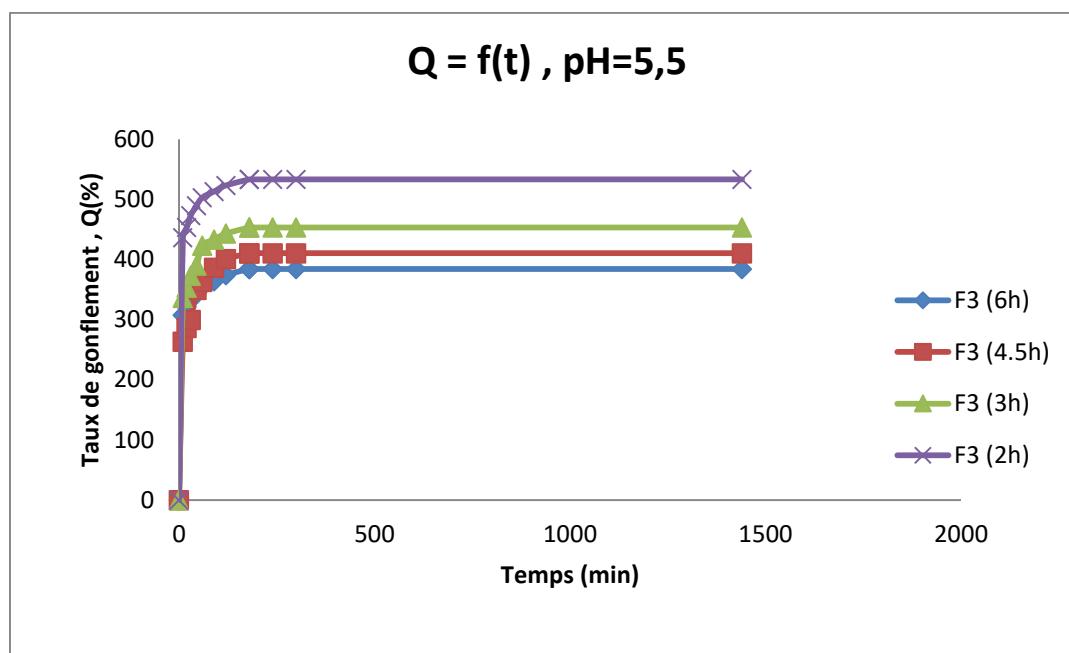


Figure IV.5: Evolution au cours du temps des taux de gonflement pour les films de type F3 obtenus à différents temps de réticulation dans le milieu (pH = 5,5). (Tréaction = 50°C).

On peut remarquer dans la figure IV.5 que l'augmentation de la durée de réticulation sur toute la période étudiée a pour effet la diminution du taux maximal de gonflement, atteint après environ 6 heures. Le gonflement est rapide pendant les premières environ 90 minutes, suivi d'une période plus lente et finalement une tendance de se stabiliser, après environ 3h.

On peut dire que la croissance de la durée de réticulation, évidemment accompagnée de l'augmentation de la densité des mailles du réseau, ce qui réduit les valeurs de degré de gonflement dans la solution tampon aqueuse.

IV.5.3. Influence du rapport volumique sur le degré de gonflement

Le degré de réticulation de nos hydrogels est influencé par la quantité de l'agent réticulant utilisé, on a voulu vérifier cet effet en étudiant la cinétique de gonflement, dans le même milieu de pH, pour les hydrogels de (CMS/AC/CSN) de types F1, F2 et F3 obtenus à différentes valeurs du rapport volumique ($\text{NH}_3^+ / \text{COO}^-$). Les résultats obtenus de la cinétique de gonflement avec le temps de ces hydrogels dans la solution tampon (pH = 5.5) sont regroupés dans la figure IV.6.

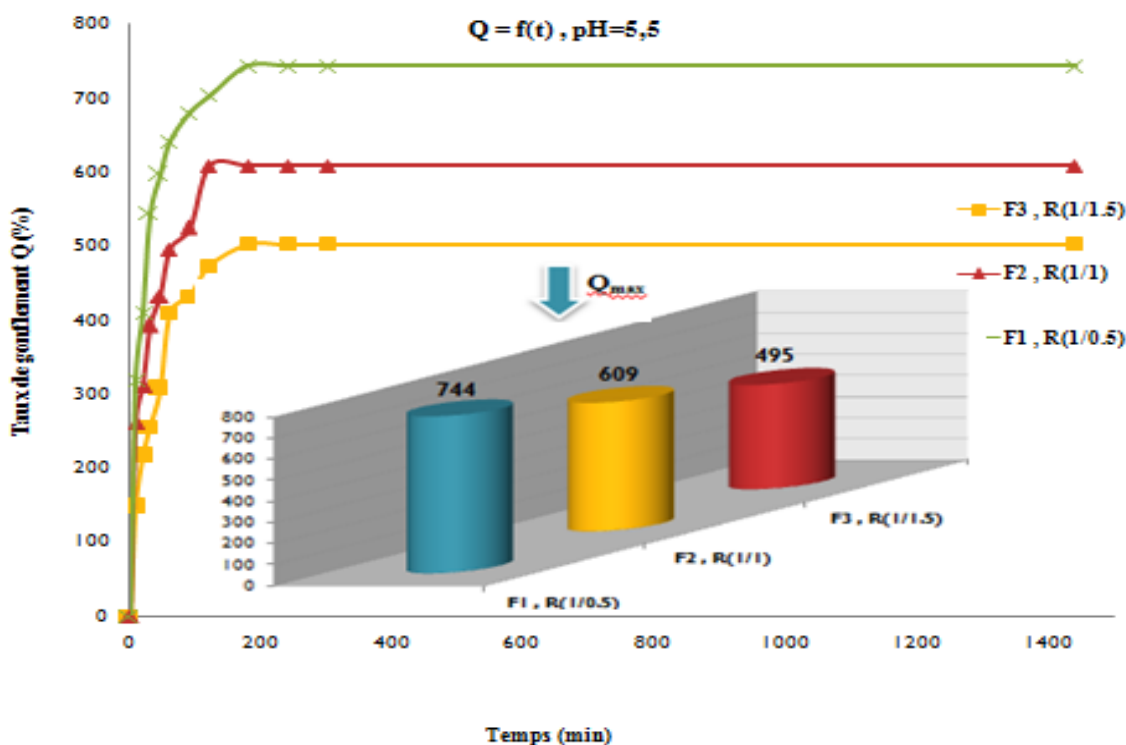


Figure IV.6 : La variation du degré de gonflement avec le temps en fonction de différents rapports volumiques des hydrogels obtenus (CMC/AC/CSN) ; F1, F2 et F3 dans une solution ABS de pH = 5,5, (durée de réticulation = 2.5 h, Tréaction = 50°C).

D'après la figure IV.6, l'étude de l'influence de la concentration de (CMC/AC) sur le gonflement a montré que l'augmentation de taux de (CMC/AC) a un effet significatif sur le gonflement de ces gels (CMC/AC/CSN). Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la concentration de CMC/AC entraîne une augmentation de taux de gonflement. En effet, l'augmentation de la concentration de CMC entraîne une augmentation des charges à l'intérieure de gels formés ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$) ce qui entraîne une répulsion électrostatique dans la taille du réseau qui fait augmenter le taux de gonflement.

IV.6. Capacité des hydrogels d'encapsuler le médicament

L'objectif de cette partie a été l'obtention de nouveaux systèmes à base des polymères naturels destinés à l'inclusion et libération contrôlée des composés biologiquement actifs.

On a choisi comme produit à activité biologique l'extrait de gingembre (EG), qui est d'une part un produit naturel, et d'autre part elle possède une activité antioxydante très importante bien connue.

Pour encapsuler l'EG dans les hydrogels, nous avons choisi de la solubiliser dans l'éthanol, ensuite de suspendre nos hydrogels dans la solution obtenue et finalement d'évaporer l'alcool, ce qui fait que l'EG reste piégée dans le film.

IV.6.1. Capacité des films d'encapsuler l'extrait de gingembre

Pour déterminer la capacité des films d'encapsuler l'EG, on a adopté selon le protocole présenté en paragraphe III.6. Les résultats obtenus pour l'efficacité d'encapsulation de l'EG dans les échantillons analysés sont présentés à la figure IV.7.

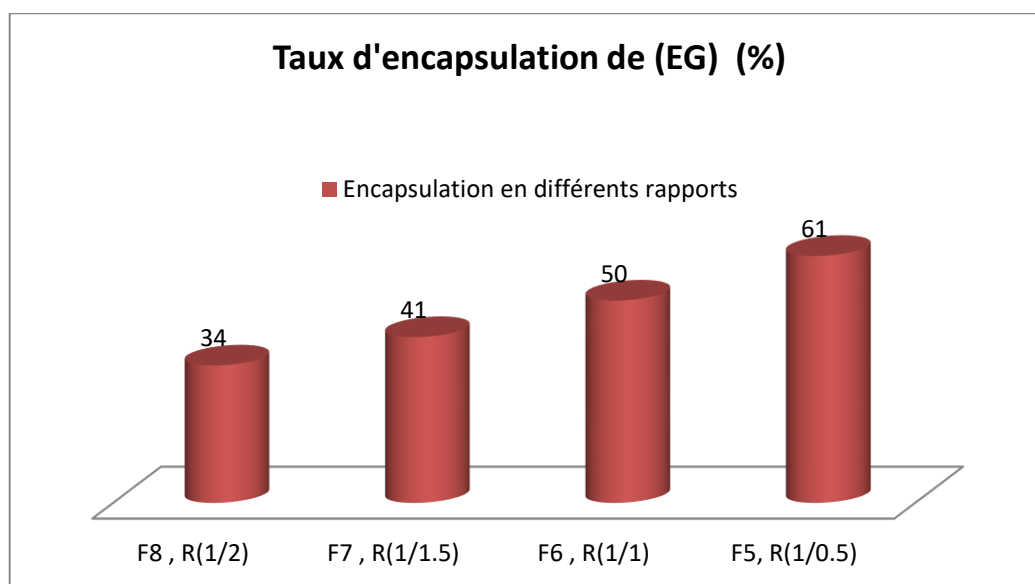


Figure IV.7: L'efficacité de chargement (encapsulation) de l'EG dans le complexe à base de CMC/AC/CSN pour différents rapports volumiques ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$), ($t_{\text{réaction}} = 3\text{h}$; $T = 50\text{ °C}$).

La figure IV.7 indique l'efficacité de l'inclusion de l'EG dans les hydrogels analysés, en fonction des rapports volumiques. Nous constatons que la quantité de l'EG encapsulée dans les films hydrogels diminue avec l'augmentation du taux de réticulation, et elle est en corrélation avec le degré de gonflement.

IV.6.2. Capacité des films d'encapsuler le kétoprofène

Pour déterminer la capacité des films d'encapsuler le kétoprofène, on a adopté selon le protocole présenté en paragraphe III.5. Les résultats obtenus pour l'efficacité d'encapsulation de kétoprofène dans les échantillons analysés sont présentés à la figure IV.8.

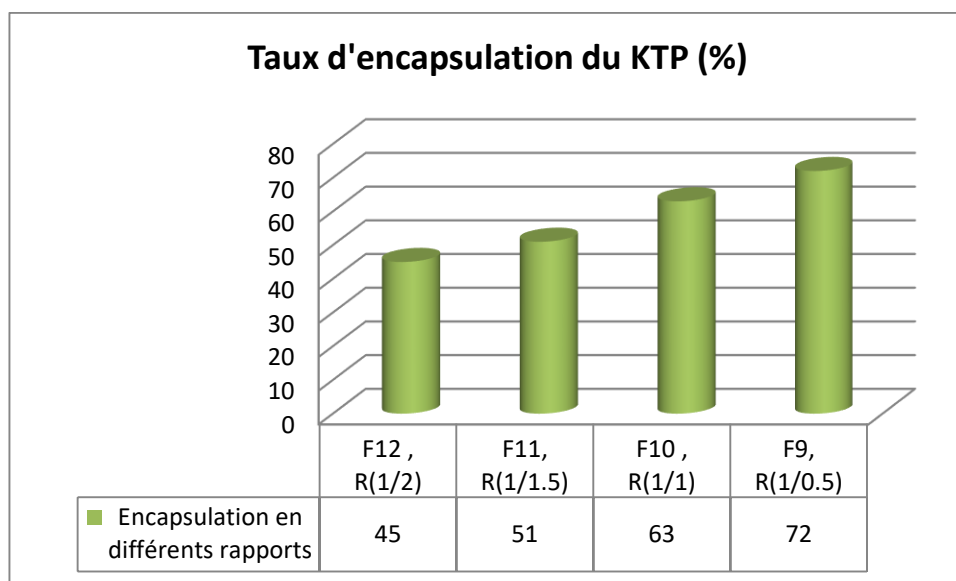


Figure IV.8: L'efficacité de chargement (encapsulation) de kétoprofène dans le complexe à base de CMC/AC/CSN pour différents rapports volumiques ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$), (t réaction = 3 h; T réaction = 50 °C).

L'examen de la figure IV.8 montre que l'efficacité d'encapsulation du kétoprofène dépend fortement du rapport ($\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$). Un équilibre entre les groupes fonctionnels du chitosane (CSN) et du CMC/AC est crucial pour obtenir une structure de réseau optimale permettant une encapsulation efficace du principe actif. Le taux d'encapsulation du film F12 (R1/2) est relativement bas. Cela peut s'expliquer par un excès de groupements carboxyles (COO^-), ce qui rend le réseau plus hydrophile et moins capable de piéger le kétoprofène qui est une molécule plutôt hydrophobe.

IV.7. Analyse du degré de gonflement dans la solution tampon des films hydrogels à base de CMC /AC/CSN chargé de l'extrait de gingembre.

Nous avons analysé une série de trois hydrogels, obtenus à trois rapports volumiques des films résultant de la réticulation ionique de l'acide citrique avec le chitosane et le carboxyméthylcellulose contenant de l'EG, du point de vue du processus de gonflement dans la solution tampon de ($\text{pH}=5.5$) (figure IV.9).

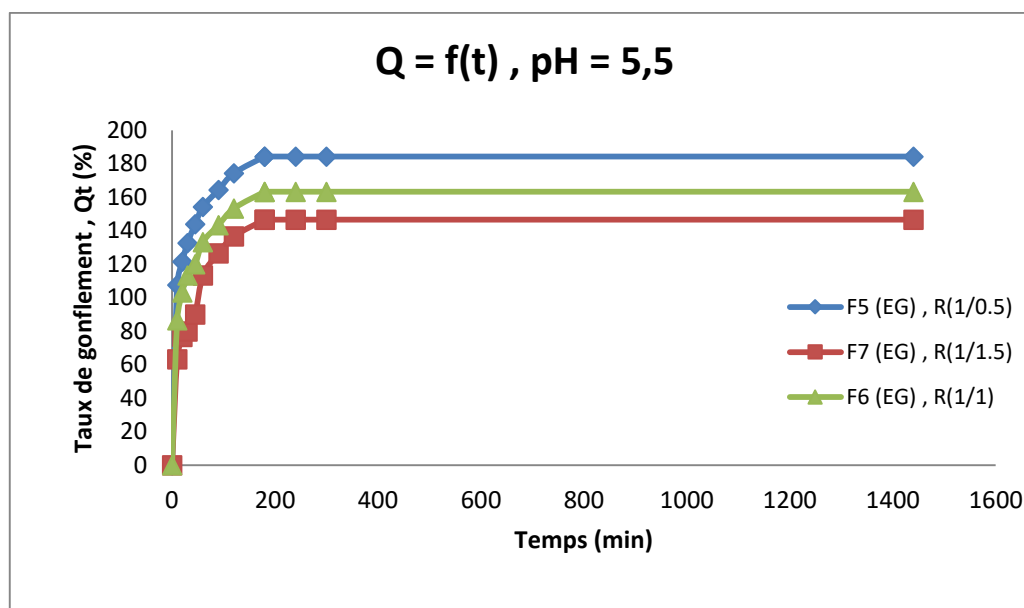


Figure IV.9: Variation du degré de gonflement en fonction du temps pour les films du complexe (CMC/AC/CSN) de types F5 (EG), F6 (EG) et F7(EG) (temps de réticulation de 3h, $T_{\text{réaction}} = 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$) dans une solution tampon phosphate à $\text{pH} = 5,5$.

D'après les résultats présentés (figure IV.9), on peut voir toujours que les hydrogels chargés de l'EG, ayant un taux inférieur de réticulation gonflent plus que ceux qui ont un plus fort degré de réticulation.

Il est évident que les hydrogels élaborés à base du complexe polyélectrolyte CMC/AC/CSN qui ne contiennent pas le principe actif, gonflent plus que les hydrogels chargés du principe actif. L'explication est liée au fait que l'EG a une grande taille, qui occupe la plus grande partie de l'espace des mailles du réseau dans le complexe, ce qui indique, la quantité d'eau qui peut occuper ces espaces est plus diminuée.

IV.8. Analyse du degré de gonflement dans la solution tampon des films hydrogels à base de CMC /AC/CSN chargé du kétoprofène.

Nous avons analysé une série de trois hydrogels, obtenus à trois rapports volumiques des films résultant de la réticulation ionique de l'acide citrique avec le chitosane et le carboxyméthylcellulose contenant du kétoprofène, du point de vue du processus de gonflement dans la solution tampon de ($\text{pH} = 5.5$) (figure IV.10).

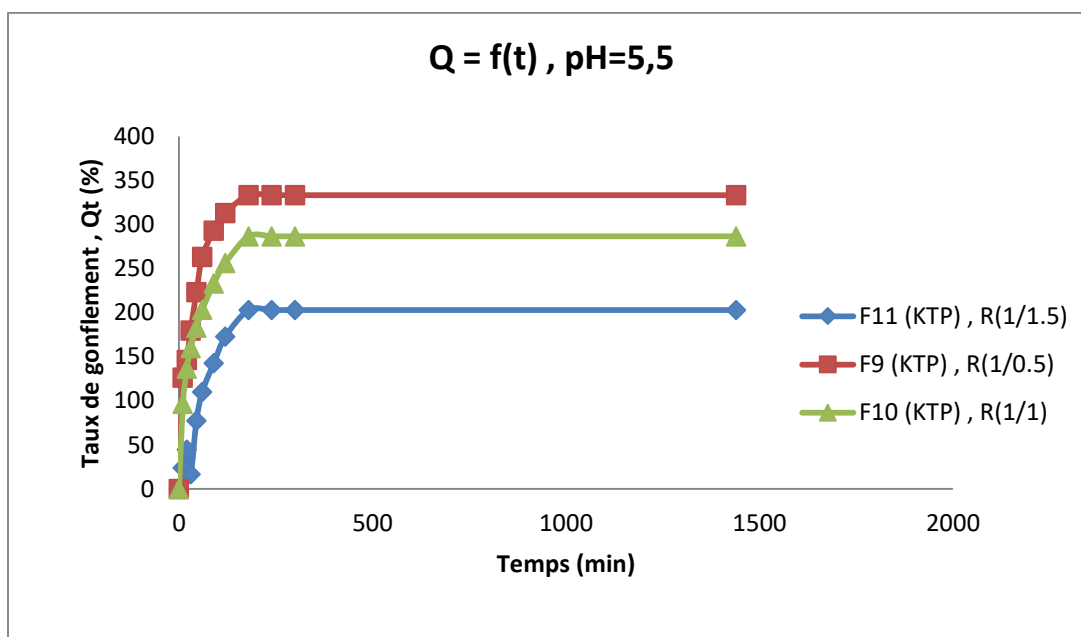


Figure IV.10: Variation du degré de gonflement en fonction du temps pour les films du complexe (CMC/AC/CSN) de types F9 (KTP), F10 (KTP) et F11(KTP) (temps de réticulation de 3h, $T_{réaction} = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$) dans une solution tampon phosphate à $\text{pH} = 5,5$.

D'après la figure IV.10, on peut voir toujours que les hydrogels obtenus chargés du kétoprofène, ayant à un rapport inférieur de réticulation (F9) gonflent plus que ceux qui ont un rapport supérieur de réticulation (F11). Les différences entre F9, F10 et F11 traduisent l'effet de la composition et de la densité du réseau sur la capacité d'absorption d'eau. Ces observations sont essentielles pour prédire la libération contrôlée du kétoprofène.

IV.9. Cinétique de libération contrôlée du principe actif *in vitro*

IV.9.1. Cinétique de libération contrôlée de l'extrait de gingembre *in vitro*

La technique de libération contrôlée a été étudiée *in vitro*, quand les films contenant de médicament ont été suspendus directement dans la solution tampon, à une valeur du pH de 5.5. Pour cette étude on a choisi les trois films en différents rapports volumiques, respectivement F5 (EG), F6 (EG) et F7(EG). Les courbes de cinétique de libération pour les échantillons analysés sont représentées dans la figure IV.11.

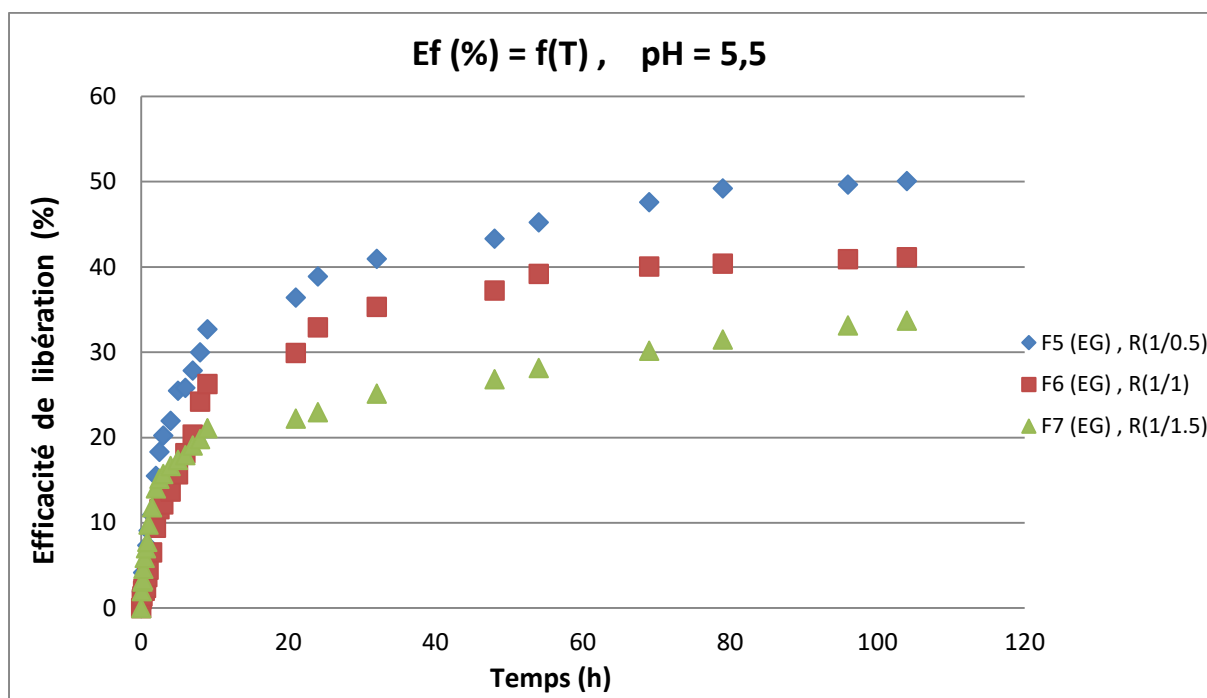


Figure IV.11: La cinétique de libération de l'extrait de gingembre pour les 3 films biopolymères: F5 (EG), F6 (EG) et F7(EG) à pH = 5,5.

L'examen de la figure IV.11 montre les courbes cinétiques de la libération contrôlée du principe actif (EG) après environ 70 heures à pH = 5,5. La libération de l'extrait de gingembre dans les films est plus rapide pendant les premières environ 24 heures. Après cette période, la libération est plus lente, avec une tendance à l'équilibre d'atteindre un plateau vers 72 heures.

Il est possible que les interactions entre l'EG et la matrice polymère du complexe polyélectrolyte déterminent la perturbation de la diffusion du principe actif.

On peut conclure que la densité de réticulation des films joue fortement sur la cinétique de libération du principe actif ; l'effet est tout à fait logique, parce que la diffusion du principe actif est diminuée par l'augmentation du taux de réticulation comme on disait antérieurement.

IV.9.2. Cinétique de libération contrôlée de kétoprofène *in vitro*

La technique de libération contrôlée a été étudiée *in vitro*, quand les films contenant de médicament ont été suspendus directement dans la solution tampon, à une valeur du pH de 5.5. Pour cette étude on a choisi les trois films en différents rapports volumiques,

respectivement F9 (KTP), F10 (KTP) et F11(KTP). Les courbes de cinétique de libération pour les échantillons analysés sont représentées dans la figure IV.12.

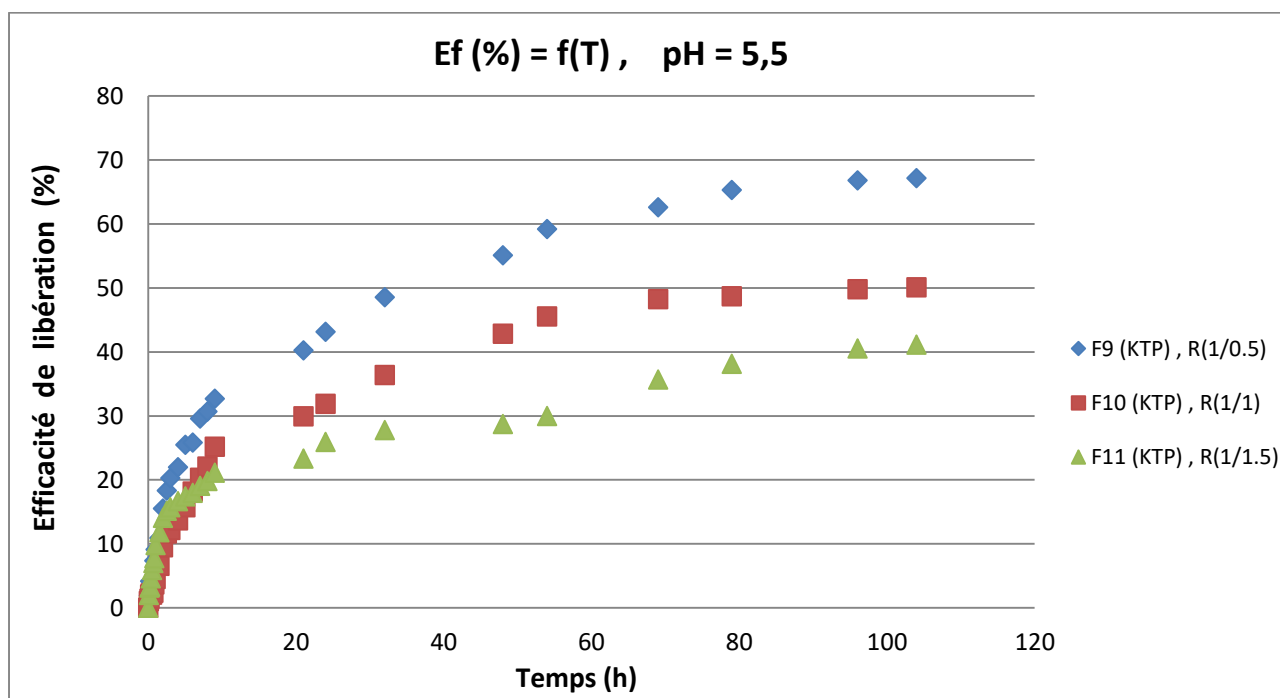


Figure IV.12: La cinétique de libération de kétoprofène pour les 3 films biopolymères: F9 (KTP), F10 (KTP) et F11(KTP) à pH = 5,5.

L'examen de la figure IV.12 montre la comparaison des cinétiques de libération entre les films F9, F10 et F11 qui permet d'évaluer l'impact de la structure polymérique sur le profil de libération du kétoprofène. Le film F9 libère plus rapidement que les films F10 et F11, cela indique que le film F9 moins réticulé, donc son réseau est plus poreux et laisse diffuser le KTP plus facilement. Par contre le film F11 libère lentement ou atteint un plateau plus bas et le KTP est mieux piégé et sa diffusion est plus lente, ce qui indique une forte densité de réticulation, donc un réseau plus compact.

IV.10. Détermination de l'activité antioxydante du principe actif

Les antioxydants sont des molécules qui, lorsqu'elles sont présentes à faibles concentrations par rapport aux substrats oxydables, retardent ou stoppent le processus d'oxydation. La capacité antioxydante de molécules peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit de manière *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique.

La plupart des méthodes de mesure de l'activité antioxydante sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition" dans les quelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir antioxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon.

L'activité antioxydante est évaluée par l'intermédiaire du IC50, qui exprime la valeur de la concentration du AH pour laquelle la concentration des radicaux de DPPH diminue à moitié de la valeur initiale. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est puissante. On a déterminé la valeur d'IC50 pour les trois films chargé du principe actif ; F5 (EG), F6 (EG) et F7(EG), pour le film F2 sans EG et pour l'EG libre. L'acide ascorbique a été utilisé comme composé de référence (standard). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure IV.13.

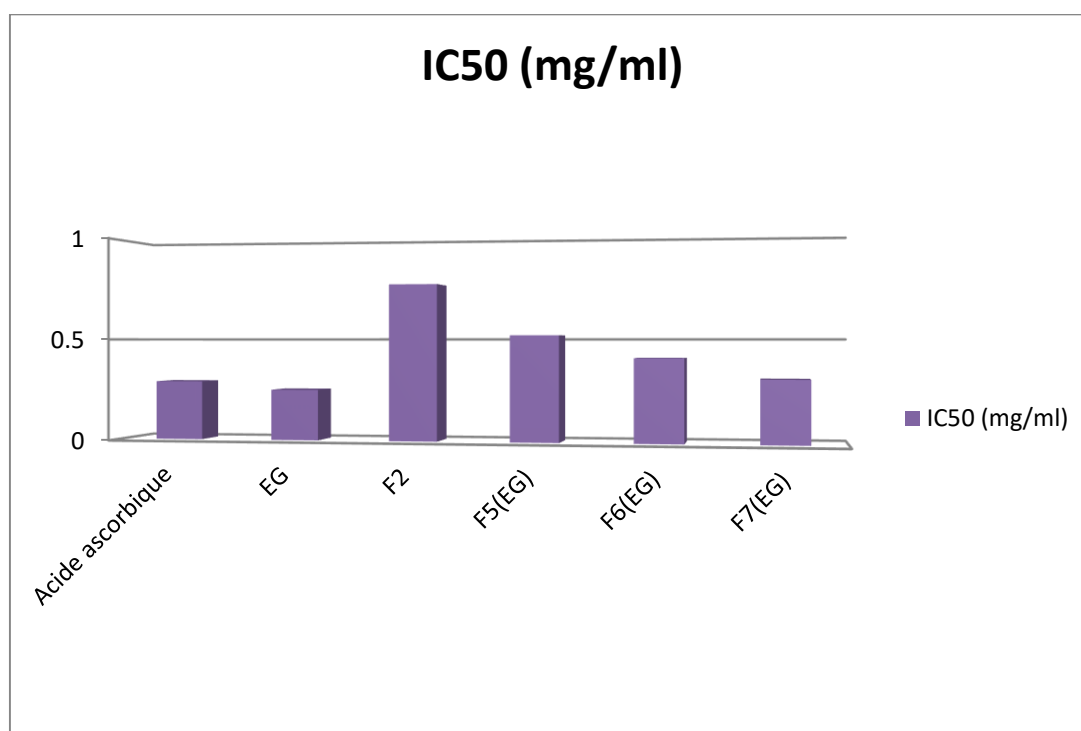


Figure IV.13 : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices IC50 des différents échantillons analysés en (mg/mL).

D'après les résultats présentés dans la figure IV.13, on constate que la valeur de concentration inhibitrice d'IC50 est diminuée lorsque la quantité de l'agent réticulant

(CMC/AC) ajoutée dans les films augmente. L'activité antioxydante du film hydrogel chargé de l'EG augmente à mesure que le degré de réticulation du film d'hydrogel aussi augmente. Lorsque la valeur IC₅₀ est inférieure, l'activité antioxydante est plus élevée.

Parmi les formulations encapsulées, le film F7(EG) possède la meilleure activité antioxydante (valeur IC₅₀ la plus basse), suggérant une efficacité de protection ou de libération optimale de l'extrait de gingembre. On a également aussi remarquer que la valeur d'IC₅₀ était significativement plus élevée pour le film F2 par rapport à celle obtenue pour le film F6(EG) chargé de du principe actif. Ceci a révélé la haute capacité de piégeage de DPPH de l'EG. Enfin, on peut dire que l'encapsulation de l'extrait de gingembre dans les matrices hydrogels permet de préserver partiellement l'activité antioxydante.

IV.11. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons obtenu des biomatériaux originaux à caractère hydrogel capables d'encapsuler le médicament. Les propriétés physico-chimiques des films dépendent de leur composition ainsi que de la présence du médicament dans la matrice polymère.

Le degré de gonflement en milieu aqueux et la capacité de libération du principe actif (EG) et (KTP) dépendent de la composition des matrices hydrogels. Le degré maximal de gonflement et la quantité du principe actif libérée augmentent avec la diminution de la quantité d'agent de réticulation, respectivement du rapport (NH₃⁺/COO⁻).

Les hydrogels biocomposites élaborés à base du complexe (CMC/AC/CSN) encapsulé par l'EG ayant des activités antioxydantes plus importantes par rapport à celles-ci préparés sans EG.

Conclusions générales

Conclusions générales et perspectives

Ce travail a porté sur le développement et la caractérisation d'un hydrogel composite innovant, basé sur des polymères naturels biodégradables, notamment le chitosane (CS), la carboxyméthylcellulose (CMC) et l'acide citrique (AC) utilisé comme agent réticulant. L'objectif principal était de concevoir un système de libération contrôlée destiné à deux substances actives : le kétoprofène, un anti-inflammatoire, et un extrait de gingembre, reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires naturelles et ses effets antioxydants. Celles-ci ont permis d'établir les conclusions générales qui seront présentées ci-après.

1. Des films d'hydrogel à base du complexe polyélectrolyte naturel de CMC/CSN réticulé avec l'AC ont été élaborés par gélification chimique en utilisant différents rapports volumiques entre les groupements amines protonés ($-\text{NH}_3^+$) du chitosane (CSN) et les groupements hydroxyles et carboxyles de la carboxyméthylcellulose (CMC), en présence d'acide citrique utilisé comme agent de réticulation. Ce dernier intervient dans la réaction d'estérification avec le CMC, favorisant ainsi des interactions électrostatiques entre les groupements fonctionnels des polymères.

2. La spectroscopie FT-IR a confirmé des changements significatifs dans la structure moléculaire ainsi que dans les propriétés physico-chimiques du complexe polyélectrolyte CMC/CSN peuvent être obtenus par l'ajout d'un agent de réticulation ionique (AC) dans les films d'hydrogel obtenus.

3. Il a été observé que des liaisons covalentes (réticulation par estérification) se forment entre les groupes amines protonés du CSN et les anions du CMC lors de la réaction de réticulation avec le réseau de la matrice CMC/AC renforcé par le CSN.

4. La réticulation de CMC/AC avec le CSN a influencé la structure moléculaire du complexe obtenu, son comportement de rugosité et sa capacité de gonflement, mais n'a pas modifié sa morphologie de surface.

5. Le principe actif a été inclus dans les films d'hydrogel par la méthode de diffusion et évaporation de l'alcool. L'efficacité d'encapsulation de l'EG et de kétoprofène est élevée, si elle est initialement dissoute dans l'éthanol qui est ensuite éliminé par évaporation; l'augmentation de la densité de réticulation de la matrice entraîne une diminution de la quantité du principe actif encapsulée.

6. Les caractéristiques de gonflement dans l'eau et la quantité du principe actif libérée par les films d'hydrogels préparés dans un milieu de pH=5.5 (ABS) sont améliorées en réduisant le degré de réticulation.

7. Les biomatériaux hydrogels élaborés à base du complexe (CMC/AC/CSN) encapsulée par l'EG ayant des activités antioxydantes plus importantes par rapport à celles-ci préparés sans EG.
8. Les matrices hydrogels obtenus à base de la matrice (CMC/AC/CSN) par réticulation ionique peuvent constituer des matrices pour l'inclusion et la libération des médicaments hydrosolubles, ces processus dépendant de la composition, la nature et la quantité d'agents de réticulation utilisés.
9. Comme perspectives ; Les résultats obtenus sont satisfaisants ce qui nous pousse à évaluer l'activité de nos biomatériaux *in vivo* afin d'évaluer la fiabilité des résultats obtenus *in vitro*.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]: Berradi, A., Aziz, F., Achaby, M.E., Ouazzani, N., & Mandi, L. (2023). A Comprehensive Review of Polysaccharide-Based Hydrogels as Promising Biomaterials. *Polymers*, 15(13), 2908.
- [2]: Benalaya I., Alves G., Lopes J., Silva LR., « A Review of Natural Polysaccharides: Sources, Characteristics, Properties, Food, and Pharmaceutical Applications », *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25, 1322.
- [3]: Zhao L., Zhou Y., Zhang J., Liang H., Chen X., Tan H., « Natural Polymer-Based Hydrogels: From Polymer to Biomedical Applications », *Pharmaceutics*, 2023, 15(10), 2514.
- [4]: Mohammad-Rahat, H.; Abul, K.M.; Mohammed-Mizanur, R.” *Handbook of Chitin and Chitosan. Chapter 13 - Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering*”. Elsevier. 2020, 407-431.
- [5]: Oliveira, L. A. et al. (2024). Arginine-biofunctionalized ternary hydrogel scaffolds of carboxymethyl cellulose–chitosan–polyvinyl alcohol to deliver cell therapy for wound healing. *Gels*, 10(11), 679.
- [6]: Dellali, M.; Iurciuc-Tincu, C.E.; Lenuta-Savin, C.; Spahis, N.; Djennad, M.; Popa, M.” *Hydrogel Films Based on Chitosan and Oxidized Carboxymethylcellulose Optimized for the Controlled Release of Curcumin with Applications in Treating Dermatological Conditions*”. *Molecules*.2021, 26, 2185.
- [7] :Toufik Chouana, « Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d’*Astragalus gombo bunge*. *Biologie végétale* ». Thèse de doctorat en sciences des Aliments.2017. Université Clermont Auvergne, France.
- [8] :Rioux, L.-E., Turgeon, S. L., & Beaulieu, M. (2010). Structural characterization and rheological properties of polysaccharides from marine macroalgae. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(1), 15–28.
- [9] :Piekarska, K.; Sikora, M.; Owczarek, M.; Józwick-Pruska, J.; Wiśniewska-Wrona, M. *Chitin and Chitosan as Polymers of the Future—Obtaining, Modification, Life Cycle Assessment and Main Directions of Application*. *Polymers* 2023, 15, 793.
- [10] :Delattre, C., Pierre, G., Laroche, C., & Michaud, P. (2005). Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, 23(6), 471–499.
- [11]:Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., & Ewart, H. S. (2011). Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine Drugs*, 9(2), 196–223.

Références bibliographiques

- [12]:Singh, R. S., Walia, A. K., & Kennedy, J. F. (2015). Exopolysaccharides from microbes: structural diversity and commercial applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(1), 1–20.
- [13]:Nicklin, J., Graeme-Cook, K., Killington, R., & Lovell, D. (1999). *Instant Notes in Microbiology*. BIOS Scientific Publishers.
- [14] : Kang, X., Kirui, A., DickwellaWidanage, M. C., Mentink-Vigier, F., Cosgrove, D. J., & Wang, T.; « Lignin-polysaccharide interactions in plant secondarycellwallsrevealed by solid-state NMR », *Nature communications*, 2019, 10, 1 347.
- [15] :Mohammed, A. S. A., Naveed, M., & Jost, N. (2021). Polysaccharides: Classification, chemical properties, and future perspective applications in fields of pharmacology and biological medicine (a review of current applications and upcoming potentialities) . *J Polym Environ*, 29(8):2359-2371.
- [16] : Sandford P. A., & Baird J. (1983). Industrial Utilization of Polysaccharides. *Pure and Applied Chemistry*, 55(5), 1065-1078]
- [17] : Sinha V. R., Kumria R. (2001). Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 224(1-2), 19-38.
- [18]: Jayakumar R., Prabakaran M., et al. (2010). Chitosan and its derivatives for drug delivery applications. *Biotechnology Advances*, 28(1), 142-150.
- [19]: Hennink W. E., van Nostrum C. F. (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 223-236.
- [20]: Tharanathan R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71-78
- [21]:Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632.
- [22] : Zhang ., Meng ., Fengshi Zhang ., Ci Li ., Heng An ., Teng Wan ., and Peixun Zhang. (2022). "Application of Chitosan and ItsDerivativePolymers in ClinicalMedicine and Agriculture" *Polymers* 14, no. 5: 958.
- [23] : Pal P., Pal A., Nakashima K., &Yadav B K.(2020). Applications of Chitosan in EnvironmentalRemediation: A Review. *Chemosphere*, 128934.
- [24] : Resarch G, V., (2017)."Chitosan Market Size To Reach USD 17.84 Billion By 2025.RensselaerPolytechnic Institute, Copyright ©1996-2010 (RPI).
- [25] : Abka-Khajouei, R., Tounsi, L., Shahabi, N., Patel, A. K., Abdelkafi, S., & Michaud, P. (2022). Structures, Properties and Applications of Alginates. *Marine drugs*, 20(6), 364.
- [26] :Antonietti, M. (1988). Micellar structures and lyotropic mesophases of block polymers. *Angewandte Chemie*, 100(12), 1813–1827.

- [27] :Kunz, D., & Burchard, W. (1986). Structure of aqueous polymer solutions from static and dynamic light scattering. *Colloid and Polymer Science*, 264(6), 498–507.
- [28]:Pelton, R. H., & Chibante, P. (1986). Preparation of colloidal microgels from poly(N-isopropylacrylamide) and crosslinkers. *Colloids and Surfaces*, 20, 247–256.
- [29]:Hirose, Y., Amiya, T., Hirokawa, Y., & Tanaka, T. (1987). Phase transition of polymer gels with cosolvents. *Macromolecules*, 20(6), 1342–1344.
- [30]: Sawai, T., Aizawa, K., Ito, T., & Suzuki, T. (1991). Phase separation of aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide) and sodium chloride. *Macromolecules*, 24(8), 2117–2119.
- [31]: Sawai, T., Shinohara, H., Ikariyama, Y., & Aizawa, M. (1991). Preparation of enzyme-immobilized poly(N-isopropylacrylamide) gel films for use in biosensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 297(1–2), 399–402.
- [32] : Hui E. (2017). Caractérisation et optimisation d'hydrogels de chitosane bioactifs et injectables pour applications biomédicales. Mémoire de l'École de Technologie Supérieure.
- [33] : Panel A / Guyomard-Lack C.M / Delorme N / Marquis M / Fang A / Bardeau J.F / Cathala B. (2012). Patterning surface by site selective capture of biopolymer hydrogel beads.
- [34] :D. Buenger, F. Topuz, J. Groll. *Polym. Sci.* 2012, 37, 1678-1719.
- [35] : M. El-Sherbiny, M. H. Yacoub. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* 2013, 3, 316-342.
- [36] : V. K. Thakur and M. K. Thakur (eds.); *Hydrogels, Gels Horizons: From Science to Smart Materials*; Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018; History, Classification, Properties and Application of Hydrogels: An Overview; https://doi.org/10.1007/978-981-10-6077-9_2.
- [37] :. Gong C, Shi S, Dong P, Kan B, Gou M, Wang X, Li X, Luo F, Zhao X, Wei Y, Qian Z. Synthesis and characterization of PEG-PCL-PEG thermosensitive hydrogel. *Int J Pharm.* 2009 Jan 5;365(1-2):89-99. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.08.027. Epub 2008 Aug 28. PMID: 18793709.
- [38] : F.Ullah, MB.Othman, F.Javed, Z. Ahmad, H .MdAkil, 2015, Classification, processing and application of hydrogels. *Mater.Sci. Eng.C Mater Biol. Appl.* V57, , 414-33.
- [39] :- Kokkarache du Varaprasad, Gownolla Malegowd Raghavendra, Tippabattini Jayaramudu, Murali Mohan Yallapu, Rotimi Sadiku; *Materials Science and Engineering C* 79 (2017) 958 971; A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications; <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.096>.
- [40] : P. Gacesa. *Carbohydr. Polym.* 1988, 8, 161-182.
- [41] : Ebara, M.; Kotsuchibashi, Y.; Uto, K.; Aoyagi, T.; Kim, Y.-J.; Narain, R.; Idota, N.; Hoffman, J. M. "Hydrogels. In *Smart Biomaterials*". NIMS Monographs; Springer Japan. 2014 , 9–65.

Références bibliographiques

- [42] : Hoare, T.R.; Kohane, D.S. “ Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges “. Polymer. 2008, vol. 49, 1993-2007.
- [43] : S. K. Samal, M. Dash, P. Dubruel and S. Van Vlierberghe, Ghent University, Belgium; Smart Polymers and Their Applications 2014, Pages 237-270; Smart polymer hydrogels: properties, synthesis and applications; <https://doi.org/10.1533/9780857097026.1.237>.
- [44] : Allan S. Hoffman; Polymer Gels pp 289-297; Conventional and Environmentally Sensitive Hydrogels for Medical and Industrial Uses: A Review Paper; https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4684-5892-3_21.pdf.
- [45] : Use of hydrogel beads for indoor plants; <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3a%2f%2far.imadeself.com%2fpodkormka-iuhod%2fgidrogelevye>
- [46] : Faheem Ullah, Muhammad Bisyrul Hafi Othman, Fatima Javed, Zulkifli Ahmad, Hazizan Md. Akil; Materials Science and Engineering C 57 (2015) 414–433; Classification, processing and application of hydrogels: A review; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493115302393>.
- [47] : Yallapu, M. M., Katti, K., & Katti, D. R. (2011). Polymer nanocomposites: synthesis and characterization. Elsevier.
- [48] : Shantha K, Harding D. Synthesis and evaluation of sucrose-containing polymeric hydrogels for oral drug delivery. Journal of applied polymer science. 2002;84(14):2597-2604.
- [49] : Tsou TL, Tang ST, Huang YC, Wu JR, Young JJ, Wang HJ. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) wound dressing containing ciprofloxacin and its drug release studies. J Mater Sci Mater Med. 2005 Feb;16(2):95-100. doi: 10.1007/s10856-005-5954-2. PMID: 15744596.
- [50] : MJ. Zohuriaan-Mehr, K. Kabiri, 2008, Super absorbent polymer materials. Iranian Polymer Journal V17,; 451-477
- [51] : Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. Advanced Drug Delivery Reviews, 54(1), 3–12. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00239-3](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00239-3)
- [52] : Tsou TL, Tang ST, Huang YC, Wu JR, Young JJ, Wang HJ. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) wound dressing containing ciprofloxacin and its drug release studies. J Mater Sci Mater Med. 2005 Feb;16(2):95-100. doi: 10.1007/s10856-005-5954-2. PMID: 15744596.
- [53] : Abdel-Azim A, Farahat MS, Atta AM, Abdel Fattah AA. Preparation and properties of two-component hydrogels based on 2-acrylamido-2-methylpropane sulphonic acid. Polymers for Advanced Technologies. 1998 Dec 4;9(5):282-289.
- [54] : Lin CC, Anseth KS. PEG hydrogels for the controlled release of biomolecules in regenerative medicine. Pharm Res. 2009 Mar;26(3):631-643. doi: 10.1007/s11095-008-9801-2. Epub 2008 Dec 18. PMID: 19089601; PMCID: PMC5892412.

- [55] : Park KR, Nho YC. Synthesis of PVA/PVP hydrogels having two-layer by radiation and their physical properties. *Radiation Physics and Chemistry*. 2003;67(3-4):361-365. doi: 10.1016/S0969-806X(03)00067-7.
- [56] : Kim B, Peppas NA. Poly (ethylene glycol)-containing hydrogels for oral protein delivery applications. *Biomedical Microdevices*. 2003;5(4):333-341. doi: 10.1023/A:1027313931273.
- [57] : Qiu Y, Park K. Superporous IPN hydrogels having enhanced mechanical properties. *AAPS PharmSciTech*. 2003;4(4):406-412. doi: 10.1208/pt040451.
- [58] : Abraham GA, de Queiroz AA, Román JS. Hydrophilic hybrid IPNs of segmented polyurethanes and copolymers of vinylpyrrolidone for applications in medicine. *Biomaterials*. 2001 Jul;22(14):1971-85. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00381-1. PMID: 11426875.
- [59] : doi: 10.1016/j.jare.2013.07.006. Epub 2013 Jul 18. PMID: 25750745; PMCID: PMC4348459.
- [60] : MJ. Zohuriaan-Mehr, K. Kabiri, 2008, Superabsorbent polymer materials. *Iranian Polymer Journal* V17,; 451-47759 N. Jarroux. *Techniques de l'ingénieur «Les biopolymères : Différentes familles, propriétés et applications, éco-conception et innovation responsable »*. 151-154, 2008.
- [61] : N. Jarroux. *Techniques de l'ingénieur «Les biopolymères : Différentes familles, propriétés et applications, éco-conception et innovation responsable »*. 151-154, 2008.
- [62] : POLYCOPIE DE COURS SUR LES BIOPOLYMERES Pour les étudiants en Master II Génie des Polymères
- [63] : Bouzidi. L; Chanoune. S, « Elaboration et caractérisation d'un composite totalement biodégradable », mémoire de master, université Abderahmen Mira – Bejaia, Algérie; 2017
- [64] : Aimesther Ojito Betancourt «Analyse, extraction et récupération de Poly-3-Hydroxybutyrate présent dans la biomasse », Université de Québec, Montréal. 2008.
- [65] : Behloul. L ; Hamdaoui. L, « Effet d'un Renfort biodégradable sur les propriétés physicomécaniques d'un biopolymère », mémoire de master, université Abderahmen Mira-bejaia, Algérie; 2015.
- [66] : Malkoch, M., Hedrick, J.L., & Wooley, K.L. (2023). *Radiation-induced Graft Polymerization and Crosslinking for Functional Hydrogel Fabrication*. *Macromolecular Rapid Communications*, 44(14), 2200786.
- [67] : Kim SC, Klempner D, Frisch KC, Frisch HL. Polyurethane interpenetrating polymer networks. 11V. Engineering properties of polyurethane-poly (methylmethacrylate) IPN's. *Journal of Applied Polymer Science*. 1977;21(5):1289-1295. doi: 10.1002/app.1977.07021051224. Ahmed EM. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J Adv Res*. 2015 Mar;6(2):105-

Références bibliographiques

- [68] : Club Bio-Plastique «Les bioplastiques d'origine végétale des produits renouvelables et biodégradables ». 2007
- [69] : Nina Quelenis «Les bioplastiques, caractéristiques et réglementation » Fiche Technique. 2008.
- [70] :HolyRabetalika ; Michel Paquot ; Philippe Du Bois «Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique », Service des matériaux polymères et composites, Université De Mons Hainant Belgique. 2006.
- [71] :Kong W.-Q. et al., Xylan-Modified Hydrogels with Temperature/pH Dual Sensitivity, Materials— Exemple clair de réponse stimuli thermique et pH (2017, DOI :10.3390/ma10030304)
- [72] : A.Kindness , P. Oghenefego , S.Okwuchi . A . Walid . Daoud , Citric acid crosslinked natural bi-polymer-based composite hydrogels: Effect of polymer ratio and beta-cyclodextrin on hydrogel microstructure , Reactive and Functional Polymers 154 (2020) 104682.
- [73] : Zancan, K.C., Marques, M.O.M., Petenate, A.J., Meireles, M.A.A. (2002). Extraction of essential oils from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by steam distillation and supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*, **24**(1), 57–76. [https://doi.org/10.1016/S0896-8446\(02\)00006-0](https://doi.org/10.1016/S0896-8446(02)00006-0)
- [74] : Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50**(1), 27–46. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00090-4](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00090-4)
- [75] : M. R. Guilherme, A. V. Reis, E. C. Muniz, A. F. Rubira, R. de A. Tambourgi. Superabsorbent hydrogels based on modified polysaccharides for biomedical applications. *European Polymer Journal*, **41** (2005) 1633–1640
- [76] : Das, S., & Chaudhury, A. (2011). Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, **12**(1), 62–76. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9563-0>
- [77] : Dash, S., Murthy, P.N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, **67**(3), 217–223. http://www.ptfarm.pl/pub/File/Acta_Poloniae/2010/3/217.pdf
- [78] :Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, **15**(6), 4324–4333. <https://doi.org/10.3390/molecules15064324>
- [79] :Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical DPPH for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, **26**(2), 211–219. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/SJST/10400468.pdf>

[80] :Wang, W., Wang, A. (2010). Synthesis and swelling properties of pH-sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on chitosan and carboxymethylcellulose. *Carbohydrate Polymers*, 82(4), 472–479. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.019>

[81] :Bajpai, S.K., & Rajpoot, M. (2019). Citric acid crosslinked cellulose-based hydrogels for biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 381–394. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.219>

[82] : M. F. Bósquez-Cáceres , L. De Lima, V. M.Córdova , A. D. Delgado , J. Béjar , N. Arjona , L. Á.Contreras , and J.P. Tafur, Chitosan-Carboxymethylcellulose Hydrogels as Electrolytes for Zinc–Air Batteries: An Approach to the Transition towards Renewable Energy Storage Devices , *Batteries* 2022, 8, 265. <https://doi.org/10.3390/batteries8120265>