REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Yahia Farés de Médéa



Faculté des Sciences

Département de science de la nature et de la vie

Thèse de Doctorat LMD

En sciences biologiques

Option : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Présentée par :

TOUMI Selma

Thème

Synthèse et évaluation des propriétés de biopolymères fonctionnalisés pour application pharmaceutique

Devant le jury composé de :

REBOUH Samia	MCA	Univ YF de Médéa	Présidente
HADJZIANE Amel	Pr	Univ SD de Blida	Examinatrice
BOUKHELKHAL Asmaa	MCA	Univ YF de Médéa	Examinatrice
LEFNAOUI Sonia	Pr	Univ YF de Médéa	Directrice de thèse
HADJSADOK Abdelkader	Pr	Univ SD de Blida	Invité

Année Universitaire
2021/2022

« Soignez-vous avec la graine de nigelle,
c'est un remède contre tous
les maux à l'exception de la mort ».

Le prophète Mahomet
(Que la prière et le salut d'Allah soient sur lui)

Remerciements

Je remercie ALLAH le tout Puissant, le Miséricordieux, qui m'a donné la force et la volonté d'achever ce travail de recherche, nous lui rendons grâce en disant ″Alhamdoulilah″ !!!

Je tiens à présenter en premier lieu mes sincères remerciements et mon profond respect à ma Directrice de Thèse, Madame **LEFNAOUI Sonia** Professeur à l'université de Médéa. Merci pour votre encadrement exceptionnel, votre bienveillance, disponibilité. Votre professionnalisme et vos encouragements m'ont permis d'évoluer tout au long de ces trois années de thèse. Ce sujet nous a conduits vers des échanges passionnants et ce fut un plaisir de travailler avec vous

Je voudrais ensuite, remercier chaleureusement Madame **YAHOUM Madiha Melha**, Maîtres de Conférences à l'université de Médéa, pour sa motivation, son enthousiasme, son immense appui scientifique et ses précieux conseils qui m'ont énormément aidé tout au long de la préparation et de la rédaction de cette thèse. Je suis ravie et fière d'avoir travaillé à ses côtés.

J'adresse aussi, mes sincères remerciements à Madame **REBOUH Samia**, Maître de Conférences à l'université de Médéa, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je remercie, Madame **HADJZIANE Amel**, Professeur à l'Université de Blida1 et madame **BOUKHELKHAL Asmaa** Maître de Conférences A à l'Université de Médéa d'avoir accepté d'examiner mon travail en la qualité d'expertes.

Un grand merci à Monsieur **HADJSADOK Abdelkader**, Professeur à l'université de Blida1 pour avoir accepté de faire partie de ce jury en tant que membre invité et de m'avoir ouvert les portes du Laboratoire des Analyses Fonctionnelles des Procédés Chimiques. Monsieur, je vous serais toujours reconnaissante pour votre aide et pour tous les moyens que vous avez mis à ma disposition. Ce fut un grand honneur pour moi de travailler avec vous.

Je ne saurais oublier de remercier les directeurs des laboratoires de Biologie et pharmacologie expérimentale (LBPE) et Biomatériaux et Phénomènes de Transport (LBMPT) à l'université de Médéa, d'avoir acceptés de m'y accueillir au cours de ces années pour la réalisation de mes travaux de thèse.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi aux responsables des laboratoires de la faculté des sciences, pour m'y avoir accueilli et pour la confiance qu'ils m'ont accordée au cours de toutes ces années. Pour leur généreuse contribution à cette recherche, j'adresse mes remerciements d'une part au personnel des Laboratoires *Merinal*, et d'autre part à celui du Laboratoire de Physico-Chimie de l'entreprise Saidal – Antibiotical. J'associe à ces

remerciements, les Centres de recherche sur l'analyse physique et chimique, CRAPC de Tipaza et CRAPC d'El Aghouat.

Je remercie de tout mon cœur mes amies intimes et fidèles avec qui j'ai partagé les meilleurs moments pendant mon cursus de graduation et ces années de formation en doctorat.
J'adresse aussi un grand merci à tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.
Enfin, j'aimerais dédier cette thèse à mes parents pour leur affection, leur patience et surtout pour leur soutien sans faille. Merci à vous, d'avoir toujours été là pour moi, pour me soutenir et m'encourager tout au long de mes études.
Je termine par une pensée à ma famille en général et en particulier à mes frères et sœur sans oublier mes cousins et cousines.

TOUMI SELMA

Résumé

Liste des tableaux

Liste de figures

Liste des abréviations et des symboles

Introduction générale **01**

Chapitre I : Partie bibliographique

I.1. INTRODUCTION **05**

I.2. LES POLYSACCHARIDES **06**

I.3. CLASSIFICATION DES POLYSACCHARIDES **06**

I.3.1. les polysaccharides alguals **07**

a) Polysaccharides de Phaeophyceae -algues brunes **07**

b) Polysaccharides de Rhodophyceae –algues rouges **07**

I.4. POLYSACCHARIDES DES ALGUES ROUGES **07**

I.4.1. Les carraghénanes **07**

I.4.1.1. Structure et nomenclature des carraghénanes. **08**

I.4.1.2. Classification des carraghénanes **08**

a) La famille kappa (G4S) **08**

b) La famille lambda (G2S) **09**

c) La famille iota (G4S-DA2S) **09**

d) La famille beta (G) **09**

e) La famille omega (G6S) **09**

I.4.1.3. Propriétés fonctionnelles des carraghénanes. **10**

I.4.1.4. Application des caraghénanes **13**

I.4.2. Kappa carraghénane **13**

I.5. MODIFICATION CHIMIQUE DES POLYSACCHARIDES **15**

I.5.1. Stratégie de synthèse des polysaccharides hydrophobiquement modifiés **16**

I.5.1.1. Éthérification par les dérivés halogénés **16**

I.5.1.2. Éthérification par les dérivés époxydes **18**

I.5.1.3. Estérification par des dérivés hydrophobes d'acide carboxylique ou des halogénures alkylés **21**

I.5.1.4. Alkylation (arylation) par des dérivés isocyanates **22**

I.5.2. Modification chimique du kappa carraghénane **23**
I.5.2.1. Réaction de carboxyméthylation **23**
I.5.2.2. Thiolation **24**
I.5.2.3. Réaction d'acétylation **25**
I.5.2.4. Réaction de Phosphorylation **25**
I.5.2.5. Réaction de Sulfatation **26**
I.5.2.6. Réaction d'Oxydation **26**
I.5.2.7. Cationisation du kappa carraghénane **27**
I.6. LES DISPERSIONS **27**
I.6.1. Les émulsions **27**
I.6.1.1.Structure des émulsions **28**
I.6.1.2. Composition des émulsions **29**
I.6.1.2.1. Phase hydrophile **29**
I.6.1.2.2. Phase hydrophobe **29**
I.6.1.2.3. Emulsifiant **29**
I.6.1.3. Types d'émulsions **30**
I.6.1.3.1. Émulsions simples **31**
I.6.1.3.2. Émulsions doubles ou multiples **31**
I.6.1.4. Classification des émulsions **32**
I.6.1.4.1. Macroémulsion **32**
I.6.1.4.2. Microémulsion **32**
I.6.1.4.3. Nanoémulsion **32**
I.6.1.5. Instabilité des émulsions **33**
I.6.1.5.1. Floculation **33**
I.6.1.5.2. Coalescence **33**
I.6.1.5.3. Sédimentation et crémage **33**
I.6.1.5.4. Mûrissement d'Ostwald **34**
I.6.1.5.5. Inversion de phases **34**
I.6.1.6. Modes de stabilisation des émulsions **34**
I.6.1.6.1. Stabilisation électrostatique **34**
I.6.1.6.2. Stabilisation stérique **35**
I.6.1.6.3. stabilisation électrostérique **36**

I.6.1.6.4. Stabilisation couche par couche **37**

I.6.2. Hydrogels et Emulgels **37**

I.6.2.1. Hydrogels **37**

I.6.2.2. Emulgels **39**

I.6.2.3. Formulation des émulgels **41**

I.6.2.4. Caractérisation des émulgels **42**

a) Contrôles macroscopiques **42**

b) Contrôles microscopiques **42**

c) Tests d'étalement **42**

d) Indice de Gonflement **43**

e) Uniformité de teneur **43**

f) Tests d'irritation cutanée **43**

g) Etude de libération in-vitro et in-vivo **43**

h) Evaluation rhéologique des émulgels **44**

I.7.Conclusion **44**

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. INTRODUCTION **46**

II.2. APPAREILLAGE ET PRODUITS CHIMIQUES **46**

II.2.1. Appareillage **46**

II.2.2. Produits chimiques et microbiologiques **47**

II.2.3. Matières premières **47**

II.2.3.1. Diclofenac de soduim (DCL) : Principe actif **47**

II.2.3.2. Kappa carraghénane **49**

II.2.3.3. Huile de nigelle **49**

II.2.3.4. Hydroxypropylméthylcellulose **50**

II.2.3.5. Propylène glycol **50**

II.3. MODIFICATION HYDROPHOBE DU KAPPA CARRAGHENANE **51**

II.3.1. Procédé de modification hydrophobe du kappa carraghénane **51**

II.3.1.1. Ethérification du KC **51**

II.3.1.2. Esterification du KC **52**

II.3.2. Caractérisations physico-chimiques **52**

II.3.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) **52**
II.3.2.2. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN^{1}H) **52**
II.3.2.2.1. Le degré de substitution (DS) **52**
II.3.2.3. Microscopie électronique à balayage (SEM) **53**
II.3.2.4. Diffraction des rayons X (DRX) **53**
II.3.2.5. Analyse thermogravimétrique (ATG) et balayage différentiel calorimétrique (DSC) **54**
II.3.2.6. Analyse rhéologique **54**
II.3.2.7. Détermination du poids moléculaire moyen **54**
II.3.2.8. Concentration d'agrégation critique (CAC) **55**
II.3.2.9. Diffusion dynamique de la lumière (DLS) **55**
II.3.2.10. Pouvoir émulsifiant **55**
II.3.2.10. 1. Aspect macroscopique **56**
II.3.2.10. 2. Indice de crémage **56**
II.3.2.10. 3. Aspect microscopique **56**
II.4. FORMULATION DES ÉMULGELS À BASE DE KC ET SES DÉRIVÉS **57**
II.4.1. Compatibilité principe actif – excipients **57**
II.4.2. Formulation des émulgels chargées en principe actif Diclofénac de sodium **57**
II.5. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES A BASE DE DICLOFENAC DE NA **57**
II.5.1. Aspect macroscopique **58**
II.5.2. Détermination du pH **58**
II.5.3. Dosage du principe actif (DCL) par spectroscopie UV-Visible **58**
II.5.4. Sens des émulgels **58**
II.5.5. Test d'étalement **58**
II.5.6. Test de stabilité à la centrifugation (indice de crémage) **58**
II.5.7. Analyse microscopique et distribution granulométrique des émulgels **59**
II.5.8. Stabilité à long terme **59**
II.5.9. Analyse rhéologique **59**
II.5.10. Test de libération in vitro **59**
II.5.11. Test de diffusion ex-vivo **59**

II.5.12. Contrôle de la qualité microbiologique **60**

II.6. CONCLUSION **60**

Chapitre III : Modification hydrophobe du KC

III.1. INTRODUCTION **61**

III.2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET RHEOLOGIQUE DES DERIVES DU KC **61**

III.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) **61**

III.2.2. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ^{1}H) **63**

III.2.3. Degré de substitution (DS) **65**

III.2.4. Microscopie électronique à balayage (MEB) **66**

III.2.5. Diffraction des rayons X (DRX) **67**

III.2.6. Analyses thermiques **68**

III.2.7. Détermination du poids moléculaire moyen **70**

III.2.8. Étude rhéologique **71**

III.2.8.1.Courbes d'écoulement **71**

III.2.8.2.Propriétés viscoélastiques linéaires **72**

III.2.8.3. Etude de viscoélasticité dynamique **73**

III.2.9. Détermination de la concentration d'agrégation critique (CAC) **74**

III.2.10. Diffusion dynamique de la lumière **75**

III.2.11. Pouvoir émulsifiant **77**

III.2.11.1. Aspect macroscopique **77**

III.2.11.2. Indice de crémage **78**

III.2.11.3. Test de stabilité à long terme **78**

III.2.11.4. Aspect microscopique **79**

III.3. CONCLUSION **83**

Chapitre IV : Formulation des émulgels stabilisés par KC et ses dérivés

IV.1 INTRODUCTION **84**

IV.2. ETUDE DE LA COMPATIBILITÉ PRINCIPE ACTIF-EXCIPIENTS **84**

IV.3. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES ÉMULGELS A BASE DE DICLOFENAC DE NA **86**

IV.3.1. Aspect macroscopique **86**
IV.3.2. pH **86**
IV.3.3. Dosage du principe actif par UV-Visible **87**
IV.3.3.1. Dosage du principe actif (DCL) dans les émulgels étudiés **88**
IV.3.4. Evaluation du sens de l'émulsion dans les émulgels **88**
IV.3.5. Test d'étalement **89**
IV.3.6. Stabilité accélérée par centrifugation **89**
IV.3.7. Analyse microscopique et distribution granulométrique des émulgels **90**
IV.3.8. Stabilité à long terme **95**
IV.3.9. Analyse rhéologique **95**
IV.3.9.1. Courbes d'écoulement **95**
IV.3.9.2. Propriétés viscoélastiques linéaires **96**
IV.3.9.3. Propriétés viscoélastiques dynamiques **97**
IV.3.10. Test de libération in vitro **98**
IV.3.11. Test de diffusion ex-vivo **101**
IV.3.12. Contrôle de la qualité microbiologique **103**
IV.4. CONCLUSION **106**
Conclusion générale **107**
Références bibliographiques
Annexe

الملخص

لقد تم تحضير مشتقين (KCRs وKC-OSAs) من الكابا كراجينان (KC) عن طريق تفاعلين: الأثيرة باستخدام الكلوروكتان(KCRs) والأسترة باستخدام (2-اوكتن-1يل سكسينيك اللامائي) (KC-OSAs)، باستخدام طريقتين للتسخين بالميكروويف (MM) وبالطريقة التقليدية (CM). أكدت التحليلات : التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء وتحليل الرنين المغناطيسي النووي للبروتون استبدال المجموعات الكارهة للماء على جزيء KC. تختلف درجة الاستبدال (DS) لكل من المشتقات التي تم الحصول عليها ، اعتمادًا على نوع التفاعل وطريقة التسخين المطبقة. تشير النتائج إلى قيم DS أعلى للمشتقات التي تم الحصول عليـها بواسطـة بالميكروويف DS = 0.77 لـ (KCR MM) و DS = 0.85 لـ (KC-OSA) ، مقارنة بالطريقة التقليدية DS =0.45 لـ (KCR CM) و DS =0.62 لـ (KC-OSA CM). أظهرت تحليلات الانحراف للاشعة السينية والمسح المجهري الإلكتروني أن تفاعلات الأثيرة والأسترة لم تفسد الخصائص المورفولوجية والبلورية بالإضافة إلى الخصائص الحرارية والريولوجية للمشتقات التي تم الحصول عليها. تمت دراسة قدرة الاستحلاب للمشتقات من خلال تحديد تركيز التجميع الحرج (CAC) ، والتي تتناسب قيمها عكسًا مع DS لمشتقات KC. وبالتالي ، تم العثور على CACs مساوية لـ 0.08٪ (P/V) لـ KC-OSA MM و 0.13٪ (P/V) لـ KCR- MM بينما وصلت CACإلى 0.12٪ (P/V) لـ KC-OSA CM و 0.15٪ (P/V) لـ KCR CM بالإضافة إلى ذلك لوحظ أن المشتقات التي تم الحصول عليها بواسطة الميكروويف شكلت مستحلبات زيت / ماء ثابتة ، مع حجم قطيرة يتناقص مع زيادة DS وهكذا أتاح التصنيع بالميكروويف الحصول على مشتقات ذات DS أعلى وذات طابع أمفيفيلي مع قوة استحلاب أكبر.تمت صياغة وتمييز المستحلبات القائمة على ديكلوفيناك الصوديوم (DCL) المستقرة بواسطة KC ومشتقاته. أظهرت التركيبات المعتمدة على المشتقات KCRs و KC-OSAs ثباتًا فيزيائيًا كيميائيًا جيدًا مع بنى مجهرية متجانسة. مكنت الدراسة الصيدلانية الحيوية من تقييم حركة التحرير والإنتشار لـ DCL. أظهرت النتائج أن المستحلبات الهلامية المعتمدة على مشتقات KC مظهر تحرير طويل لـ DCL ، ولاسيما المستحلبات المستقرة بمشتق KC-OSA MM ، مما يوفر تحريرا أفضل ولكن أيضًا انتشار أكبر لـ DCL بطريقة مطولة لأكثر من 24 ساعة. وبالتالي يمكن اعتبار مشتقات KC المعدلة الكارهَة للماء كسواغات مفضلة لتركيب وتثبيت وتحرير مستدام لـ DCL.

الكلمات المفتاحية: كابا كاراجينان ، تعديلات كارهة للماء ، قوة الاستحلاب ، المثبتات ، السواغات الصيدلانية ، المستحلبات

RESUME

Deux dérivés (KCRs et KCREs) du kappa carraghénane (KC) ont été synthétisés par deux réactions : une éthérification (KCRs) et une estérification (KCREs), en utilisant deux modes de chauffage, par micro-ondes (MM) et par la méthode conventionnelle (CM). Les analyses FTIR et ^{1}H-RMN ont confirmé la substitution des groupements hydrophobes sur la molécule de KC. Le degré de substitution (DS) varie pour chacun des dérivés obtenus, selon le type de réaction et le mode de chauffage appliqué. Les résultats indiquent des valeurs de DS plus élevées pour les dérivés obtenus par MM (DS=0.77 pour KCR MM et DS=0.85 pour KCRE MM), par rapport au mode CM (DS=0.45 pour KCR CM et DS=0.62 pour KCRE CM). Les analyses DRX et MEB ont montré que les réactions d'éthérification et d'estérification n'ont pas altérées les propriétés morphologiques, cristallographiques, ainsi que les propriétés thermiques et rhéologiques des dérivés obtenus. La capacité émulsifiante des dérivés a été étudiée par la détermination de la concentration d'agrégation critique (CAC), dont les valeurs sont inversement proportionnelles au DS des dérivés de KC. Ainsi, les valeurs de CAC trouvées étaient égales à 0,08 % (p/v) pour KCRE MM et 0.13% (p/v) pour KCR MM. Alors que la CAC a atteint 0,12 % (p/v) pour KCRE CM et 0.15% (p/v) pour KCR CM. En outre, il a été constaté que les dérivés obtenus par micro-ondes forment des émulsions huile/eau stables, avec une taille des gouttelettes qui diminue avec l'augmentation du DS. Ainsi, la synthèse par micro-ondes a permis d'obtenir des dérivés ayant un DS plus élevé et un caractère amphiphile avec un pouvoir émulsifiant plus important. Des émulgels à base de Diclofénac de sodium (DCL) stabilisées par KC et ses dérivés ont été formulés et caractérisés. Les formulations à base des dérivés KCRs et KCREs ont montré une bonne stabilité physico-chimique avec des microstructures homogènes. L'étude biopharmaceutique a permis d'évaluer la cinétique de libération et de diffusion du DCL. Les résultats ont montré que les émulgels à base des dérivés de KC exhibent des profils de libérations prolongées du DCL, notamment les émulgels stabilisés avec le dérivé KCRE MM, offrant une meilleure libération mais également une plus grande diffusion du DCL de façon prolongée pendant plus de 24h. Ainsi, les dérivés hydrophobiquement modifiés de KC peuvent être considérés comme des excipients de choix pour la formulation, la stabilisation et la libération prolongée du DCL.

Mots clé : Kappa carraghénane, Modifications hydrophobes, Pouvoir émulsifiant, Stabilisants, Excipients pharmaceutiques, Emulgels

ABSTRACT

Two derivatives (KCRs and KCREs) of kappa carrageenan (KC) were synthesized by two reactions: etherification (KCRs) and esterification (KCREs), by applying two heating methods, microwave (MM) and conventional method (CM). The FTIR and ^{1}H-NMR analyses confirmed the substitution of the hydrophobic groups on the KC molecule. The degree of substitution (DS) varies from one derivative to another depending on the reaction type and the applied heating method. The results indicate higher DS values for the derivatives obtained by MM (DS = 0.77 for KCR MM and DS = 0.85 for KCRE MM), compared to the CM method (DS = 0.45 for KCR CM and DS = 0.62 for KCRE CM). The XRD and SEM analyses revealed that the etherification and esterification reactions did not alter the morphological and crystallographic properties, as well as the thermal and rheological properties of the obtained derivatives. The emulsifying capacity of the derivatives was studied by determining the critical aggregation concentration (CAC), the values of this latter were inversely proportional to DS of the KC derivatives. Thus, the CAC values were found equal to 0.08% (w / v) for KCRE MM and 0.13% (w / v) for KCR MM. While CAC values reached 0.12% (w / v) for KCRE CM and 0.15% (w / v) for KCR CM. In addition, it was found that the derivatives obtained by microwaves form stable oil / water emulsions, with a droplet size that decreases with the increasing DS. Hence, KC derivatives with higher DS values and an amphiphilic character with a greater emulsifying power were obtained by the microwave synthesis. Emulgels of sodium diclofenac (DCL) stabilized with KC and its derivatives were formulated and characterized. The formulations of KCRs and KCREs derivatives exhibited good physicochemical stability with homogeneous microstructures. The biopharmaceutical study evaluated the release and diffusion kinetics of DCL. The results showed that emulgels based on KC derivatives exhibit prolonged release profiles of DCL, in particular emulgels stabilized with the KCRE MM derivative, offering better release but also greater diffusion of DCL in a prolonged manner for more than 24 hours. Thus, the hydrophobically modified derivatives of KC can be considered as excipients of choice for the formulation, stabilization and sustained release of DCL.

Keywords: Kappa carrageenan, Hydrophobic modifications, Emulsifying power, Stabilizers, Pharmaceutical excipients, Emulgels.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Tableau II.1 Différents appareils utilisés. **46**

Tableau II.2 Réactifs, solvants et produits chimiques **47**

Tableau II.3 Désignation et origine des milieux de culture utilisés. **47**

Tableau II.4 Propriétés physico-chimiques du Diclofénac de sodium. **48**

Tableau II.5 Composition massique des émulsions formulées à base de KC et KCRs. **56**

Tableau II.6 Composition massique des émulsions formulées à base de KC et KC-OSAs. **56**

Tableau II.7 Matrice de formulation des émulgels à base de KC et ses dérives. **57**

Chapitre IV : Formulation des émulgels stabilisées par KC et ses dérivés

Tableau IV.1 Résultats de l'ajustement de courbe d'étalonnage du Diclofénac de sodium. **87**

Tableau IV.2 Titre en principe actif (DCL) des émulgels. **88**

Tableau IV.3 Evaluation de l'indice de crémage des émulgels soumis à différentes vitesses de centrifugation. **90**

Tableau IV.4 Ajustement des profils de dissolution aux modèles étudiés. **100**

Tableau IV.5 Résultats des tests microbiologiques **104**

Chapitre I :Partie bibliographique

Figure I.1	Structures Chimiques des carraghénanes.	**10**
Figure I.2	Théories de la transition sol/gel du κ-carraghénane en présence d'ions K+. (A) Théorie du « Model domain », (B) Théorie « Nested helices model ». (B) Les ions K+ sont représentés par (●)	**12**
Figure I.3	Représentation des conformations chaises présente dans le κ-carraghénane	**14**
Figure I.4	Schéma des doubles hélices de κ-carraghénane. Les cercles rouges indiquent les groupements sulfates.	**14**
Figure I.5	Stratégies de synthèse de dérivés des polysaccharides hydrophobiquement modifié.	**16**
Figure I.6	Ethérification d'un polysaccharide par un halogénure d'alkyle (R-X)	**17**
Figure I.7	Structure des deux types de dérivés époxydes utilisés pour préparer les polysaccharides modifiés hydrophobiquement : l'époxyde d'alkyle (époxyde de R) et l'éther glycidylique d'alkyle (éther de R-glycidyle).	**18**
Figure I.8	Réaction d'éthérification des polysaccharides avec l'époxyde d'alkyle (époxyde de R) et l'éther de glycidyle d'alkyle (éther de R-glycidyle).	**19**
Figure I.9	Estérification des polysaccharides avec des dérivés hydrophobes d'acide carboxylique avec (i) anhydride acylique ou (ii) halogénure acylique.	**21**
Figure I.10	Estérification des polysaccharides acides (Acide hyaluronique) avec des halogénures alkyles (aryles).	**22**
Figure I.11	Réaction de carbamoylation du polysaccharide.	**22**
Figure I.12	Schéma des modifications chimiques du κ-carraghénane	**23**
Figure I.13	Réaction de carboxyméthylation de kappa carraghénane.	**24**
Figure I.14	Réaction de thiolation du kappa carraghénane.	**24**
Figure I.15	Réaction de phosphorylation du kappa carraghénane.	**25**
Figure I.16	Réaction de sulfatation du kappa carraghénane.	**26**
Figure I.17	Réaction d'oxydation du kappa carraghénane.	**26**
Figure I.18	Réaction de cationisation de kappa carraghénane.	**27**
Figure I.19	Schématisation de la structure d'une gouttelette d'huile dans une émulsion huile dans eau (H/E), stabilisée par un tensioactif.	**28**
Figure I.20	Différents types de tensioactifs.	**30**
Figure I.21	Structure des émulsions simples : Huile dans Eau (H/E) et eau dans huile (E/H) [1].	**31**
Figure I.22	Emulsions doubles.	**32**
Figure I.23	Phénomènes de déstabilisation des émulsions	**34**

Figure I.24	Double couche électrique.	**35**
Figure I.25	Schéma de la stabilisation stérique.	**36**
Figure I.26	Stabilisation électrostérique : (a) particules chargées avec un polymère non ionique, (b) polyélectrolyte attaché avec des particules non chargées.	**36**
Figure I.27	Utilisation du mécanisme de stabilisation couche par couche (Layer by layer stabilisation, LBL) pour la production d'émulsion H/E.	**37**
Figure I.28	Synthèse d'hydrogels par polymérisation et réticulation simultanées à partir de monomères (a) et par réticulation de chaînes polymères fonctionnalisées (b).	**38**
Figure I.29	Représentation d'un hydrogel de polymère gonflé dans l'eau, réticulé chimiquement ou physiquement et présentant différents types de défauts structuraux.	**38**
Figure I.30	Procédé de préparation des émulgels.	**42**
Figure I.31	Schéma d'une cellule de diffusion de Franz.	**44**

Chapitre II : Matériel et méthodes

Figure II.1	Structure chimique du Kappa Carraghénane	**49**
Figure II.2	Structure chimique de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)	**50**
Figure II.3	Structure chimique du propylène glycol (PG)	**50**
Figure II.4	Réactions d'éthérification (a) et d'esterification (b) du KC.	**51**

Chapitre III : Modification hydrophobe du KC

Figure III.1	Spectres FTIR de KC (a), KCR CM (b) et KCR MM (c).	**62**
Figure III.2	Spectres FTIR de KC (a), KC-OSA CM (b) et KC-OSA MM (c).	**63**
Figure III.3	Spectre RMN^{1}H du KC natif.	**63**
Figure III.4	Spectre RMN^{1}H des dérivés de KC : KCR MM (a) et KCR CM (b).	**64**
Figure III.5	Spectre RMN^{1}H des dérivés de KC : KC-OSA MM (a) et KC-OSA CM (b).	**65**
Figure III.6	Degrés de substitution (DS) des dérivés du KC :	**65**
Figure III.7	Image microscopique MEB du KC : 1000X, 50µm (a), 6000X, 10µm (b) et 16000X, 5µm (c).	**66**
Figure III.8	Images microscopiques MEB de KCR MM et de KCR CM : 1000X, 50µm (a), 6000X, 10µm (b) et 16000X, 5µm (c).	**66**
Figure III.9	Images microscopiques MEB de KC-OSA MM et de KC-OSA CM : 1000X, 50µm (a), 6000X, 10µm (b) et 16000X, 5µm (c).	**67**

Figure III.10	Spectres de diffraction au rayon X du kappa carraghénane.	**68**
Figure III.11	Degré de cristallinité du KC et ses dérivés.	**68**
Figure III.12	Thermogrammes DSC de KC et ses dérivés.	**69**
Figure III.13	Thermogrammes d'Analyse Thermogravimétrique du KC et ses dérivés.	**70**
Figure III.14	Thermogrammes des Dérivés Thermogravimétrique du KC et ses dérivés.	**70**
Figure III.15	Valeurs du poids moléculaire du KC native et de ses dérivés.	**71**
Figure III.16	Courbes d'écoulement de KC, et KCRs (KCR MM et KCR CM) à des concentrations de 0.75 %(p/v) (a) et 1 % (p/v) (b).	**72**
Figure III.17	Courbes d'écoulement de KC, et KC-OSAs (KC-OSA MM et KC-OSA CM) à des concentrations de 0.75 %(p/v) (a) et 1 % (p/v) (b).	**72**
Figure III.18	Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la déformation de KC, et KCRs à des concentrations de 0.75 % (a) et 1 % (b) à 1Hz et 25°C.	**73**
Figure III.19	Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la déformation de KC, et KC-OSAs à des concentrations de 0.75 % (a) et 1 % (b) à 1Hz et 25°C.	**73**
Figure III.20	Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la fréquence de KC et KCRs à des concentrations de 0.75 % (a) et 1 % (b).	**74**
Figure III.21	Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la fréquence de KC et KC-OSAs à des concentrations de 0.75 % (a) et 1 % (b).	**74**
Figure III.22	Variation de la conductivité en fonction des concentrations de KCR MM (a), et de KCR CM (b)	**75**
Figure III.23	Variation de la conductivité en fonction des concentrations de KC-OSA MM (a), et de KC-OSA CM (b).	**75**
Figure III.24	Evolution des diamètres des nanoparticules de KCR MM (a) et KCR CM (b) à différentes concentrations.	**76**
Figure III.25	Evolution des diamètres des nanoparticules de KC-OSA MM (a) et KC-OSA CM (b) à différentes concentrations.	**76**
Figure III.26	Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KCR MM et KCR CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après 24h.	**77**
Figure III.27	Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KC-OSA MM et KC-OSA CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après 24h.	**77**
Figure III.28	Variation de l'indice de crémage des émulsions en fonction de la vitesse de centrifugation.	**78**

Figure III.29 Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KCR MM et KCR CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après un mois. **79**

Figure III.30 Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KC-OSA MM et KC-OSA CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après un mois. **79**

Figure III.31 Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulsions formulées à base du KC aux concentrations de 0.75(F1) et 1% (F4). **80**

Figure III.32 Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulsions formulées (F2, F5) et (F3, F6) à base de KCR MM et KCR CM respectivement, avec (F2, F3) à 0.75% et (F5, F6) à 1%. **81**

Figure III.33 Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulsions formulées (F2, F5) et (F3, F6) à base de KC-OSA MM et KC-OSA CM respectivement, avec (F2, F3) à 0.75% et (F5, F6) à 1%. **82**

Figure III.34 Variation de la taille des particules moyenne des émulsions à base de KC et ses dérivés en fonction du temps. **83**

Chapitre IV : Formulation des émulgels stabilisées par KC et ses dérivés

Figure IV.1 Spectres FTIR : Diclofénac de Sodium (DCL), HPMC, et des mélanges (DCL/ KC), (DCL/KCRMM), (DCL/KCR CM), (DCL/ KC-OSA MM), (DCL/ KC-OSA CM), (DCL/HPMC). **85**

Figure IV.2 Aspect des émulgels à base de Diclofénac de sodium. **86**

Figure IV.3 pH des émulgels formulés à 25°C. **86**

Figure IV.4 Spectre d'absorption UV de solution de DCL dans un milieu tampon pH7.4. **87**

Figure IV.5 Courbe d'étalonnage de DCL dans l'UV à λ =276 nm dans un milieu tampon pH7.4 **87**

Figure IV.6 Résultats de la conductivité électrique des émulgels formulés. **88**

Figure IV.7 Résultats du test d'étalement des émulgels à base de DCL. **89**

Figure IV.8 Variation de l'indice de crémage des émulgels en fonction des vitesses de centrifugation. **91**

Figure IV.9 Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulgels formulés (EM3, EM4) et (EM5, EM6) à base de KCR MM et KCR CM respectivement, avec (EM3, EM5) à 0.75% et (EM4, EM6) à 1%. **92**

Figure IV.10 Variation de la taille des particules moyenne des émulgels à base de KC et ses dérivés **93**

en fonction du temps.

Figure IV.11 Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulgels formulées (EM7, EM8) et (EM9, EM10) à base de KC-OSA MM et KC-OSA CM respectivement, avec (EM7, EM9) à 0.75% et (EM8, EM10) à 1%. **94**

Figure IV.12 Aspect des émulgels à base de Diclofénac de sodium après six mois. **95**

Figure IV.13 Courbes d'écoulement des émulgels formulés à base de KC et KCRs (EM1 – EM6) à 0.75% (a) et 1% (b). **96**

Figure IV.14 Courbes d'écoulement des émulgels formulés à base de KC et KC-OSAs à 0.75% (a) et 1% (b). **96**

Figure IV.15 Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des émulgels à base de KC et KCRs à 0.75% (a) et 1% (b). **97**

Figure IV.16 Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des émulgels à base de KC et KC-OSAs à 0.75% (a) et 1% (b). **97**

Figure IV.17 Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') de la déformation des émulgels à base de KC et KCRs à 0.75% (a) et 1% (b) 1Hz et 25°C. **98**

Figure IV.18 Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') de la déformation des émulgels à base de KC et KC-OSAs à 0.75% (a) et 1% (b) 1Hz et 25°C. **98**

Figure IV.19 Profils de libération du Diclofénac de sodium à partir des émulgels à base de KCRs (EM3-EM6) et KC-OSAs (EM7-EM10). **99**

Figure IV.20 Taux de libération de 10 %, 50 % et 90 % du principe actif (Diclofénac de sodium) à partir des émulgels. **99**

Figure IV.21 Profils de diffusion du DS à partir des émulgels. **101**

Figure IV.22 Résultats des paramètres de diffusion des émulgels. **103**

Figure IV.23 Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) dans les émulgels. **104**

Figure IV.24 Dénombrement des moisissures et levures (DMLT) dans les émulgels. **105**

Figure IV.25 Aspect macroscopique de l'absence des colonies de Pseudomonas Aeruginosa sur le milieu cétrimide agar base (CAB). **105**

Abréviation	Définition
ATG	Analyse Thermogravimétrique
CAB	Cétrimide Agar Base
CAC	Concentration d'Agrégation Critique
$CDCl_3$	Chloroforme deutéré
CMC	carboxyméthylcellulose
CO	Chlorooctane
CP60	Système à Cône-Plan du diamètre 60 mm
DDC	Degré de cristallinité
DGAT	Dénombrement des Germes Aérobies Totaux
DLS	Dynamic Light Scattering
DMLT	Dénombrement des Moisissures et des Levures Totales
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DRX	Diffraction des Rayons X
DCL	Diclofénac de sodium
DS	Degré of substitution
DSC	Differential Scanning Calorimetric analysis
DTG	Dérivée de la courbe Thermigravimétrique
EGP	Ether phénylglycidylique
FTIR	Fourier Transform Infrared
RMN^1H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance
HN	Huile de Nigelle
HPMC	Hydroxypropylméthylcellulose
KC	Kappa carraghénane
KC-OSA CM	Kappa carraghénane Octenylsuccinic anhydre Méthode Conventionnelle
KC-OSA MM	Kappa carraghénane Octenylsuccinic anhydre Méthode Micro-onde
KCR CM	Kappa carraghénane- chlorure d'octyle (R) Méthode Conventionnelle
KCR MM	Kappa carraghénane- chlorure d'octyle (R) Méthode Micro-onde
KOH	Hydroxyde de potasium
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
OSA	2-Octen-1-ylsuccinic anhydre
PA	principe actif
PBS	Tampon phosphate salin
PG	Propylène glycol

pH	Potentiel Hydrogène
TBAOH	Hydroxyde de tétrabutylammonium
TSA	Tryptone Soja Agar
UFC	Unité Formant Colonie
UV	Ultra-Violet

Symbole	Définition	Unité
D	Coefficient de diffusion	$cm^2.h^{-1}$
G'	Module de stockage	Pa
G''	Module de perte	Pa
IC	Indice de crémage	%
Jss	Flux à l'équilibre	$\mu g.cm^{-2}.h^{-1}$
k	Constante du modèle de Korsmeyer–Peppas	
K_H	constante de la cinétique de libération	
kp	Coefficient de perméabilité	$cm.h^{-1}$
M_w	Poids moléculaire	$g.mol^{-1}$
R^2	Coefficient de corrélation	
R_h	Rayon hydrodynamique	nm
t_r	Temps de rétention	h
γ	Déformation ou taux de cisaillement	%
$\dot{\gamma}$	Vitesse de cisaillement	s^{-1}
η_0	Viscosité dynamique du solvant	Pa.s
η_{app}	Viscosité apparente	Pa.s
η_{dyn}	Viscosité dynamique	Pa.s
η_{sp}	Viscosité spécifique	
λ	Longueur d'onde	nm
ω_c	Fréquence angulaire critique	$Rad.s^{-1}$

Introduction générale

De nos jours, les organismes de réglementation de l'industrie pharmaceutique ont tendance à imposer des spécifications strictes pour le développement de nouveaux médicaments. En effet, la mise au point de nouvelles formulations nécessite une compréhension approfondie sur le principe actif pharmaceutique, les excipients et la fabrication des produits, en plus de toute interaction entre ces paramètres pouvant affecter la sécurité et l'efficacité des médicaments[1]. Les excipients considérés comme des composants inertes, ont une grande importance en terme de développement de formes pharmaceutiques, et donc, toute variation dans leurs attributs peut avoir un impact sur la performance du produit médicamenteux[1],[2]. Ainsi, l'objectif du formulateur est la sélection minutieuse d'excipients pharmaceutiques selon leurs rôles dans la formulation à mettre au point. A cet effet, les excipients doivent avoir un rôle bien défini dans chaque formulation, selon la forme pharmaceutique développée. La mise au point de toute forme galénique présente souvent des difficultés, en particulier lorsqu'il s'agit de systèmes complexes comme les émulsions. En effet, ces dispersions sont des systèmes cinétiquement et thermodynamiquement instables, tendant toujours vers une éventuelle séparation de phase.

Pour stabiliser les émulsions, le choix d'agents émulsifiants comme excipients est d'une importance capitale, vu qu'ils jouent un rôle dans la réduction de la tension interfaciale entre les deux liquides non miscibles et créent des forces électrostatiques répulsives et stériques. Ainsi, ces molécules émulsifiantes contribuent à la limitation des phénomènes d'instabilité de ces systèmes dispersés. Les agents émulsifiants et stabilisants les plus couramment utilisés dans l'industrie pharmaceutique sont des produits de synthèse chimique. Cependant, l'usage de ces tensioactifs synthétiques n'est pas toujours sans danger vue qu'ils présentent des effets potentiellement irritants et toxiques[3]. A cet effet, il serait intéressant de remplacer ces émulsifiants de synthèse par d'autres molécules naturelles, afin de développer des émulsions qui s'inscrivent dans la tendance actuelle des produits naturels et biocompatibles. Ces dernières années, deux stratégies sont d'actualité: la stabilisation des émulsions à l'aide de particules solides ou bien à l'aide de biopolymères. C'est cette deuxième approche qui sera développée dans ce présent travail.

Les biopolymères tels que les protéines et les polysaccharides sont des exemples d'émulsifiants et stabilisants naturels couramment utilisés dans la formulation d'émulsions pour contrôler la structure, la texture et la stabilité des produits grâce, entre autres, à leur propriétés de surface et de gélification[4]. Parmi les polysaccharides les plus convoités par l'industrie pharmaceutique, les carraghénanes. Ce sont des hydrocolloïdes d'algues utilisés

comme agents gélifiants et épaississants dans différents aliments, les produits pharmaceutiques et les applications biotechnologiques[5]. Les carraghénanes sont des polysaccharides composant la paroi de certaines algues rouges. Ils sont composés alternativement d'unités (1→4) α-D galactopyranoses et (1→3) β-D-galactopyranoses, qui peuvent être substituées à différentes positions par des groupements sulfates créant ainsi une grande diversité de structures des carraghénanes[6].

Les carraghénanes sont divisés en trois grandes familles: kappa (κ), iota (ι) et lambda (λ). Dès l'extraction, on détermine la forme saline des carraghénanes. Ces dernières années, les propriétés biologiques des carraghénanes comme agents antiviraux, anticoagulants, antioxydants et anticancéreux ont été largement étudiées[7]. Récemment, le KC a été largement étudié en tant qu'excipient pharmaceutique dans diverses formes galénique, comme gélifiant et épaississant. Des travaux antérieurs ont démontré son utilisation dans différents systèmes de libération, tel que les comprimés oraux à libération contrôlée [8], les granulés par extrusion[9], ainsi que les microcapsules et les microsphères[10]. De plus, en raison de son fort caractère anionique et de ses propriétés d'épaississement et de gélification, le KC a été utilisé comme agent améliorant la viscosité et en tant que gélifiant dans les systèmes libération prolongée, tels que les comprimés et les films à base d'hydrogel[11],[12]. Cependant, les carraghénanes natifs présentent souvent des carences caractéristiques concernant leurs applications industrielles et pharmaceutiques. Ainsi pour le kappa carraghénane, l'ajout d'ions potassium augmente la force du gel. Le kappa carraghénane de potassium (KC) aboutit à un gel fort souvent accompagné parfois d'un degré indésirablement élevé de synérèse sous déformation mécanique ou après une longue période de stockage, qui altère la stabilité du gel ainsi que ses propriétés rhéologiques et mécaniques[13].

De plus, la nature hydrophile du KC limite son utilisation exclusive dans les systèmes dispersés, tels que les émulsions et les suspensions[14]. Sa modification chimique, par différents types de réactions (carboxyméthylation, thiolation, acétylation, phosphorylation, sulfatation, oxydation, cationisation,…), peut améliorer leurs propriétés et faciliter leurs applications dans différents systèmes[7]. Certaines modifications chimiques peuvent être effectuées sur les carraghénanes afin d'améliorer, développer ou modifier ses propriétés physico-chimiques de surface. Ainsi, le greffage des groupements hydrophobes sur la molécule de KC lui confèrent un caractère amphiphile, le rendant capables de s'auto-associer dans des solutions aqueuses, conduisant à la formation d'agrégats similaires à ceux qui se produisent avec les tensioactifs par la formation de micelles.

Cette thèse avait ainsi pour principal objectif de synthétiser de nouveaux excipients pharmaceutiques ayant des propriétés amphiphiles, à partir du biopolymère kappa carraghénane (KC). La stratégie de synthèses proposées repose sur deux réactions de substitution : l'éthérification et l'estérification du KC à l'aide de différentes techniques de synthèses organiques, par la suite le kappa carraghénane et ses dérivés servaient à stabiliser des émulgels contenant le Diclofénac de sodium (DCL), comme principe actif. Ce manuscrit est composé de quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique et se compose de trois parties. Tout d'abord, la première partie présente les polysaccharides alguals, spécialement le kappa carraghénane de potassium (KC) qui est le biopolymères choisi pour cette étude, leurs structures ainsi que leurs propriétés physicochimique. Puis, une deuxième partie s'intéresse aux modifications des polysaccharides, en se focalisant sur l'éthérification et l'estérification. Ainsi, différents exemples de modification chimique du kappa carraghénane ayant pour but de lui conférer des nouvelles propriétés ont été présentés.

Enfin, la dernière partie présente des concepts généraux concernant les dispersions (émulsion et émulgel). Notre intérêt a été porté sur les mécanismes de déstabilisation des émulsions, sur les différentes techniques permettant de les mettre en évidence ainsi que sur la description des différentes stratégies disponibles afin d'obtenir des émulsions stables dans le temps.

Le deuxième chapitre est dédié aux protocoles de modification chimique du KC ainsi que le mode de formulation des émulsions et des émulgels. Les différentes techniques de caractérisation développées au cours de cette thèse ont été présentées.

Le troisième chapitre décrit les principaux résultats obtenus lors de la modification hydrophobe du KC en utilisant deux réactions : une éthérification à l'aide du chlorooctane (CO) et une estérification à l'aide du 2-Octen-1-ylsuccinic anhydre (OSA). La présentation et la discussion des résultats des contrôles physico-chimiques et rhéologiques ayant été effectuée sur les dérivés de KC (KCRs et KC-OSAs), à l'aide d'analyses par spectroscopie infrarouge (FTIR), résonnance magnétique et nucléaire du proton (RMN^1H), suivies par la diffraction des rayons-X, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la microscopie électronique à balayage (MEB), la diffusion dynamique de la lumière (DLS), et enfin une caractérisation rhéologique complète des dérivés de KC (KCRs et KC-OSAs) ont été effectué.

Le quatrième chapitre est dédié à l'évaluation des dérivés de KC hydrophobiquement modifiés comme excipients pharmaceutiques. Ainsi, des émulgels contenant le principe actif Diclofenac de Sodium (DCL), ont été formulés et stabilisé à l'aide de KC et ses dérivés (KCRs et KC-OSAs). L'ensemble des résultats des caractérisations physico-chimiques rhéologiques et biopharmaceutiques des émulgels ont été présentés et discutés.

Cette thèse est achevée par une conclusion générale, dans laquelle on expose les différents résultats obtenus ainsi que les perspectives pour mettre en avant les points qui méritent d'être approfondis et poursuivis.

Chapitre I : Partie bibliographique

I.1. INTRODUCTION

Les polysaccharides ont suscité un vif intérêt chez les scientifiques depuis une trentaine d'années. Ces macromolécules proviennent de sources renouvelables et abondantes telles que les végétaux (cellulose, amidon, alginate…), les animaux (chitine, acide hyaluronique…) et les microorganismes (xanthane, dextrane…). Ces biopolymères sont généralement très hydrophiles, dans un certain nombre de cas hydrosolubles, mais aussi biodégradables et biocompatibles.

La modification chimique des polymères hydrophiles par fixation de groupements hydrophobes leur apporte un caractère amphiphile, qui leur confère des propriétés physico chimiques nouvelles. Ces propriétés sont reliées d'une part à leur capacité d'auto-organisation en solution aqueuse et d'autre part à leurs propriétés d'adsorption aux interfaces séparant une phase liquide aqueuse d'une phase liquide nettement moins polaire.

A l'heure actuelle, les polysaccharides amphiphiles trouvent de nombreuses applications dans l'industrie alimentaire, cosmétiques, mais aussi dans les peintures, le papier, le textile, et le forage pétrolier grâce à leurs propriétés gélifiantes, épaississantes, hydratantes, émulsifiantes, etc… Parmi toutes ces propriétés, les propriétés émulsifiantes des polysaccharides amphiphiles sont intéressantes pour améliorer la stabilité des émulsions directes (huile dans eau) ou inverses (eau dans huile). Les applications de ces émulsions se situent dans divers domaines comme la médecine (vaccins), la pharmacie (crème, pommade, dérivés vitaminés ou hormonaux), les cosmétiques (shampoing, lotions), l'agroalimentaire (crème glacée, vinaigrette), l'agrochimie (herbicides, insecticides), la synthèse de biomatériaux (élaboration de nanoparticules amphiphiles à cœur hydrophobe)[15],[16].

Dans l'industrie chimique, des émulsions peuvent également intervenir transitoirement au cours d'un procédé, comme par exemple la polymérisation en émulsion ou encore l'extraction liquide/liquide [16]. Cependant, les émulsions sont le plus souvent des produits finaux pour une application directe. Ainsi, les émulsions sont devenues d'un intérêt majeur pour les industries car elles permettent de transporter, sous forme liquide et majoritairement aqueuse, des produits qui ne sont solubles que dans l'huile.

Au cours de ce chapitre, nous avons donné succinctement une description générale des polysaccharides d'origines algales et nous avons décrit les différentes réactions de modification qui ont été étudiées sur le kappa carraghénane (KC) tout en élucidant leurs mécanismes réactionnels. Dans cette optique, notre étude est focalisée sur l'introduction de groupements hydrophobes sur les chaînes hydrophiles de KC par deux réactions chimiques

(l'éthérification et l'estérification), afin de lui conférer des propriétés amphiphiles, exploitées pour la stabilisation des systèmes dispersés.

I.2. LES POLYSACCHARIDES

Les polysaccharides peuvent être définis comme de longues molécules formées de l'enchaînement de motifs similaires en l'occurrence des glucides appelés couramment sucres, glucanes ou polyosides. Ce sont des polymères naturels de haut poids moléculaire, résultant de la condensation d'un grand nombre de molécules de chaînes linéaires ou ramifiées d'oses, reliés entre eux par des liaisons glycosidiques[17].

Le terme "polysaccharides" est utilisé pour désigner indifféremment les oligosaccharides, les polysaccharides et leurs mélanges. On distingue deux catégories de polysaccharides :

- Les homopolysaccharides dits « homogènes » comportant un seul type d'unités monosaccharides.
- Les hétéropolysaccharides dits « hétérogènes » résultant de la condensation de différents types de monosaccharides.

Ils peuvent être utilisés comme des épaississants, des stabilisants, des agents de suspension, des gélifiants, des filmogènes, des agents d'aération, des floculants, des liants, des émulsifiants, des lubrifiants ou encore des agents de texture et de structuration[18].

I.3. CLASSIFICATION DES POLYSACCHARIDES

Les polysaccharides peuvent être classés selon plusieurs critères, notamment : leur charge, leur structure ou encore leur origine[19] :

a) Selon leur charge on compte :

- Les polysaccharides anioniques : Gomme arabique et pectine.
- Les polysaccharides cationiques : Chitosane.
- Les polysaccharides non-ioniques : Cellulose.

b) Selon leur structure :

- Linéaire : Amylase, pectine…
- Ramifiées, à courte chaine (Gomme guar…), et à longue chaine (Gomme karaya…).

c) Selon leur origine :

- Marine (Extrait d'algues): Alginates, agar, carragheenans.
- Animale: chitine et chitosane.
- Végétale: Amidon et cellulose.
- Microbienne (Bactéries ou champignons): Glycane, pullulane, dextrane, xanthane.

I.3.1. Polysaccharides alguals

Les polysaccharides extraits des algues rouges et brunes sont répartis en fonction de la classe de l'algue qui les contiennent[20],[21].

a) **Polysaccharides de *Phaeophyceae*-algues brunes :** Les algues brunes sont les principales sources d'alginates et d'acide alginique[22]. Leur chaîne présente un poids moléculaire de l'ordre de 800.000. Dans cette classe, on trouve :
   - Les polyuronides composés de deux unités d'acides uroniques : les acides D-mannuroniques liés en β-1,4- et les acides L-guluroniques liés en α-1,4.
   - Les fucoïdanes polymères du α-(1→2)-L-fucose-4-sulfate.
   - Les laminaranes ou β-1,3-glugane.

b) **Polysaccharides de *Rhodophyceae*-algues rouges :** Les algues rouges contiennent un taux considérable en galactanes sulfatés, ayant un poids moléculaire supérieur à 1.000.000 et caractérisés par une répétition régulière de résidus galactopyranoses. Ces unités monomères sont liées alternativement par des liaisons β-(1→3) et α- (1→4)[23]. Ces galactanes sont subdivisés eux-mêmes en deux groupes suivant la configuration des unités:
   - les molécules du type carraghénane.
   - les molécules du type agar[24].

c) **Polysaccharides des autres classes d'algues :** Ces polysaccharides sont contenus dans les familles *Cyanophyceae* (bleu-vert), *Bacillariophyceae* (deatomique) et *Lanthophyceae*. Ils sont constitués par des unités très variables comme le mannitol, le glucose, le laminitol, l'inositol[21].

I.4. POLYSACCHARIDES DES ALGUES ROUGES

Les algues rouges sont capables de produire soit des carraghénanes, soit des agars.

I.4.1. Les carraghénanes

Les carraghénanes sont des polysaccharides qui constituent les parois cellulaires de diverses algues rouges (*Rhodophycées*) appartenant aux familles des *Gigartinaceae, Hypneaceae, Furcellariaceae et Polyideaceae*[25],[26]. Ils comportent des longues chaînes galactanes, polyélectrolytes anioniques. Leur masse moléculaire peut être supérieure à 10^6 $g.mol^{-1}$[23]. Ce sont des polysaccharides très sulfatés (20-50%) et les résidus α-D galactopyranosyles peuvent être sous forme 3',6'-anhydro[27].

I.4.1.1. Structure et nomenclature des carraghénanes.

Les carraghénanes sont composés alternativement d'unités (1→3) β-D galactopyranoses (unités G) et (1→4) α-D-galactopyranoses (unités D). Les (1→4) α-D-galactopyranoses peuvent aussi exister sous la forme 3,6-anhydro- galactopyranoses (unités DA). Ces unités G et/ou D peuvent être substituées à différentes positions par des sulfates (S), des O-méthyles (M) ou des groupements d'acide pyruvique sous la forme de kétal cyclique (P), créant ainsi une grande diversité de structures de carraghénanes. La position des substituants est indiquée par le numéro des carbones auxquels ils sont attachés sauf pour le groupement P toujours positionné sur les mêmes carbones 4 et 6 de l'unité D. Les unités galactopyranoses G et D des carraghénanes adoptent la conformation chaise qui permet de placer en position équatoriale le groupement CH_2OH relativement volumineux, ainsi que la plupart des autres groupements hydroxyles potentiellement substituables. Les unités D et G ont une conformation chaise 4C1 et les unités DA ont une conformation chaise 1C4. La désignation des différentes unités s'effectue par un code alphabétique [28] pour pallier les limites rencontrées avec le code des lettres grecques[29].

Une lettre grecque était attribuée à chaque nouveau motif disaccharidique identifié et leur nombre augmentait rapidement. Le code alphabétique permet de décrire n'importe quel motif et il est surtout utile dans la description de chaînes complexes de carraghénanes contenant plusieurs motifs disaccharidiques différents. Le code des lettres grecques est toujours communément utilisé pour les carraghénanes commerciaux constitués majoritairement d'un seul motif de répétition, comme, par exemple, le κ-carraghénane (G4S-DA) extrait de *Kappaphycus alvarezii*

I.4.1.2. Classification des carraghénanes

Les carraghénanes ont été classés dans différentes familles, en se basant sur la position des sulfates sur les unités G. Deux familles, kappa et lambda, ont tout d'abord été distinguées[30], auxquelles se sont ajoutées la famille beta [31] et la famille oméga[32].

a) **La famille kappa (G4S-DA) :** Elle se caractérise par une sulfatation en position 4 de l'unité G. Elle se compose des carraghénanes kappa (G4S-DA) les précurseurs biosynthétiques respectifs mu (G4S-D6S) et nu (G4S-D2S, 6S)[33]. Les motifs précurseurs μ- et υ-carraghénanes peuvent être convertis en motifs κ- et ι-carraghénanes, lors de la biosynthèse sous l'action de galactose-6-sulfurylases, ou industriellement par un traitement alcalin [34]. Cette transformation s'effectue par la fermeture du pont 3,6-

anhydro, concomitante au départ du groupement sulfate en C6. Ces carraghénanes de la famille kappa se rencontrent chez de nombreuses espèces d'algues rouges, avec des compositions en motifs kappa et iota, s'échelonnant d'une dominante kappa comme chez les K. *alvarezii* [35] vers une dominante iota comme chez E. *denticulatum*[35].

b) La famille lambda (G2S-D2S, 6S) : La famille lambda se compose des carraghénanes possédant une sulfatation en position 2 sur l'unité G du motif. Ces carraghénanes se rencontrent dans les parois des tétrasporophytes de certaines espèces de Gigartinaceae et Phyllophoraceae. La structure majoritairement rencontrée est de type lambda (G2S-D2S,6S) [36],[37],[38],[39]. La structure θ-carraghénane (G2S-DA2S) peut être obtenue par la lente transformation alcaline du λ–carraghénane [40]. Cette structure θ-carraghénane est aussi naturellement présente chez certaines algues comme *C.hombroniana* [41],[42]. Des structures désulfatées comme le ξ-carraghénane (G2S-D2S) [43] et pyruvatées comme le π-carraghénane (G2S-DP2S) [44] ont aussi été observées en proportion plus ou moins importante chez les tétrasoporophytes de différentes espèces de Gigartinaceae [45],[46],[47].

c) La famille iota (G4S-DA2S): a une structure similaire que le kappa-carraghénane mais possède deux groupements sulfatés, avec un pourcentage de groupements sulfates compris entre 28 et 30 %. L'iota-carraghénane possède une quantité de 3,6-AG comprise entre 25 et 30 %. Le lambda-carraghénane est composé de 32 à 39% de groupements sulfates mais ne contient pas de 3,6-AG[33].

d) La famille beta (G) : Elle regroupe les carraghénanes qui ne possèdent pas de groupement sulfate sur leur unité G comme le β-carraghénane (G-DA) et son précurseur le γ-carraghénane (G-D6S), isolés chez *Eucheuma gelatinae* [31] et *Furcellaria lumbricalis* [48]. L'α-carraghénane (G-DA2S) et son précurseur biologique le δ-carraghénane (G- D2S, 6S) font aussi partie de cette famille et ont été isolés chez *Catenella nipea*[49].

e) La famille omega (G6S) : La dernière famille de carraghénanes se caractérise par une sulfatation en position 6 de l'unité G. Elle a été découverte chez *Rissoella verruculosa* (Gigartinales) et regroupe l'ω-carraghénane (G6S-DA) et son présumé précurseur le ψ-

carraghénane (G6S-D6S). L'ω-carraghénane (G6S-DA) avait déjà été identifié dans des structures kappa chez F. *lumbricalis* et *Phyllophora nervosa*[32].

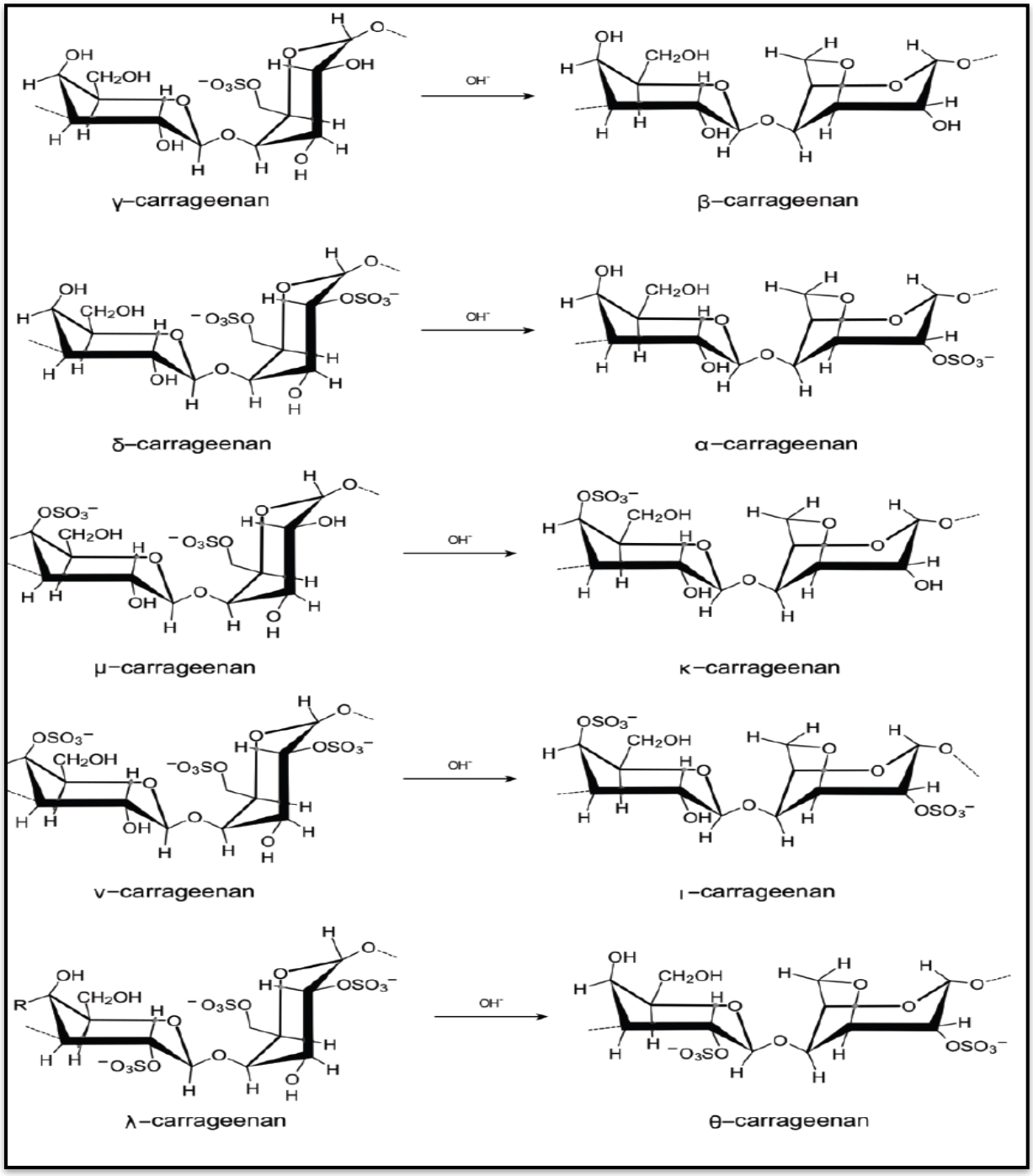


Figure I.1. Structures Chimiques des carraghénanes [50]**.**

I.4.1.3. Propriétés fonctionnelles des carraghénanes.

a) Solubilité : Les carraghénanes sont solubles dans l'eau, mais la température de solubilisation dépend du type de copolymère et des cations associés à l'ester sulfate. Plus il y a de groupements sulfate, plus la molécule est soluble. Donc la présence du pont 3,6

anhydrogalactose résultant de la désulfation du carbone 6 du copolymère diminue la solubilité [51]. Le Kappa carraghénane est le moins hydrophile des carraghénanes, sa solubilisation totale ne pourra être assurée que par élévation de la température. Cette température de solubilisation dépendra en outre du cation associé, la forme sodique étant plus facilement soluble que la forme potassique. Cependant, tous les carraghénanes sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et dans la plupart des solvants organiques polaires [51].

b) Effets des électrolytes : Le pouvoir gélifiant des carraghénanes est grandement influencé par la présence d'électrolytes, qui sont nécessaires pour permettre cette gélification. Les sels de potassium (K^+) sont les plus réactifs et de ce fait les plus utilisés. La densité du gel de Kappa carraghénane augmente en fonction des concentrations de (K^+). Ainsi, plus la concentration en (K^+) est élevée plus le gel est dense. Les ions (K^+) augmentent également les températures de fusion et de formation du gel. Les ions calcium (Ca^{2+}) ont également une influence sur le pouvoir gélifiant des carraghénanes, mais leur effet est plus marqué pour la fraction Iota avec laquelle ils forment un gel très élastique et cohérent [51].

c) Réactions avec les protéines : Les carraghénanes, au caractère anionique très prononcé du fait de la présence des groupements esters sulfates, réagissent avec les polyélectrolytes cationiques, et les floculent. De la même façon, ils précipitent les protéines lorsque le pH est inférieur à leur point isoélectrique. A des pH supérieurs à leur point isoélectrique, les protéines sont compatibles avec les carraghénanes et des réactions peuvent être obtenues. A cet égard, la propriété la plus remarquable des carraghénanes, est leur aptitude à stabiliser les micelles de caséine désignée sous le nom de caséine Kappa [51].

d) Mécanisme de gélification des carraghénanes : A température élevée et en solution, les chaînes de κ- et ι-carraghénanes sont dans un état désordonné sous la forme de bâtonnets semi-rigides. Cet état désordonné est dû à l'agitation thermique. Lorsque la température est abaissée, la transition sol/gel se produit et les carraghénanes passent à un état ordonné sous forme d'hélices **(Figure I.2)**. Le gel se forme en présence de cations « gel-promoteur » qui neutralisent les charges négatives des groupements sulfates sur l'hélice et permettent leur association en agrégat [52],[30]. Les ι-carraghénanes forment un gel très élastique en présence de calcium et les κ-carraghénanes un gel dur et cassant en présence de potassium.

Le mécanisme de gélification des κ- et ι-carraghénanes est toujours sujet de débat et oppose deux théories **(Figure I.2)**. La première théorie supporte la formation de doubles hélices qui s'associent ensuite en domaines de doubles hélices en présence de cations [53],[52],[54].
La seconde implique la formation d'hélices simples puis une association, induite en présence de cations, en agrégats d'hélices simples [55],[56].

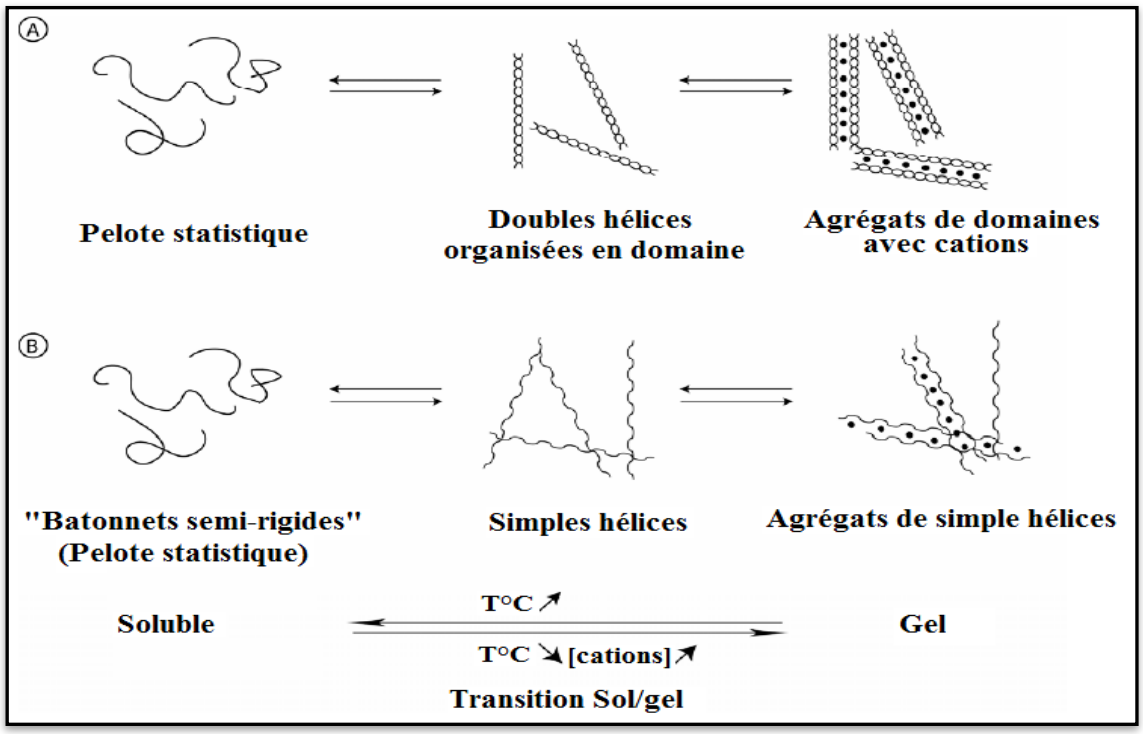


Figure I.2. Théories de la transition sol/gel du κ-carraghénane en présence d'ions K+.
(A) Théorie du « Model domain »[52], (B) Théorie « Nested helices model » [55].
(B) Les ions K+ sont représentés par (●)

Ces deux théories s'appuient sur diverses méthodes de caractérisation telles que la diffraction des rayons X, la rotation optique, la ^{13}C-RMN, la diffusion de la lumière, la rhéologie et la calorimétrie. La formation des doubles hélices nécessiterait une structure régulière de chaînes, impliquant une alternance des unités G4S et DA ou DA2S, de conformations 4C1 et 1C4 respectivement. La présence, dans les chaînes de κ- et ι-carraghénanes, d'unités D6S (motifs μ) et D2S,6S (motifs ν) de conformation 4C1 et avec une sulfatation supplémentaire en C6, empêcherait la formation d'hélices et donc la gélification [53],[57]. La transformation alcaline industrielle de tous les motifs précurseurs mu et nu en motifs kappa et iota est donc nécessaire afin d'obtenir la propriété gélifiante voulue.

Contrairement aux κ- et ι-carraghénanes, le λ-carraghénane ne forme pas de gel en solution. Mais le λ-carraghénane possède des propriétés viscosifiantes et épaississantes élevées. La viscosité des solutions augmente avec la concentration en λ-carraghénane, et décroît en présence de sels et par élévation de la température. Ces différences de propriétés rhéologiques s'expliqueraient par des structures tridimensionnelles différentes, conséquence d'un taux de sulfatation élevée des chaînes de λ-carraghénane et de la conformation 4C1 des unités D2S, 6S des motifs lambda. La structure du λ-carraghénane a été peu étudiée mais serait une structure en forme de long ruban plat avec un motif G2S-D2S, 6S par tour.

I.4.1.4. Application des caraghénanes

Les propriétés physico-chimiques particulières des carraghénanes sont exploitées industriellement. Les carraghénanes (E407) représentaient, en 1996, 15% du marché des hydrocolloïdes alimentaires, soit 200 millions US$ [58]. Leurs propriétés gélifiantes, texturantes et épaississantes sont utilisées dans les produits laitiers (flan, crème dessert, glace). Ce sont aussi des agents de suspension dans le lait cacaoté, les vinaigrettes et les jus de fruits avec pulpe. Ils peuvent servir de liants dans les produits carnés et pour contrôler la rétention de l'eau lors de la cuisson. En Algérie les carraghénanes sont aussi employés comme liants et texturants dans des produits cosmétiques (dentifrice, shampoing) et comme gélifiant dans les produits agroalimentaire (Flan, yahourt….).

I.4.2. Kappa carraghénane

Le κ-carraghénane est soluble dans l'eau mais insoluble dans les solvants organiques, et les huiles. Les premiers paramètres qui influencent les propriétés du κ-carraghénane sont le nombre et la position des groupements sulfate, ainsi que la présence du motif 3,6-anhydrogalactose. Plus le nombre de fonctions ester sulfatées portées par le motif de répétition du carraghénane est élevé moins ces macromolécules sont solubles dans l'eau. Les carraghénanes commerciaux ont une masse molaire moyenne comprise entre 100 000 $g.mol^{-1}$ et 1 000 000 $g.mol^{-1}$ [59]. La valeur du pKa des groupements sulfatés est aux alentours de 2 [60].

Dans une solution de κ-carraghénane, la température est un paramètre qui influence la conformation des chaînes du polysaccharide. A une température élevée, les chaînes sont organisées de façon aléatoire alors qu'à basse température, elles se réorganisent et adoptent une conformation de type double hélice [61]. La présence de l'unité DA est très importante car sa conformation chaise en 1C4 **(Figure I.3)** confère au κ-carraghénane des propriétés

gélifiantes [62], liées à une structure secondaire de type hélicoïdale du carraghénane. Ainsi, l'absence de ces unités ne permet pas au μ-carraghénane, précurseur du κ-carraghénane, de former un gel.

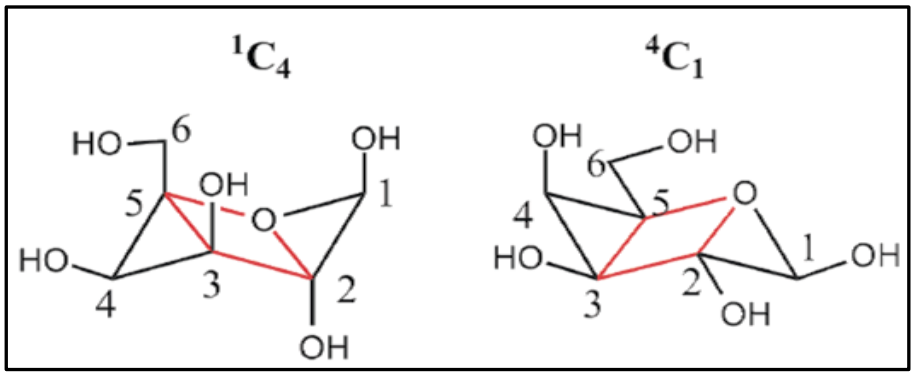


Figure I.3. Représentation des conformations chaises présente dans le κ-carraghénane

Le κ-carraghénane peut former en solution un réseau tridimensionnel **(Figure I.4)** qui est le résultat de la réticulation ou d'interactions ioniques entre les groupements sulfate du polysaccharide et un cation monovalent ou divalent [63].

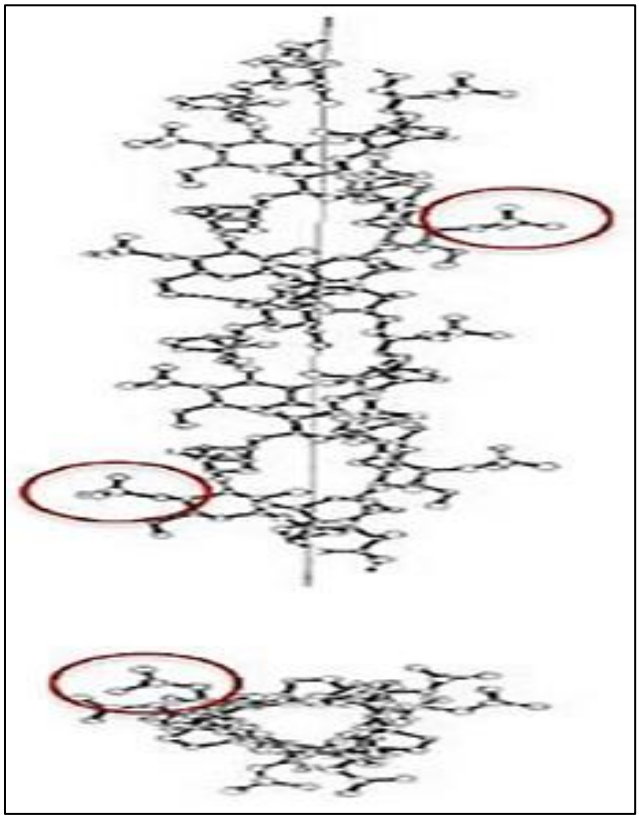


Figure I.4. Schéma des doubles hélices de κ-carraghénane.
Les cercles rouges indiquent les groupements sulfates [63].

Le κ-carraghénane ne porte qu'une charge négative par unité disaccharidique. Le cation permettant la formation d'un réseau tridimensionnel stable pour le κ-carraghénane est le potassium (K^+) [63]. Néanmoins, il est possible de former un réseau stable avec d'autres cations que le K^+ comme le sodium (Na^+), le calcium (Ca^{2+}), le magnésium (Mg^{2+}), et le strontium (Sr^{2+}). Grâce à ses propriétés de gélification et physico-chimiques, le κ-carraghénane peut être utilisé dans l'industrie agroalimentaire comme additif pour les produits laitiers, les viandes, les condiments et les boissons [64]. Il est aussi employé comme gélifiant, stabilisant, et épaississant. Dans le domaine de l'industrie pharmaceutique, le κ-carraghénane va permettre d'immobiliser les cellules pour favoriser la production d'antibiotiques comme la tétracycline et ses dérivés.

Enfin, le κ-carraghénane a également des propriétés biologiques intéressantes. Il possède notamment des propriétés anticoagulantes largement supérieures à celles de l'héparine ainsi que des propriétés antivirales contre le VIH et le virus de l'herpès [65],[66]. Une autre application d'interet du κ-carraghénane est sa capacité à limiter la progression de cellules cancéreuses par son effet antimétastasique, qui empêche les interactions entre les cellules cancéreuses et les différents substrats. Il possède également des propriétés antioxydantes [62]

.

I.5. MODIFICATION CHIMIQUE DES POLYSACCHARIDES

Les biopolymères sous leur forme native offrent de multiples possibilités d'utilisation, mais présentent quand même l'inconvénient de ne pas pouvoir satisfaire tous les besoins du formulateur dans tous les domaines. Ceci conduit souvent les chimistes à une alternative très intéressante pour pallier à cet inconvénient qui consiste à la modification ou la fonctionnalisation de ces biopolymères.

La fonctionnalisation permettra non-seulement de doter ces polymères de nouvelles propriétés et d'élargir leurs domaines d'utilisations mais aussi de limiter le recours à certains produits synthétiques nocifs pour le consommateur et l'environnement.

Il existe plusieurs méthodes ou stratégies permettant la modification des biopolymères en fonction des objectifs à atteindre et des fonctions présentes dans la molécule du polymère. Dans le cas des polysaccharides, on s'intéresse le plus souvent aux fonctions alcools car c'est les fonctions majoritairement présentes dans la structure du polysaccharide, étant donné que c'est une chaine glucidique **(Figure I.5)**.

I.5.1. Stratégie de synthèse des polysaccharides hydrophobiquement modifiés

Plusieurs agents alkylants typiques peuvent être utilisés pour préparer des polysaccharides hydrophobiquement modifiés **(Figure I.5)**. Il s'agit notamment des halogénures d'alkyle (tels que les chlorures ou les bromures), des époxydes d'alkyle ou d'aryle, des halogénures d'acyle, des anhydrides ou des isocyanates, qui peuvent réagir avec les groupes hydroxyles libres du polysaccharide [67],[68]. Des alkylamines ont également été utilisées pour préparer des dérivés hydrophobes de polysaccharides possédant des groupes carboxyles le long de la chaîne.

Les différentes réactions ainsi que leurs produits sont résumés et présentés comme suit :

1) Réaction d'éthérification utilisant des dérivés halogénés **(Figure I.5.a)**.

2) Réaction d'éthérification utilisant des dérivés époxydes **(Figure I.5 .b et c)**.

3) Formation d'ester **(Figure I.5. d et e)**.

4) Alkylation utilisant des dérivés isocyanates **(Figure I.5 .f)**.

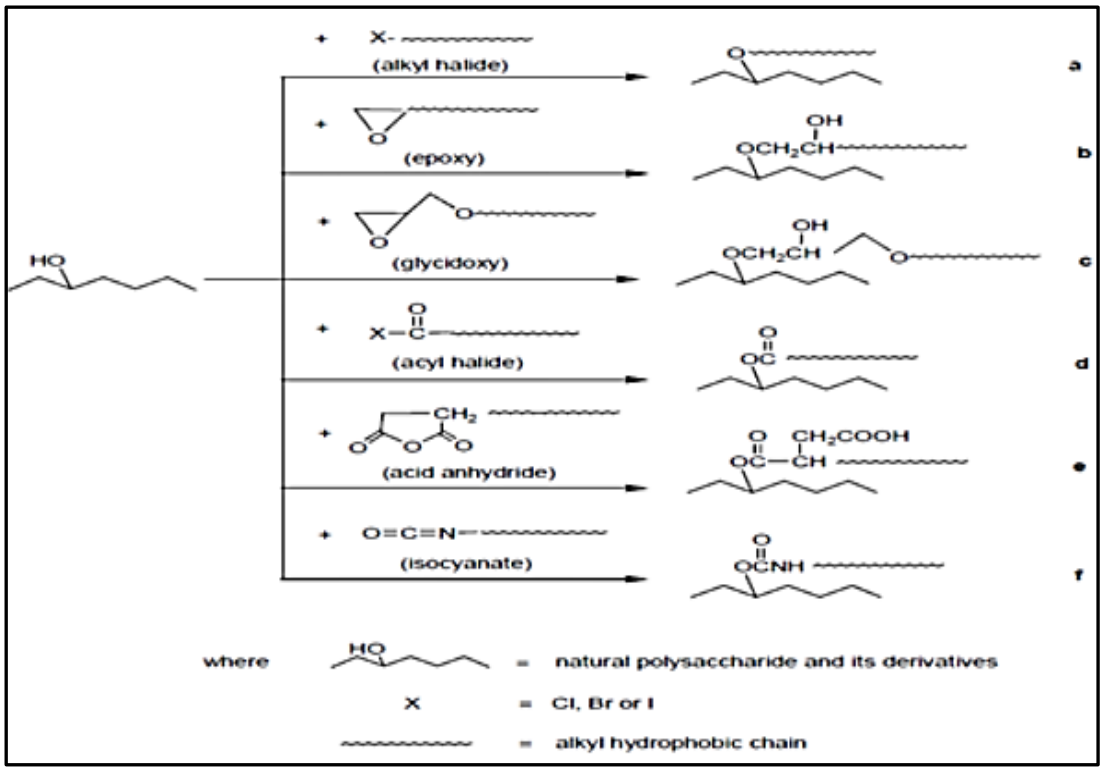


Figure I.5. Stratégies de synthèse de dérivés des polysaccharides hydrophobiquement modifiés [68]**.**

I.5.1.1. Éthérification par les dérivés halogénés

La stratégie la plus courante pour greffer de longues chaînes alkylées sur des polysaccharides est l'éthérification. Cette réaction offre un accès facile à une variété de matériaux avec des

propriétés précieuses, les réactifs éthérifiants sont généralement plus faciles à manipuler que les réactifs utilisés pour la modification par l'intermédiaire des liaisons ester ou uréthane et la liaison éthérique résultante est généralement plus résistante aux réactions ultérieures [69].

L'éthérification des polysaccharides par substitution nucléophile irréversible à l'aide d'halogénures aliphatiques est illustrée à la figure I.6. En général, le polysaccharide est d'abord mélangé avec une base forte, par exemple, l'hydroxyde de sodium aqueux, par la suite, ce polysaccharide alcalin est réagi avec l'agent éthérifiant (halogénure d'alkyle), pour former des alkyléthers.

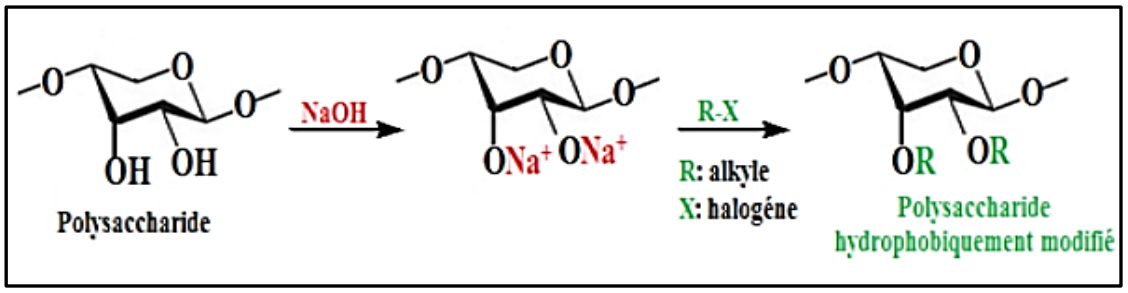


Figure I.6. Ethérification d'un polysaccharide par un halogénure d'alkyle (R-X)

Cette stratégie a été appliquée à divers polysaccharides, y compris la cellulose et ses dérivés (hydroxyéthylcellulose (HEC), carboxyméthylcellulose (CMC), hydroxypropylcellulose (HPC)), le guar hydroxybutyle et l'acide hyaluronique [70]. En tant qu'agent d'halogénure d'alkyle (R-X), R est une longue chaîne alkyle contenant de 8 à 22 atomes de carbone (C8-C22). Les iodures alkylés sont d'excellents agents alkylants, mais ils sont chers, de sorte que les réactifs alkylés préférés sont les chlorures alkylés ou les bromures [70].

Les conditions de réaction sont similaires à celles habituellement utilisées avec les halogénures alkylés courts, à l'exception du solvant. Dans le cas de réactions avec des halogénures alkylés à chaîne courte (C1-C4), l'eau est utilisée comme solvant [71]. En revanche, les réactions avec de longues halogénures alkylés nécessitent l'utilisation d'un solvant organique comme l'isopropanol (IPA), l'alcool tert-butylique (TBA), l'acétone, le N,N-diméthylacétamide (DMAc) ou le diméthylsulfoxyde (DMSO) en raison de leur insolubilité dans l'eau. Ces réactions sont donc généralement effectuées dans des conditions hétérogènes car le polysaccharide est en suspension dans le solvant organique [72]. Le pH du milieu de réaction doit être supérieur à 11 et est généralement ajusté à 13 en utilisant une base forte, comme l'hydroxyde de lithium (LiOH), l'hydroxyde de sodium (NaOH) ou l'hydroxyde de potassium (KOH). Toutefois, si le DMAc est utilisé comme solvant, l'ajout d'une base supplémentaire n'est pas nécessaire. L'utilisation du NaH dans le DMSO semblait plus

efficace que celle du NaOH dans le même solvant, mais le système NaH-DMSO semble causer plus de dépolymérisation que NaOH-DMSO. Dans certains cas, un agent de transfert de phase tel que le chlorure de tétraméthylammonium (TMAC) est utilisé en combinaison avec la base. Et les réactions sont généralement effectuées entre 70-105 °C pendant un court laps de temps (1-8 heures). Les réactions d'alkylation effectuées à basse température nécessitent des temps plus longs (24-92 heures) [72]. Par exemple, dans le cas de la réaction de la cellulose avec le bromure d'octyle à 22 °C, il n'y a pas eu de substitution significative après 3 heures, mais le degré de substitution (DS) de la chaîne d'octyle a atteint 0,11 après 25 heures. Avec le bromure d'octadécyle, le DS a atteint 0,10 après 26 heures et 0,30 après 72 h [73]. Le degré de substitution (DS) des polysaccharides à longue chaîne est souvent inférieur à 5 %, car une DS plus élevée entraîne des problèmes d'insolubilité dans l'eau des dérivés polysaccharidiques finaux. Le DS est déterminé par ^{1}H RMN dans $CDCl_3$ [73], DMSO-d6 [74] or D_2O [75],[76].

I.5.1.2. Éthérification par les dérivés époxydes

Les dérivés époxydes sont les intermédiaires les plus utilisés pour la synthèse de polysaccharides hydrophobiquement modifiés par les liaisons d'éther **(Figure I.5.b et c)**. Deux types de dérivés époxydes ont été étudiés : l'époxyde d'alkyle et l'éther alkylglycidylique (2-alkyloxyméthyloxiranes) **(Figure 1.7)**.

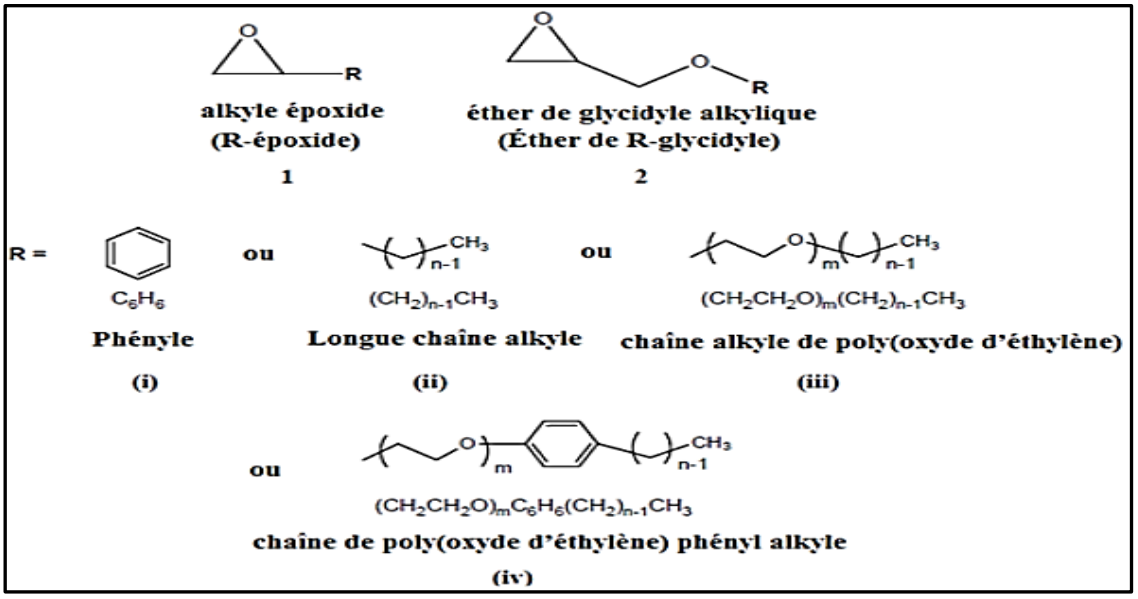


Figure I.7. Structure des deux types de dérivés époxydes utilisés pour préparer les polysaccharides modifiés hydrophobiquement : l'époxyde d'alkyle (époxyde de R) et l'éther glycidylique d'alkyle (éther de R-glycidyle) [70].

L' époxyde d'alkyle ou l' oxyde d'alkyle et de glycidyle sont abrégés par « époxyde de R » ou « éther de R et de glycidyle », dans lesquels R pourrait être non seulement une longue chaîne alkyle (ii), mais aussi phényle (i), ou chaîne alkyle de polyéthylène (iii) ou chaîne phénylalkyle de polyéthylène (iv).Les dérivés époxydes (i) et (ii) sont disponibles dans le commerce, tandis que (iii) et (iv) doivent être synthétisés par la réaction des alcools avec l'épichlorhydrine. Habituellement, le groupe hydroxyle de l'alcool réagit avec le NaH dans le DMF et l'épichlorhydrine est ensuite ajoutée [77].

L'ouverture de cycle des époxydes nécessite un catalyseur afin d'obtenir une addition nucléophile. En général, le polysaccharide est d'abord mélangé à une base alcaline, comme le NaOH, le KOH, le NaH ou l'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH), sous une atmosphère d'azote, et l'agent éthérifiant (époxyde d'alkyle ou éther alkylglycidylique) est ensuite ajouté au milieu réactionnel pour former des alkyléthers **(Figure I.8)**.

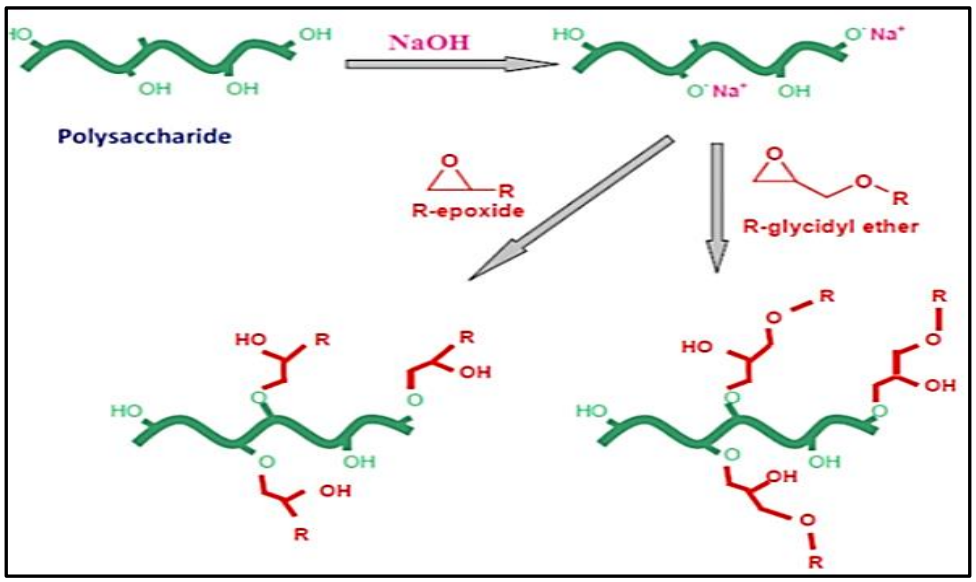


Figure I.8. Réaction d'éthérification des polysaccharides avec l'époxyde d'alkyle (époxyde de R) et l'éther de glycidyle d'alkyle (éther de R-glycidyle)[70].

Comme pour les réactions d'alkylation avec des halogénures d'alkyle, l'ouverture des époxydes peut être effectuée dans des conditions homogènes ou hétérogènes.

Dans les conditions hétérogènes, l'éthérification est effectuée dans un mélange alcool/eau, en présence de NaOH ou de KOH. Dans les mélanges alcool/eau, la concentration d'alcool est de 50 % à 100 % (v/v), et généralement d'environ 90 %. Ces concentrations conviennent pour gonfler et suspendre la poudre de polysaccharide et dissoudre en même temps les dérivés de l'époxyde d'alkyle à longue chaîne et la base. En utilisant ce type de solvant, les dérivés de l'époxyde d'alkyle à longue chaîne peuvent réagir avec le polysaccharide [67],[74],[78],[79].

Les milieux de réaction à base d'alcool présentent des avantages notables. Ils sont relativement peu coûteux, non toxiques et le polysaccharide modifié peut être facilement isolé par filtration.

Les réactions hétérogènes sont effectuées à des températures allant de 55 °C à 90 °C pendant 1,5 ~ 16 h. Les conditions préférées dans la plupart des réactions sont 80 °C pendant environ 8 h. Après la réaction, le DS des polysaccharides alkylés ne dépassent pas le 1%. Des DS plus élevés rendraient les dérivés polysaccharidiques insolubles dans l'eau. Dans des conditions homogènes, le polysaccharide est généralement solubilisé dans le DMSO.

Le tert-butoxyde de potassium, l'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAOH) ou le NaH sont utilisés comme catalyseur de base. Dans le DMSO, ils ont des vertus particulières. Pour le tert-butoxyde de potassium, le DMSO interagit avec le centre potassique, améliorant la basicité du butoxyde. Le TBAOH est plus soluble dans les solvants organiques que les bases inorganiques classiques. Le NaH est insoluble dans les solvants organiques, toutes les réactions impliquant le NaH se produisent à la surface du solide, et le NaH est propice à maintenir les conditions anhydres.

Théoriquement, la procédure homogène devrait fournir une meilleure efficacité de réaction plus élevée et un DS plus élevé que la procédure hétérogène. De plus, elle est supposée favoriser une distribution aléatoire des groupes alkyles le long de la chaîne polysaccharidique, car le polysaccharide et l'agent alkylant sont solubles dans le même milieu de réaction. Dans ces conditions, le polysaccharide modifié est isolé à la fin de la réaction par précipitation ou par dialyse et lyophilisation.

L'efficacité plus élevée de la procédure homogène a été confirmée par Durand et al [80]. Dans le cas du dextran modifié par l'éther phénylglycidylique (EGP) à température ambiante pendant plusieurs heures, et à une quantité donnée d'EGP, le DS obtenu est beaucoup plus élevé avec le procédé homogène qu'avec le procédé hétérogène. Ceci peut s'expliquer par une hydrolyse partielle de l'époxyde lors de l'utilisation de la procédure hétérogène. Environ 70 % du PGE ajouté est greffé sur le dextran à la fin de la réaction avec la procédure homogène, alors qu'il n'est que de 10 % avec la procédure hétérogène [80].

Cependant, l'utilisation d'une base forte entraîne souvent une dégradation partielle du polysaccharide, conduit à la formation de dérivés du polysaccharide dont les masses molaires sont inférieures à celles désirées. En comparaison avec les conditions hétérogènes, le DMSO est plus cher que le solvant alcoolique, la réaction nécessite des conditions anhydres et le traitement pour récupérer le polysaccharide est plus compliqué. Ces inconvénients limitent l'industrialisation de cette stratégie.

Il existe encore d'autres types de solvants utilisés individuellement, par exemple, un mélange de DMSO et d'eau a été utilisé pour modifier l'acide hyaluronique (HA) avec des éthers alkylglycidyliques. L'effet de la concentration de DMSO dans le mélange réactionnel sur les caractéristiques du produit (pour le dérivé décyle) a montré que l'augmentation de la quantité de DMSO de 20 % à 90 % a entraîné une augmentation de DS de 17 % à 78 %, mais une légère diminution de poids moléculaire [70].

I.5.1.3. Estérification par des dérivés hydrophobes d'acide carboxylique ou des halogénures alkylés

Des réactions d'estérification ont également été utilisées pour préparer des dérivés alkylés de polysaccharides. Il s'agit soit d'un polysaccharide neutre avec un anhydride acylique **(Figure I.9 (i))** ou un halogénure acylique **(Figure I.9 (ii))**, soit d'un polysaccharide acide (Acide hyaluronique) avec un halogénure alkyle **(Figure I.10)**.

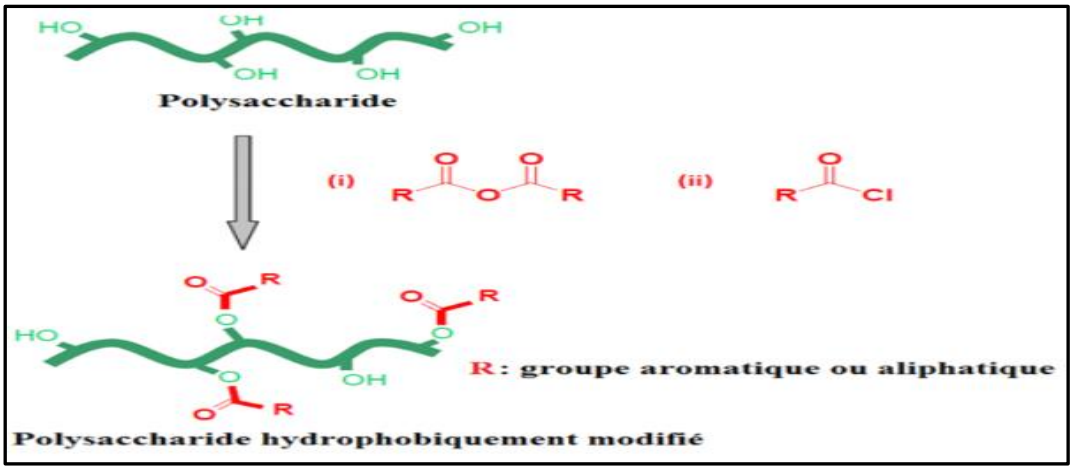


Figure I.9. Estérification des polysaccharides avec des dérivés hydrophobes d'acide carboxylique avec (i) anhydride acylique ou (ii) halogénure acylique [70].

Dans tous les cas, les réactions sont effectuées dans un solvant organique comme le DMSO ou le DMF. Par conséquent, afin de rendre l'acide polysaccharidique soluble dans le DMSO ou le DMF, il est préalablement transformé en sel de tétrabutylammonium (TBA) pour protéger les groupes d'acide carboxylique hautement anionique et perturber les liaisons hydrogène inter/intramoléculaires **(FigureI.10)** [70].

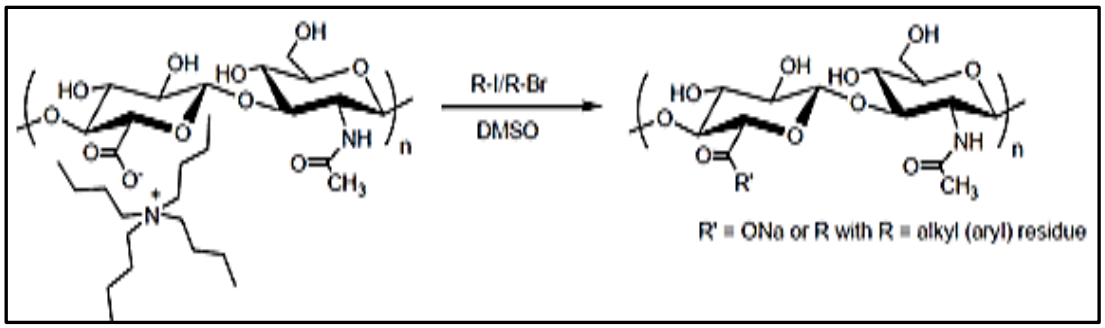


Figure I.10. Estérification des polysaccharides acides (Acide hyaluronique) avec des halogénures alkyles (aryles)[70].

I.5.1.4. Alkylation (arylation) par des dérivés isocyanates

Les polysaccharides peuvent être également alkylés à l'aide d'isocyanates aromatiques ou aliphatiques [81],[82] comme le montre la figure I.11.

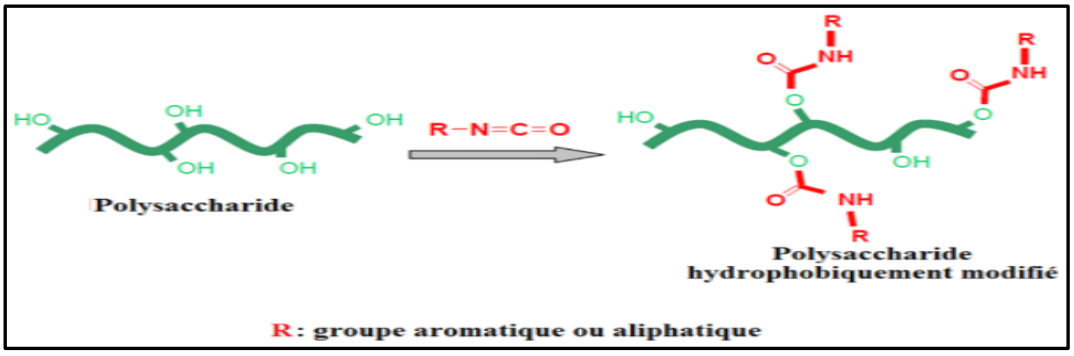


Figure I.11. Réaction de carbamoylation du polysaccharide [70].

Les groupes isocyanates réagissent aussi spontanément avec l'eau, les modifications du polysaccharide par carbamoylation sont habituellement effectuées dans des solvants organiques. De plus, les structures de certains réactifs isocyanates sont présentées à la figure I.11.Dans la plupart des protocoles, le DMSO a été utilisé comme solvant de dérivatisation, quel que soit le solvant organique utilisé, des conditions anhydres sont requises. Il existe deux grandes catégories de catalyseurs de polyuréthane, de composés aminés et de complexes organométalliques. Ces derniers sont très sélectifs vis-à-vis de la réaction polysaccharidique/isocyanate [70].Cependant, le principal inconvénient, est la dégradation du polysaccharide par la carbamoylation. En outre, malgré les progrès réalisés dans l'art de l'alkylation à l'aide de dérivés isocyanates, bon nombre des approches impliquent l'utilisation de matériaux relativement coûteux qui peuvent être compliqués à utiliser dans une installation de taille commerciale [70].

I.5.2. Modification chimique du kappa carraghénane

Plusieurs modifications chimiques ont été proposées pour améliorer, développer ou modifier les propriétés physico-chimiques des carraghénanes. Les fonctions hydroxyle primaires des unités G et secondaire des unités DA peuvent être modifiées par polymérisation, carboxyméthylation, thiolation, acétylation, phosphorylation, sulfatation, oxydation, et cationization **(Figure I.12)**, pour des applications dans le domaine de la pharmacologie, et de la biotechnologie [59].

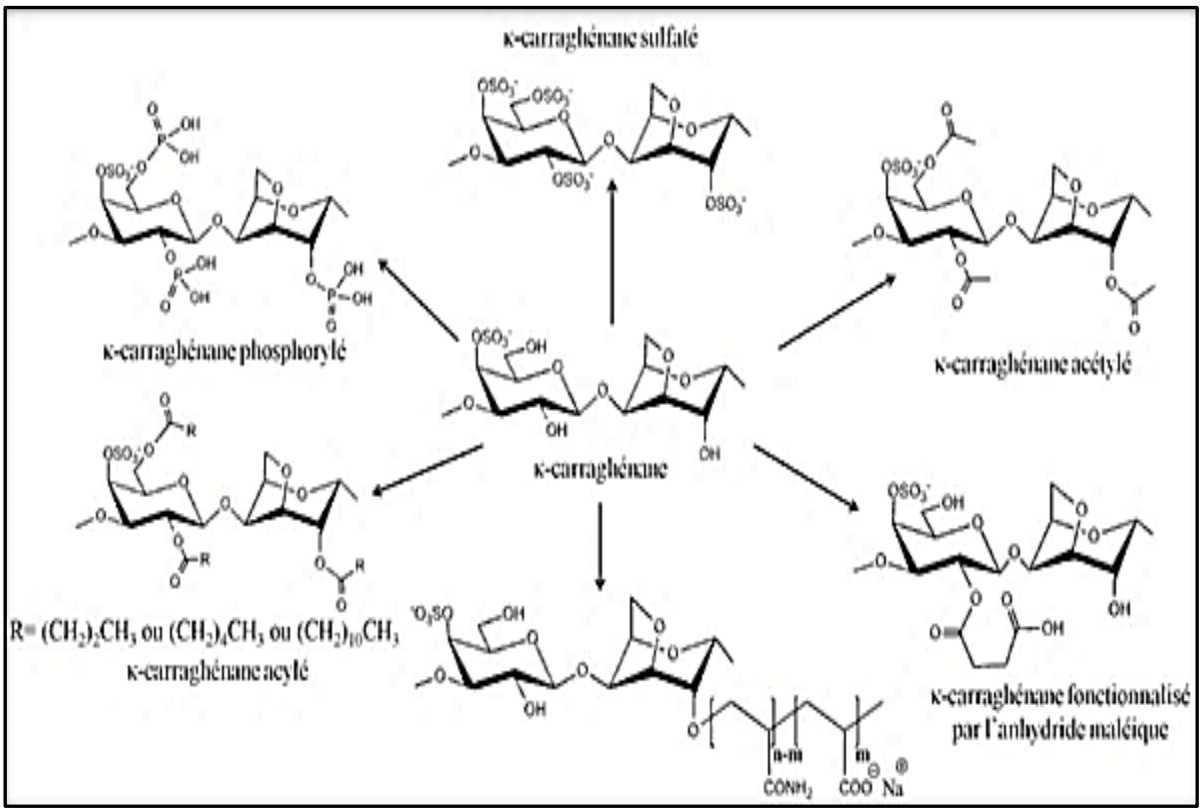


Figure I.12. Schéma des modifications chimiques du κ-carraghénane

I.5.2.1. Réaction de carboxyméthylation

La carboxyméthylation des polysaccharides est une modification chimique largement utilisée pour la recherche et le développement de nouveaux biomatériaux et a été appliquée à la production industrielle de carboxyméthylcellulose (CMC) [83]. Les dérivés carboxyméthylés possèdent universellement une solubilité accrue, des activités biologiques améliorées, y compris des activités antioxydantes et antimicrobiennes. La réaction de carboxyméthylation a modifié les carraghénanes avec des propriétés compatibles pour un large éventail d'applications, telles que l'administration de médicaments [84], la cicatrisation des plaies et les cosmétiques [85]. Le kappa carraghénane carboxyméthylé (CMKC) a une structure semblable à l'héparine, qui est l'anticoagulant le plus couramment utilisé en clinique.

La carboxyméthylation de KC apparaît sur le C-2 d'unités DA ainsi que C-2 et C-6 d'unités G4S avec la réactivité dans l'ordre de C-2 (G4S) > C-6 (G4S) > C-2 (DA) **(Figure I.13)**. Par rapport à la k-carraghénane non modifiée, le KC après carboxyméthylation présentait une meilleure proportion de séparation de l'eau et une meilleure résistance au gel, indiquant que les carraghénanes modifiés étaient équipés d'une capacité de rétention d'eau élevée et d'une propriété de gélification douce qui répondrait à la demande commercialisable de production industrielle [7]

De plus, les nanoparticules à base de KC carboxyméthylés ont été largement appliquées dans l'administration d'insuline par voie orale. CMKC possède une capacité de protéger les peptides de la dégradation acide et enzymatique dans le tractus gastro-intestinal [84].

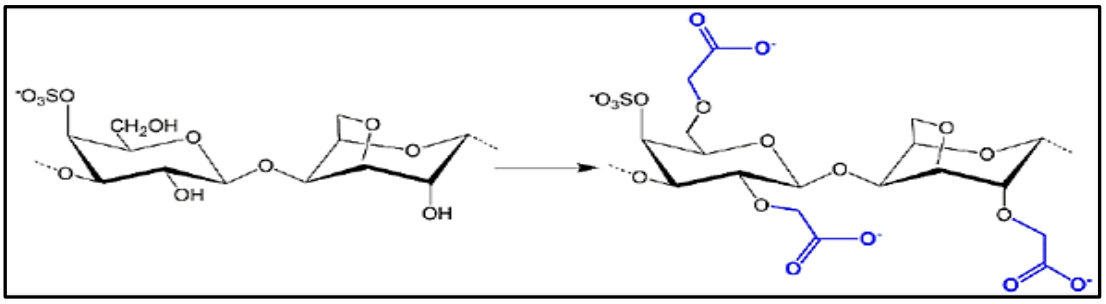


Figure I.13. Réaction de carboxyméthylation de kappa carraghénane[7].

I.5.2.2. Thiolation

Le kappa carraghénane thiolé a été généré par le remplacement des groupes hydroxyles par des groupes thiols aux positions C-6 et C-2 de G4S **(Figure I.14)**. La substitution était de 62,6%. Et le KC-SH a montré une viscosité dynamique accrue, Par conséquent, la propriété mucoadhesive de dérivé thiolé est largement influencée par le degré de thiolation, qui est utile pour le développement de nouveaux excipients pharmaceutiques [7].

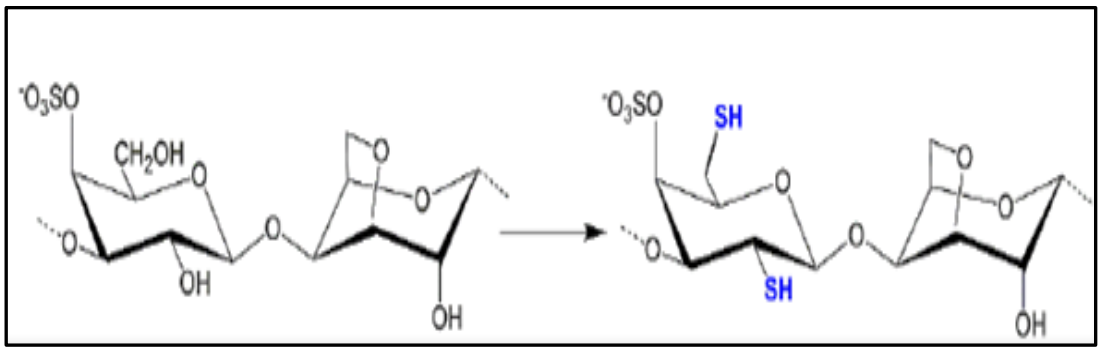


Figure I.14. Réaction de thiolation du kappa carraghénane [7].

I.5.2.3. Réaction d'acétylation

L'acétylation des carraghénanes est relativement rare, se concentrant principalement sur l'activité antioxydante. Par exemple, à une concentration de 100-400 µg/ml, les dérivés acétylés élevés des oligosaccharides KC présentaient une meilleure inhibition des radicaux superoxydes que les KC non modifiés. En ce qui concerne les dérivés faiblement acétylés, la récupération du superoxyde dépendait de la concentration, car le taux d'inhibition était inférieur à celui du KC non substitué à des concentrations inférieures à 200 $\mu g.ml^{-1}$, mais supérieur à celui du KC non substitué à des concentrations supérieures à 200 $\mu g.ml^{-1}$ [86]. Comme pour les radicaux hydroxyles, une inhibition dépendante de la concentration a été observée pour les dérivés acétylés. Le balayage du OH a augmenté avec les concentrations croissantes dans les dérivés acétylés faibles et élevés. Cependant, le premier a montré une forte OH. En conclusion, l'acétylation des carraghénanes peut mener à des activités antioxydantes améliorées qui étaient étroitement liées au degré de substitution et à la concentration des polysaccharides modifiés, mais le mécanisme intrinsèque de différenciation des activités de récupération de radicaux libres entre un degré de substitution faible et élevé n'est pas très clair.

I.5.2.4. Réaction de Phosphorylation

La phosphorylation du kappa carraghénane peut se produire sur le C-2 des résidus de G4S, où les groupes hydroxyles ont été remplacés par des groupes diphosphoester **(Figure I.15)**. Les dérivés phosphorylés ont affiché un effet inhibiteur relativement plus faible sur le superoxyde, que ce soit à des concentrations faibles ou élevées, ce qui indique que la phosphorylation des carraghénanes ne profitera pas à leur balayage par superoxyde. En revanche, les oligosaccharides KC phosphorylés ont montré d'excellentes activités de récupération des radicaux hydroxyles [86].

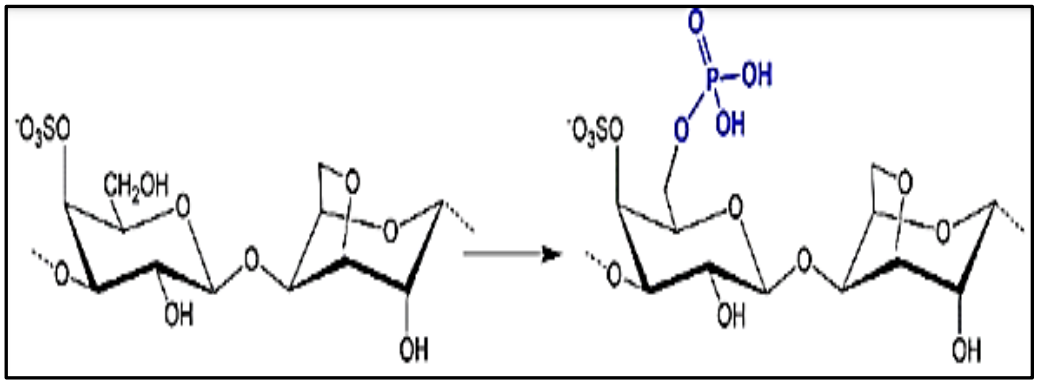


Figure I.15. Réaction de phosphorylation du kappa carraghénane[7].

I.5.2.5. Réaction de Sulfatation

La sulfation de kappa carraghénane **(Figure I.16)** a triplé le pourcentage de sulfate et augmenté l'efficacité anticoagulante plus de 100 fois [87]. De plus, pour doubler le temps de la prothrombine, la concentration de kappa carraghénane requise a été réduite de 30 fois après la sulfatation sur le C-6 de G4S [88]. Par ailleurs, la substitution de sulfates sur le C-6 de G4S et C-2 d'unités de DA a eu un effet favorable sur l'activité anticoagulante des dérivés de carraghénane, et des groupes de sulfates à C-2 de oligosaccharides kappa carraghénane non modifiés [86],[89].

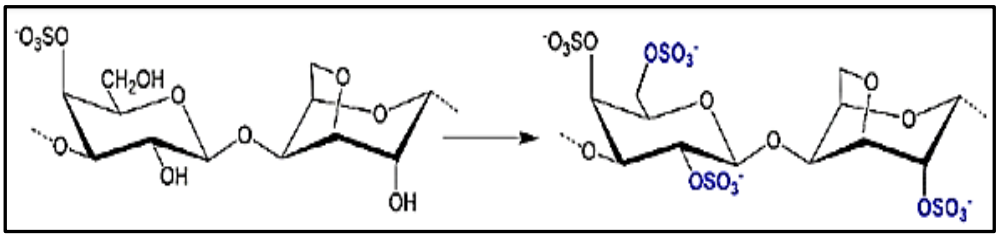


Figure I.16. Réaction de sulfatation du kappa carraghénane [7].

I.5.2.6. Réaction d'Oxydation

L'oxydation des carraghénanes se fait généralement à l'aide du TEMPO ou du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) comme oxydant, et le niveau d'oxydation dépend du nombre d'oxydants [90],[91]. Propriété oxydative des carraghénanes principalement causée par la substitution de groupes carboxyle ou aldéhyde à des groupes hydroxyles primaires **(Figure I.17)**. De plus, une réaction secondaire dans l'oxydation TEMPO de kappa carraghénane peut se produire au C-2 des unités DA, qui peut être éliminée par l'agent réducteur $NaBH_4$ sans affecter le groupe carboxyle au C-6 [92]. Il est établi que l'effet antibactérien des polysaccharides oxydés est principalement attribuable à la présence de groupes d'aldéhydes, de sorte qu'une teneur élevée en aldéhydes peut favoriser la propriété antibactérienne des polysaccharides oxydés [93]. De plus, le groupe carboxyle a été confirmé pour améliorer l'activité anticoagulante des carraghénanes oxydés [90].

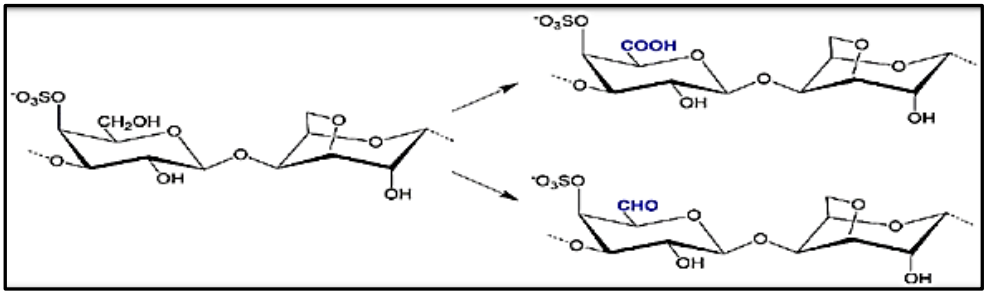


Figure I.17. Réaction d'oxydation du kappa carraghénane [7].

I.5.2.7. Cationisation du kappa carraghénane

Le kappa carrghénane amphotére a été généré par l'éthérification de KC anionique avec le CHPTAC [94]. La cationisation de KC apparaît sur le C-2 des résidus DA, suivie de C-2 et C-6 des G4S **(Figure I.18)**. L'interaction électrostatique entre les groupes sulfates et le composé cationique peut modifier les propriétés de surface des carraghénanes [7].

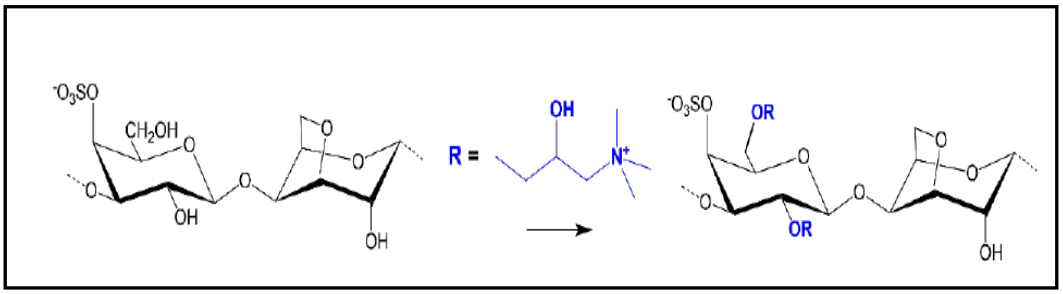


Figure I.18. Réaction de cationisation de kappa carraghénane [7].

I.6. LES DISPERSIONS

Une dispersion est un système généralement constitué d'au moins deux phases dont l'une, la phase dispersée (généralement la partie minoritaire) est dispersée dans l'autre phase (partie majoritaire) dite dispersante ou phase continue.

Il existe plusieurs types de dispersions qui appartiennent à différentes classes. Parmi les méthodes de classification des systèmes dispersés, la plus simple est celle qui permet de rattacher ces systèmes aux phases solide, liquide et gazeuse.

I.6.1. Les émulsions

Les émulsions sont des dispersions de deux phases non miscibles où l'une des phases est dispersée sous forme de gouttelettes dans l'autre. La phase qui est présente sous forme de gouttelettes est dénommée « phase dispersée » et la phase qui constitue la matrice dans laquelle se trouve les gouttelettes en suspension est appelée la « phase continue » [95],[96]. Les deux phases non miscibles de l'émulsion n'ont pas la même solubilité. L'une est hydrophobe ou lipophile, désignée couramment : phase hydrophobe. L'autre est hydrophile, dite phase aqueuse [97]. La phase continue est parfois appelée la phase externe, milieu de dispersion ou milieu de suspension[98],[99]. Ces systèmes sont des cas particuliers des dispersions colloïdales ayant une taille variant de 10 à 1000 nm [100]. Les émulsions contiennent aussi généralement un troisième composant, appelé l'agent émulsionnant ou émulsifiant.

Les émulsions sont des systèmes instables sur le plan thermodynamique, car la séparation des deux phases mène à une diminution de l'énergie libre du système. La stabilité du mélange est alors assurée par un agent émulsifiant formant un film interfacial autour des globules de la phase dispersée [101].

I.6.1.1.Structure des émulsions

Les ingrédients de l'émulsion s'auto-organisent sous l'effet de différents facteurs: physiques (forces intermoléculaires ou inter-gouttelettes), chimiques (Formation de liaisons covalentes) et biologiques (fermentation, etc.). Comme les émulsions sont des systèmes métastables, leur structure initiale évolue avec le temps, pendant le stockage et/ou le transport, suite aux traitements thermiques et aux contraintes mécaniques [102].

Il est d'une importance primordiale de fabriquer des structures qui ne sont pas seulement bonnes en termes de perception sensorielle, mais aussi suffisamment stables pour être commercialement viable. Les exigences relatives à la composition et aux propriétés des gouttelettes d'émulsion sont différentes selon l'utilisation finale. Le comportement des émulsions alimentaires est déterminé par les trois parties du système: la phase huileuse, la phase interfaciale et la phase aqueuse **(Figure I.19)**. L'interface peut être éliminée dans le cas d'émulsions acoustiques sans tensio-actif. Comprendre les propriétés structurales des émulsions exige une connaissance précise des comportements de ces trois constituant de l'émulsion, à la fois individuellement et en mélange[102].

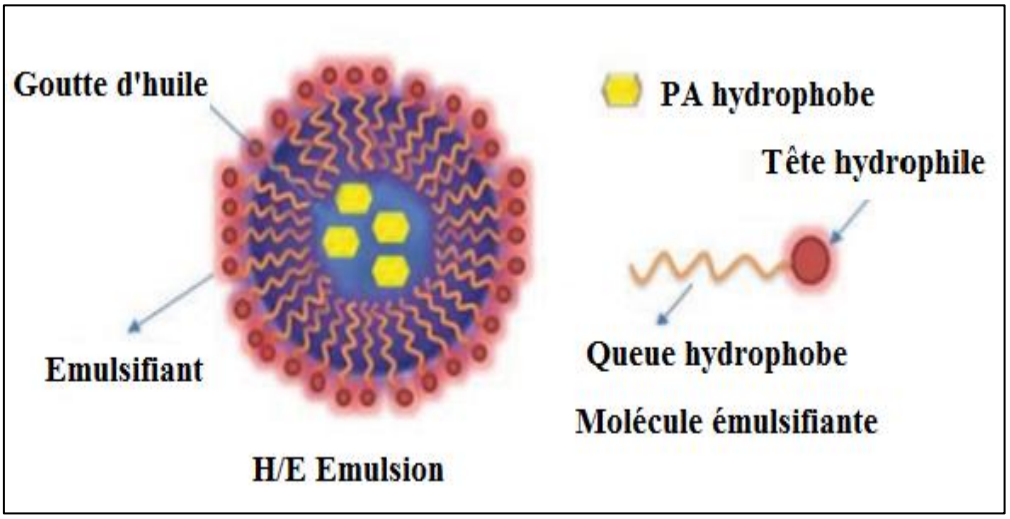


Figure I.19. Schématisation de la structure d'une gouttelette d'huile dans une émulsion huile dans eau (H/E), stabilisée par un tensioactif [103].

I.6.1.2. Composition des émulsions

Les émulsions sont composées généralement de deux phases distinctes : une phase hydrophile généralement de l'eau, une phase hydrophobe généralement une huile, et d'un émulsifiant à l'interface de ces deux phases[102].

I.6.1.2.1. Phase hydrophile

Composée essentiellement d'eau, ou de macérât hydro glycériné, la phase aqueuse peut également intégrer une gomme, une résine ou d'autres ingrédients selon le produit fabriqué, elle peut être additionnée à d'autres substances humectantes ou à des principes actifs rendant le milieu plus ou moins impropre au développement de micro-organismes. La phase aqueuse peut contenir des ions, des biomolécules telles que des polysaccharides ou des protéines, qui peuvent exercer des effets stabilisateurs ou déstabilisateurs[105],[107].

I.6.1.2.2. Phase hydrophobe

C'est la phase qui conditionne les caractéristiques et propriétés du produit fini. La phase hydrophobe peut être de nature lipidique et sert souvent de matrice de vectorisation des principes actifs hydrophobes utilisés dans les domaines des cosmétiques ou des pharmaceutiques. La phase hydrophobe peut être constituée de triglycérides mais aussi d'huile essentielle (terpènes) ou d'actifs hydrophobes. Concernant cette huile végétale, dans l'agroalimentaire il peut s'agir de l'huile de tournesol, colza, huile d'olive et autre huiles comestible. En cosmétique, il peut s'agir soit des huiles végétales ayant des vertus comme, nourrir et apporter confort et protection à la peau ou aux cheveux, comme exemple : huile d'amande ou l'huile d'argan. Il peut s'agir des huiles essentielles provenant de différentes plantes aromatique et présentant de nombreux avantages que ce soit dans le domaine cosmétique, pharmaceutique ou encore dans l'agroalimentaire. Les huiles essentielles ont été largement utilisées pour leurs propriétés antibactérienne, antifongique et insecticide [104]. Généralement, la phase dite huileuse est composée d'huile végétale, huile essentielles, vitamines, antioxydants et agents bioactifs ; la phase aqueuse comprend l'eau, les tensioactifs, les gommes, ou des sels.

I.6.1.2.3. Emulsifiant

Les émulsifiants peuvent être des molécules amphiphiles, c'est-à-dire qu'ils présentent deux parties de polarité différente, l'une lipophile, ayant affinité avec les matières grasses, l'autre hydrophile , ayant une affinité avec l'eau [105].Généralement les agents tensioactifs appelés aussi agents de surfaces tensioactifs ou surfactants sont les plus utilisés. Ils ont la capacité de

diminuer la tension interfaciale entre l'eau et l'huile et permettent ainsi le mélange homogène des deux liquides non miscibles. Grâce à ce caractère amphiphile, les tensioactifs vont venir se fixer à l'interface des phases hydrophiles et lipophiles, ce qui va abaisser la tension de surface et donc stabiliser l'émulsion [106].Les tensioactifs sont caractérisés par leur balance hydrophile lipophile ou HLB qui traduit l'équilibre entre les groupements hydrophiles et les groupements lipophiles. Lorsque la HLB est compris entre 1 et 9, le tensioactif est lipophile et favorise les émulsions eau dans huile E/H. Lorsque le HLB est comprise entre 11 et 20, le tensioactif est hydrophile et facilite les émulsions huile dans eau H/E. Cette balance est un facteur important dans le choix du tensioactif suivant le type d'émulsion souhaitée. La nature du tensioactif est également importante suivant ses propriétés [107].

Pour les tensioactifs, la stabilisation est aussi effectuée par la création d'une barrière stérique, mécanique et électrique entre les gouttelettes, ce qui empêche leur coalescence. Il existe quatre types de composés tensioactifs, qui sont regroupés selon la nature de la partie hydrophile **(Figure I.20)** :

- ***Les tensioactifs anioniques*** : la partie hydrophile est chargée négativement.
- ***Les tensioactifs cationiques*** : la partie hydrophile est chargée positivement.
- ***Les tensioactifs zwitterioniques ou amphotères*** : la partie hydrophile comporte une charge positive et une charge négative, la charge globale est nulle.
- ***Les tensioactifs non ioniques*** : la molécule ne comporte aucune charge nette.

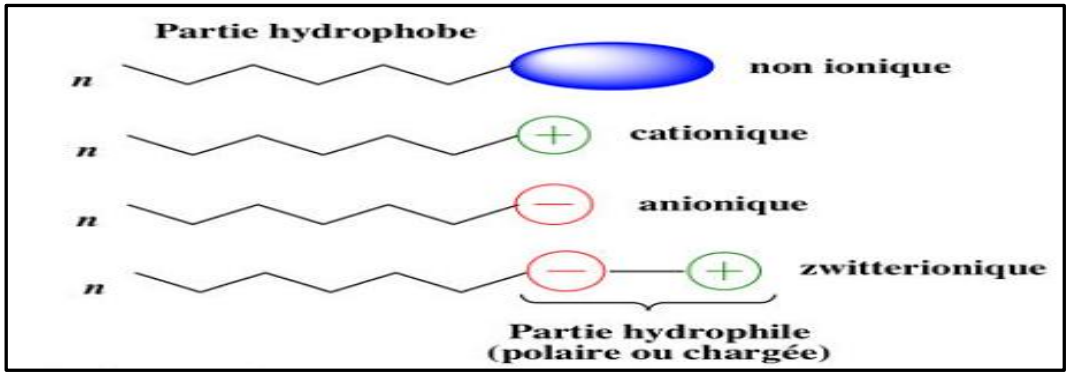


Figure I.20. Différents types de tensioactifs.

I.6.1.3. Types d'émulsions

Il existe différents types d'émulsions. En effet, selon la nature de la phase dispersée et le nombre de phases différentes émulsions subsistent. Les émulsions peuvent être classées en deux grands groupes:

I.6.1.3.1. Émulsions simples

Dans le cas d'émulsions simples, des gouttelettes d'une phase liquide sont dispersées dans une autre phase liquide non miscible **(Figure I.21)** [108].

Les émulsions sont nommées suivant la phase dispersée en «huile-dans-eau» ou «eau-dans huile ». Les émulsions « huile dans eau » sont composées de gouttelettes d'huile dispersées dans une phase aqueuse alors que les émulsions eau dans huile ont une disposition inverse, c'est-à dire que les gouttelettes d'eau sont dispersées dans une phase huileuse [108].

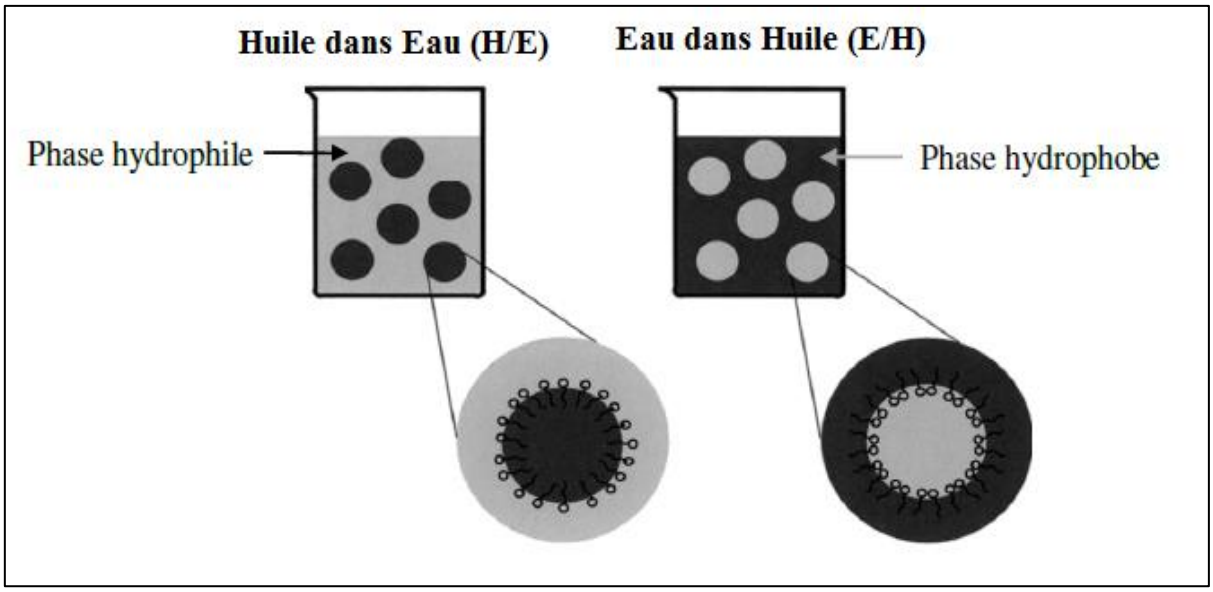


Figure I.21. Structure des émulsions simples : Huile dans Eau (H/E) et eau dans huile (E/H) [15]**.**

I.6.1.3.2. Émulsions doubles ou multiples

Les émulsions multiples sont des systèmes complexes, appelés «émulsions d'émulsions» [109]. Deux principaux types d'émulsions doubles peuvent être distingués **(Figure I.22)** [102]:

- Emulsion eau dans huile dans eau (E/H/E) où une émulsion E/H est dispersée sous forme de gouttelettes dans une phase aqueuse.
- Emulsion huile dans eau dans huile (H/E/H) où une émulsion H/E est dispersée dans une phase huileuse.

Les émulsions E/H/E sont plus fréquente que émulsions H/E/H. Les émulsions doubles contiennent plus d'interface et sont encore plus thermodynamiquement instables que les émulsions simples [110]. Les émulsions doubles présentent beaucoup de possibilités intéressantes pour la libération contrôlée de substances chimiques initialement piégées dans les gouttelettes internes. Diverses industries, y compris l'alimentaire et les cosmétiques,

manifestent un intérêt évident dans le développement technologique de ces systèmes complexes. Le domaine des produits pharmaceutiques est la principale zone d'application.

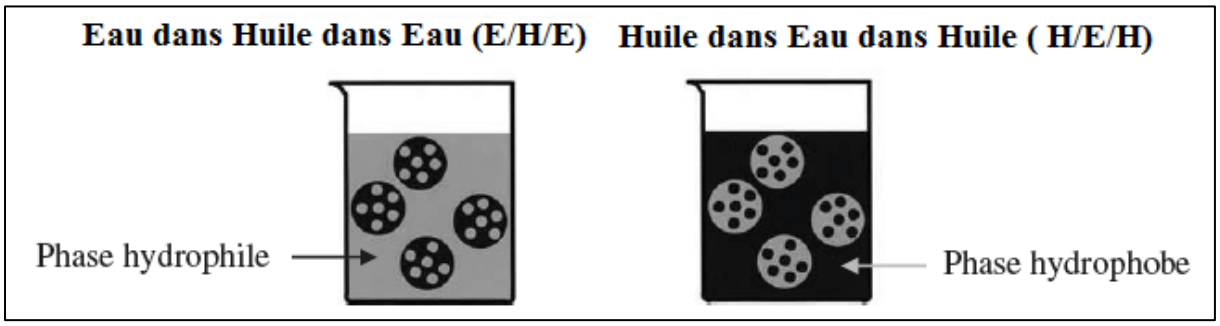


Figure I.22. Emulsions doubles [15].

I.6.1.4. Classification des émulsions

Selon la taille de leurs gouttelettes, les émulsions peuvent être classées en trois types : Macroémulsions, nanoémulsions et microémulsions. Contrairement à ce que l'on pourrait penser, dans la littérature, les microémulsions sont les émulsions ayant la granulométrie la plus fine et leur taille de gouttelettes est plus petite que celle des nanoémulsions.

I.6.1.4.1. Macroémulsion

Regroupe des dispersions liquide/liquide, avec une taille de gouttelettes comprise entre 1 et 100 µm (voire jusqu'à 500 µm) correspondant à la dimension minimale accessible par agitation mécanique. La grande taille des gouttelettes augmente l'effet de la gravité sur ces dernières ce qui rend le système instable thermodynamiquement [111].

I.6.1.4.2. Microémulsion

Les microémulsions sont des systèmes homogènes, thermodynamiquement stables, transparents et peu visqueux. Elles sont transparentes, parfois bleutées (par effet de Tyndall), en raison de leur faible tailles. Les phénomènes de diffusion de la lumière visible (de longueur d'onde 0,4 à 0,8µm), qui provoquent l'opacité des émulsions, n'interviennent plus pour cette échelle de taille deux cent fois plus petite. Les microémulsions sont des systèmes monophasiques dans lesquels un tensioactif rend possible la coexistence des phases eau et huile. Les microémulsions présentent des micro-domaines de petite dimension, typiquement de l'ordre de 10 à 100 nm, fluctuant rapidement dans le temps et dans l'espace. Contrairement aux macro/nanoémulsions [112].

I.6.1.4.3. Nanoémulsion

Les nanoémulsions peuvent être définies comme des dispersions d'un diamètre bien inférieur à l'ordre du micron [113]. Les nanoémulsions sont très intéressantes en raison de la taille

extrêmement faible des gouttelettes, entre 20-500 nm [114]. La plupart d'entre elles peuvent apparaître transparentes ou translucides grâce à leurs gouttelettes aux dimensions plus petites que la longueur d'onde de la lumière (D~50 nm) rendant la diffusion de lumière relativement faible [115],[101], [116]. Les nanoémulsions sont aussi connues sous le nom miniémulsions [117], émulsions ultrafines, émulsions submicroniques [118], microémulsions instables [119].

En raison de leur petite taille des gouttelettes, certaines nanoémulsions ressemblant à des microémulsions transparentes ou translucides[114]. Cependant, les nanoémulsions, contrairement aux microémulsions, ne sont pas thermodynamiquement stable. Néanmoins, elles peuvent avoir une grande stabilité cinétique parce que leur petite taille de gouttelettes les rend stables contre la sédimentation et le crémage[115],[114],[101].

I.6.1.5. Instabilité des émulsions

Les émulsions sont thermodynamiquement instables et présentent un risque de floculation, de crémage ou de coalescence lors des interactions dynamiques des gouttelettes. Elles tendent vers la séparation de phase par le biais de transfert de masse, et autres mécanismes. Comme le montre la figure I.23, les différents modes de dégradations des émulsions sont les suivants :

I.6.1.5.1. Floculation

Lors de la floculation, les gouttelettes de la phase dispersée forment des agrégats et chacun de ces agrégats conserve encore son identité; l'agrégation est réversible.

I.6.1.5.2. Coalescence

C'est un phénomène irréversible qui résulte de la rupture du film interfacial entre les gouttes de la phase dispersée et donc formation de grosses gouttelettes. La coalescence débute par une floculation, s'ensuit une fusion des gouttelettes [120].

I.6.1.5.3. Sédimentation et crémage

Ces deux phénomènes résultent de la différence de densité entre la phase continue et la phase dispersée. Si la phase dispersée à une densité plus élevée que la phase continue, il en résultera une sédimentation, cependant si la phase dispersée présente une densité moins importante que la phase continue ce qui aboutit à un crémage. Théoriquement, le crémage et la sédimentation sont des phénomènes réversibles, car il suffit en principe d'agiter modérément les préparations pour redistribuer les particules de façon homogène [121].

I.6.1.5.4. Mûrissement d'Ostwald

Le mûrissement d'Ostwald représente le flux de matière des petites vers les grosses gouttes, au travers de la phase continue. Les petites gouttes se vident au profit des grosses, et la granulométrie se modifie puisque les classes de faible taille disparaissent. Le mûrissement d'Ostwald intervient, en permanence, dès que des interfaces courbes sont présentes [122].

I.6.1.5.5. Inversion de phases

L'inversion de phases, est un phénomène qui se traduit par un changement du sens de l'émulsion, c'est-à-dire la transformation d'une émulsion E/H en une H/E ou inversement. Elle peut être aussi liée à plusieurs facteurs tels que, la température, la nature de la phase huileuse, la nature et la concentration des sels existant, la proportion de phase dispersée [123].

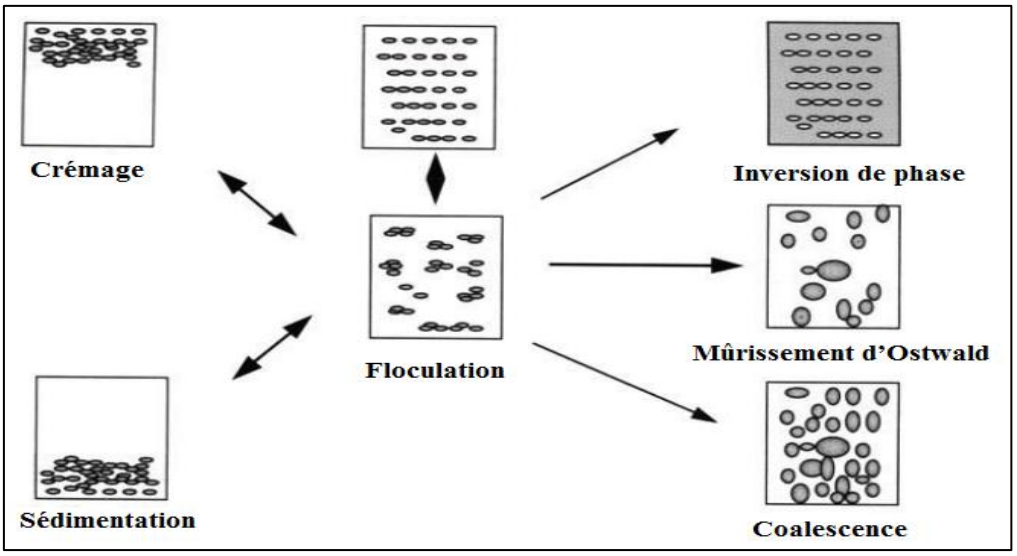


Figure I.23. Phénomènes de déstabilisation des émulsions [124].

I.6.1.6. Modes de stabilisation des émulsions

Il est connu que les caractéristiques de l'huile affectent les propriétés de l'émulsion (par exemple, la taille des gouttelettes, la stabilité colloïdale), en présence de tensioactifs et / ou polymères amphiphiles. La stabilité colloïdale des suspensions (tel que les émulsions) résulte des forces attractives de Van der Waals et des forces électrostatiques répulsives. En l'absence de ces forces répulsives opposées aux forces de Van der Waals, les gouttelettes en suspension s'agrègent et coalescent déstabilisant ainsi l'émulsion. Ces forces de stabilisation sont de trois types [125].

I.6.1.6.1. Stabilisation électrostatique

Dans un milieu aqueux, une particule acquiert une charge électrique en surface qui dépend de la structure de la particule, de la présence de groupements ionisables et/ou de l'adsorption

sélective d'ions présents dans le milieu. Il apparaît alors une charge superficielle, positive ou négative selon le pH du milieu. Les ions avec une charge de signe opposé à celle de la particule (contre-ions) vont se concentrer autour de sa surface, tandis que les ions avec la charge de même signe (co-ions) seront repoussés vers l'extérieur. Loin de la surface, la concentration en ions positifs et négatifs est la même, ce qui induit un milieu électriquement neutre [111]. Cette distribution non homogène est appelée double couche électrique, et est représentée graphiquement sur la figure I.24.

Lorsque deux particules chargées se rapprochent, chacune avec sa charge ionique, l'interpénétration des doubles couches électriques va générer un potentiel de répulsion électrostatique. Il faut noter que l'ajout de sel au système fait augmenter la force ionique, ce qui restreint la double couche en réduisant la portée de la répulsion, ce qui peut générer des effets d'agrégation [111]. La présence d'espèces adsorbées chargées comme dans les tensioactifs ioniques, peut évidemment produire le même effet, en générant une zone de charge nette non nulle près de l'interface et la répulsion correspondante.

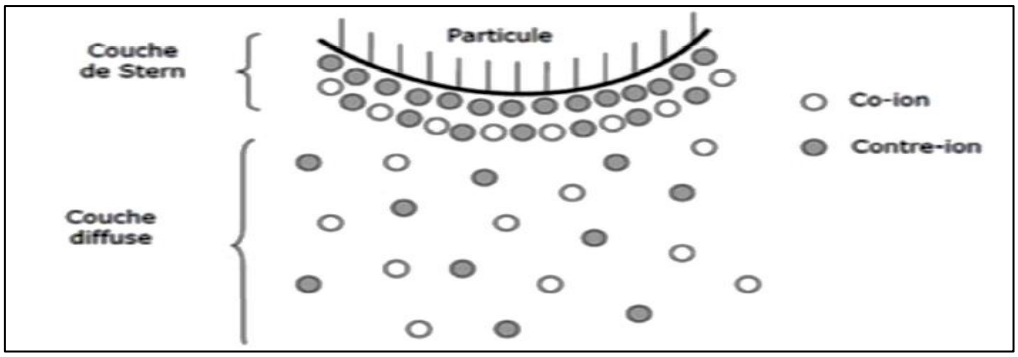


Figure I.24. Double couche électrique [123].

I.6.1.6.2. Stabilisation stérique

Cette méthode de stabilisation consiste à ajouter des macromolécules de type non-ionique, qui s'adsorbent à l'interface des gouttelettes, tels que les polymères amphiphiles. Ces couches macromoléculaires agissent en créant une barrière physique qui augmente la distance entre les gouttes [112]. Ce phénomène peut être interprété de deux théories:

- La première théorie porte sur un effet entropique, parce que les chaînes adsorbées se compriment, en réduisant leur volume, ce qui entraîne une réduction de l'entropie et provoque la répulsion désirée.
- La deuxième théorie, porte sur une répulsion osmotique basée sur l'interpénétration des couches adsorbées. Il y a une augmentation de la concentration en segments polymères dans la région de recouvrement et une réduction de l'entropie configurationelle. En

conséquence, la pression osmotique dans cette région augmente, ce qui tend à séparer les gouttes entre elles.

Ce type de stabilisation peut aussi se produire par l'ajout de particules solides comme le talc ou la nacre micronisée [112],[111].

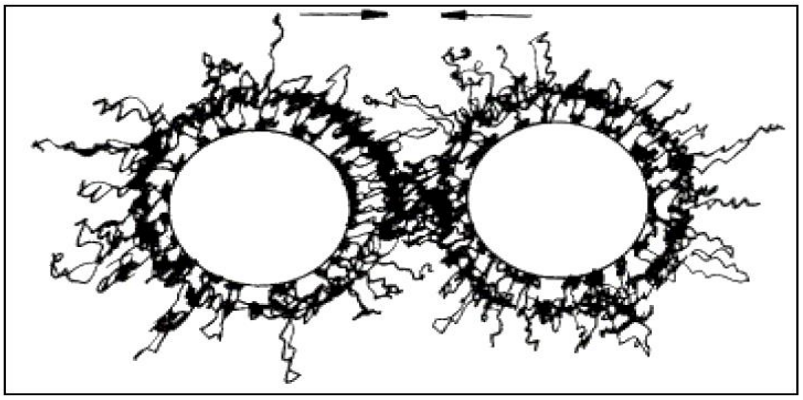


Figure I.25. Schéma de la stabilisation stérique [126].

I.6.1.6.3. stabilisation électrostérique

Cette technique de stabilisation combine les effets stériques et électrostatiques, provoqués par des macromolécules présentant des groupements ioniques distribués dans la chaîne principale ou dans les ramifications. Ces molécules apportent un effet stérique (stabilisation à courte portée) et un effet électrostatique (stabilisation à longue portée) à la particule [112],[127]. L'origine du composant électrostatique peut être une charge nette sur la surface des particules et / ou des charges associées au polymère fixé à la surface (c'est-à-dire à travers un polyélectrolyte fixé) [112].

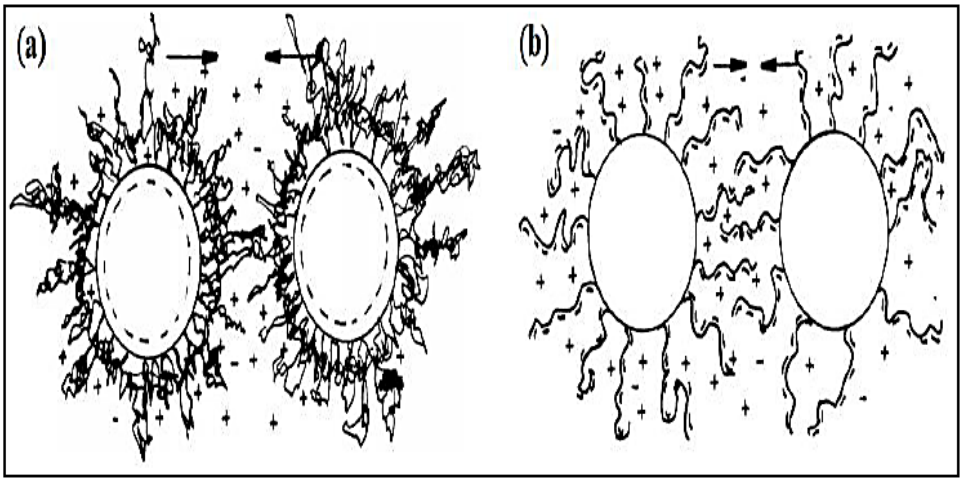


Figure I.26. Stabilisation électrostérique : **(a)** particules chargées avec un polymère non ionique, **(b)** polyélectrolyte attaché avec des particules non chargées[126].

I.6.1.6.4. Stabilisation couche par couche

La stabilisation couche par couche (Layer by layer stabilisation, LBL) représente une organisation successive de couches de tensioactifs chargés et de polymères **(Figure I.25)**. Actuellement, la stabilisation stérique (par polymère amphiphiles) et électrostérique (tensioactif) sont les deux modes les plus utilisés pour la stabilisation des émulsions.

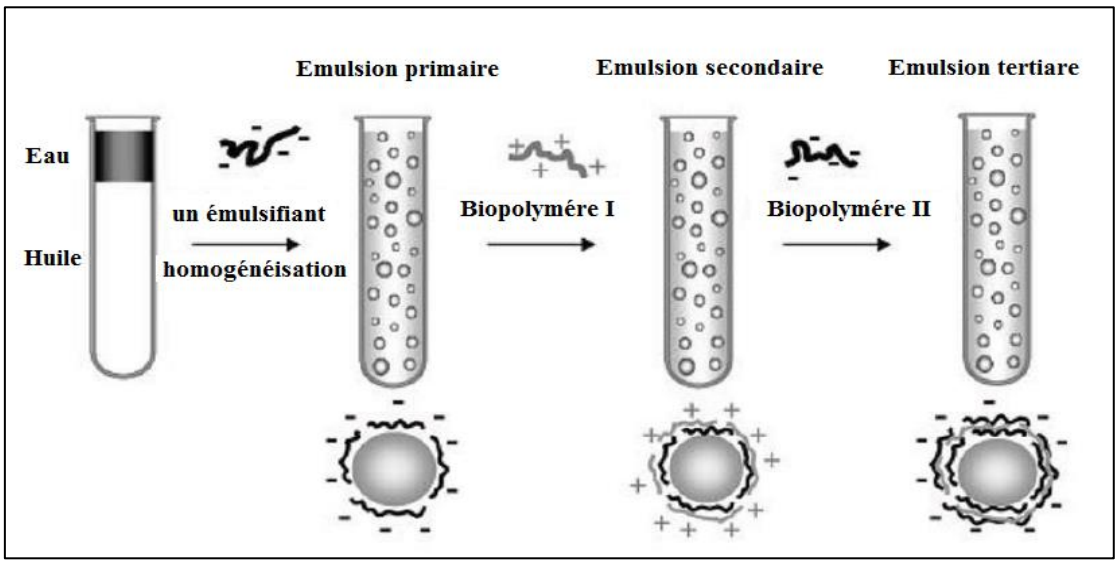


Figure I.27. Utilisation du mécanisme de stabilisation couche par couche (Layer by layer stabilisation, LBL) pour la production d'émulsion H/E [128].

I.6.2 HYDROGELS ET EMULGELS

I.6.2.1. Hydrogels

Un hydrogel est un réseau macromoléculaire tridimensionnel composé de chaînes de polymères hydrophiles, connectées entre elles, formant ce qu'on appelle un réseau. Cette connexion entre chaînes polymériques peut être de deux sortes, permanente (liaisons covalentes) ou réversible (liaisons hydrogènes, interactions de type Van der Waals, enchevêtrements…) ce qui permet de différencier deux grands types de gels : les gels physiques et les gels chimiques[129]. Les hydrogels sont des biomatériaux intéressants car leur haute teneur en eau les rend compatibles avec la majorité des tissus vivants. De plus, les hydrogels sont relativement flexibles, minimisant les dommages causés au tissu environnant pendant et après l'implantation chez le patient [130].Les propriétés mécaniques des hydrogels ont tendance à imiter celles des tissus mous humains, permettant aux hydrogels d'assurer à la fois les caractéristiques fonctionnelles et morphologiques du tissu à réparer. Ils sont donc couramment utilisés comme échafaudages en ingénierie tissulaire.

La synthèse des hydrogels peut être envisagée selon deux voies principales. La première consiste en la polymérisation et la réticulation simultanées d'un monomère de fonctionnalité égale à 2 et d'un réticulant de fonctionnalité au moins égale à 3 **(Figure I.28)**.Cette méthode, en une seule étape, permet une grande liberté dans le choix de la composition de l'hydrogel (nature chimique, concentration en monomère et densité de réticulant). Elle présente en revanche l'inconvénient de donner au gel une structure assez hétérogène aussi bien en surface qu'en volume. Le gel peut également être préparé par réticulation de macromolécules linéaires préformées, éventuellement fonctionnalisées lors d'une première étape de synthèse par des fonctions chimiques réactives **(Figure I.28)**. La structure obtenue est plus homogène mais la méthode est moins versatile et en particulier plus délicate à mettre en œuvre dans le cas de la synthèse de copolymères.

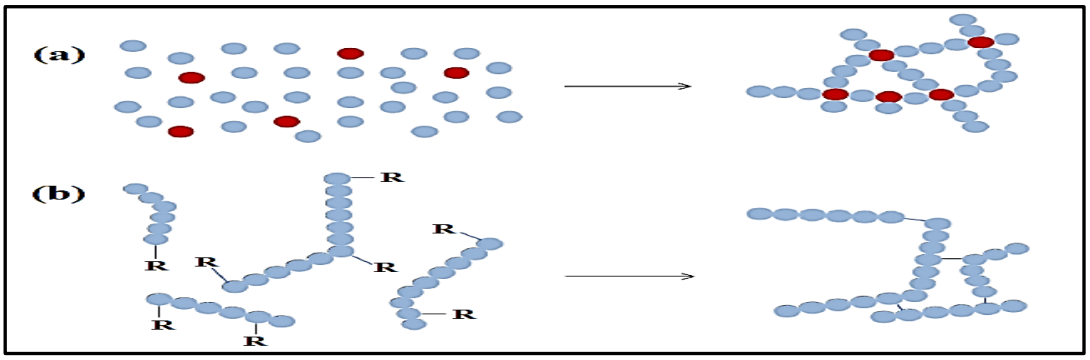


Figure I.28. Synthèse d'hydrogels par polymérisation et réticulation simultanées à partir de monomères (a) et par réticulation de chaînes polymères fonctionnalisées (b) [131].

Dans les deux cas, la structure de l'hydrogel obtenue après synthèse **(Figure I.29)** varie avec la nature du polymère, la densité de réticulation, la taille de la maille ou encore la présence de défauts éventuels (boucles, chaînes pendantes, enchevêtrements,…). Ces divers paramètres contribuent directement aux propriétés de gonflement thermodynamique et cinétique des hydrogels, ainsi qu'à leurs propriétés élastiques, dont le module est généralement compris entre 10^3 et 10^5 Pa [132].

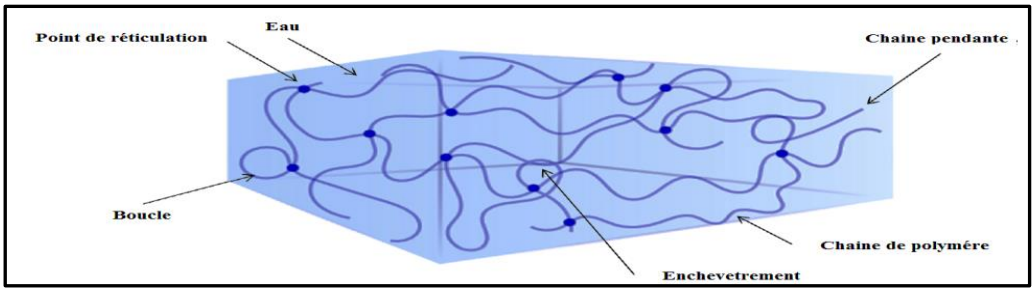


Figure I.29. Représentation d'un hydrogel de polymère gonflé dans l'eau, réticulé chimiquement ou physiquement et présentant différents types de défauts structuraux [131].

Dans le cas de la réticulation des gels physiques, les interactions mises en jeu sont réversibles et susceptibles d'être modifiées en changeant les conditions expérimentales (pH, température, force ionique) [133]. Il peut s'agir d'interactions faibles comme les liaisons hydrogène [134],[135], les interactions hydrophobes [136],[137],[138] ou les interactions ioniques [139] pour lesquelles le temps de vie est court en comparaison des temps caractéristiques d'observation. Bien que ces interactions élémentaires soient intrinsèquement faibles, leur coopérativité sur des séquences interactionnelles plus ou moins longues permet de générer des interactions fortes à l'origine de la réticulation des gels physiques (cristallites dans les gels de poly (vinyl alcool) (PVA), obtenus par congélation/décongélation successives [140], triples hélices dans les gels de gélatine [141]). Aux temps d'observation longs, les interactions sont stables.

La réticulation par formation de liaisons covalentes est quant à elle irréversible en l'absence de toute dégradation chimique. Elle est responsable d'un certain nombre de propriétés remarquables des hydrogels, en particulier leur comportement de solides élastiques insolubles [142]. Cependant comparés aux élastomères, les hydrogels sont des matériaux fragiles, en raison de la grande quantité d'eau qu'ils contiennent.

De manière plus générale, l'ensemble des caractéristiques des hydrogels explique leur présence dans de nombreux domaines d'application. Si leur biocompatibilité et leur transparence sont notamment utilisées pour la correction visuelle à l'aide de lentilles de contact [143],[144], leur grande capacité d'absorption leur vaut le statut de matériaux super-absorbants [145],[146]. Ils peuvent servir de support à la croissance cellulaire [147] ou à des dispositifs d'administration contrôlée de médicaments [148], être synthétisés pour l'encapsulation de principes actifs [149],[150] ou pour la conception de systèmes microfluidiques [151],[152].En revanche, le caractère naturellement peu collant des hydrogels, dû à leur grande teneur en eau, en particulier lorsqu'ils sont gonflés à l'équilibre, freine encore leur développement en tant que bioadhésifs.

I.6.2.2. Emulgels

Il existe une grande variété de formes galéniques qui peuvent être utilisées sur la peau. On peut distinguer différentes formes [153]: solides (patches), liquides (lotions, laits et shampooings) et semi-solides (pommades, crèmes, émulgels).

Lorsqu'on combine une émulsion avec un gel, on aboutit à une nouvelle forme dispersée qu'on appelle émulgel. En effet, l'incorporation d'un polymère gélifiant au sein de la phase externe de l'émulsion convertit celle-ci en émulsion gélifiée ou émulgel [154]. Les émulgels,

sont des véhicules utilisés dans les formes topiques et percutanées pour l'administration des actifs médicamenteux, l'emploi de cette forme dispersée offre le double avantage des émulsions et des gels [155],[156].

Les émulsions sont des systèmes métastables constitués d'un mélange homogène résultant du mélange de deux phases non miscibles : une phase dispersée et une phase dispersante stabilisées par un surfactif ou un mélange de surfactifs. Lorsqu'un polymère gélifiant est incorporé dans l'une des phases de l'émulsion, participant ainsi à l'augmentation de sa viscosité et favorisant ainsi sa stabilité on parle alors d'émulsion gel ou émulgel.

Les émulgels sont des véhicules utilisés dans les formes topiques et percutanées pour l'administration des actifs médicamenteux, l'emploi de cette forme dispersée offre le double avantage des émulsions et des gels [157]. Les émulgels ont gagné en popularité grâce à leurs avantages variés [158]:

- Ils ont des propriétés d'applications meilleures que celles des crèmes.
- Ils permettent d'avoir une plus grande efficacité grâce à la libération rapide des actifs.
- Ils peuvent être appliqués sur une peau poilue du fait d'absence de résidus ou de gras après application.
- Ils permettent de véhiculer aussi bien les principes liposolubles (véhicules plus stables) et hydrosolubles : La majorité des actifs hydrophobes ne pouvant pas être incorporée directement dans une base gel, car des problèmes peuvent se manifester lors de la libération du médicament vue que la solubilité forme une barrière.
- Ils aident à l'incorporation des principes actifs hydrophobes dans la phase huileuse, puis les globules huileux sont dispersés dans la phase aqueuse formant ainsi une émulsion Huile dans l'eau (H/E). Et cette émulsion peut être mélangée à une base gel. Cela peut montrer une meilleure stabilité et libération du médicament.
- Ils ont une meilleure stabilité; les autres préparations semi-solides sont moins stables comparativement aux émulgels.
- La charge en principe actif est meilleure, les nouvelles approches comme les niosomes et liposomes, sont des structures vésiculaires pouvant entrainer des fuites et donc une capacité amoindrie d'emprisonnement des principes actifs.
- La production est aisée ; les étapes sont limitées, le matériel utilisé est facilement accessible, simple ce qui conduit à une réduction des coûts du procédé.
- Ils peuvent être utilisés pour la libération contrôlée des PA ayant une demi-vie réduite.

Bien que les émulgels soient dotés de beaucoup d'avantages, ils sont quand même loin d'être idéaux. Parmi les inconvénients qu'ils présentent:

- Ils ne permettent pas d'incorporer les molécules à large poids moléculaire à travers la peau.
- Ils n'évitent pas l'irritation de la peau lorsque cette dernière entre en contact avec certaines substances et particulièrement lorsque la durée du traitement est assez longue.
- La formation de bulles d'air pendant la préparation ne peut être évitée.

Outre les applications en cosmétique, différents types d'actifs ont été préparés sous forme d'émulgels, on cite les anti-inflammatoires comme le diclofénac et l'acide méfénamique, les antifongiques comme l'Itraconazole, Clotrimazole, les antibiotiques les antiviraux, antiémétiques.

I.6.2.3. Formulation des émulgels

Les défis dans la formulation des émulgels sont [123] :

- ❖ Choisir des Systèmes qui soient, non-toxiques, non irritants, non comédogènes et non sensibilisants.
- ❖ Formuler un produit exhibant un aspect esthétique et élégant.
- ❖ Préparer une formulation physiologiquement compatible (biocompatible).

Le choix des matières premières pour la préparation d'un produit est d'une importance primordiale et conditionne l'obtention d'un produit de bonne qualité. Dans ce but, les additifs utilisés doivent satisfaire certains critères et posséder les propriétés idéales suivantes :

- Ils doivent être non toxiques.
- Ils doivent être disponibles dans le commerce en qualité acceptable.
- Leur coût doit être accessible.
- Ils doivent être physiquement et chimiquement stables par eux -mêmes et en combinaison avec des médicaments et d'autres composants [123].

Pour la formulation des émulgels, on doit impérativement disposer de quatre composantes indispensables: Une phase hydrophobe, une phase hydrophile, un (des) agent(s) émulsifiant(s) ou stabilisant(s) et un (des) agent(s) gélifiant(s). Il y a également d'autres additifs qui s'avèrent parfois indispensables, notamment les agents conservateurs et les agents humectant.

La méthode la plus courante de préparation des émulgels est la méthode indirecte où l'on prépare séparément l'émulsion et la dispersion du gélifiant comme le montre clairement le schéma de la figure I.28 La substance active peut être incorporée aussi bien dans la phase

aqueuse ou dans la phase huileuse en fonction de sa solubilité. Dans certains cas, le pH doit être ajusté.

Il existe aussi un autre procédé qu'on peut appeler méthode directe où le gélifiant est directement dispersé dans la phase huileuse ou aqueuse (en fonction du sens de l'émulsion) et l'émulgel est directement obtenu après émulsification.

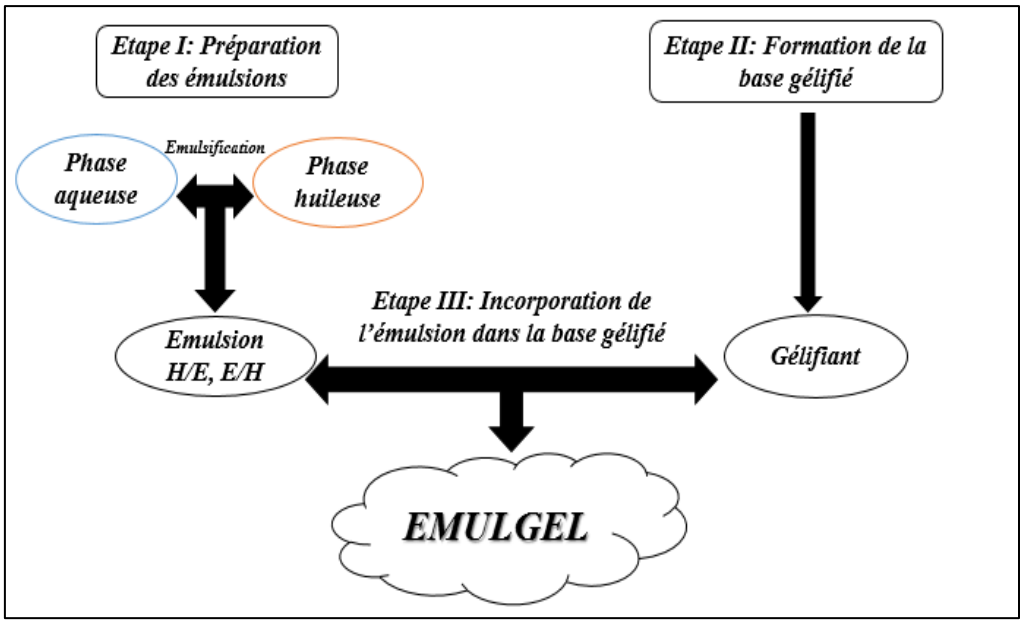


Figure I.30. Procédé de préparation des émulgels [121].

I.6.2.4. Caractérisation des émulgels

Afin de vérifier la conformité et suivre la stabilité des émulgels, plusieurs méthodes de caractérisation sont proposées des caractérisations physico-chimiques, rhéologiques et biopharmaceutiques.

a) **Contrôles macroscopiques :** Les formulations préparées sont inspectés visuellement pour la vérification de leurs propriétés macroscopiques telles que la couleur, l'homogénéité et la texture (la présence d'une séparation de phase ou de grumeaux).

b) **Contrôles microscopiques :** L'analyse microscopique a pour buts le contrôle de l'homogénéité, le suivi de la stabilité en fonction du temps (absence de coalescence) et la détermination de la distribution et des tailles des globules. Les appareils utilisés sont les microscopes optiques ou électroniques.

c) **Tests d'étalement :** L'étalement est déterminé à l'aide d'un appareil composé d'un bloc en bois, qui est doté d'une poulie à une extrémité. Une lame de verre de masse connue est fixée sur ce bloc. Un excès du produit étudié (environ 2 g) est placé sur la lame fixée sur le bloc immobile. L'Emulgel est alors pris en sandwich entre ces deux lames de verre. Un poids de 1 kg est placé sur la partie supérieure des deux lames pendant 5 minutes pour

éliminer l'air et pour fournir un film uniforme entre les lames. L'excédent de l'Emulgel est retiré des bords. La plaque supérieure est ensuite soumise à un poids de 80 g. Al' aide d'une ficelle attachée à l'hameçon et le temps (en secondes) requis par la glissière supérieure pour couvrir une distance de 7,5 cm est enregistré. Un intervalle plus court indique un meilleur pouvoir d'étalement [123]. Le pouvoir d'étalement peut donc être calculé par :

$$\boldsymbol{S = \frac{m.l}{t}} \qquad \textbf{(I.1)}$$

Où S est l'étalement, m est le poids attaché au bloc supérieur, l est la longueur des lames et t, le temps pris pour séparer les deux lames complètement l'une de l'autre.

d) Indice de Gonflement : Pour déterminer l'indice de gonflement, 1 g de gel est prélevé et est ensuite introduit dans un sac poreux en aluminium. Le sac poreux sera donc placé séparément dans un bécher de 50 ml contenant 10 ml de NaOH (0,1 N). A différents intervalles de temps un échantillon sera retiré d'un bécher et pesé après séchage ; la masse W_t est alors enregistrée. L'indice de gonflement sera alors calculé comme suit :

$$\boldsymbol{(SW)\% = [WT - W0]\ /W0.100} \qquad \textbf{(I.2)}$$

Où (SW) % est le pourcentage de gonflement à l'équilibre, Wt est le poids de l'émulgel aprés un temps t, W_0 est le poids initial de l'émulgel au temps zéro.

e) Uniformité de teneur : La concentration des émulgels en principe actif se fait par les différentes techniques analytiques couramment utilisées comme l'UV-Visible, l'HPLC ou les techniques de dosages classiques et ce, en fonction de la substance dosée.

f) Tests d'irritation cutanée: La préparation est appliquée sur la peau d'un rat correctement rasée et l'apparition d'effets secondaires, comme un changement de couleur ou bien un changement de morphologie de la peau doit être vérifié après 24 heures.

Un nombre total de 8 rats peut être utilisé lors de cette étude. Si aucune irritation n'est observée, le test sera considéré satisfaisant. Si des symptômes d'irritation de la peau sont observés chez plus de 2 rats, l'étude devra alors être répétée.

g) Etude de libération in-vitro et in-vivo : L'étude de libération in-vitro se produit à l'aide d'une cellule de diffusion de Franz. La cellule de diffusion de Franz est constituée d'un compartiment donneur et d'un compartiment receveur entre lesquels est placée la peau ou la membrane synthétique à étudier. La préparation à étudier est appliquée sur la surface externe de la peau ou de la membrane, dans le compartiment donneur. Le compartiment

receveur contient un liquide, qui est maintenu à 37°C sous agitation magnétique constante. Ces cellules permettent de mesurer la quantité de substance qui diffuse à travers la peau ou la membrane en fonction du temps. Elles permettent aussi d'établir un profil de pénétration dans les différentes couches de la peau, puisque la substance peut être dosée au niveau de la couche cornée, de l'épiderme vivant et du derme après séparation mécanique. Ce modèle a l'avantage d'être reproductible et simple à mettre en œuvre [123].

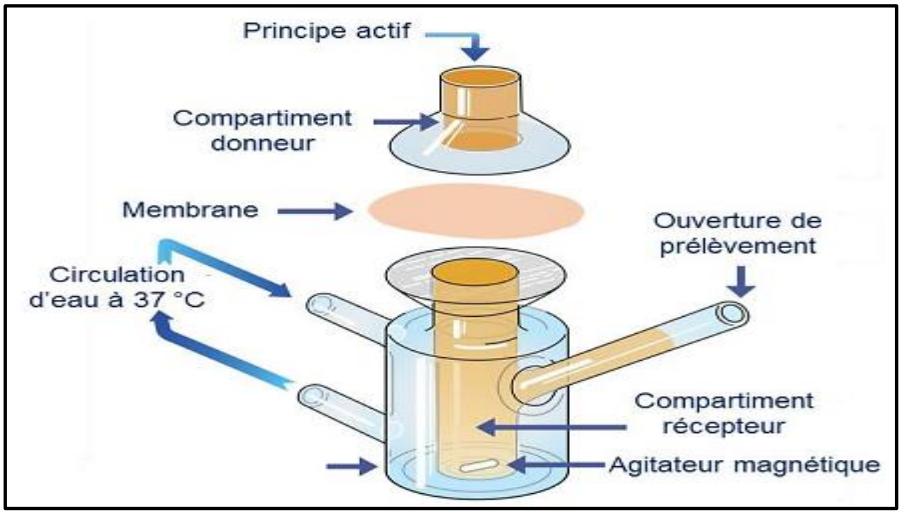


Figure I.31. Schéma d'une cellule de diffusion de Franz [123].

h) **Evaluation rhéologique des émulgels :** Les propriétés rhéologiques des émulgels, telles que la viscosité et la viscoélasticité jouent un rôle important dans la détermination de leurs performances fonctionnelles dans de nombreuses applications. Les propriétés rhéologiques des émulgels sont fortement influencées par la nature des interactions entre les gouttelettes qu'elles contiennent, qui peuvent être modulées en modifiant les propriétés interfaciales, telles que l'épaisseur, la charge et l'hydrophobicité.

I.7. CONCLUSION

Les biopolymères sont des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leur caractère biodégradable. Leurs utilisations en substitution ou même en mélange à d'autres polymères synthétisés offrent des applications intéressantes.

Notre objectif porte sur la modification chimique hydrophobe de kappa carraghénane par deux réactions une éthérification et une esterification afin de lui conférer un caractère

amphiphile, dans le but d'élargir son champ d'application, notamment dans le domaine pharmaceutique pour la stabilisation des systèmes dispersés telles que les émulsions et les émulgels.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. INTRODUCTION

Ce présent chapitre regroupe l'ensemble des produits, matériels et méthodes qui seront utilisés pour répondre à nos objectifs. Ainsi, la description des modes opératoires appliqués pour la modification hydrophobe du kappa carraghénane (KC), la synthèse et la caractérisation des dérivés par différentes méthodes physico-chimiques et rhéologique a été détaillée. La préparation et l'évaluation des émulsions à base des dérivés de KC ont été également décrites. Enfin, les caractérisations physico-chimiques, rhéologiques et biopharmaceutiques des formulations d'émulgels chargées en principe actif (Diclofénac de sodium) et stabilisées par KC et ses dérivés amphiphiles ont été décrites.

II.2. APPAREILLAGE ET PRODUITS CHIMIQUES

II.2.1. Appareillage

L'ensemble des équipements utilisés dans cette présente étude sont cités dans le tableau II.1.

Tableau II.1. Différents appareils utilisés.

Appareil	Marque
Conductimètre	J.P Selecta (Espagne)
pH mètre	J.P Selecta PH-2006 (Espagne)
Etuve	Binder BD23 (France)
Spectrophotomètre FTIR	Bruker Tensor II (Etats-unis)
Rhéomètre	Anton Paar (Allemagne)
Spectrophotomètre RMN	Bruker HNMR 400 MHz (Etats-unis)
Diffractomètre des rayons X	Bruker D2 PHASER (Etats-unis)
Microscope électronique à balayage	FEI Quanta 250 (Suisse)
Thermogravimètre	TGA/DSC 1 STAR (Canada).
Analyseur laser de nanoparticules	Horiba Scientific SZ-100 (France)
Homogénéiseur Ultra-Turrax	IKA T25 (Allemagne)
Spectrophotomètre UV-vis	Perkin Elmer (Etats-unis)
Microscope optique	Micros MCX 100 (Autriche)
Dissolutest	Sotax At7 (États-Unis)
Cellule de Franz verticale en verre	PermeGear (Allemagne)
Centrifugeuse	Hettich Zentrifugen.
Four à µ-ondes	SAMSUNG

II.2.2. Produits chimiques et microbiologiques

Les réactifs utilisés lors de cette étude sont purs, de grade analytique, conservés à l'abri de la chaleur et de la lumière. L'origine et la pureté de réactifs chimiques et solvants sont décrits dans le Tableau II.2.

Tableau II.2. Réactifs, solvants et produits chimiques.

Réactifs et solvants	Pureté (%)	Formule chimique	Fournisseurs
Acide acétique	99.89	CH_3COOH	Sigma-Aldrich
Acétone	99.98	CH_3COCH_3	Sigma-Aldrich
Chlorure de sodium	99.99	NaCl	Sigma-Aldrich
1-chlorooctane	99.00	$C_8H_{17}Cl$	Sigma-Aldrich
Éthanol absolu	98.00	C_2H_5OH	Sigma-Aldrich
hydroxyde de sodium	99.99	NaOH	Sigma-Aldrich
2-Octen-1-ylsuccinic anhydre	97.00	$C_{12}H_{18}O_3$	Sigma-Aldrich

Les milieux de culture utilisés lors du contrôle de qualité des formulations étudiées sont regroupés dans le tableau II.3.

Tableau II.3. Désignation et origine des milieux de culture utilisés.

Milieux de culture	Fournisseurs/ Pays
Cétrimide agar base (CAB)	PanReac Applichem (France)
Peptones de caséine et de soja (TSA)	PanReac Applichem (France)
Sabouraud dextrose (SAB)	Condalab (Espagne)

II.2.3. Matières premières

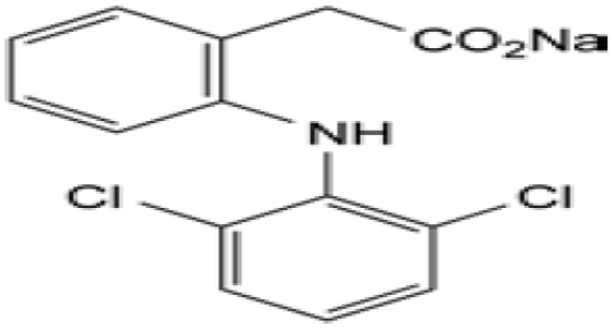
II.2.3.1. Diclofenac de soduim (DCL) : Principe actif

Le diclofénac de sodium (DCL), un dérivé de l'acide phénylacétique $C_{14}H_{11}NNaO_2$., est un agent analgésique non stéroïdien, anti-inflammatoire et recommandé pour une utilisation dans la polyarthrite rhumatoïde, les maladies dégénératives des articulations, la spondylarthrite ankylosante et les affections connexes, ainsi que dans le traitement de la douleur résultant d'une chirurgie mineure, d'un traumatisme et dysménorrhée [159],[160]. Comme pour les autres anti-inflammatoires non stéroïdiens introduits ces dernières années, le Diclofénac a été mieux toléré que des doses modérées d'aspirine. Les effets secondaires gastro-intestinaux sont

les effets indésirables les plus fréquemment rapportés et surviennent chez environ 10 % des patients. La fréquence des effets secondaires ne semble pas être étroitement liée à la posologie ou à l'âge [160],[161].

Les caractéristiques physico-chimiques du Diclofenac du sodium (DCL) sont données dans le tableau II.4.

Tableau II.4. Propriétés physico-chimiques du Diclofénac de sodium [162].

DCI	**Diclofénac de sodium**
IUPAC	[2-[(2,6-dichlorophényl) amino]phényl] acétate de sodium.
Formule chimique brute	$C_{14}H_{11}Cl_2NNaO_2$
PKa	4,0 ± 0,2 à 25°C dans l'eau
Formule chimique développée	
Masse molaire	318,1 g /mole
Point de fusion	280°c, avec décomposition
Solubilité pour une température de 15°C à 25°C	• Facilement soluble dans le méthanol (1 à 10 ml / 1g du Diclofénac) • Soluble dans l'éthanol à 96% (10 à 30 ml / 1g du Diclofénac) • Assez soluble dans l'eau (30 à 100 ml / 1g du Diclofénac) • Peu soluble dans l'acétone (100 à 1000 ml / 1g du Diclofénac)
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou faiblement jaunâtre, faiblement

II.2.3.2. Kappa carraghénane

Le kappa carraghénane potassique (KC) est un polysaccharide (galactane), gélifiant alimentaire, issu d'algues rouges triées, séchées, broyées et lavées **(Figure II.1)**. Il sert d'épaississant et de stabilisant dans l'industrie alimentaire. Il porte le code E407 dans la classification des additifs alimentaires. Il est vendu sous forme de poudre qui peut être mélangée à de nombreuses préparations et forme un gel dur et cassant. Le kappa carraghénane utilisé dans notre étude a été gracieusement fourni par l'entreprise Orkila (Algérie).

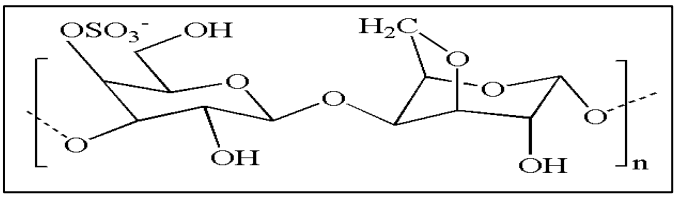


Figure II.1. Structure chimique du Kappa Carraghénane.

II.2.3.3. Huile de nigelle

La graine de *Nigella sativa* (N. sativa) appartient à la famille botanique des *Ranunculaceae*, qui pousse couramment dans l'Est de Europe, Moyen-Orient et l'Asie occidentale. C'est un petit arbuste de couleur vert avec des feuilles et fleurs rosacées blanches et violacées. Son fruit mûr contient de petites graines noires, connu sous le nom « Al-Habba Al-Sauda » et « Al-Habba Al-Barakah » en arabe et graine noire, cumin noir en français, et « Black Seed » en anglais. Les graines de N. sativa sont fréquemment utilisées dans les médecine au Moyen-Orient et dans certains pays asiatiques (Unani, Ayurveda, Chinois et Médicaments arabes) pour la promotion d'une bonne santé et le traitement de nombreux maux y compris la fièvre, le rhume, les maux de tête, l'asthme, les maladies rhumatismales, infections microbiennes ainsi que le cancer. En plus, il est utilisé comme additif aromatisant pour le pain [163],[164]. Un grand nombre d'études in vitro et in vivo ont été menées sur des animaux de laboratoire et l'homme afin d'étudier ses propriétés pharmacologiques, comme l'immunostimulation, propriétés anti-inflammatoires, hypoglycémiantes, antihypertensives, antiasthmatiques, antimicrobiennes, antiparasitaires, antioxydantes et anticancéreuses [165],[166]. L'huile de nigelle (HN) utilisée a été fournie par Abou El-kassem (Algérie). Elle est limpide de couleur orange - brun, d'odeur épicée et forte, avec une texture légèrement épaisse mais fluide, avec un goût amer prononcé.

II.2.3.4. Hydroxypropylméthylcellulose

L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) est une cellulose partiellement O-méthylée et O-(2-hydroxypropylée) comme le montre la figure II.2. On la trouve sous forme pulvérulente ou sous forme de granulés blancs, blanc-jaune ou blanc-gris, hygroscopiques après dessiccation [123]. Pratiquement insoluble dans l'eau chaude, dans l'acétone, dans l'éthanol anhydre et dans le toluène, l'hypromellose se dissout dans l'eau froide en donnant une solution colloïdale [123]. L'HPMC est préparée par éthérification à partir d'une forme purifiée de l'alphacellulose issue de la pulpe de bois rendue réactive par un traitement à la soude caustique qui conduit à une cellulose alcaline réactive ; cette dernière en présence du chlorométhane et l'oxyde de propylène à température élevée sera convertie en HPMC[123]. L'HPMC utilisée a été fournie par l'entreprise Orkila (Algérie).

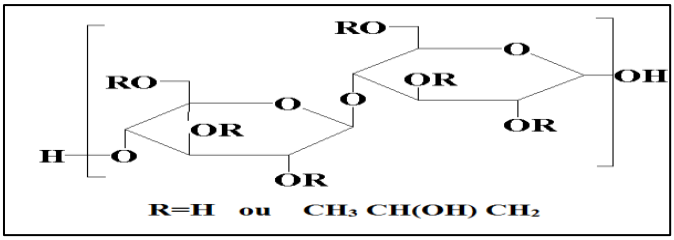


Figure II.2. Structure chimique de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)

II.2.3.5. Propylène glycol

Le propylène glycol (PG) ou propane-1,2-diol appelé aussi 1,2-dihydroxypropane, méthyle glycol est obtenu à partir de la réaction de l'oxyde de propylène avec l'eau pour former du mono propylène glycol (MPG) [167]. C'est un liquide clair, incolore, visqueux et pratiquement inodore au goût doux et légèrement âcre [168]. Il est utilisé dans les produits pharmaceutiques, y compris les médicaments intraveineux, oraux et topiques. Il est utilisé comme solvant, agent humectant, agent antimicrobien, mais aussi comme agent revitalisant pour la peau [169]. Le propylène glycol utilisé dans ce travail a été est obtenu de la part du groupe SAIDAL (Algérie).

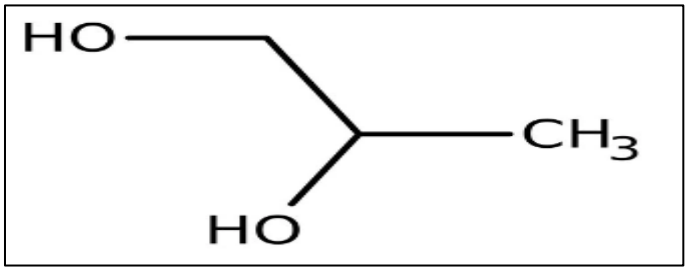


Figure II.3. Structure chimique du propylène glycol (PG).

II.3. MODIFICATION HYDROPHOBE DU KAPPA CARRAGHENANE

L'éthérification et l'estérification du kappa carraghénane (KC) a été effectuée selon deux méthodes, l'une est classique (chauffage traditionnel), l'autre est effectuée par microondes, La modification du KC a été réalisée par une réaction d'éthérification entre les groupements hydroxyles du KC et le chlorure d'octyle (R) et une réaction d'estérification entre les groupements hydroxyles du KC et le 2-Octen-1-ylsuccinic anhydre (OSA). Les réactions sont effectuées dans un milieu alcalin avec un solvant protique (eau).

- L'éthérification du KC a été effectuée par substitution nucléophile entre les groupements hydroxyles du KC et le chlorure d'octyle. En effet, grâce à sa chaîne latérale à huit carbones (C8), le 1-chlorooctane a permis la substitution nucléophile du KC et le greffage de la chaîne hydrophobe (C8) sur la structure moléculaire du biopolymère dans un milieu fortement alcalin.
- La réaction d'esterification du KC est basé sur la condensation de groupement OH du KC sur l'acide carboxylique anhydre d'OSA avec élimination d'une molécule d'eau dans un milieu basique.

La figure II.3 représente les réactions d'éthérification (a) et d'esterification (b) du kappa carraghénane.

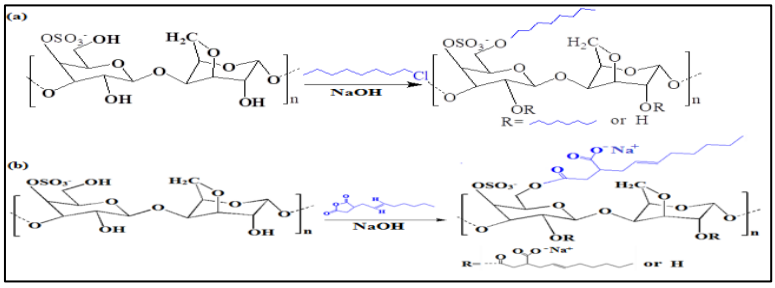


Figure II.4. Les réactions d'éthérification (a) et d'esterification (b) du KC.

II.3.1. Procédé de modification hydrophobe du kappa carraghénane

II.3.1.1. Ethérification du KC

La réaction d'éthérification a été réalisée selon les procédures précédemment décrites par Yahoum et al. [170] et Lefnaoui et Moulai-mostefa [8] avec quelques modifications. Initialement, 5 g de poudre de KC ont été dispersés dans 100 ml d'eau et mise sous une agitation magnétique à température ambiante pendant 40 minutes. Ensuite, 5 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium 1N (NaOH) ont été ajoutés dans la dispersion préparée, sous agitation constante à température ambiante. Ensuite, une quantité spécifique de 1-chlorooctane a été ajoutée progressivement sous l'agitation pendant 3 heures pour obtenir le dérivé KCR CM ou

pendant 1 min aux micro-ondes pour obtenir le dérivé KCR MM. Les dérivés obtenus ont été neutralisés par l'acide acétique puis filtrés. Les carraghénanes modifiés ont été séchés dans l'étuve à 70 ° C pendant une nuit avant d'être pulvérisés dans un mortier en verre.

II.3.1.2. Esterification du KC

La réaction d'estérification a été réalisée selon la procédure précédemment décrite par Song et al. [171] avec quelques modifications. Initialement, 3 g de poudre de carraghénane Kappa (KC) ont été dispersés dans 100 ml d'eau sous agitation magnétique, à température ambiante pendant 40 minutes. Après cela, une quantité spécifique d'OSA a été versée goutte à goutte au mélange réactionnel porté à 40 °C pendant 4 heures pour obtenir le dérivé (KC-OSA CM) ou pendant 1 min aux micro-ondes pour obtenir le dérivé (KC-OSA MM). Les dérivés préparés ont été filtrés et séchés à 70 °C pendant une nuit puis broyés en utilisant un mortier. Enfin, tous les dérivés obtenus sont soumis à une série de tests pour leurs caractérisations physico chimiques et rhéologiques.

II.3.2. Caractérisations physico-chimiques

II.3.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Le kappa-carraghénane et ses dérivés modifiés (KCRs et KC-OSAs) ont été analysés à l'aide d'un spectromètre FT-IR (Bruker spectrometer Tensor II) équipé d'un accessoire ATR diamant à réflexion unique. 10 mg de chaque échantillon ont été placés sur le carré en diamant du spectrophotomètre et les spectres des échantillons ont été enregistrés (10 balayages, à une résolution de 4 cm^{-1}) entre des longueurs d'onde de 4000 et 400 cm^{-1}.

II.3.2.2. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN^1H)

L'analyse par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN^1H) a été réalisée à l'aide d'un spectromètre Bruker RMN^1H à 400 Hz, où l'échantillon en poudre a été dissous dans l'oxyde de deutérium (D_2O). Les spectres des échantillons analysés ont été analysés par le logiciel MestReNova.

II.3.2.2.1. Le degré de substitution (DS)

Le degré de substitution de chacun des dérivés synthétisés KCRs et KC-OSAs représente le nombre des groupements hydroxyles substitués par unité de KC. Il a été déterminé après intégration des spectres RMN^1H, et calculé selon les équations (II.1) pour KCRs [172] et (II.2) pour KC-OSAs [173]:

$$\mathbf{DS} = \frac{ACH3 + ACH2}{(2(n-1)+3) \times AH\ anomérique} \qquad \textbf{(II.1)}$$

Où A représente l'aire des pics attribués aux groupements méthyles CH_3, CH_2 et le proton anomérique (H), tandis que n se réfère au nombre d'atomes de carbone dans la chaîne alkyle (n = 8).

$$\mathbf{DS=}\frac{\boldsymbol{ACH3}}{(\mathbf{3}.\ \boldsymbol{AH\ anomérique})} \qquad \textbf{(II.2)}$$

Où A représente l'aire des pics attribués au groupement méthyle CH_3 et le proton anomérique (H).

II.3.2.3. Microscopie électronique à balayage (SEM)

La microscopie électronique à balayage est une technique d'observation de la matière utilisant un faisceau d'électrons après avoir mis l'échantillon sous vide. Les électrons primaires, issus du canon à électron, frappent la surface de l'échantillon et sont diffusés. Cette technique est utilisée pour étudier les caractéristiques morphologiques des substances naturelles ou synthétiques. Dans un microscope électronique à balayage, l'image est obtenue séquentiellement point par point en déplaçant le faisceau d'électrons primaires sur la surface de l'échantillon. Des images tridimensionnelles de la surface des échantillons sont alors produites, avec une résolution pouvant atteindre quelques nanomètres [174].

La microstructure du KC et de ses dérivés a été examinée à l'aide d'un microscope électronique à balayage (FEI Quanta 250) à 25 ˚C et une tension d'accélération comprise entre 10 kV et 12,5 kV. Les images SEM ont été enregistrées à des niveaux de grossissement de 1000×, 6000× et 16000×, et analysées à l'aide du logiciel de microscopie xT.

II.3.2.4. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X est une technique d'analyse des solides, classiquement utilisée pour l'identification des phases cristallines présentes dans un matériau et permet d'obtenir des informations détaillées sur la composition et la structure cristallographique de matériaux naturels ou synthétisés [174],[175].

Pour la présente étude, un diffractomètre de marque (Bruker D2 PHASER) a été utilisé. La méthode consiste à soumettre les échantillons de KC et ses dérives à un faisceau de rayons X monochromatique et à recueillir le spectre de diffraction qu'ils émettent. Les échantillons ont été scannés entre des angles de diffraction allant de 15˚ à 80˚ (2θ).

II.3.2.5. Analyse thermogravimétrique (ATG) et balayage différentiel calorimétrique (DSC)

Les analyses calorimétriques (DSC) et thermogravimétriques (TGA) sont souvent utilisées pour déterminer les propriétés thermiques comme la stabilité thermique, la teneur en humidité absorbée et la réaction de décomposition. Les analyses DSC et ATG du KC et ses dérivés ont été effectuées en utilisant un équipement TGA/DSC 1 STAR System. Une quantité de 500 mg des échantillons à analyser a été placée dans des creusets fermés, portée à des températures variant entre 25 et 400°C, à une vitesse de 5 °C/min dans l'intervalle de température de 25-120°C et à 10°C/min dans l'intervalle de température de 120-400°C. L'analyse thermique des différents échantillons a été effectuée sous atmosphère inerte (Argon), à un débit de 30 ml/min.

II.3.2.6. Analyse rhéologique

L'étude rhéologique a été réalisée à l'aide d'un rhéomètre (Anton Paar) de géométrie cone-plan CP60 (angle 1°, diamètre 60 mm) à 25 $\pm$ 0.5 °C.

Des solutions polymériques à base de KC et ses dérivés ont été préparées par la dispersion d'une quantité donnée de chaque polysaccharide dans de l'eau distillée (0.75 % et 1.0 %, p/v) sous agitation magnétique. Les solutions obtenues ont été laissées au repos pendant 24 h avant l'analyse.

II.3.2.7. Détermination du poids moléculaire moyen

Le poids moléculaire moyen du KC et de ses dérivés a été déterminé par la méthode de la viscosité intrinsèque en utilisant un rhéomètre équipé d'un dispositif à cône-plan (CP60) qui convient aux solutions très diluées. Cinq solutions de chaque échantillon à des concentrations variant de 2 x 10^{-4} à 1 x 10^{-3} g.dl^{-1} ont été préparées dans une solution aqueuse de NaCl (0.1 M) à 25 $\pm$ 0.5 °C [176],[8],[177]. Les solutions à base de KC et ses dérivés étant très diluées, elles se comportent absolument comme des fluides newtoniens.

La viscosité spécifique est déterminée par l'équation (II.3):

$$\eta_{sp} = \frac{\eta dyn - \eta 0}{\eta 0} \qquad \textbf{(II.3)}$$

Les viscosités dynamiques de la solution et du solvant sont déduites à partir des courbes d'écoulement, et sont représentées par η_{dyn} et η_0, respectivement.

La viscosité intrinsèque [η] a été déterminée à partir de la courbe de Huggin par extrapolation, comme décrit dans l'équation (II.4):

$$[\eta]=\lim_{c\to 0}\frac{\eta sp}{C} \quad \textbf{(II.4)}$$

Avec (C) la concentration de la solution.

Enfin, le poids moléculaire moyen (Mw) des échantillons, est déterminé par l'équation (II.5) de Mark-Houwink Sakurada:

$$[\eta]=K.Mw^{a} \quad \textbf{(II.5)}$$

Où *K* et *a* correspondent aux paramètres de Mark-Houwink, avec *K* égal à $8.84.10^{-3}$ dl $.g^{-1}$ et *a* égal à 0.86, selon la littérature [176].

II.3.2.8. Concentration d'agrégation critique (CAC)

Dans cette étude, des solutions aqueuses à une concentration de 1% de KC, KCRs et KC-OSAs, ont été préparées, puis diluées à différentes concentrations, et laissées au repos pendant 24 h. La conductivité a été mesurée en utilisant un conductimètre JP Selecta. Toutes les mesures ont été effectuées trois fois, et une moyenne est considérée pour l'étude.

II.3.2.9. Diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La diffusion du rayonnement est une technique qui permet d'obtenir des informations sur la structure de la matière. Une expérience typique de diffusion de rayonnement consiste à envoyer un faisceau incident monochromatique sur l'échantillon à étudier et à analyser le rayonnement diffusé dans toutes les directions [178]. Il existe plusieurs types de rayonnement qui diffèrent avant tout par leur longueur d'onde incidente (de l'ordre du micron pour la lumière visible, du nanomètre ou de l'Angström pour les rayons X et les neutrons). On peut ainsi observer des échantillons à différentes échelles spatiales. Les rayonnements électromagnétiques (lumière, rayons X) sont diffusés par les électrons présents dans la solution alors que les neutrons sont diffusés par les noyaux des différents atomes qui constituent l'échantillon [178].

Pour déterminer la distribution granulométrique d'agrégations de KCRs et KC-OSAs, un analyseur de nanoparticules laser (Horiba Scientific SZ-100) a été utilisé à 25 °C et une longueur d'onde (λ) de 532 nm à un angle de diffusion de 90° (θ).

II.3.2.10. Pouvoir émulsifiant

Pour déterminer l'activité émulsifiante du KC modifié, une procédure décrite par Shahin et al. [121]. Brièvement, des émulsions huile dans eau (H / E) ont été préparées avec l'ajout de KC, et ses dérivés comme stabilisants (phase aqueuse) et l'huile de nigelle, qui représentait la phase huileuse (tableau II.5 et tableau II.6). Les émulsions obtenues ont été soumises à des tests de caractérisation macroscopiques et microscopiques comme suivant:

Tableau II.5. Composition massique des émulsions formulées à base de KC et KCRs.

Composition (%, p/p)	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Huile de nigelle	20	20	20	20	20	20
KC	0.75	-	-	1	-	_
KCR MM	-	0.75	-	-	1	-
KCR CM	-	-	0.75	-	-	1
Eau purifiée	79.25	79.25	79.25	79	79	79

Tableau II.6. Composition massique des émulsions formulées à base de KC et KC-OSAs.

Composition (%, p/p)	F1'	F2'	F3'	F4'	F5'	F6'
Huile de nigelle	20	20	20	20	20	20
KC	0.75	-	-	1	-	-
KC-OSA MM	-	0.75	-	-	1	-
KC-OSA CM	-	-	0.75	-	-	1
Eau purifiée	79.25	79.25	79.25	79	79	79

II.3.2.10. 1. Aspect macroscopique

Les propriétés macroscopiques des émulsions ont été évaluées immédiatement après leur préparation et toutes les 24 heures par la suite, jusqu'à 30 jours plus tard, par contrôle visuel de leurs couleurs et leur homogénéité.

II.3.2.10. 2. Indice de crémage

Pour déterminer l'indice de crémage (H), un test de stabilité accéléré en utilisant la méthode de centrifugation a été effectué [121]. Dix millilitres de chaque émulsion préparée ont été centrifugé (Hettich EBA 20) à 2000, 4000 et 6000 tr / min pendant 10 min. Ensuite, l'indice de crémage (H) a été calculé selon l'équation (II.6):

$$\mathbf{H(\%)= \frac{Hs}{He}\ 100} \qquad \textbf{(II.6)}$$

Avec ***Hs*** et ***He*** correspondant à la hauteur du sérum transparent formé au fond du tube et la hauteur totale de l'émulsion, respectivement.

II.3.2.10. 3. Aspect microscopique

L'aspect microscopique des émulsions a été examiné au microscope optique équipé d'une caméra (Micros MCX100). La distribution de taille des globules dispersés a été évaluée par un traitement d'image en utilisant le logiciel de traitement des micrographies (image J 152).

II.4. FORMULATION DES ÉMULGELS À BASE DE KC ET SES DÉRIVÉS

A l'issue de l'étude précédente, le KC et ses dérivés ont été utilisés comme stabilisants pour des émulsions qui serviront par la suite pour la formulation d'émulgels chargés en Diclofénac de sodium (DCL) comme principe actif (PA).

II.4.1. Compatibilité principe actif – excipients

Dans cette étude, la compatibilité physico-chimique entre le kappa carraghénane natif et ses dérivés avec le principe actif (PA) Diclofénac de Na (DCL) a été évaluée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Les spectres FTIR ont été enregistrés dans la région du nombre d'ondes entre 4000 et 400 cm^{-1} et une comparaison entre les spectres obtenus du principe actif et les mélanges principe actif – excipient a été effectuée.

II.4.2. Formulation des émulgels chargés en principe actif Diclofénac de sodium

La formulation des émulgels à base de Diclofenac a été réalisée par la méthode indirecte en deux étapes principales. D'abord, des émulsions chargées de DCL ont été formulées comme décrit précédemment dans la section (II.3.2.10). Ensuite, l'émulgel est obtenu par incorporation de l'émulsion H/E dans dans une phase gélifiante à base d'HPMC, sous agitation mécanique jusqu'à homogénéisation parfaite de chacune des formulations étudiées (Tableau II.7).

Tableau II.7. Matrice de formulation des émulgels à base de KC et ses dérives.

Composition (%, p/p)	EM1	EM2	EM3	EM4	EM5	EM6	EM7	EM8	EM9	EM10
DCL	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HN	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
KC	0.75	1	-	-	-	-	-	-	-	-
KCR MM	-	-	0.75	1	-	-	-	-	-	-
KCR CM	-	-	-	-	0.75	1	-	-	-	-
KC-OSA MM	-	-	-	-	-	-	0.75	1	-	-
KC-OSA CM	-	-	-	-	-	-	-	-	0.75	1
PG	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
HPMC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Eau distillée	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP

II.5. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES EMULGELS A BASE DE DICLOFENAC DE Na.

Les émulgels ainsi formulés ont été soumis au contrôle visuel (couleur, homogénéité, consistance), à la stabilité accélérée par centrifugation, au contrôle du pH, le sens d'émulsions, à un examen microscopique et une étude rhéologique.

II.5.1. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des émulgels (aspect, couleur, homogénéité, consistance) a été évalué après 24h de la formulation, et régulièrement, pendant les 6 mois qui ont suivi leurs stockages dans des conditions normales de température et d'humidité.

II.5.2. Détermination du pH

La mesure du pH est nécessaire, car sa valeur peut avoir des conséquences, soit sur l'aspect technologique, soit sur l'aspect thérapeutique. Le pH des émulgels est déterminé sur une solution à 1% (p/v) de l'émulgel dans l'eau distillée, à température ambiante [179].

II.5.3. Dosage du principe actif (DCL) par spectroscopie UV-Visible

Une prise d'essai de 10 mg de chacun des émulgels formulés est dissoute dans 100 ml de la solution tampon PBS pH7.4. La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un filtre en papier filtre, puis un dosage spectrophotométrique UV-Vis est réalisé à 276 nm [179],[180],[181].

II.5.4. Sens des émulgels

La méthode adoptée pour déduire la nature des émulsions formulées est la mesure de la conductivité électrique [162]. En utilisant un conductimètre JP Selecta. Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

II.5.5. Test d'étalement

Une prise d'essai de l'émulsion a été placée au centre d'une plaque en verre sur laquelle une seconde plaque en verre a été placée, sans glissement des plaques. Après 1 min, le poids a été retiré et le diamètre de l'échantillon *(d)* a été mesuré [182]. Les résultats sont exprimés en termes de surface d'étalement selon l'équation (II.7) [182].

$$S = d^2 * \frac{\pi}{4} \qquad \textbf{(II.7)}$$

Dans laquelle **S** est la surface d'étalement (cm^2) résultant de la masse appliquée, et **d** est le diamètre moyen (cm) atteint par l'échantillon.

II.5.6. Test de stabilité à la centrifugation (indice de crémage)

Le test de centrifugation est basé sur le principe de l'utilisation de la force centrifuge pour séparer deux ou plusieurs substances de densités variées par exemple, deux liquides différents, ou un liquide et un solide. Ce test est un outil utile pour évaluer la stabilité des émulsions et des émulgels. En utilisant une centrifugeuse (Hettich Zentrifugen.), les émulgels préparées ont été soumis à une vitesse de 2000, 4000 et 6000 tr/mn pendant 30 min [183].

II.5.7. Analyse microscopique et distribution granulométrique des émulgels

Des micrographies optiques des émulgels stabilisées par KC et ses dérivés ont été capturées à l'aide d'un microscope optique (Micros MCX 100) équipé d'une caméra numérique (Lumenera INFINITY Lite). La taille des gouttelettes a été évaluée par le traitement d'images en utilisant le logiciel ImageJ.152.

II.5.8. Stabilité à long terme

Pour les émulgels à base KC et ses dérives, un test de stabilité a été effectué à température ambiante pendant six mois afin d'évaluer l'apparition éventuelles de signes d'instabilité durant le stockage [179]. Les changements de la texture des émulgels sont établis avec un suivi de l'ensemble des caractéristiques des émulsions au cours du vieillissement en temps réel.

II.5.9. Analyse rhéologique

Le comportement rhéologique des émulgels a été évalué à l'aide d'un rhéomètre (Anton Paar MCR 302) à géométrie cône-plan CP60 (angle 1°, diamètre 60 mm) à 25 ± 0.5 °C. Les courbes d'écoulement ont été déterminées par la variation de la viscosité apparente (η_{app}) en fonction de la vitesse du cisaillement($\dot{\gamma}$). Les propriétés viscoélastiques linéaires ainsi que les propriétés viscoélastiques dynamiques ont été également évaluées.

II.5.10. Test de libération in vitro

Les tests de libération in vitro ont été réalisés en utilisant des cellules de diffusion verticale (Permegear®). Une membrane en acétate de cellulose a été utilisée comme membrane synthétique. A l'aide d'une spatule, l'échantillon est étalé uniformément en remplissant le compartiment donneur. Le compartiment récepteur contient le milieu de dissolution (Solution PBS pH7.4). Des prélèvements sont effectués par l'orifice de prélèvement situé au niveau du compartiment récepteur à des intervalles de temps réguliers. Le volume prélevé est dosé par spectrophotométrie UV à λ max = 276 nm pour déterminer les taux de principe actif libérés par les émulgels testés [184],[185],[186],[187].

II.5.11. Test de diffusion ex-vivo

Les études ex-vivo ont été réalisées de la même manière que celles des études de libération in vitro où la membrane d'acétate de cellulose a été remplacée par de la peau de rat. Des prélèvements sont effectués par l'orifice de prélèvement situé au niveau du compartiment récepteur à des intervalles de temps réguliers. Le volume prélevé est dosé par

spectrophotométrie UV à λ max = 276nm. La quantité cumulative moyenne de médicament pénétré par unité de surface de la peau est tracée en fonction du temps [188],[189],[190].

II.5.12. Contrôle de la qualité microbiologique

Afin d'apprécier la qualité microbiologique des émulgels contenant du Diclofénac de sodium (DCL), différents tests sont réalisés dans le but de rechercher et de dénombrer les microorganismes suivants [162]:

- Des germes aérobies mésophiles, ce sont des microorganismes aptes à se multiplier à des températures ambiantes.
- Des levures et des moisissures, qui sont responsables de nombreux phénomènes d'altération d'enzymes hydrolytiques.
- Des germes spécifiques «*Pseudomonas Aeruginosa* ».

La qualité microbiologique des émulgels étudiés contenant de principe actif DCL a été évaluée selon les normes de la pharmacopée européenne [162], en comptant le nombre de germes aérobies viables totaux, de moisissures et de levures, et de *Pseudomonas Aeruginosa*.

II.6. CONCLUSION

Dans ce deuxième chapitre, on a décrit tous les modes opératoires utilisés pour la modification hydrophobe du kappa-carraghénane (KC) et de la formulation des émulgels à base de KC et ses dérivés chargés par le principe actif Diclofénac de Na. Les techniques de caractérisation physico-chimique et rhéologique des dérivés (KCRs et KC-OSAs) ont étaient détaillées. L'évaluation physicochimique, rhéologique et biopharmaceutique des émulgels formulés à base du KC et des dérivés synthétisés a également était décrite. Les résultats obtenus seront présentés et discutés dans les chapitres suivants.

Chapitre III : Modification hydrophobe du KC

III.1. INTRODUCTION

Dans le but de doter le kappa carraghénane (KC) de nouvelles propriétés physicochimiques dont des propriétés de surfaces, des modifications chimiques en utilisant deux réactions : une éthérification à l'aide du chlorooctane (CO) et une estérification à l'aide du 2-Octen-1-ylsuccinic anhydre (OSA) ont été effectuées. Lors des réactions de modification, deux types de chauffage ont été utilisés, le chauffage conventionnel (CM) et le chauffage par micro-ondes (MM).

Les différents dérivés hydrophobiquement modifiés obtenus (KCRs et KC-OSAs), ont d'abord été caractérisés, puis utilisés comme agents stabilisants lors de la formulation d'émulgels à usage pharmaceutique.

Ce chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats des contrôles physico-chimiques et rhéologiques ayant été effectuée sur les dérivés de KC. Ainsi la caractérisation physicochimique a été réalisée grâce à des analyses par spectroscopie infrarouge (FTIR), résonnance magnétique et nucléaire du proton (RMN^{1}H), suivies par la diffraction des rayons-X, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la microscopie électronique à balayage (MEB), la diffusion dynamique de la lumière (DLS), et enfin une caractérisation rhéologique complète des dérivés de KC (KCRs et KC-OSAs) obtenus.

III.2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET RHEOLOGIQUE DES DERIVES DU KC

III.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres infrarouges du KC et ses dérivés KCRs sont illustrés dans la figure III.1 Le spectre de KC a montré des bandes caractéristiques à 1224,12 cm^{-1} et 844,14 cm^{-1} correspondant respectivement à la vibration symétrique des groupements O=S=O et à la vibration d'allongement de -O-SO_3 au niveau du C4 du résidu β-D galactose (C4-O-S) [191]. De plus, la bande à 924,38 cm^{-1} correspondant aux vibrations de C-O-C du résidu 3,6-anhydro-D-galactose, et le pic à 1148,70 cm^{-1} correspondant au élongation du pont C-O ont été observés [191]. Les bandes autour de 1036,50 cm^{-1}, 2917,34 cm^{-1} et 3387,56 cm^{-1} correspondent aux vibrations des liaisons C-O, C-H et O-H respectivement [191]. La bande intense à 1628,14 cm^{-1} est liée à la vibration de déformation de la structure de l'eau [192].

Lors de la réaction d'éthérification du KC, la substitution des groupements –OH du kappa carraghénane par les chaînes octyles a été confirmée d'une part, par la réduction de l'intensité du pic correspondant à la fonction hydroxyle (–OH) à 3362,99 cm^{-1} par rapport au spectre FTIR du KC natif [82] et d'autre part, par l'apparition de nouveaux pics à 2857,87 et

2925,54 cm^{-1}, attribués respectivement à l'étirement -CH_3 et -CH_2- [193]. De plus, l'élongation symétrique de la vibration autour de 1414,73 cm^{-1} correspond à la bande -CH des chaînes alkyle. Cette dernière apparait avec une plus forte intensité pour le dérivé obtenu par la synthèse sous chauffage par micro-ondes (KCR MM) que pour le dérivé obtenu par synthèse sous chauffage conventionnel (KCR CM). De même, L'intensité du pic à 1043,69 cm^{-1} attribué à la fonction éther (-C-O-C-) parait plus intense dans les spectres des dérivés KCRs par rapport au KC[194]. Les résultats obtenus après l'analyse FTIR des dérivés de KC indiquent une meilleure substitution du biopolymère natif KC sous chauffage par micro-ondes par rapport au chauffage conventionnel. Cela pourra être confirmé ultérieurement lors de l'évaluation du degré de substitution (DS) des dérives de synthèse KCRs.

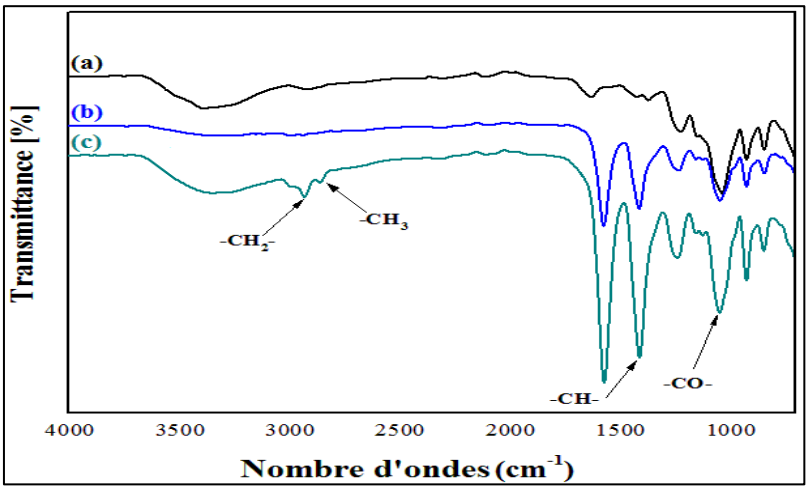


Figure III.1. Spectres FTIR de KC (a), KCR CM (b) et KCR MM (c).

L'estérification a conduit à la substitution des groupes hydroxyles dans les molécules de KC par des groupements carbonyles de l'OSA. L'introduction de groupements carbonyles a été confirmée par analyse spectrale FTIR **(Figure III.2)**. Par rapport au spectre de KC natif, les spectres des dérivés (KC-OSAs) ont montré un nouveau pic à 1712,28 cm^{-1}, correspondant à l'élongation de la fonction C=O, indiquant la formation du groupement carbonyle de la fonction ester [171],[195]. L'apparition de l'élongation asymétrique de la vibration à 1545 cm^{-1} correspond au groupement ($RCOO^-$). Il apparait clairement sur la figure III.2 que la bande d'ester est plus intense quand le degré de substitution augmente [171],[196]. D'autres pics sont apparus à 2857,87 cm^{-1} et 2925,54 cm^{-1} attribués respectivement à l'étirement de -CH_3 et -CH_2- [193],[197], ainsi que la vibration symétrique autour de 1414,73 cm^{-1}, correspondant à la bande -CH des chaînes alkyle. Cette dernière présente une intensité plus forte pour KC-OSA MM (dérivés obtenu par chauffage aux micro-ondes) que pour KC-OSA CM (dérivés obtenu par chauffage conventionnel). Les autres pics des échantillons de KC-

OSAs n'ont pas changé de manière significative par rapport à ceux du KC natif. Enfin, ces résultats ont démontré que la modification sous chauffage par micro-ondes était plus efficace et efficiente que la méthode de chauffage conventionnelle.

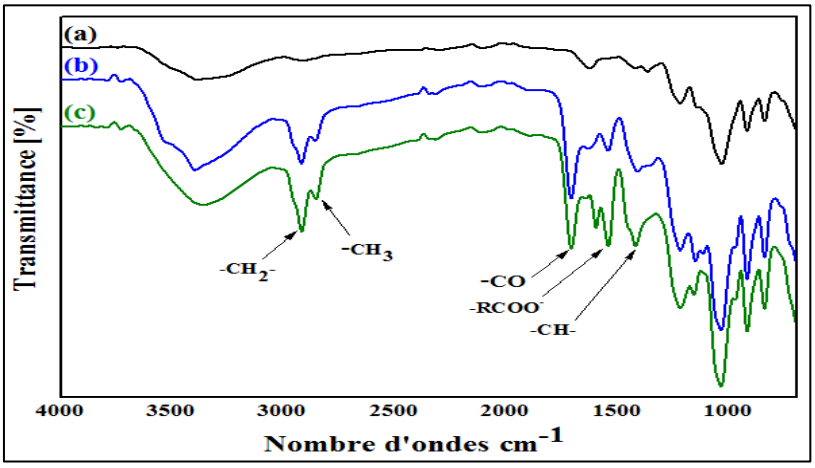


Figure III.2. Spectres FTIR de KC **(a)**, KC-OSA CM **(b)** et KC-OSA MM **(c)**.

III.2.2. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN^{1}H)

L'analyse RMN^{1}H a été effectuée pour confirmer la modification hydrophobe de KC. Les spectres de KC et ses dérivés (KCRs et KC-OSAs) sont représentés sur les figures III.3, III.4 et III.5 Les propriétés structurales du KC **(Figure III.3)** a révélé que le KC est un polysaccharide composé d'unités répétées et alternées de β-D-galactopyranose 3-lié (unités **G**) et de 3,6-anhydro-α-D-galactopyranose 4-lié (unités **DA**). Le spectre RMN^{1}H du KC indique les pics de G4S-1 à 5,20 ppm, G4S-2 à 3,69 ppm et d'autres pics de G4S-3 et G4S-4 à 3,85 ppm et 4,12 ppm, respectivement [198], [198], [199]. L'ensemble des résultats obtenus lors de cette analyse sont en accord avec la littérature [199].

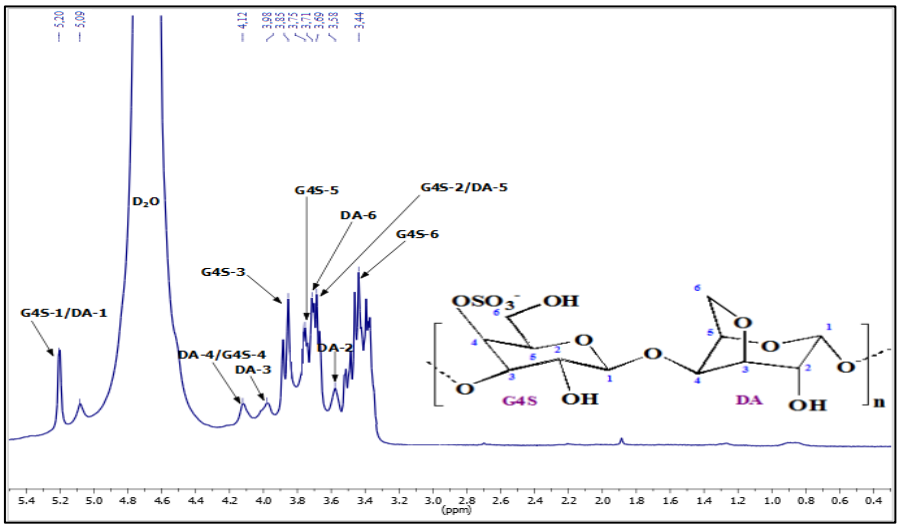


Figure III. 3. Spectre RMN^{1}H du KC natif.

De nouveaux pics ont été détectés dans les spectres des dérivés KCR MM et KCR CM (**Figure III.4**). Les pics détectés à 0,88 ppm et 1,29 ppm ont été attribués, respectivement, à trois protons de méthyle terminal (CH_3) et les protons liés au groupement méthylène (CH_2) de la chaîne octyle [193]. Les pics détectés à 3,78 ppm dans les spectres RMN^{1}H des dérivés obtenus ont été attribués aux protons de méthylène liés à la fonction éther (-CH_2-O-R), ce qui a permis de confirmer l'éthérification du KC par le chlorooctane [170].

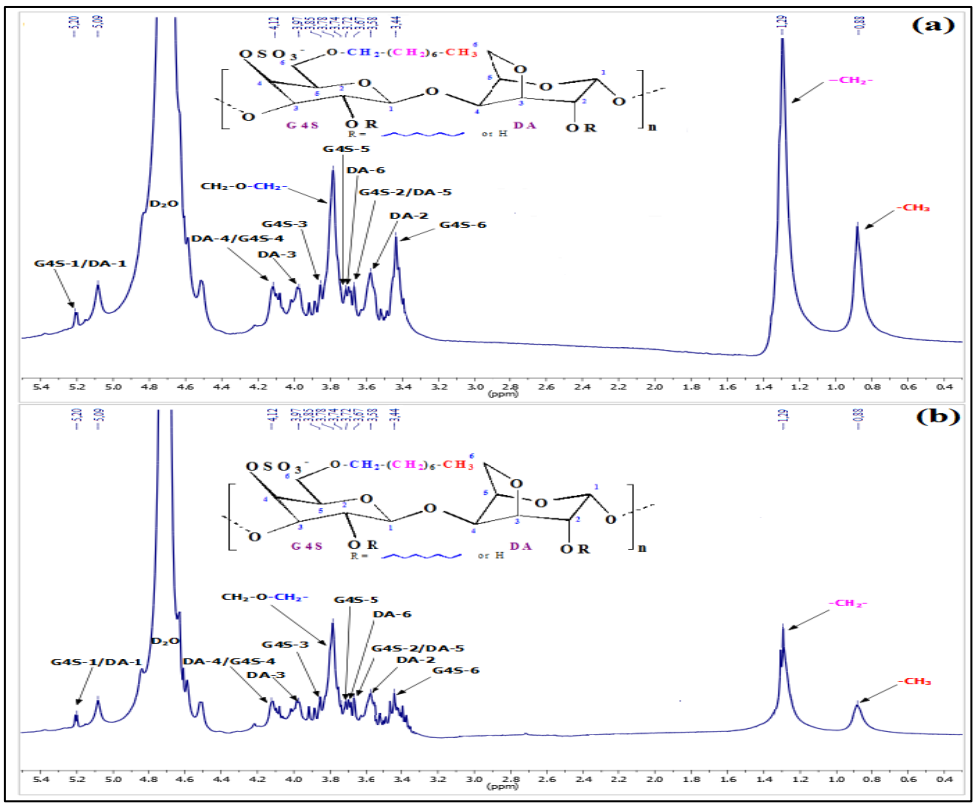


Figure III.4. Spectre RMN^{1}H des dérivés de KC : KCR MM **(a)** et KCR CM **(b).**

De nouveaux pics ont été détectés dans les spectres des dérivés obtenus KC-OSA MM **(Figure III.5-a)** et KC-OSA CM **(Figure.III.5-b)**. Le pic à 0,84 ppm correspondent à trois protons de méthyle terminal CH_3 (**a**) dans le résidu OSA, et le pic à 1,25 ppm provient du méthylène CH_2 (**b-d**) du résidu OSA [200]. Ces résultats indiquent clairement la substitution de l'OSA sur la structure du KC [201],[202].

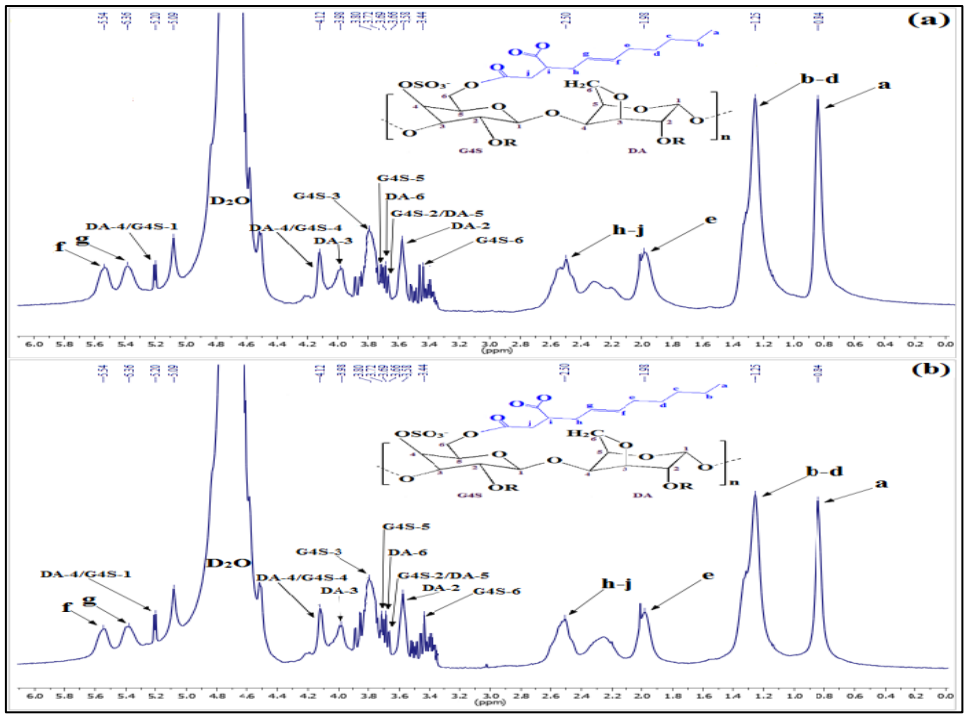


Figure III.5. Spectre RMN^{1}H des dérivés de KC : KC-OSA MM **(a)** et KC-OSA CM **(b)**.

III.2.3. Degré de substitution (DS)

Les valeurs du degré de substitution sont représentées dans la figure III.6. L'ensemble des résultats obtenus indique que les dérivés synthétisés par micro-ondes (KCR MM et KC-OSA MM) présentent des degrés de substitution plus élevés (DS = 0.77 et 0.85) par rapport au dérivés préparé par la méthode conventionnelle (KCR-CM et KC-OSA CM) présentant des degrés de substitution de 0.45 et 0.62, respectivement.

Le rayonnement micro-ondes permet un chauffage homogène dans la masse du milieu réactionnel grâce à une élévation instantanée de la température conduisant à des temps de réaction très courts [203]. [204].

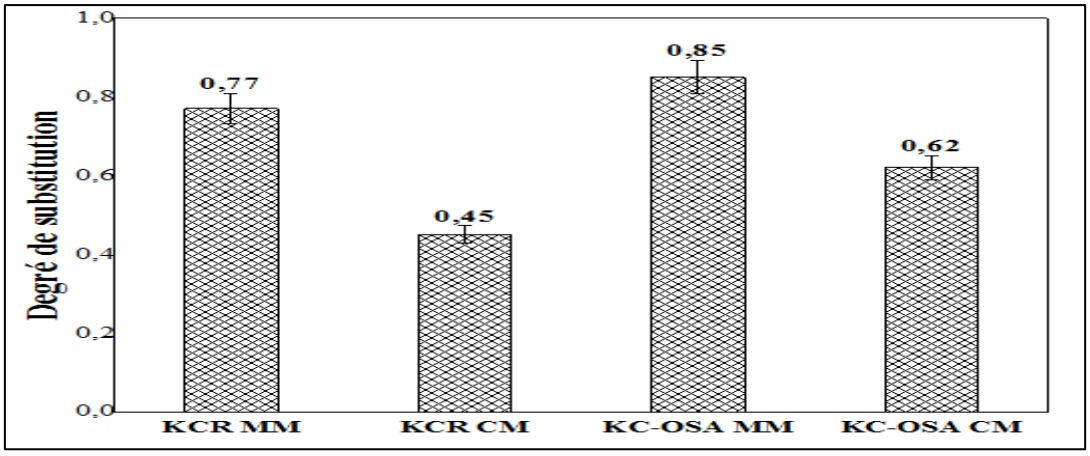


Figure III.6. Degrés de substitution (DS) des dérivés KCR et KC-OSA.

III.2.4. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage a été utilisée pour déterminer la taille, la surface, et la forme des particules. Les figures III.7, III.8 et III.9 montrent la morphologie et la structure du KC et ses dérivés à différentes échelles (50, 10 and 5µm).

Les microphotographies du KC natif (Figure III.7 a–c) ont montrés que les grains présentent de petites tailles, de forme granuleuse avec une structure uniforme [205]. Les grains de KC présentent une microstructures avec une surface assez lisse et une structure laminée [206],[207].

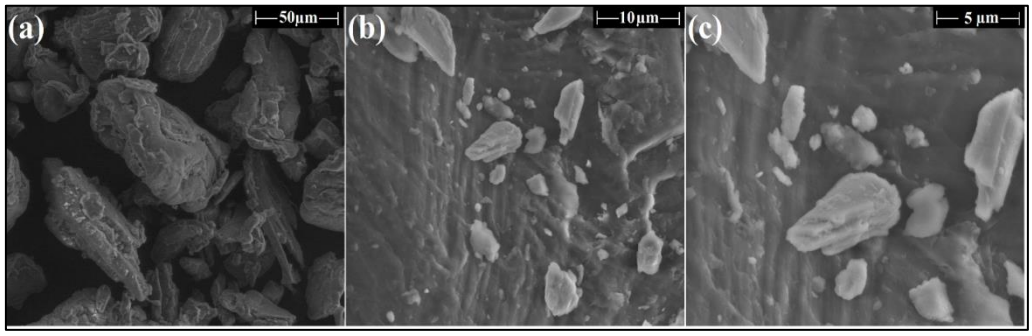


Figure III.7. Image microscopique MEB du KC : 1000X, 50µm **(a)**, 6000X, 10µm **(b)** et 16000X, 5µm **(c)**.

Contrairement aux granules de KC, les grains de KCRs présentent un aspect cristallin avec des surfaces plus lisses et moins poreuses **(Figure III.8)**. En effet, les grains de KCR MM étaient sensiblement plus gros que les grains de KCR CM. A cet effet, les conditions fortement alcalines ont pu causer la désintégration granulaire du dérivé KCR CM [208].

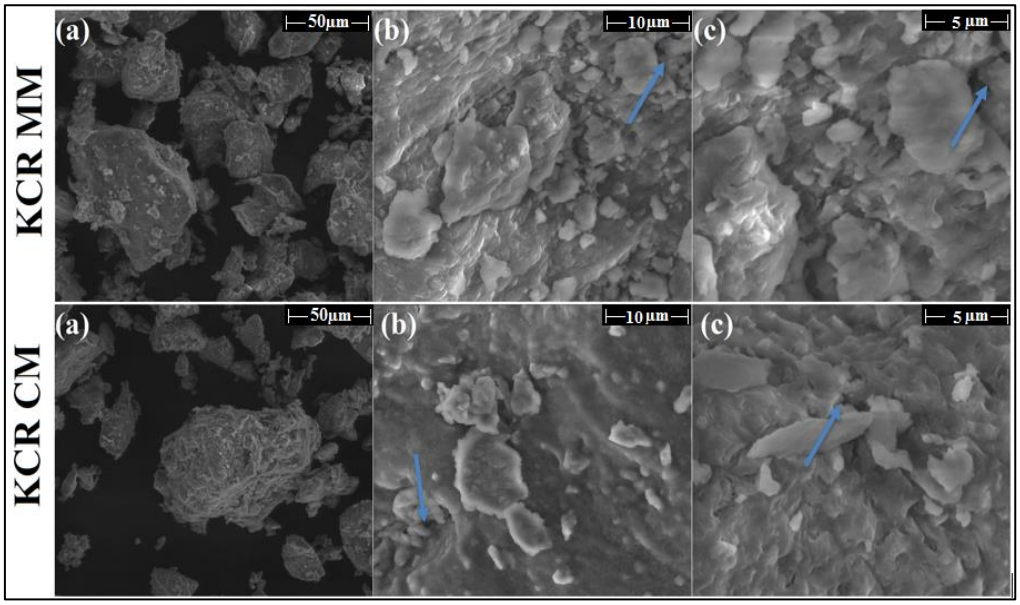


Figure III.8. Images microscopiques MEB de KCR MM et de KCR CM : 1000X, 50µm **(a)**, 6000X, 10µm **(b)** et 16000X, 5µm **(c)**.

D'autre part, les grains de KC-OSAs présentent un aspect cristallin sans aucune altération significative de la structure granulaire. Ces résultats suggèrent que la réaction d'estérification n'a pas endommagée la structure morphologique du KC [195].

En conclusion, l'ensemble des résultats de la MEB montre que les modifications hydrophobes auxquels le KC a été soumis lors de cette étude n'ont pas eu d'impact significatif sur la taille des particules du KC, ce qui indique que les fractions hydrophobes greffés sur KC par éthérification (KCRs) ou par estérification (KC-OSAs) n'ont pas provoqué la dénaturation de la structure du biopolymère KC.

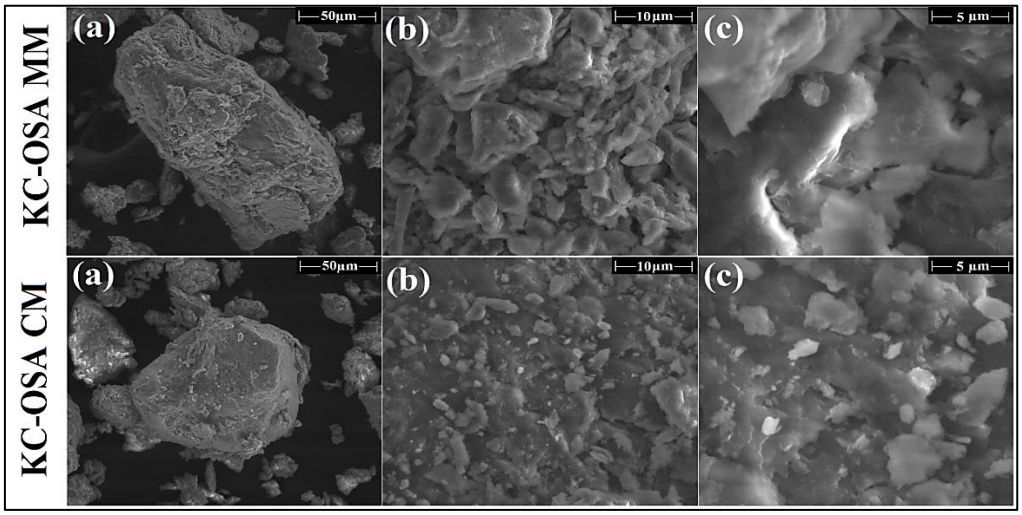


Figure III.9. Images microscopiques MEB de KC-OSA MM et de KC-OSA CM : 1000X, 50µm **(a)**, 6000X, 10µm **(b)** et 16000X, 5µm **(c)**.

III.2.5. Diffraction des rayons X (DRX)

Le diagramme de diffraction des rayons X du KC **(Figure. III.10)** a montré des pics nets qui indique sa structure cristalline avec des pics caractéristiques à 2θ = 18.41° et 28.26° ayant des intensités de 63.0% et 56.1%, respectivement [206].

Les diagrammes de diffraction des dérivés éthérifiés et estérifiés **(Figure III.10)** du Kappa carraghénane ont montré des spectres similaires au diagramme du KC natif, n'indiquant pas de changement significatif dans l'état morphologique des dérivés obtenus après les réactions d'éthérification et d'estérification [209],[210].

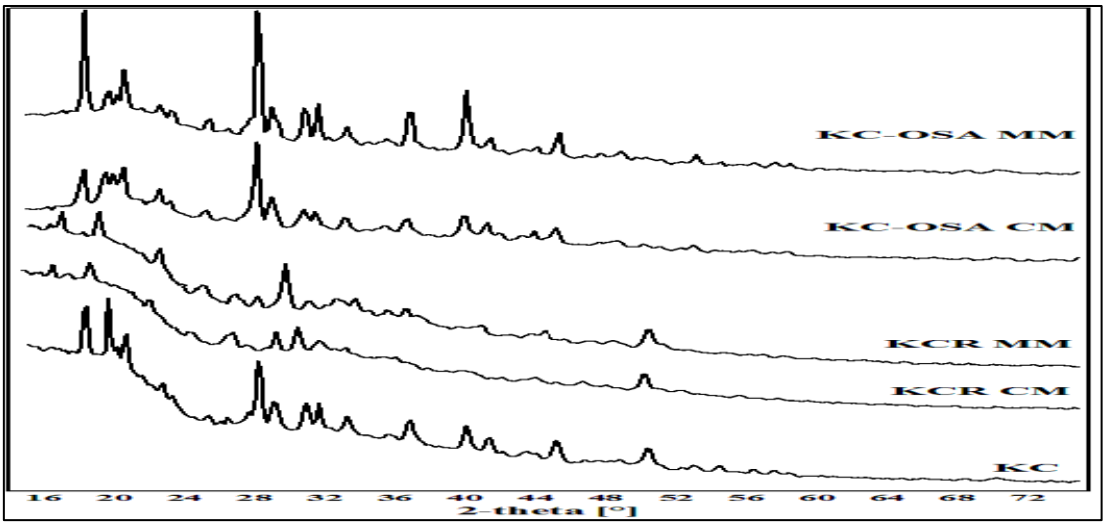


Figure III.10. Spectres de diffraction au rayon X du kappa carraghénane.

Cependant, les différences d'intensité des pics ou l'absence de certains autres pics dans les diffractogrammes des dérivés étudiés par rapport au diffractogramme du KC, essentiellement à 2θ = 28,25° (56,1%), 28,15° (85,0%) et 28,28° (88,4%) correspond à KC, KC-OSA CM et KC-OSA MM respectivement, indiquent que KC et ses dérivés possèdent différents degrés de cristallinité. En effet, les valeurs de DDC (degré de cristallinité) obtenues de KC, KCR MM, KCR CM, KC-OSA CM et KC-OSA MM étaient de 8.01 %, 4.35 %, 3.50%, 8,86 % et 9,45 %, respectivement.

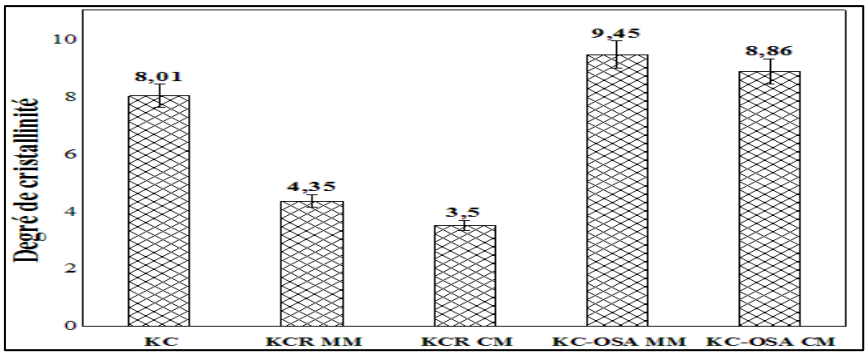


Figure III.11. Degré de cristallinité du KC et ses dérivés.

III.2.6. Analyses thermiques

Les analyses de calorimétrie à balayage différentiel (DSC) et thermogravimétrique (ATG) sont fréquemment utilisées lors de la caractérisation des propriétés thermiques des polymères. Les thermogrammes DSC, ATG et leurs dérivées (DTG) du KC et ses dérivés sont illustrés sur les figures III.12, III.13 et III.14. Les thermogrammes DSC de KC et KCRs **(Figure III.12.a)** ont montré que les températures de transition vitreuse étaient de 239 °C et 256 °C, respectivement.

L'analyse DSC de KC et ses dérivés KC-OSAs **(Figure III.12.b)** a montré deux événements thermiques. Les résultats obtenus permettent de conclure que le greffage des chaînes hydrophobes sur le kappa carraghénane par l'éthérification ou l'esterification a augmenté les températures de dégradation ou les températures de transition vitreuse en raison de l'énergie nécessaire pour la rupture des nouvelles liaisons d'éther et d'ester entre les groupements hydrophobes et le KC.

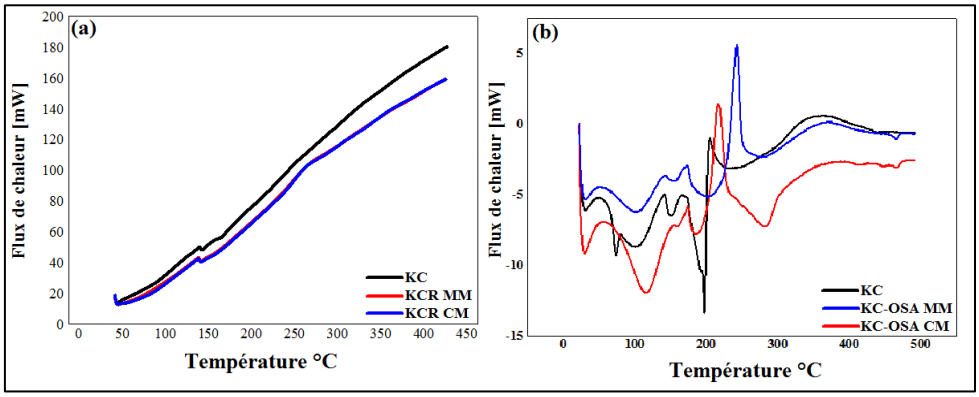


Figure III.12. Thermogrammes DSC de KC et ses dérivés.

Les courbes ATG **(Figure. III.13)** ont montré que les échantillons présentaient trois stades de dégradation à des intervalles de températures allant de 23 °C à 1000 °C. Le premier stade qui commence à partir de la température ambiante jusqu'à (120-130)°C est lié à la déshydratation du kappa carraghénane [211],[198]. Le second stade de dégradation du KC commence de 180 °C à 414 °C, et correspond à la perte de poids drastique (43-44 %) [198],[226],[227]. Le troisième stade de décomposition de KC a été enregistré entre 590.08 °C et 994.18 °C, ce qui peut être dû à la décomposition des espèces inorganiques présentes dans le KC natif **(Figure. III.13.b**) [212].

Pour les KC-OSAs, le deuxième stade de dégradation a débuté de 144.06 °C à 403.75 °C avec une perte de poids de 41.86% pour KC-OSA MM et de 123,2 °C à 611,19 °C pour KC-OSA CM avec une perte de poids de 51,97 %. Enfin, dans le troisième stade des dérivés d'OSA, des pertes de poids drastiques de 17,66 % pour KC-OSMM et de 18,26 % pour KC-OSCM ont été observées à partir de 406.11 °C à 638.11 °C et de 613.02 °C à 823.24 °C, respectivement. Les résultats ont montré une amélioration de la stabilité thermique dans les dérivés par rapport à KC natif en raison de la substitution des groupes hydroxyle par les groupes hydrophobes [212].

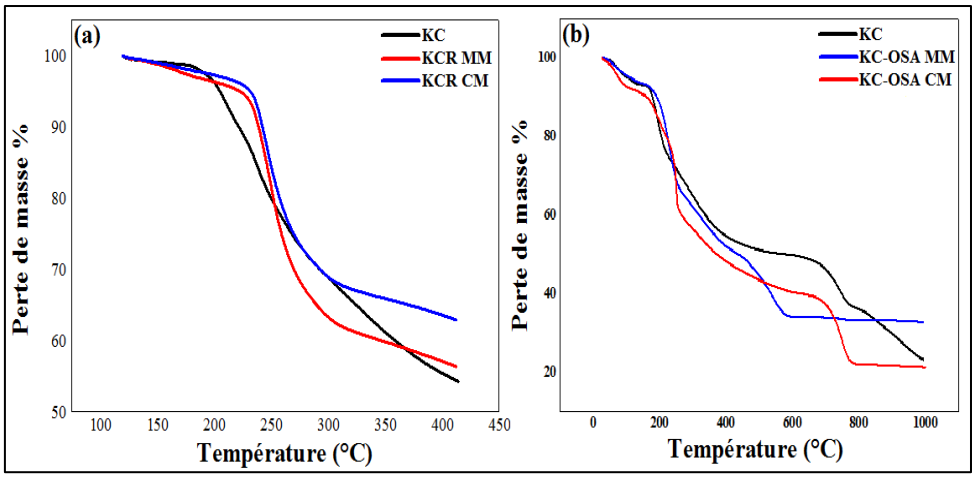


Figure III.13. Thermogrammes d'analyse Thermogravimétrique de KC et ses dérivés.

Les résultats obtenus lors de l'analyse thermique ont également démontré que la température de décomposition des dérivés de KC a été augmentée avec l'augmentation du DS, donc une amélioration de la stabilité thermique de la plupart des dérivés [213],[226],[229].

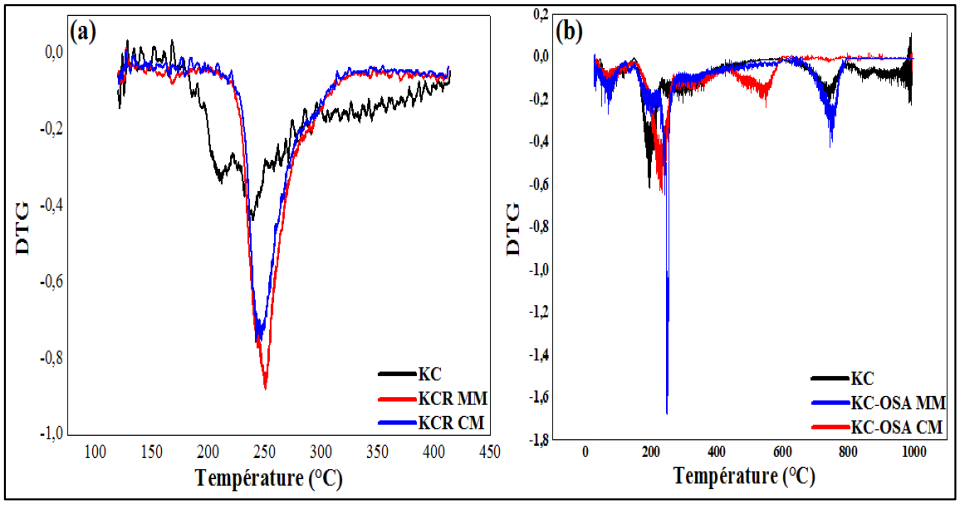


Figure III.14. Thermogrammes des dérivés thermogravimétriques de KC et ses dérivés.

Enfin, les points d'inflexion des courbes DTG (Figure III.14) ont révélés que la fraction maximale de décomposition était à (moyenne de 192-238) °C, 242 °C, 251 °C, 228,98 °C et 249,67 pour KC, KCR CM, KCR MM, KC-OSA CM et KC-OSA MM, respectivement [215].

III.2.7. Détermination du poids moléculaire moyen

Les poids moléculaires moyens (PM) de KC, KCR MM, KCR CM, KC-OSA MM et KC-OSA CM ont été estimés à (2.23×10^5), (1.29×10^5), (0.94×10^5), (2.08×10^5) et (1.37×10^5) g /mol respectivement (figure III.15). Des différences significatives ont été observées en comparant les différents poids moléculaires ($p < 0,05$). La diminution des poids moléculaires

moyens des KCRs et KC-OSAs peut être interprétée par une dépolymérisation des chaines polymériques, à cause du milieu réactionnel fortement alcalin. La dégradation du poids moléculaire a été également observée lors de réactions d'éthérification et d'estérification de différents polysaccharides avec des poids moléculaires élevés dans plusieurs études ultérieures [8],[216].

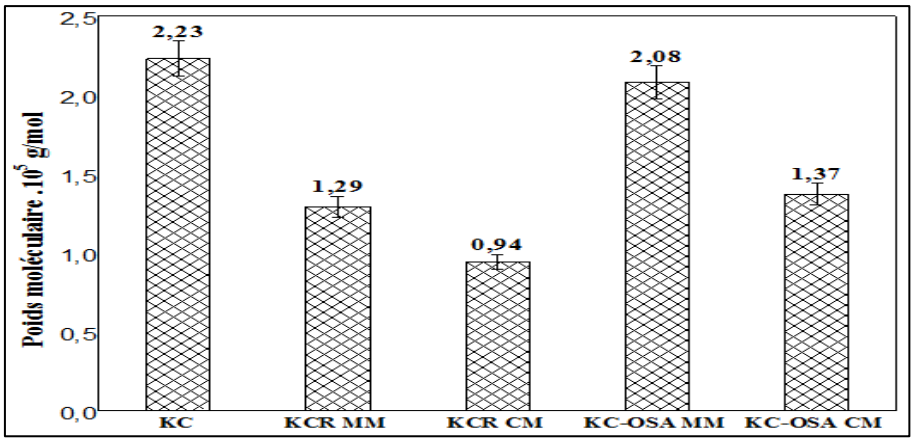


Figure III.15. Valeurs du poids moléculaire du KC native et de ses dérivés.

III.2.8. Étude rhéologique

Afin d'étudier les propriétés rhéologiques et les structures internes de KC et ses dérivés (KCRs et KC-OSAs), l'évaluation des courbes d'écoulement, et les tests d'oscillation ont été effectués pour la caractérisation des profils d'écoulement et les propriétés viscoélastiques des biopolymères.

III.2.8.1.Courbes d'écoulement

Les courbes d'écoulement du KC et de ses dérivés sont illustrés sur les figures III.16 et III.17. Les profils des courbes d'écoulement montrent clairement que les biopolymères présentent des propriétés non Newtoniennes, avec un comportement rhéofluidifiant, du fait que la viscosité diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement [217]. De plus, il a été noté que la viscosité du KC était supérieure à celle des dérivés KCR MM, KCR CM et KC-OSA CM, ce qui pourrait s'expliquer par le poids moléculaire plus bas des dérivés par rapport à celui du KC natif [8] [218], a l'exception du dérivés KC-OSA MM qui a une viscosité similaire à celle du KC natif du fait que ce dérivé a subi un traitement alcalin doux pendant une courte durée. On a aussi remarqué que la viscosité augmente avec l'augmentation de la concentration des biopolymères. Ainsi, les solutions de biopolymères à 1% (p/v) présentaient des valeurs de viscosité plus élevées que celle des solutions à 0.75% (p/v) [217].

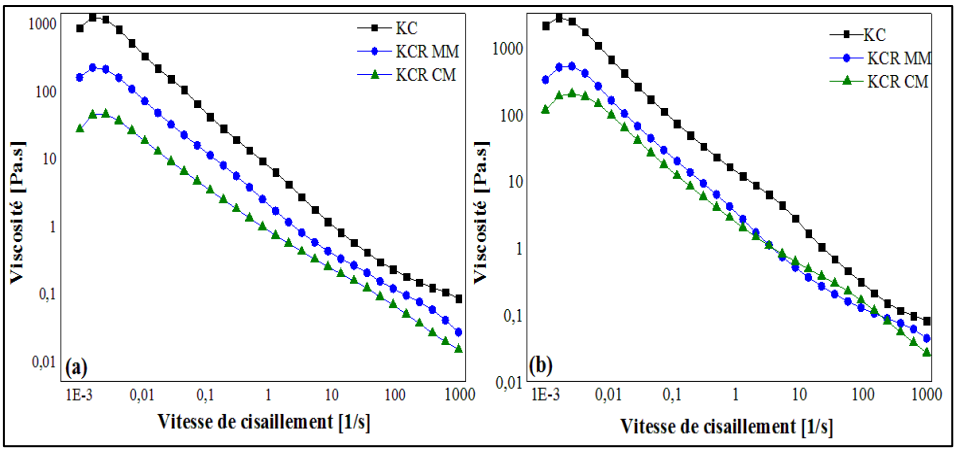


Figure III.16. Courbes d'écoulement de KC, et KCRs (KCR MM et KCR CM) à des concentrations de 0.75 %(p/v) **(a)** et 1 % (p/v) **(b)**.

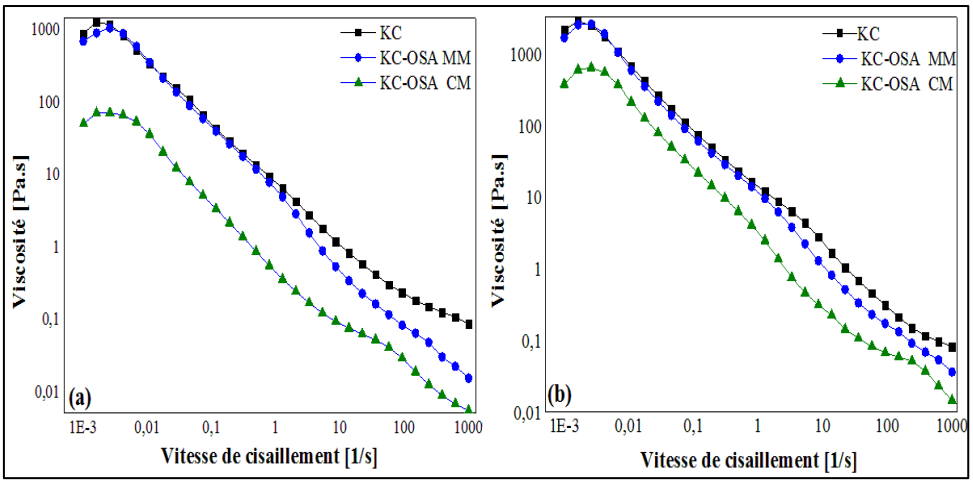


Figure III.17. Courbes d'écoulement de KC, et KC-OSAs (KC-OSA MM et KC-OSA CM) à des concentrations de 0.75 %(p/v) **(a)** et 1 % (p/v) **(b)**.

III.2.8.2.Propriétés viscoélastiques linéaires

Des tests d'oscillation ont été effectués pour examiner les propriétés viscoélastiques linéaires de solutions aqueuses de KC et de ses dérivés KCRs et KC-OSAs. Les résultats des variations des modules élastique (G') et visqueux (G") sont illustrés dans les figures III. 18 et III.19.

Dans la région viscoélastique linéaire (RVL), il est clairement observé que tous les échantillons ont montrés un caractère élastique est prédominant par rapport au caractère visqueux, et que le module de stockage était supérieur au module de perte (G' > G"). Le module de stockage, ainsi que le module visqueux, restent presque constant dans la région du plateau avant d'atteindre le point de gel à la contrainte de cisaillement critique, où le démêlage du réseau de gel est atteint [219].

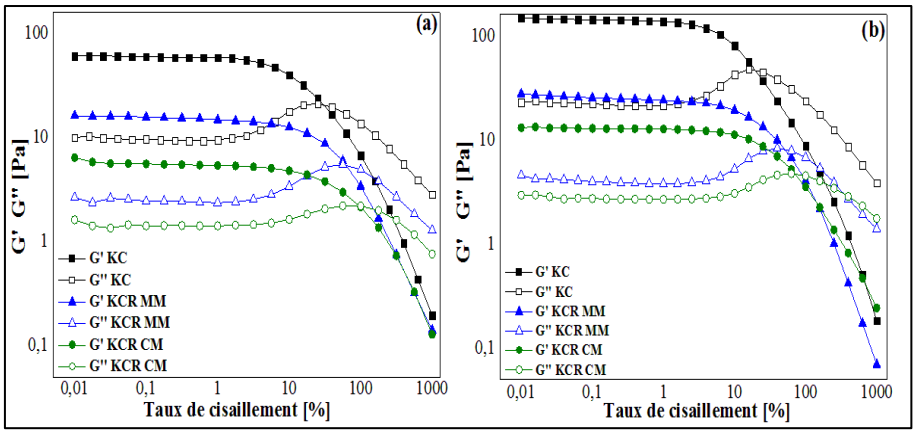


Figure III.18. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la déformation de KC, et KCRs à des concentrations de 0.75 % **(a)** et 1 % **(b)** à 1Hz et 25°C.

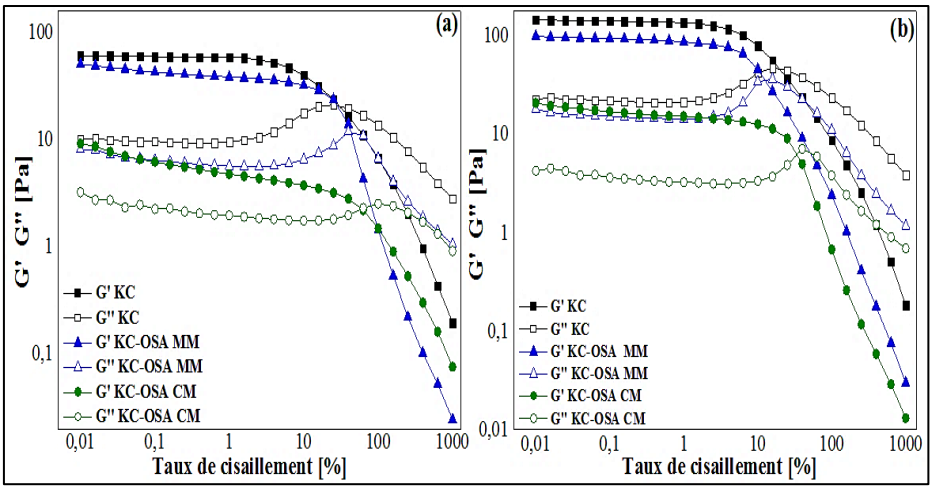


Figure III.19. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la déformation de KC, et KC-OSAs à des concentrations de 0.75 % **(a)** et 1 % **(b)** à 1Hz et 25°C.

III.2.8.3. Etude de viscoélasticité dynamique

Les spectres mécaniques de KC et de ses dérivés sont illustrés sur les figures III.20 et III.21. On observe que le module de stockage (G') est resté supérieur au module visqueux (G"), et que les modules des dérivés notamment les KCRs ont montré une variation plus importante avec la fréquence angulaire que KC ce qui correspond à un comportement élastique caractéristique d'un gel faible [220],[170],[221],[222],[223]. Ces résultats ont également montré que les valeurs de G' et G'' augmentent en fonction de la concentration, où ils présentent des valeurs maximales à la concentration de 1 %(p/v) [220].

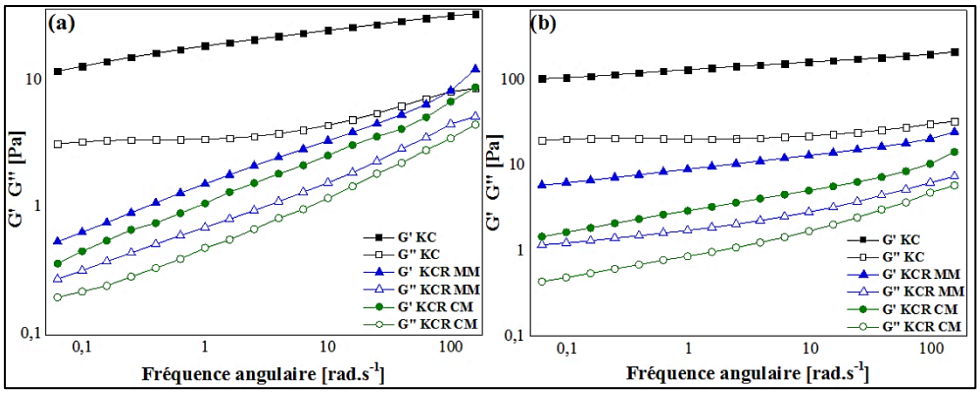


Figure III.20. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la fréquence de KC et KCRs à des concentrations de 0.75 % **(a)** et 1 % **(b)**.

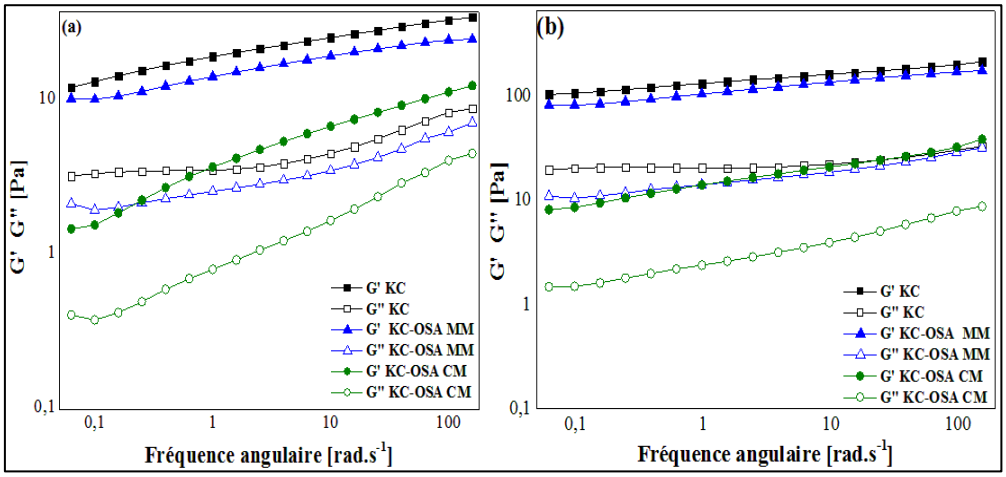


Figure III.21. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G") en fonction de la fréquence de KC et KC-OSAs à des concentrations de 0.75 % **(a)** et 1 % **(b)**.

III.2.9. Détermination de la concentration d'agrégation critique (CAC)

Les figures III.22, III.23 montrent la variation de la conductivité électrique des dérivés du KC à différentes concentrations, à 25°C. Les courbes révèlent que la conductivité électrique est proportionnelle à la concentration des dérivés du KC. Selon les résultats obtenus, deux régions linéaires ont été détectées et les courbes ont modifiés leurs pentes à une concentration spécifique connue sous le nom de la concentration d'agrégation critique (CAC). Les valeurs de la CAC des polymères, qui étaient les intersections des segments de droite, diminuaient avec l'augmentation du DS [224], cela pourrait s'expliquer par le caractère amphiphile des KC modifiés de manière hydrophobe qui agissaient comme des tensioactifs dans les solutions aqueuses [225].

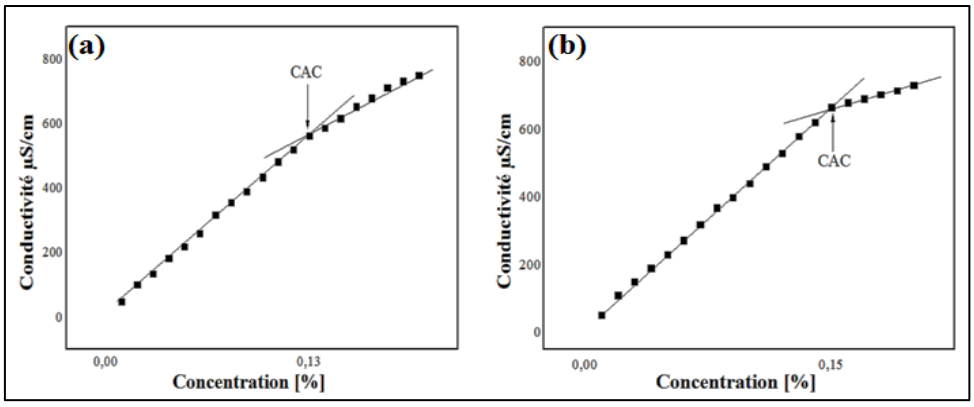


Figure III.22. Variation de la conductivité en fonction des concentrations de KCR MM **(a),** et de KCR CM **(b)**

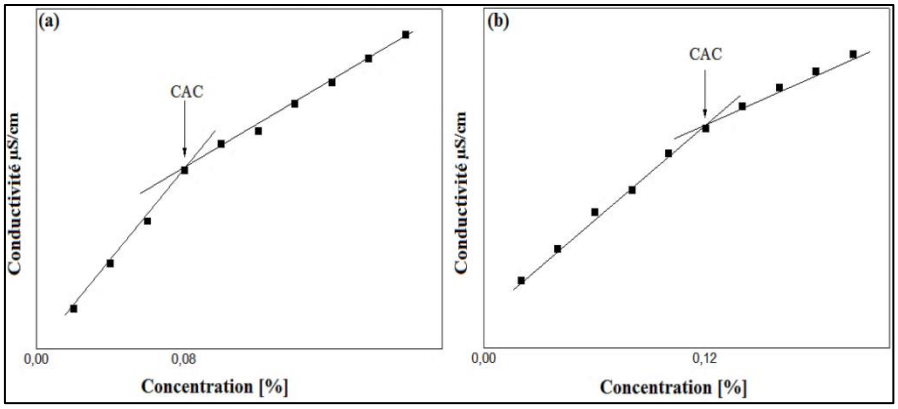


Figure III.23. Variation de la conductivité en fonction des concentrations de KC-OSA MM **(a)**, et de KC-OSA CM **(b)**.

III.2.10. Diffusion dynamique de la lumière

L'effet des concentrations de KCRs et KC-OSAs sur la distribution des diamètres des particules colloïdales est représentée sur les figures III.24 et III.25 respectivement. A de très faibles concentrations (0.02%, p/v), la distribution granulométrique est caractérisée par l'existence d'une population monomodale constituée de monomères de polysaccharide modifié dispersés dans la solution et la taille du monomère est de l'ordre de 118 .74 nm, 93.02 nm, 151.57 nm et 105.1 nm pour KCR MM, KCR CM, KC-OSA MM et KC-OSA CM respectivement.

On observe une chute de la distribution de taille à 0,04 % (p/v) en raison des associations intermoléculaires causées par la contraction des chaînes des polymères qui ont conduit à la formation d'agrégats unimoléculaires.

Pour les KCRs, le dérivé obtenu par microonde (KCR MM) présente une taille du pic de la première distribution de 35,03 nm pour 0,06 % et aussi pour 0,08 % et la deuxième distribution était supérieure aux agrégats unimoléculaires, atteignant 151,57 nm et 193,48 nm pour 0,06% et 0,08 %, respectivement. Or que le KCR CM à 0,08 % avait une distribution à deux tailles correspondant à 35,03 nm et 151,57 nm. Cependant pour les dérivés de l'OSA, le phénomène micellisation a commencé à des faibles concentrations par rapport aux KCRs, à 0.04 % et 0.06 pour KC-OSA MM et KC-OSA CM respectivement. Alors le dérivé obtenu par microonde (KC-OSA MM) présente une taille de la première distribution de 44.72 nm pour 0.04%, 0,06 % aussi pour 0,08 % et la deuxième distribution était supérieure aux pics unimoléculaires, atteignant 171,25 nm et 193,48 nm et 218.6 pour 0.04%, 0,06% et 0,08 %, respectivement. Tandis que la taille de la première distribution de KC-OSA CM est de 39.58 nm pour 0.06% et aussi pour 0.08% et 151.57 nm et 193.48 nm pour 0.06% et 0.08% respectivement pour la deuxième distribution.

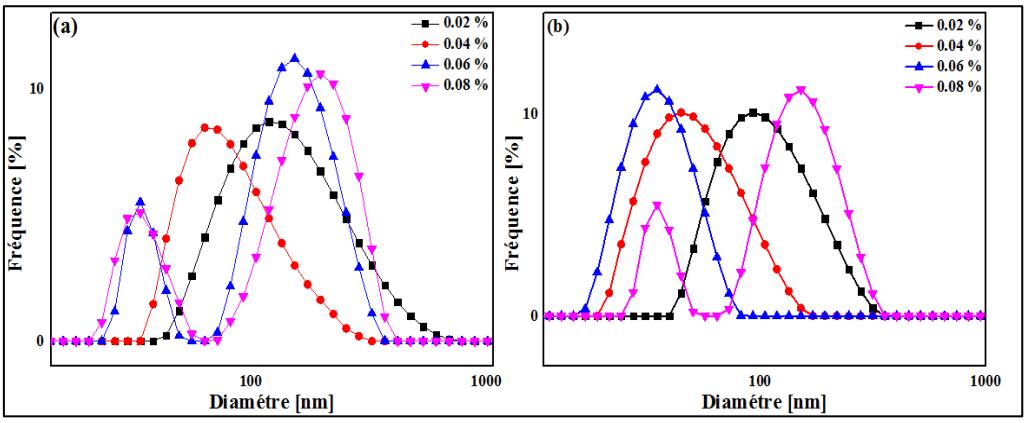


Figure III.24. Evolution des diamètres des nanoparticules de KCR MM **(a)** et KCR CM **(b)** à différentes concentrations.

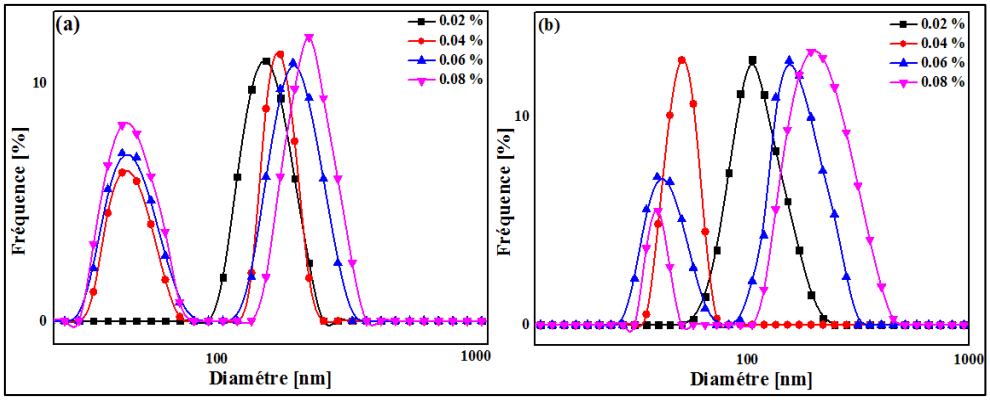


Figure III.25. Evolution des diamètres des nanoparticules de KC-OSA MM **(a)** et KC-OSA CM **(b)** à différentes concentrations.

III.2.11. Pouvoir émulsifiant

III.2.11.1. Aspect macroscopique

Les propriétés macroscopiques de toutes les formules développées ont été déterminées immédiatement après la préparation par un contrôle visuel avant le test d'évaluation de la stabilité **(Figure III.26 et III.27)**. Les émulsions obtenues étaient de couleur jaune pâle ou blanche et présentaient un aspect crémeux homogène. Cependant les formules à base de KC (F1 et F4), présentent une couleur jaunâtre.

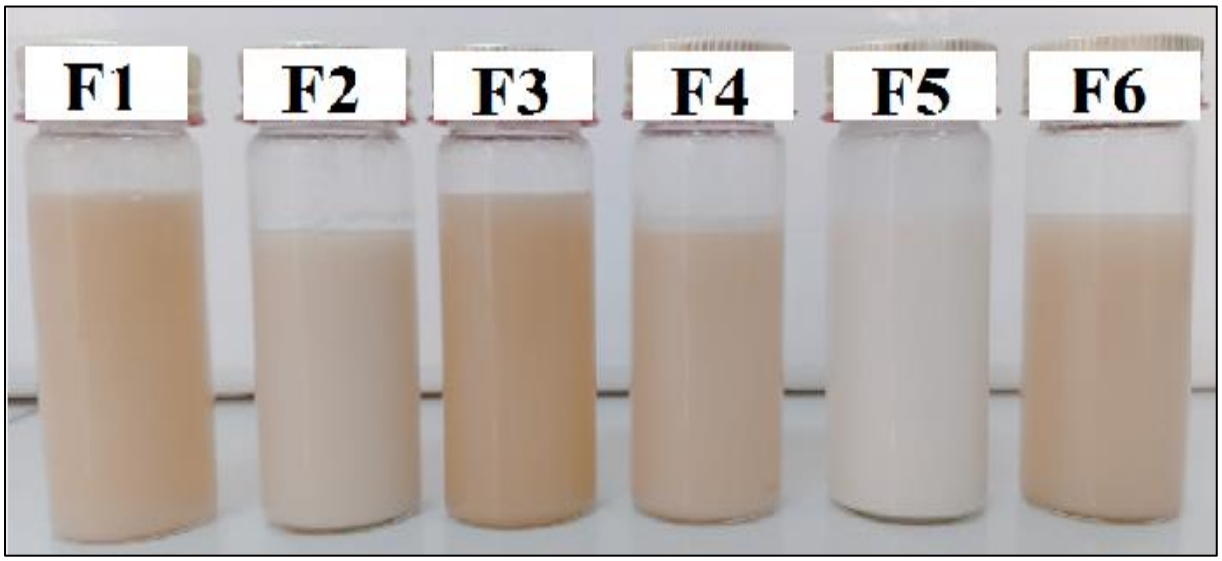


Figure III.26. Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KCR MM et KCR CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après 24h.

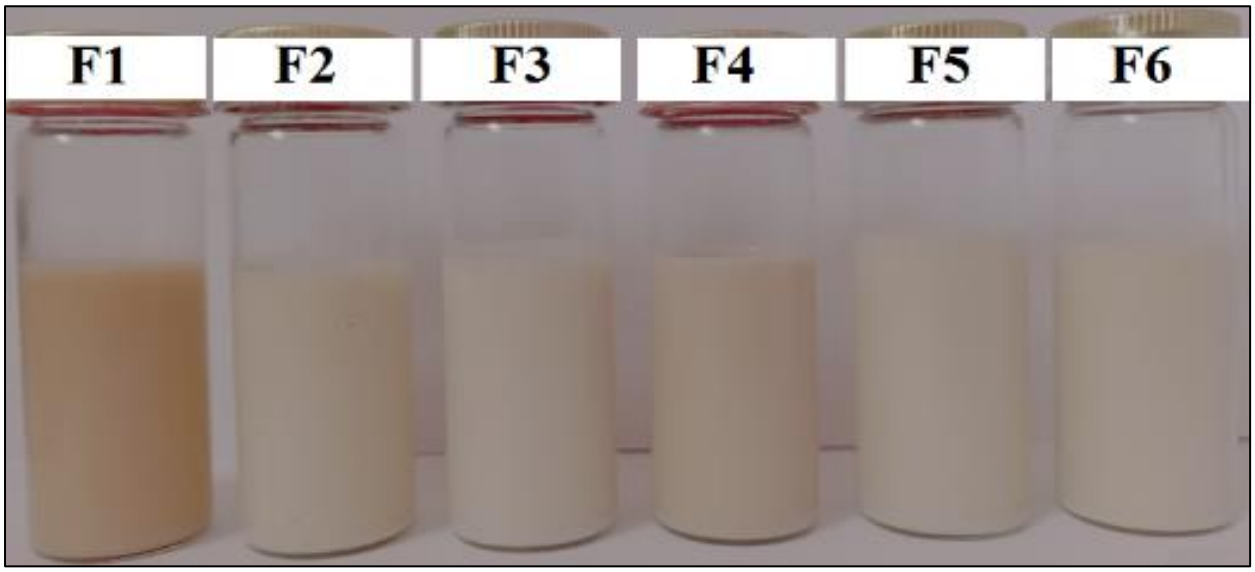


Figure III.27. Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KC-OSA MM et KC-OSA CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après 24h.

III.2.11.2. Indice de crémage

Les résultats des tests de stabilité accélérée par centrifugation sont représentés dans la figure III.28, où il est clairement observé que les émulsions stabilisées par KC-OSAs présentent les valeurs les plus faibles d'IC (%) par rapport à celles à base de KCRs. En effet, les faibles valeurs d'indice de crémage obtenues pour les formules F2 et F5, indique un potentiel stabilisant plus élevé des dérivés KCR MM et KC-OSA MM, obtenus par microondes par rapport aux dérivés obtenus par la méthode conventionnelle. Ces résultats confirment également le caractère amphiphile des dérivés qui est plus prononcé avec un DS plus élevé.

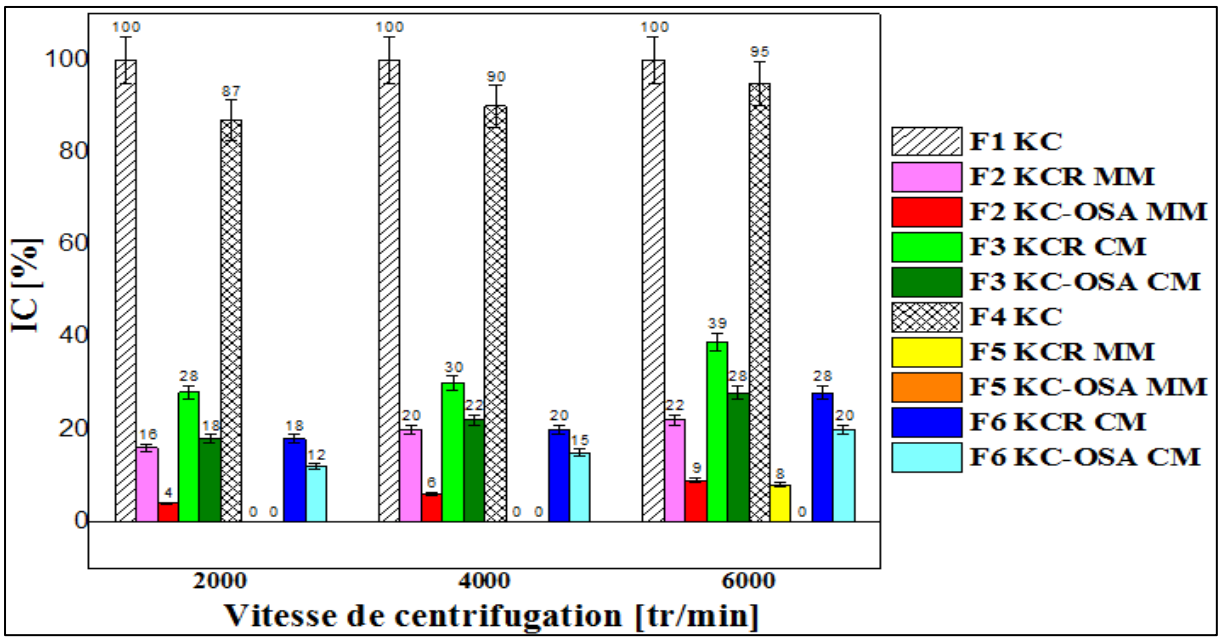


Figure III.28. Variation de l'indice de crémage des émulsions en fonction de la vitesse de centrifugation.

III.2.11.3. Test de stabilité à long terme

Les résultats des tests de stabilité après un mois sont présentés sur la figure III.29 et III.30. À la surface des émulsions à base de KC à 0,75% (F1), des gouttelettes huileuses ont été détectées, entraînant une séparation de phases. Cependant, les formules à base de KC à 1% (F4) ont montré un phénomène de coalescence avec apparition de gouttelettes huileuses à la surface. A l'inverse, les formules à base de KCRS et KC-OSAs ont montré une meilleure stabilité, en restant homogène, avec une couleur blanche et une consistance visqueuse.

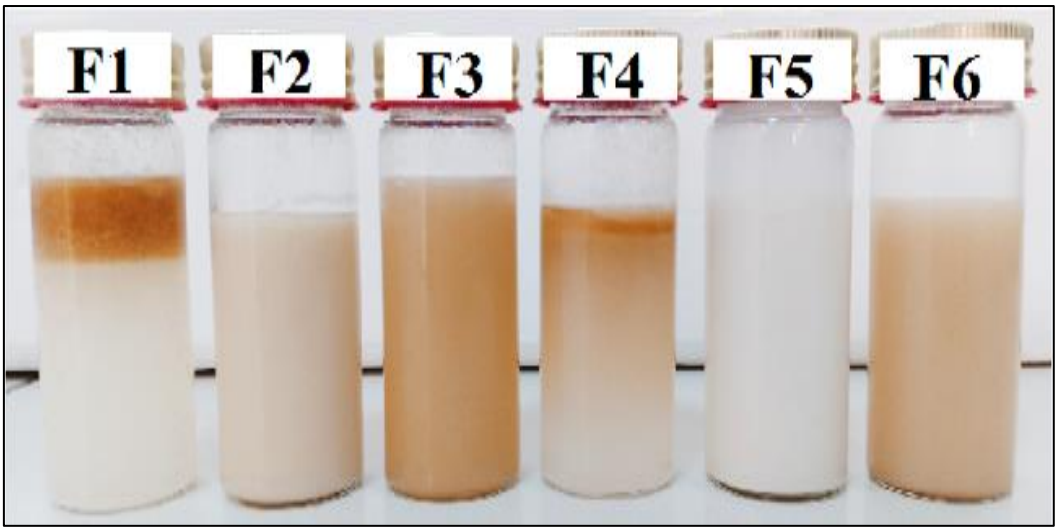


Figure III.29. Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KCR MM et KCR CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après un mois.

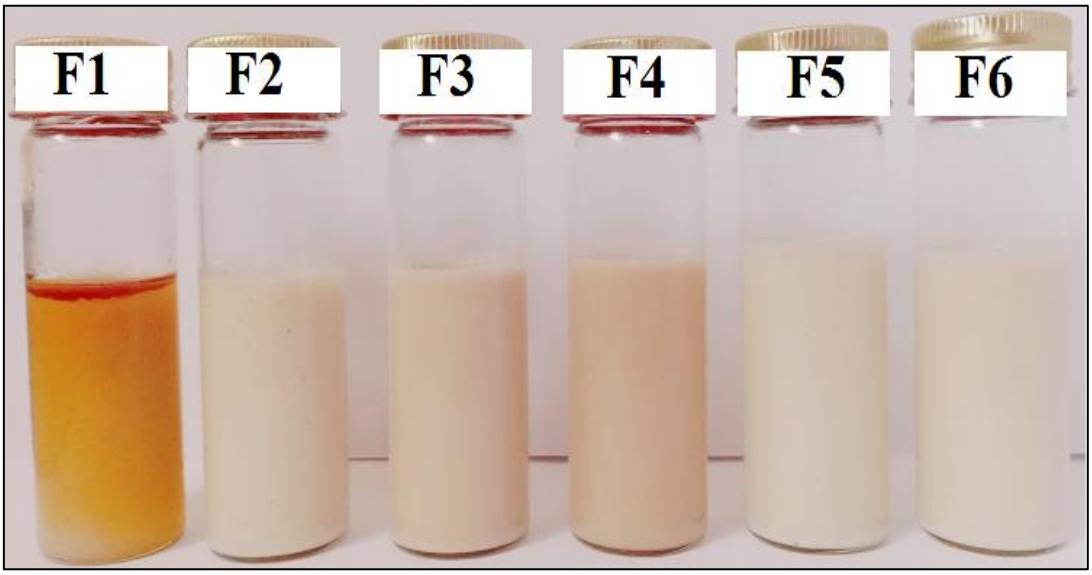


Figure III.30. Aspect macroscopique des émulsions à base de KC, KC-OSA MM et KC-OSA CM aux concentrations de 0.75 % (F1, F2 et F3) et de 1 % (F4, F5 et F6) après un mois.

III.2.11.4. Aspect microscopique

La microstructure des émulsions préparées a été examinée par microscopie optique, 24 heures après la préparation et 30 jours après le stockage. Les figures III.31, III.32 et III.33, représentent les photomicrographies et la distribution granulométrique des émulsions étudiées.

Les résultats observés indiquent clairement que les formules F1 et F4 à base de KC aux concentrations de 0.75 et 1 % ne montrent aucun pouvoir stabilisant **(Figure III.31)**. L'évolution irrégulière de la forme et de la taille des gouttelettes d'huile a conduit à une

coalescence complète après 30 jours dans ces émulsions, ce qui a été observé macroscopiquement comme une séparation de phases. De plus le diamètre moyen des globules de ces émulsions est passé de 224,66 ± 0,33 µm à 299,56 ± 0,4 µm pour F1 et de 109,67 ± 0,38 µm à 149,97 ± 0,15 µm pour F4 après un mois.

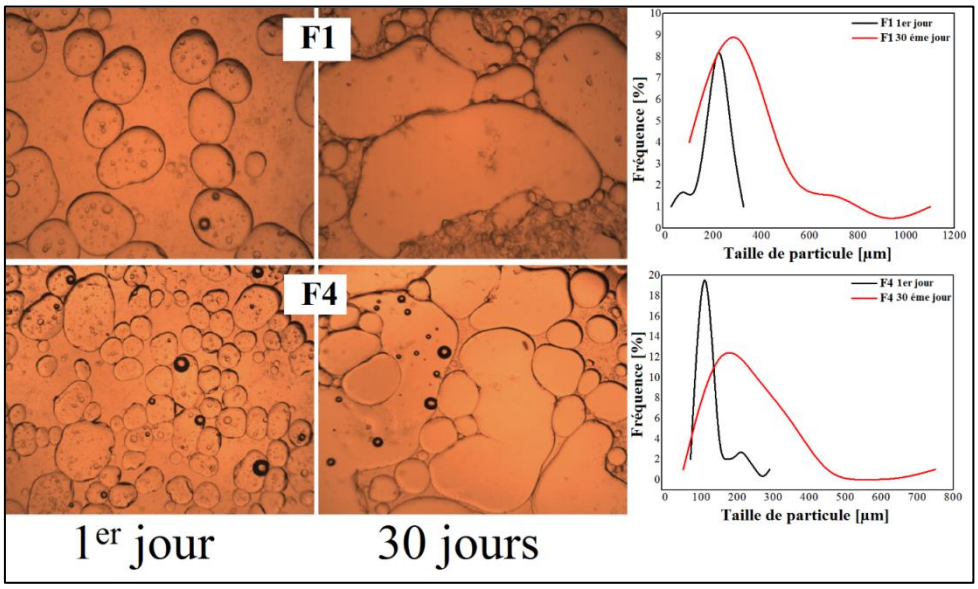


Figure III.31. Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulsions formulées à base du KC aux concentrations de 0.75 (F1) et 1% (F4).

Les formules F2, F3, F5 et F6 à base de KCRs **(Figure III.32)** et KC-OSAs **(Figure III.33)** ont conservés leur aspect homogène et n'ont montré aucune forme d'instabilité durant toute la période du stockage.

Les émulsions stabilisées par les dérivés KCRs à 0,75% et 1% n'ont présentées aucun phénomène de coalescence, même après 30 jours de stockage.

L'aspect microscopique des émulsions à base de KCR MM (F2 et F5) a montré la formation de gouttelettes d'huile sphériques uniformément dispersées, caractérisant une homogénéité de la distribution granulométrique. Le diamètre moyen des gouttelettes était sensiblement plus faible dans les émulsions à 1 % (F5). En effet, l'émulsion F2 à 0,75% en KCR MM a présenté une taille de globule moyenne variant de (17,5 ± 0,25) µm au premier jour à (27,74 ± 0,2)µm au 30ème jour, alors que l'émulsion F5 à 1% en KCR MM, a montré une taille de gouttelette moyenne de (10,23 ± 0,15) µm au premier jour, qui a légèrement augmenté à (15,3 ± 0,13) µm après 30 jours de stockage.

En revanche, les émulsions à base de KCR CM à 0,75% (F3) et à 1% (F6) présentaient une stabilité inférieure par rapport aux émulsions à base de KCR MM. En effet, les émulsions à base de KCR CM sont constituées de gouttelettes d'huile plus grosses, avec la présence de globules agrégés, après 30 jours de stockage. Ceci est confirmé par la taille moyenne des globules, où celles de l'émulsion F3 variait de (44,96 ± 0,22) µm à (90 ± 0,14) µm pour le premier et le 30ème jour de stockage, respectivement, alors que la taille globule de l'émulsion F6 variait entre (25,34 ± 0,25) µm (1er jour) et (44,5 ± 0,3) µm (30ème jour).

Cette variation observée dans l'aspect microscopique des émulsions à base des dérivés KCRs peut être expliqué par un pouvoir stabilisant de KCR MM plus important par rapport au dérivé KCR CM, dû à son DS élevé.

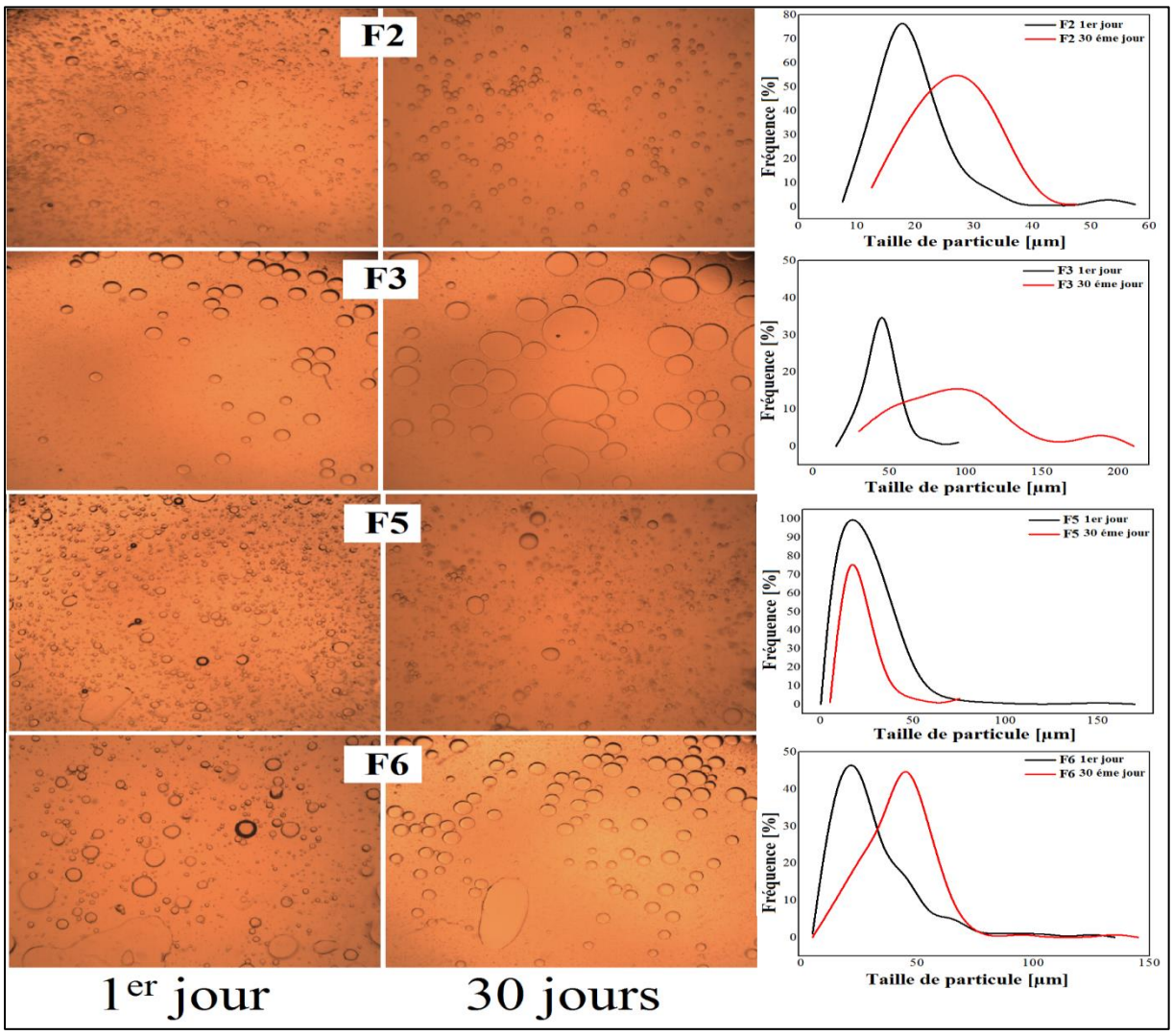


Figure III.32. Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulsions formulées (F2, F5) et (F3, F6) à base de KCR MM et KCR CM respectivement, avec (F2, F3) à 0.75% et (F5, F6) à 1%.

Même après 30 jours de stockage, les émulsions stabilisées par les KC-OSAs à 0,75% et 1% n'ont montré aucune coalescence. En effet, des gouttelettes d'huile sphériques, uniformément réparties avec une distribution homogène de la taille des particules a été observée dans les émulsions à base de KC-OSAs. A des concentrations de 0,75% de KC-OSA MM, l'émulsion F2 a montré une taille de particule allant de (12,30 ± 0,13) µm à (16,89 ± 0,14) µm pour le premier et le trentième jour respectivement. Par contre, à 1% de KC-OSA MM (F5), la taille des gouttelettes moyenne était de (8,86 ± 0,09) µm, qui a légèrement augmenté à (10,24 ± 0,17) µm après 30 jours de stockage.

Cependant, la taille moyenne des particules des émulsions à base du dérivé KC-OSA CM s'avère être plus important que la taille des émulsions à base de KC-OSA MM. En effet, la taille moyenne des particules de l'émulsion F3, à base 0.75% de KC-OSA CM variait de (32,75 ± 0,18) µm à (53,62 ± 0,12) µm pour les premier et 30e jours de stockage, respectivement, et pour l'émulsion F6, à base de 1% de KC-OSA CM, la taille moyenne des particules variait de (19,6 ± 0,15) µm à (22,42 ± 0,2) µm pour le premier et le 30^{éme} jours de stockage, respectivement.

Cette variation dans la taille moyenne des globules lors des dispersions et pendant le stockage des différentes émulsions étudiées est probablement due à la capacité des différents dérivés utilisés à s'adsorber aux interfaces, qui augmente avec l'augmentation du DS des dérivés.

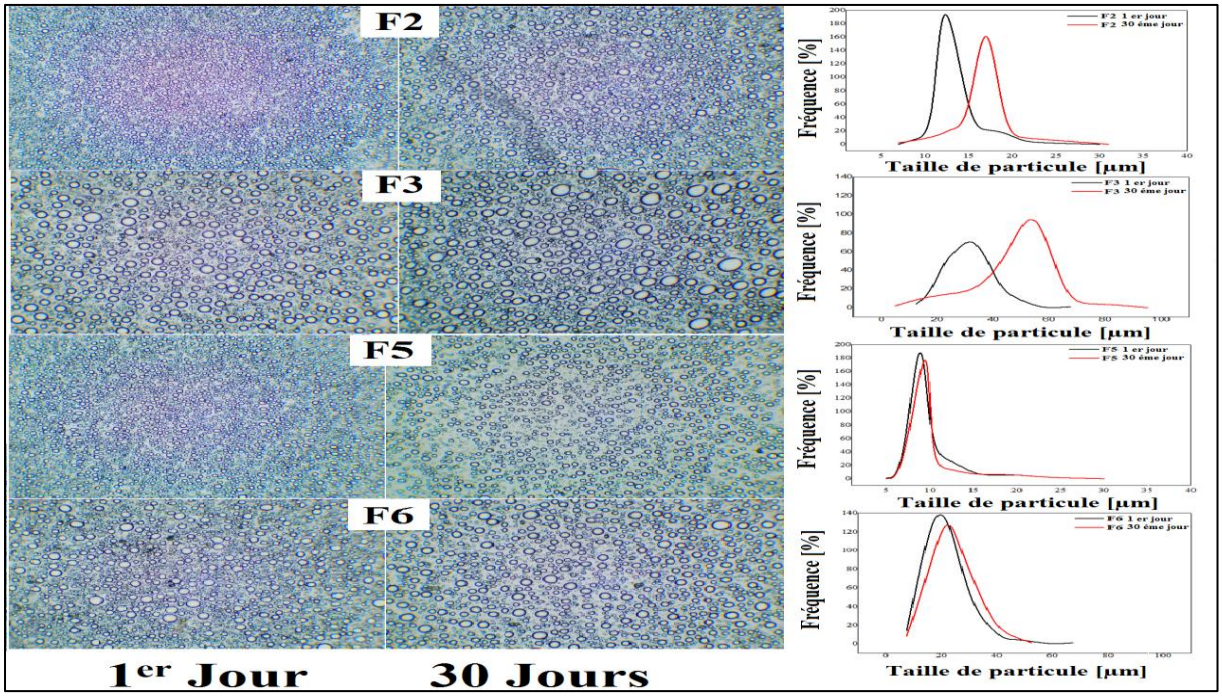


Figure III.33. Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulsions formulées (F2, F5) et (F3, F6) à base de KC-OSA MM et KC-OSA CM respectivement, avec (F2, F3) à 0.75% et (F5, F6) à 1%.

Ainsi, il apparait évident que le greffage de fragments hydrophobes sur le KC a permis aux dérivés obtenus (KCRs et KC-OSAs) d'avoir des propriétés amphiphiles, leurs permettant de s'adsorber aux interfaces grâce à leurs nouvelles capacités d'émulsification.

L'utilisation des dérivés de KC hydrophobiquement modifiés a permis de stabiliser des émulsions directes et l'augmentation du DS de ses dérivés augmentent le pouvoir émulsionnant de ces derniers et réduit considérablement la taille moyennes des particules dispersées **(Figures III.34)**. Ceci permet l'obtention d'émulsion plus stable, sans aucun phénomènes d'instabilité lors de leurs conservation [226], [227].

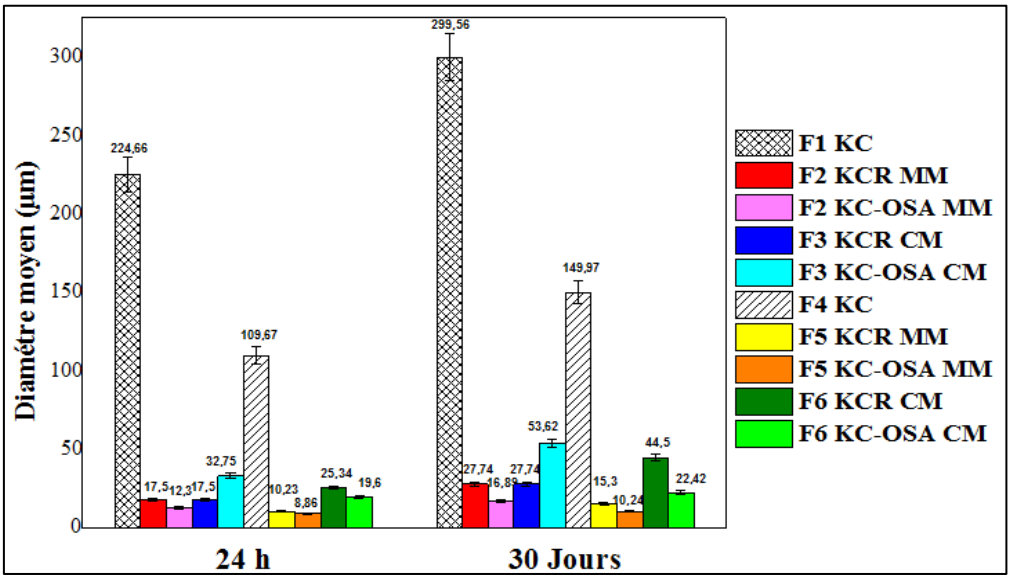


Figure III.34. Variation de la taille des particules moyenne des émulsions à base de KC et ses dérivés en fonction du temps.

III.3. CONCLUSION

La modification chimique du Kappa carraghénane par deux mécanismes différents à savoir l'éthérification et l'estérification a été réalisée avec succès. Cela a permis d'obtenir de nouveaux dérivés (KCRs et KC-OSAs) avec de nouvelles propriétés physicochimiques évaluées et caractérisées. Les résultats de la caractérisation ont montré que les dérivés hydrophobiquement modifiés possédant des propriétés de surface, pouvaient être utilisés comme biopolymères émulsifiants et stabilisants des émulsions de type W/O. L'ensemble des propriétés physicochimiques et rhéologiques augmente avec l'augmentation du DS des dérivés de KC. Ce dernier est plus important lors de l'utilisation du mode de chauffage par microondes, par rapport au mode de chauffage conventionnel, lors de la modification chimique du KC natif.

Chapitre IV : Formulation des émulgels stabilisés par KC et ses dérivés

IV.1 INTRODUCTION

Les émulgels sont des émulsions gélifiées dont l'émulsion est incorporée dans une base de gel. Ces formulations offrent une meilleure stabilité aux systèmes dispersés, ainsi que de nouvelles opportunités pour être utilisés comme de nouveaux véhiculant de principes actifs de nature hydrophobes à usage topique [228].

Dans cette optique, le principal objectif de ce chapitre est le développement d'émulgels contenant le Diclofénac de sodium (DCL), comme principe actif, et stabilisée par le kappa carraghénane (KC) et ses dérivés (KCRs et KC-OSAs). Cette étude permettra de mettre en évidence les propriétés physico-chimiques, rhéologiques et biopharmaceutiques des émulgels et d'évaluer la capacité des biopolymères étudiés à stabiliser les différentes formulations en tant qu'excipients pharmaceutiques.

IV.2. ETUDE DE LA COMPATIBILITÉ PRINCIPE ACTIF-EXCIPIENTS

Afin de vérifier la compatibilité entre le principe actif et l'ensemble des excipients entrant dans la formulation des émulgels formulés, des analyses FTIR ont été effectuées sur le Diclofénac de Sodium (DCL), et les excipients: kappa carraghénane (KC), ses dérivés (KCRs, KC-OSAs), et l'hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC). Les spectres FTIR des mélanges physiques de chacun des excipients avec le principe actif obtenus seront comparés avec le spectre du principe actif seul, afin d'observer d'éventuels changements qui traduiraient des interactions entre les différents composants des mélanges. Le spectre FTIR du DCL est caractérisé par une bande à 3586,84 cm^{-1} correspondant aux étirements des amines secondaires NH, un pic à 3208,53 cm^{-1} correspondant à l'étirement symétrique de CH aromatique. Des pics ont été observés également à 1553.35 cm^{-1} et 1501 cm^{-1} correspondant à l'étirement -C=O du groupe carboxyle et de l'étirement C=C de cycle aromatique, respectivement. Un pic apparaissant également à 1280.71 cm^{-1} est attribué à l'étirement C–N d'une amine aromatique et enfin le pic à 836,26 cm^{-1} indiquant l'étirement C-Cl [229],[230].

Les dérivés du KC obtenus par éthérification (KCRs) présentent des pics correspondants aux groupements ($-CH_3$) à 2857,87 cm^{-1}, et aux groupements méthyle ($-CH_2$) à 2925,54 cm^{-1}[193]. De plus, l'élongation symétrique de la vibration autour de 1414,73 cm^{-1} correspond à la bande -CH des chaînes alkyle. Un pic apparait également à 1043,69 cm^{-1} attribué à la fonction éther (-C-O-C-) [194]. Tandis que les spectres des dérivés obtenus par estérification (KC-OSAs) montrent la présence d'un pic à 1712,28 cm^{-1}, correspondant à l'élongation de la fonction C=O [171],[195]. En plus l'élongation asymétrique de la vibration à 1545 cm^{-1}

correspond au groupement ($RCOO^-$)[171],[196]. D'autres pics apparaissant à 2857,87 cm^{-1} et 2925,54 cm^{-1} sont attribués respectivement à l'étirement de $-CH_3$ et $-CH_2-$ [193],[197], et la vibration symétrique autour de 1414,73 cm^{-1}, correspond à la bande -CH des chaînes alkyle [170].

Le spectre FTIR de l'HPMC présente une large bande observée dans la région à partir de 3337.24 cm^{-1} correspond aux vibrations d'étirement –OH de la méthylcellulose. De plus, les bandes d'absorption à 2933.33 cm^{-1} et 2892.8 cm^{-1} sont dues à la vibration d'étirement asymétrique de $-CH_2$ ou $-CH_3$. Le pics observé à 1555.91 cm^{-1} indique la liaison C-O du cycle pyranose à six carbones de l'HPMC, et le pic à 1449.24 cm^{-1} est dus aux vibrations de C–H, tandis que le pic le plus perceptible pour l'HPMC est la vibration d'étirement à 1053,15 cm^{-1} correspondant au groupement C–O–C [231],[232].

Les mêmes pics attribués aux fonctions caractéristiques du DCL ont été retrouvés dans les spectres des mélanges physiques du principe actif avec les excipients **(Figure IV.1)**. Ainsi, les résultats obtenus n'ont montré la présence d'aucune interaction physique ou chimique entre le DCL et les polymères utilisés.

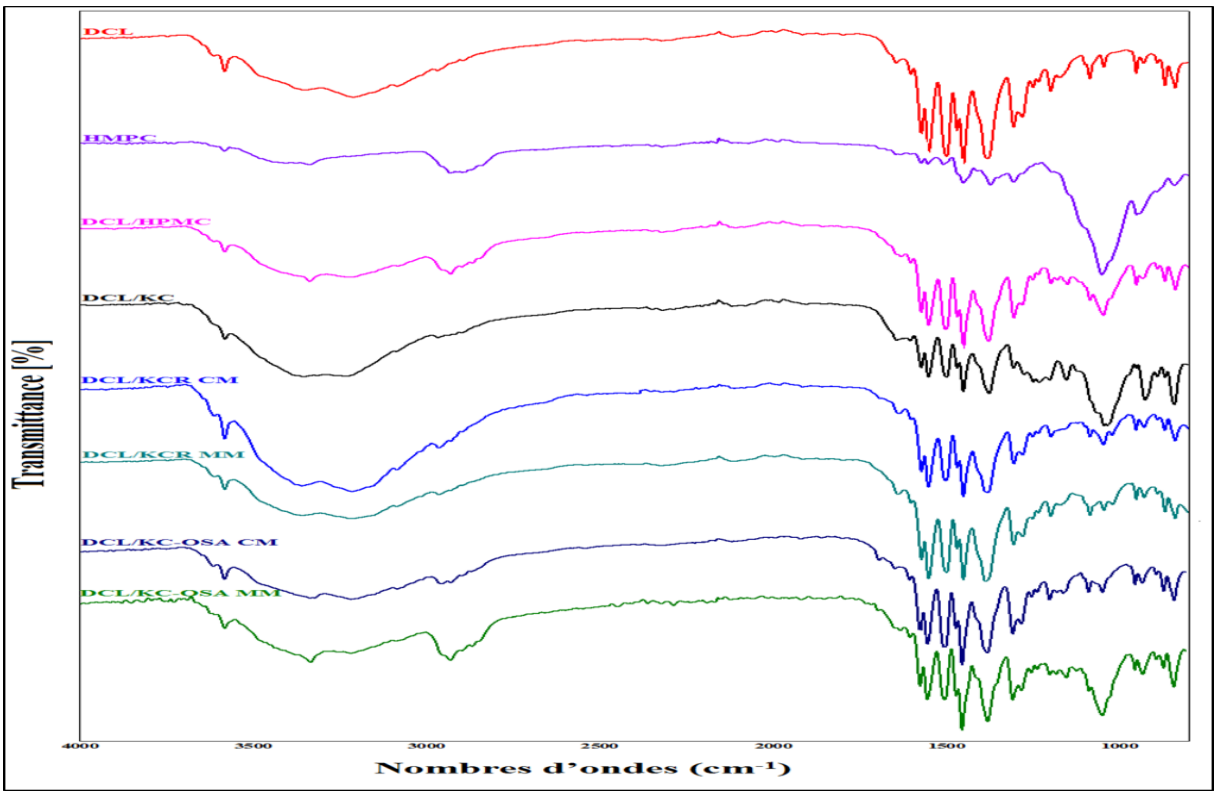


Figure IV.1. Spectres FTIR : Diclofénac de Sodium (DCL), HPMC, et des mélanges (DCL/ KC), (DCL/KCRMM), (DCL/KCR CM), (DCL/ KC-OSA MM), (DCL/ KC-OSA CM), (DCL/HPMC).

IV.3. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES ÉMULGELS A BASE DE DICLOFENAC DE SODIUM

IV.3.1. Aspect macroscopique

La figure IV.2 montre l'aspect des émulgels immédiatement après la formulation. Ce contrôle physique a montré que les émulgels obtenus sont de couleur jaune pâle et présentent un aspect crémeux homogène avec une consistance visqueuse gélifiée.

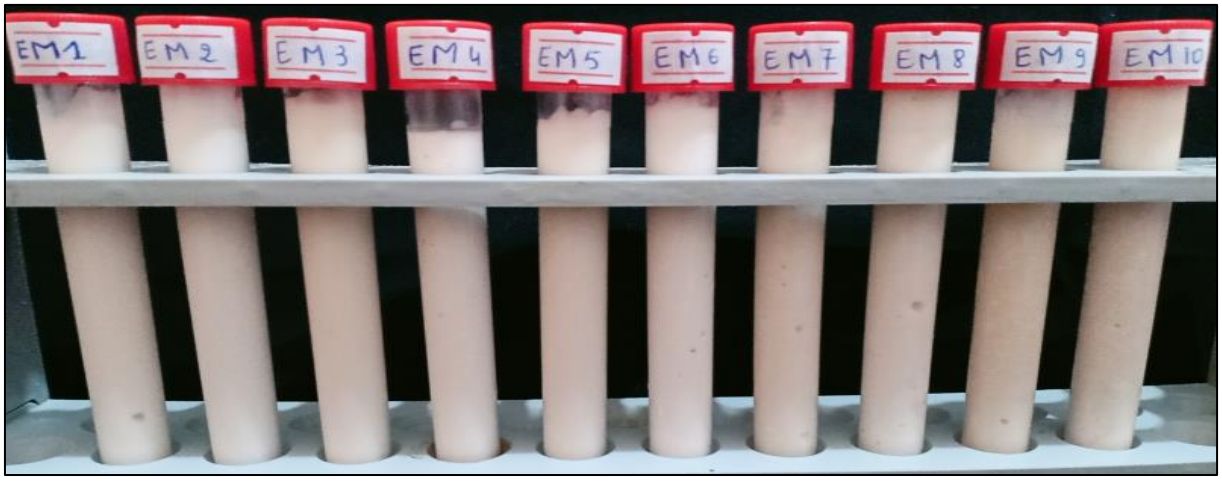


Figure IV.2. Aspect des émulgels à base de Diclofénac de sodium.

IV.3.2. pH

La mesure du pH est nécessaire, car il peut avoir des conséquences, soit sur l'aspect technologique, soit sur l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique, et ainsi avoir une influence sur la stabilité physique des formulations.

Les résultats obtenus lors de l'analyse de pH, indiquent que l'ensemble des formulations présentent un pH compris entre 5.45 et 5.72 **(Figure IV.3)**. Les préparations présentent donc un pH compatible avec celui de la peau [233]. Ainsi, les émulgels peuvent être préconisées pour des applications cutanées sans aucun risque d'irritation de la peau [234].

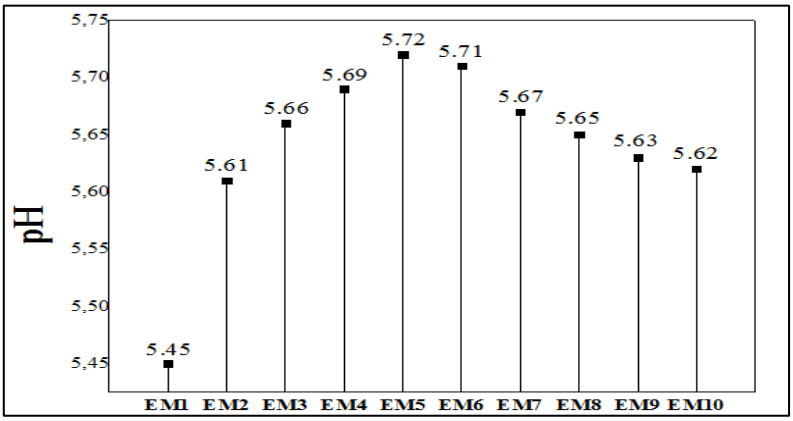


Figure.IV.3. pH des émulgels formulés à 25°C.

IV.3.3. Dosage du principe actif par UV-Visible

L'absorption optimale du principe actif DCL par spectrophotométrie UV dans le milieu PBS pH7.4 a montré un maximum d'absorption à 276nm **(Figure IV.4)**.

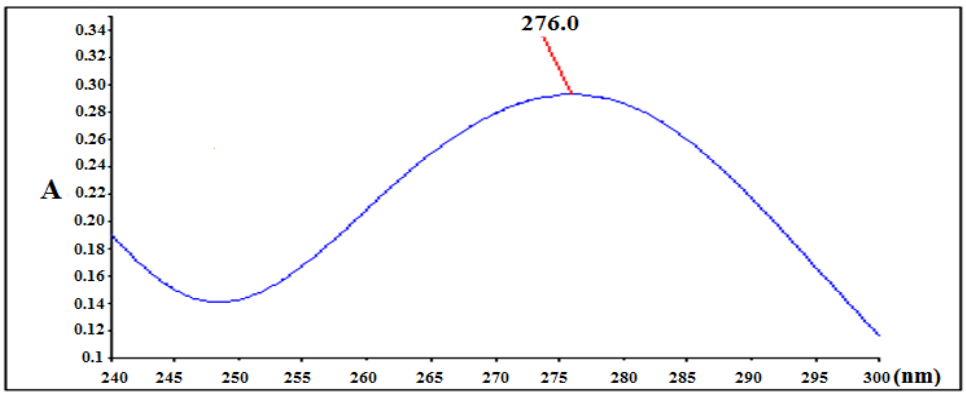


Figure IV.4. Spectre d'absorption UV de solution de DCL dans un milieu tampon pH7.4.

La courbe d'étalonnage établie pour le dosage du DCL dans le milieu PBS pH7.4 étudié donne des résultats satisfaisants avec un excellent coefficient de corrélation **(Figure IV.5).** Cette méthode d'analyse est appropriée pour le dosage du DCL en solution PBS pH7.4. C'est une méthode simple, précise, rapide et reproductible, elle convient très bien pour l'analyse d'un grand nombre d'échantillons.

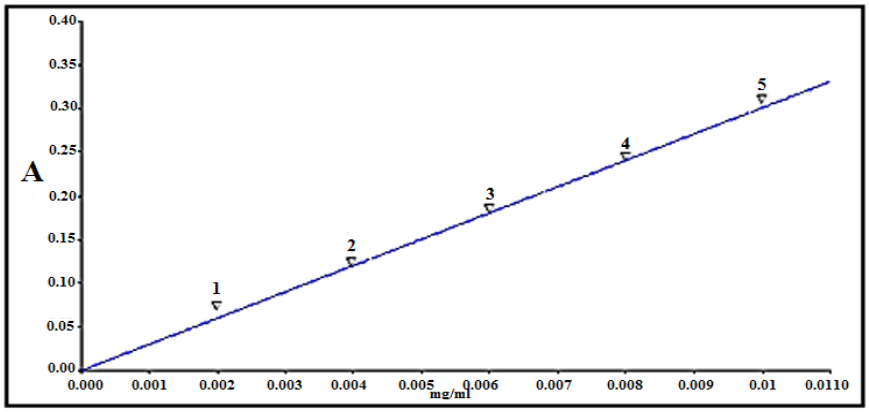


Figure IV.5. Courbe d'étalonnage de DCL dans l'UV

à λ =276 nm dans un milieu tampon pH7.4

L'équation de la droite d'étalonnage et le coefficient de corrélation obtenue sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau IV.1. Résultats de l'ajustement de courbe d'étalonnage du Diclofénac de sodium

Milieu de dissolution	Longueur d'onde optimale (nm)	Equation de la droite d'étalonnage	Coefficients de corrélation R^2
Milieu Tampon pH 7.4	276	y=0,1 x+0,010	0,998

Selon les résultats présentés dans le tableau IV.1, on remarque que le coefficient de corrélation est supérieur à 0,99 ce qui représente une bonne linéarité selon la loi de Beer-Lambert. Cela nous indique que la méthode de dosage du Diclofénac de sodium par spectrométrie UV/Visible est adéquate pour notre étude.

IV.3.3.1. Dosage du principe actif (DCL) dans les émulgels étudiés

Les résultats de l'analyse du titre en principe actif sont représentés dans le tableau IV.2. Selon les résultats obtenus, on constate que les émulgels sont conformes aux normes de la pharmacopée Européenne dont les limites sont de (90-110) % du déclaré [162].

Tableau IV.2. Titre en principe actif (DCL) des émulgels étudiés.

Formulations	**EM1**	**EM2**	**EM3**	**EM4**	**EM5**
Titre en DCL (%)	**97.98±0.85**	**98.97±0.95**	**99.74±0.78**	**99.65±0.82**	**98.52±1.25**
Formulations	**EM6**	**EM7**	**EM8**	**EM9**	**EM10**
Titre en DCL (%)	**99.02±0.53**	**98.52±1.02**	**98.47±1.52**	**97.41±1.43**	**98.98±1.01**

IV.3.4. Evaluation du sens de l'émulsion dans les émulgels

Les résultats de l'étude par conductimétrie sont représentés dans la figure IV.6. Les valeurs de conductivité élevées, montrent que l'ensemble des émulgels formulés sont à base d'émulsions directes, c'est-à-dire, de type huile dans l'eau (H/E). On remarque également que la conductivité augmente en fonction de la concentration en polymères.

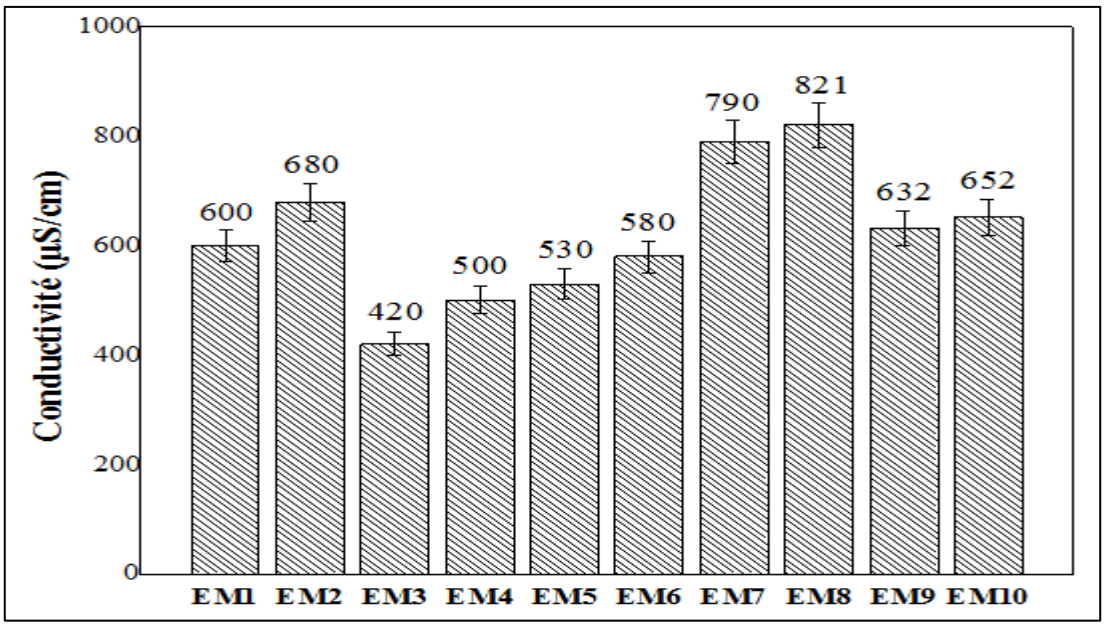


Figure IV.6. Résultats de la conductivité électrique des émulgels formulés.

IV.3.5. Test d'étalement

La figure IV.7 représente les résultats du test d'étalement exprimés en unité de surface, qui est un paramètre primordiale pour vérifier la capacité des émulgels à s'étaler sur la peau [182],[235],[179].

On constate que les émulgels étudiés s'étalent facilement, de façon homogène et régulière sans friction ou coupure lors du test d'étalement. Cette facilité constaté lors de l'utilisation des émulgels formulés est probablement due à la présence de la phase huileuse dans le système, qui joue le rôle de lubrifiant et facilite ainsi l'étalement.

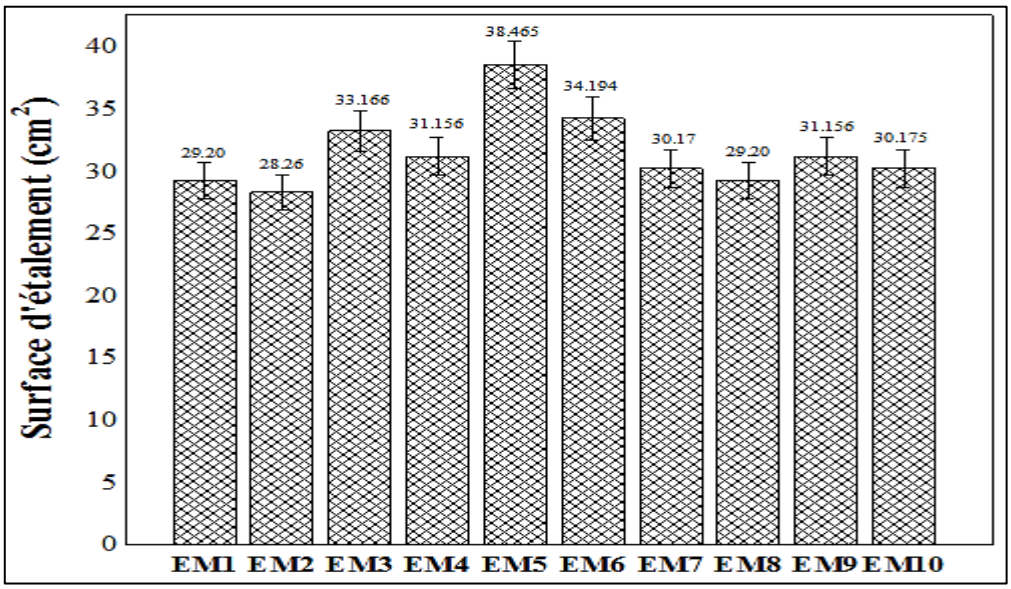


Figure IV.7. Test d'étalement des émulgels formulés.

IV.3.6. Stabilité à la centrifugation

Les résultats de test de stabilité à la centrifugation sont représentés dans le tableau IV.3, où il est clairement observé que tous les émulgels ne présentent aucune séparation de phase ou crémage après centrifugation à l'exception des formules EM1 et EM2. En effet, les émulgels à base de KC ont montré un léger crémage après 30 mn de centrifugation à 6000 tr/mn. En effet le KC n'a aucune activité de surface et donc ne possède aucune capacité à s'adsorber à l'interface eau-huile, en raison de sa structure, qui ne contient aucun groupement hydrophobe [236],[236].

Tableau IV.3. Evaluation de l'indice de crémage des émulgels soumis à différentes vitesses de centrifugation.

Vitesse de Centrifugation (tr/mn)	2000	4000	6000
EM1	(3.99±0.13)	(6.12±0.12)	(10.1±0.12)
EM2	(3.08±0.08)	(5.5±0.25)	(6±0.25)
EM3	PDC	PDC	PDC
EM4	PDC	PDC	PDC
EM5	PDC	PDC	PDC
EM6	PDC	PDC	PDC
EM7	PDC	PDC	PDC
EM8	PDC	PDC	PDC
EM9	PDC	PDC	PDC
EM10	PDC	PDC	PDC

PDC : Pas de crémage

IV.3.7. Analyse microscopique et distribution granulométrique des émulgels

La figure IV.8 représente les images microscopiques des émulgels de DCL à base de KC (EM1 et EM2), et la distribution de taille des globules d'huile. Les résultats de l'analyse montrent que la distribution de tailles est hétérogène avec un changement de taille de globules observé, avec apparition d'une coalescence après une durée de 6 mois de stockage à température ambiante. Toutefois, ce phénomène de coalescence observé n'a pas conduit à une séparation de phases cela peut être dû au fait que le réseau constituant les émulgels à base de KC forment un gel solide, qui empêche les gouttelettes d'huiles de migrer vers l'extérieur. Ces résultats sont comparables aux résultats de microscopie des émulsions simple H/E à base de KC natif (Voir section **III.2.11.4.).** Cela peut être expliqué par le fait que le KC n'a aucune activité de surface et donc ne possède aucune capacité à s'adsorber à l'interface eau-huile [236]. Après six mois de stockage, Le diamètre moyen des globules de ces émulgels (EM1 et EM2) varie de (45,25 ± 0,14) µm à (90,16 ± 0,15) µm pour EM1 et de (38,14 ± 0,22) µm à (64,23 ± 0,17) µm pour EM2, respectivement **(Figure IV.10)**.

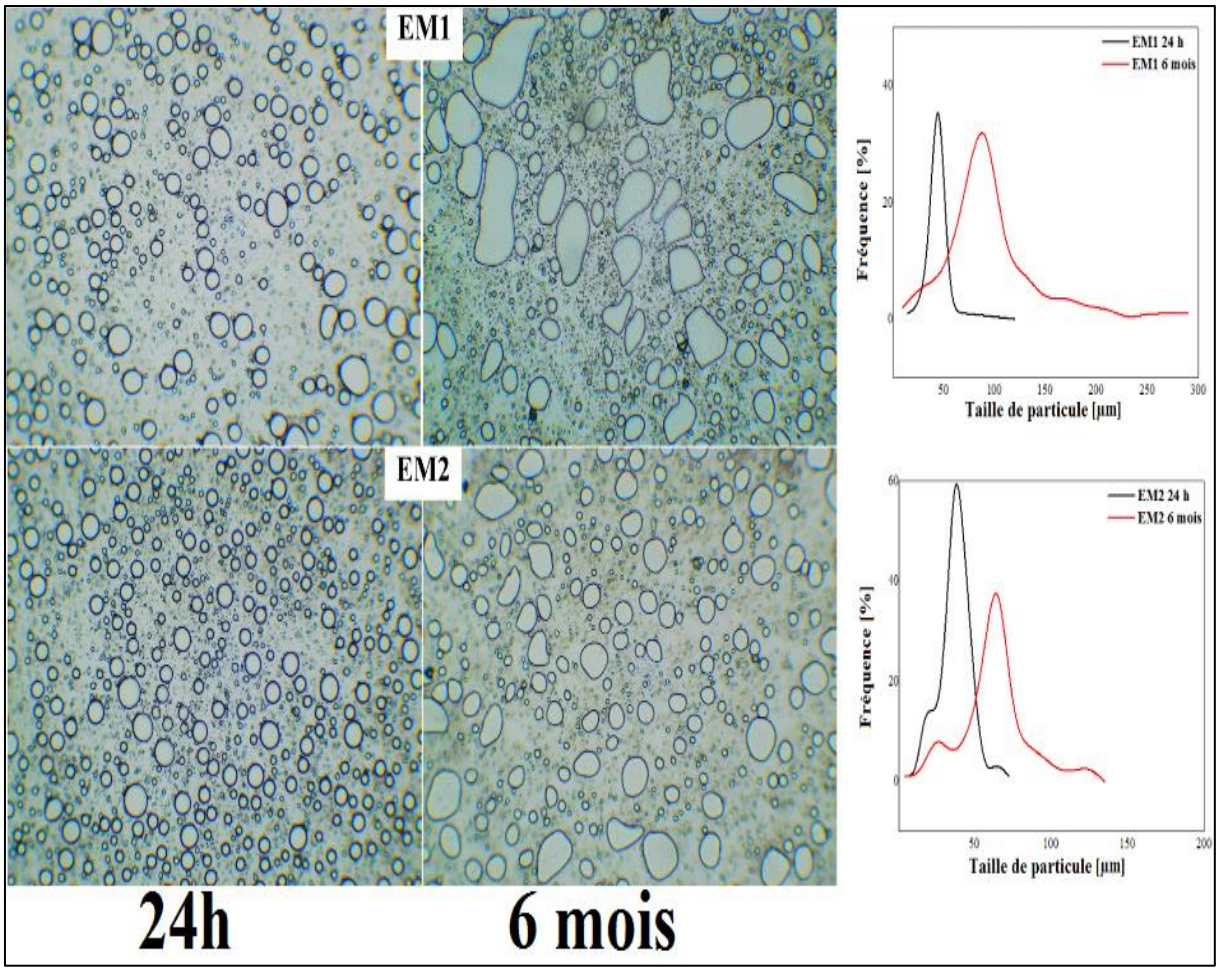


Figure IV.8. Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulgels formulés (EM1et EM2) à base de KC à 0.75% et à 1% respectivement.

Les résultats de l'analyse microscopique des émulgels à base de KCRs **(Figure IV.9)** après 24 heures montrent que la distribution de tailles est homogène. Après 6 mois, les émulgels ont conservés leur aspect homogène, et n'ont montré aucune forme d'instabilité durant toute la période du stockage. Cela dit, une légère polydispersée de la population a été observée **(Figure IV.10)**. En effet, après 6 mois de stockage, les émulgels à base de KCR MM indiquent des diamètres moyens des globules variant de (22. 42 ± 0.15 µm) à (27,13 ± 0,1) µm pour EM3 et de (19,04 ± 0,16) µm à (25,64 ± 0,08) µm pour EM4, respectivement. Tandis que les émulgels à base de KCR CM présentent des valeurs de taille de globules un peu plus grosse que celle de KCR MM, après 6 mois de stockage. En effet, l'analyse de la distribution granulométrique des émulgels à base de KCR CM indique des diamètres moyens des globules variant de 24. 58 ± 0.09 µm à 35,18 ± 0,12 µm pour EM5 et de 23,02 ± 0,13 µm à 30,08 ± 0,06 µm pour EM6.

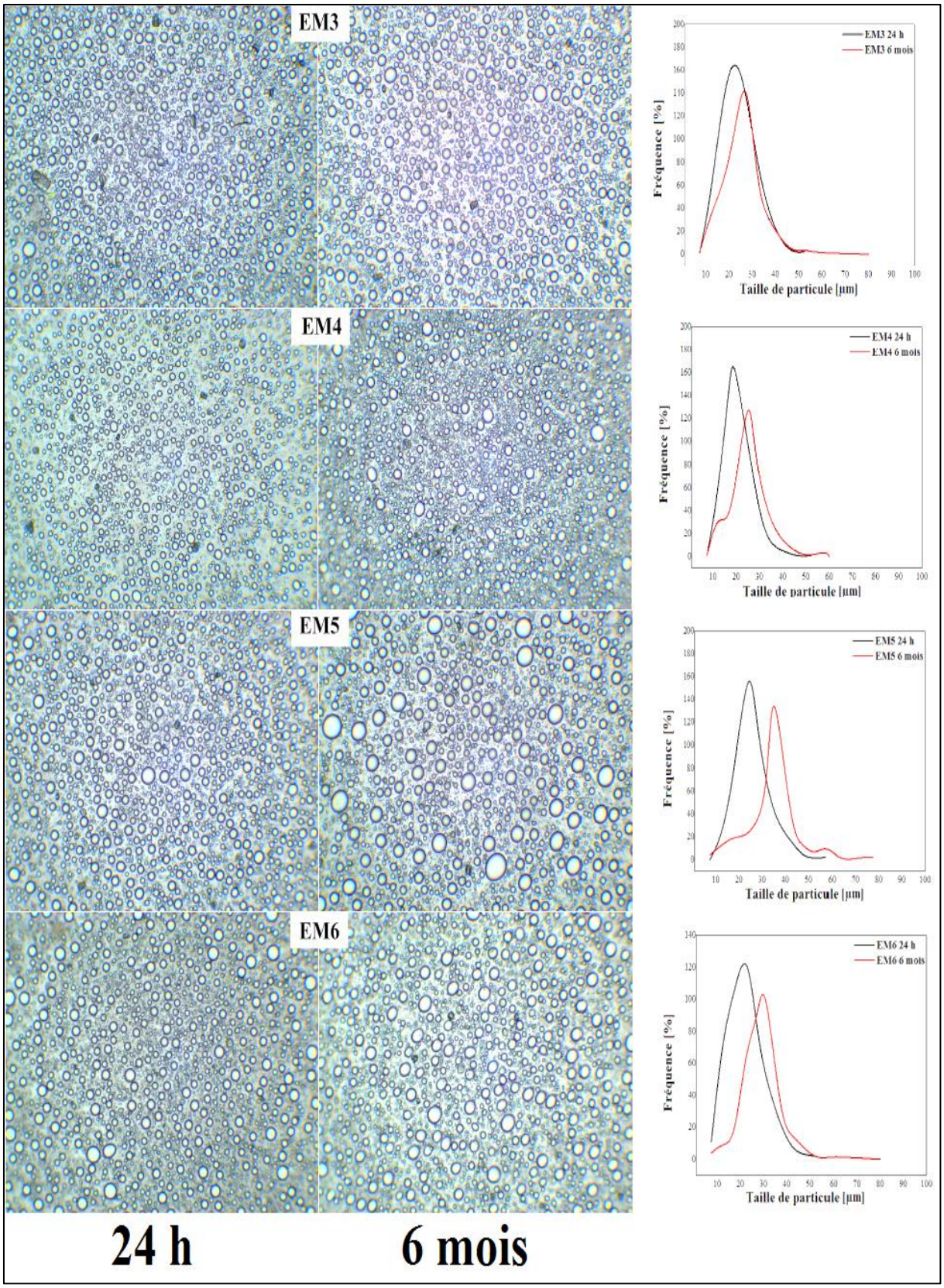


Figure IV.9. Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulgels formulés (EM3, EM4) et (EM5, EM6) à base de KCR MM et KCR CM respectivement, avec (EM3, EM5) à 0.75% et (EM4, EM6) à 1%.

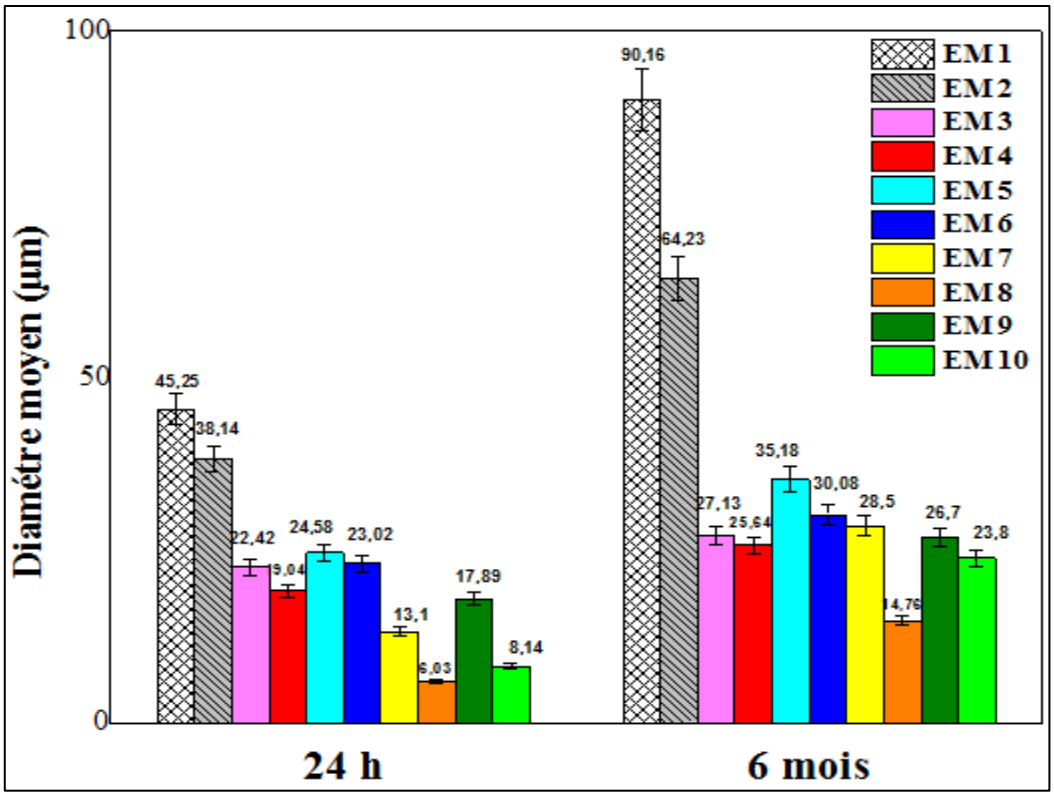


Figure IV.10. Variation de la taille des particules moyenne des émulgels à base de KC et ses dérivés en fonction du temps.

L'analyse microscopique des émulgels à base de KC-OSAs **(Figure IV.11)** a montré que les globules d'huile au sein des émulgels présentent une structure sphérique régulière et dispersée de manière homogène. Il est aussi observé que plus la concentration et le degré de substitution du polymère augmentent, plus la finesse des globules dispersés dans l'émulgel est améliorée, et le diamètre moyen est réduit **(Figure IV.10)**. En effet, l'analyse de la distribution granulométrique indique des diamètres moyens des globules variant de (13,1 ± 0,06) µm à (28,5 ± 0,1) µm pour EM7 et de (06,03 ± 0,12) µm à (14,76 ± 0,1) µm pour EM8, après six mois de stockage. Cependant, les émulgels EM9 et EM10 présentent des diamètres moyens variant de (17,98 ± 0,12) µm à (26,7 ± 0,13) µm et de (8,14 ± 0,09) µm à (23,8 ± 0,12) µm respectivement, après six mois de stockage.

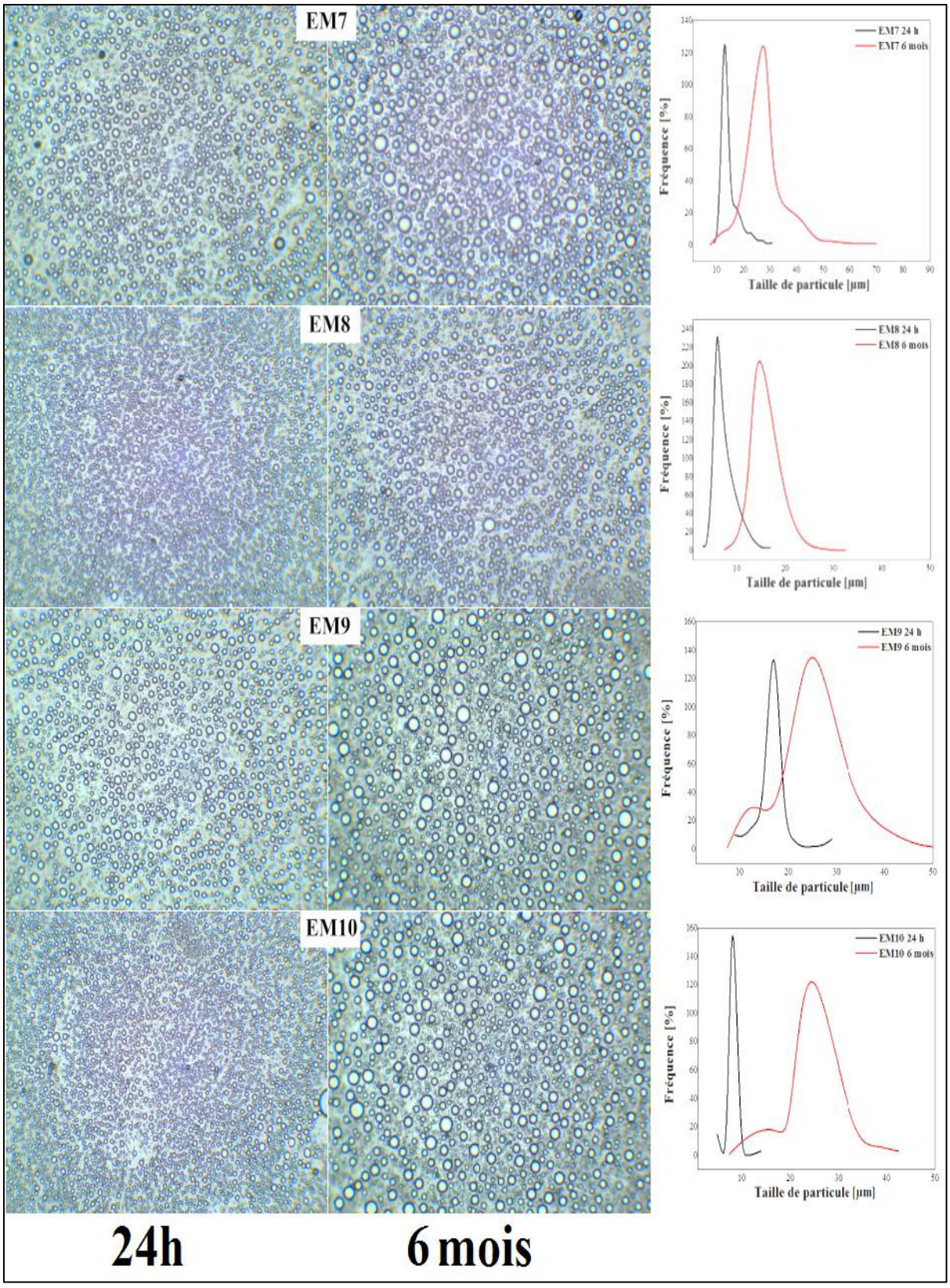


Figure IV.11. Images microscopiques (grossissement x10) et distribution de taille des globules des émulgels formulées (EM7, EM8) et (EM9, EM10) à base de KC-OSA MM et KC-OSA CM respectivement, avec (EM7, EM9) à 0.75% et (EM8, EM10) à 1%.

IV.3.8. Stabilité à long terme

Les émulgels ont été conservés à température ambiante pendant six mois et des contrôles de leur aspect, et de la microscopie, ont été entrepris. Les contrôles visuels ainsi que de la microscopie après la durée de conservation, n'ont montré aucune modification significative de ces paramètres. Le contrôle visuel n'a révélé aucun changement de couleur, ni aucune forme d'instabilité tel qu'un crémage ou une séparation de phase. Les émulgels ont conservé leur aspect crémeux et homogène comme indique la figure IV.12.

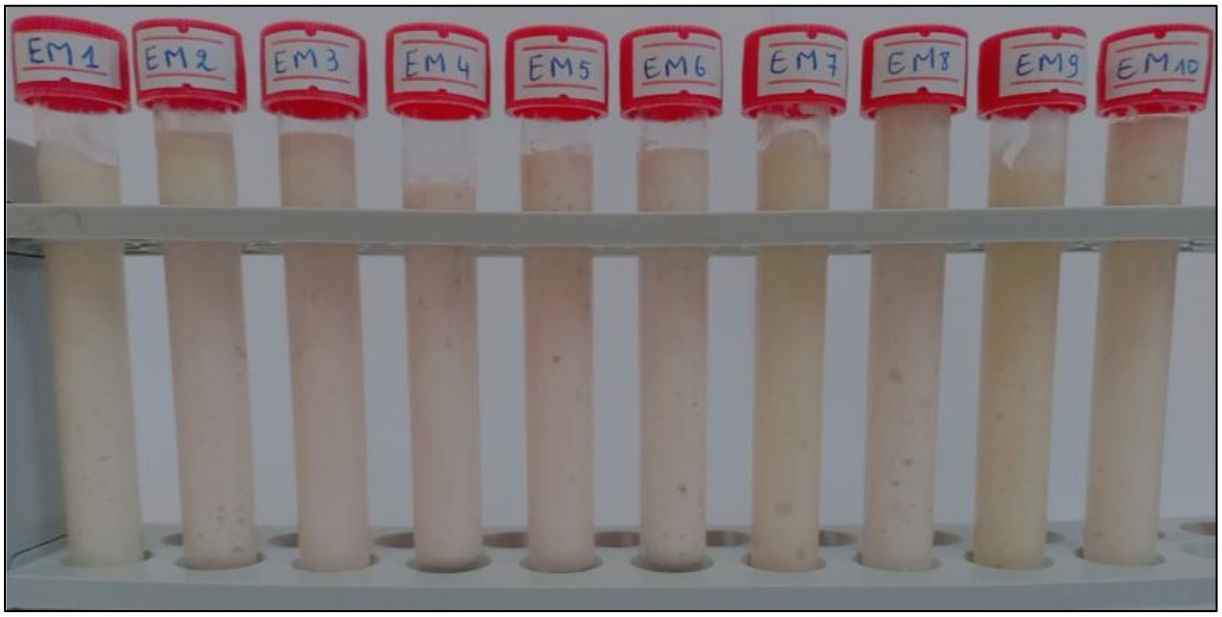


Figure IV.12. Aspect des émulgels à base de Diclofénac de sodium après six mois.

IV.3.9. Analyse rhéologique

L'analyse du comportement rhéologique des émulgels à base de Diclofénac de sodium a été menée à l'aide d'un rhéomètre avec une géométrie cône-plan CP60, à 25 °C, afin d'évaluer les courbes d'écoulement et les propriétés viscoélastiques linéaires et dynamiques.

IV.3.9.1. Courbes d'écoulement

Les propriétés d'écoulement des émulgels formulés ont été étudiées en effectuant des mesures de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement. Les résultats sont représentés dans les figures IV.13 et IV.14. Il a été clairement observé que l'ensemble des émulgels étudiés présentent des propriétés non newtoniennes et un comportement rhéofluidifiant, du fait que la viscosité diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement [190],[237],[238],[239]. Par ailleurs, il est clairement observé que la viscosité des émulgels augmente proportionnellement avec la concentration en polymères [240].

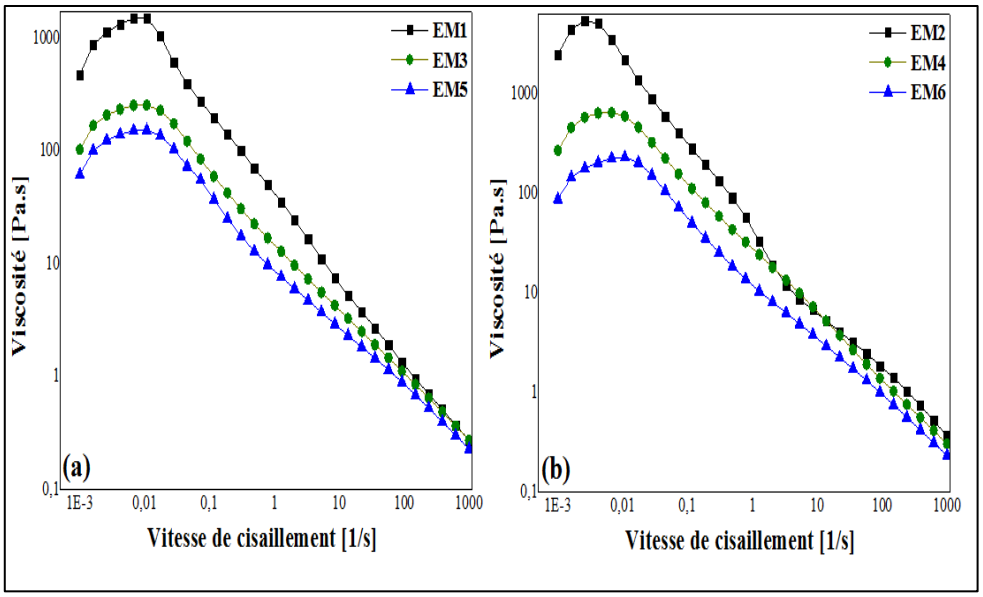


Figure IV.13. Courbes d'écoulement des émulgels formulés à base de KC et KCRs (EM1 – EM6) à 0.75% (a) et 1% (b).

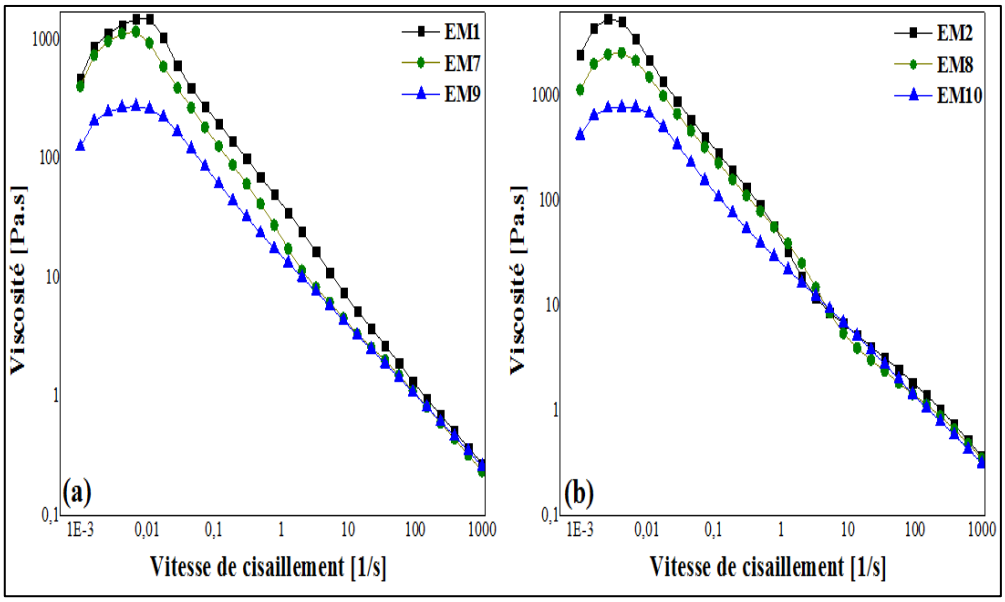


Figure IV.14. Courbes d'écoulement des émulgels formulés à base de KC et KC-OSAs à 0.75% (a) et 1% (b).

IV.3.9.2. Propriétés viscoélastiques linéaires

L'ensemble des résultats obtenus **(Figures. IV.15** et **IV.16)** indiquent que le module de stockage G' est toujours prédominant et supérieur au module de perte G'' dans la région viscoélastique linéaire (RVL), pour tous les émulgels étudiés (EM1-EM10) [241] [219]. De plus, il a été observé que le caractère viscoélastique augmente lorsque la concentration en polymère augmente [242].

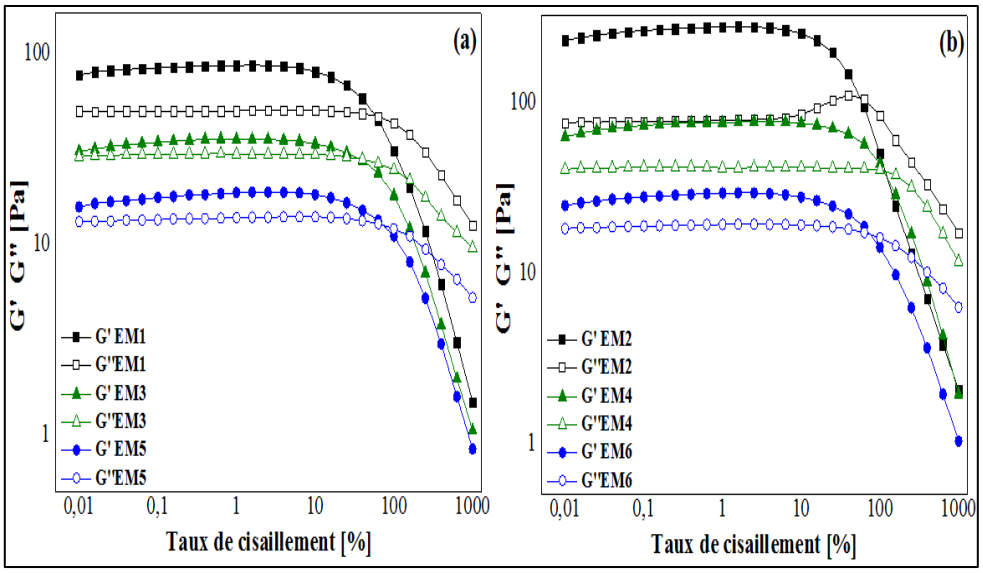


Figure IV.15. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des émulgels à base de KC et KCRs à 0.75% (a) et 1% (b).

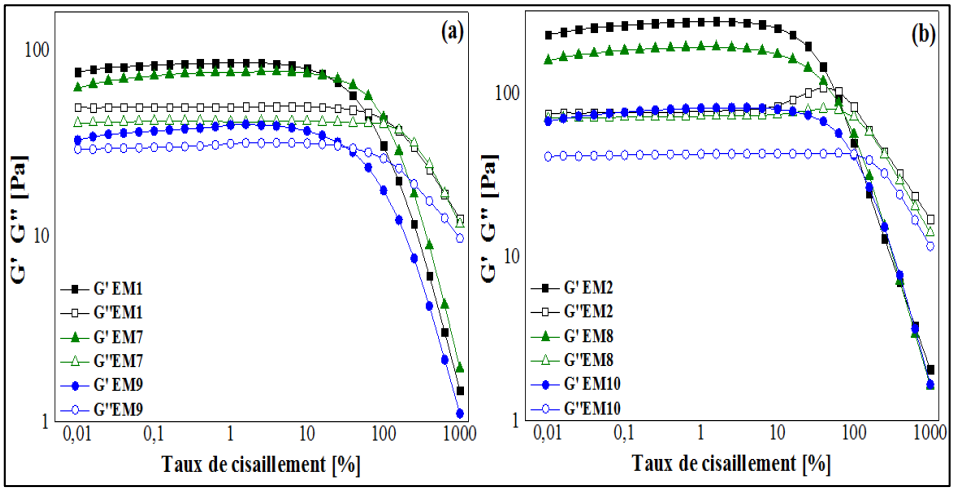


Figure IV.16. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des émulgels à base de KC et KC-OSAs à 0.75% (a) et 1% (b).

IV.3.9.3. Propriétés viscoélastiques dynamiques

Des tests de viscoélasticité en régime dynamique ont été effectués dans la région linéaire à déformation constante de 1%. Les résultats sont représentés dans les figures IV.17 et IV18. Le comportement élastique est dominant pour tous les émulgels. On remarque que les valeurs de G' et G'' augmentent en fonction de la concentration, où ils présentent des valeurs maximales à la concentration de 1 % (p/v) [243].

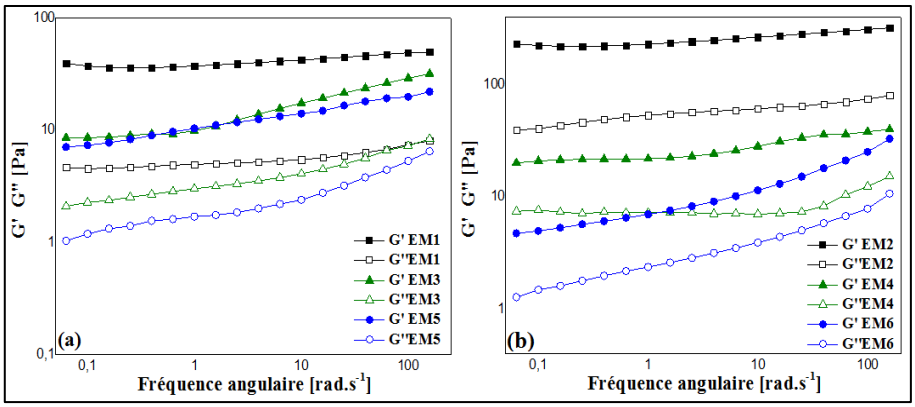


Figure IV.17. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') de la déformation des émulgels à base de KC et KCRs à 0.75% (a) et 1% (b) 1Hz et 25°C.

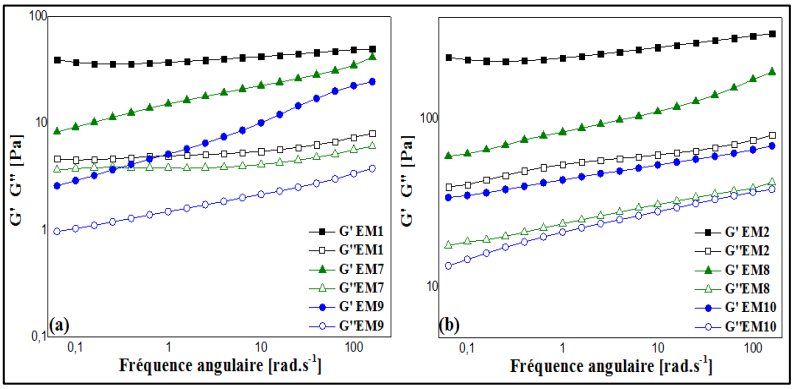


Figure IV.18. Variation des modules de stockage (G') et de perte (G'') de la déformation des émulgels à base de KC et KC-OSAs à 0.75% (a) et 1% (b) 1Hz et 25°C.

IV.3.10. Test de libération in vitro

Au vu des profils de dissolution de la figure IV.19, on remarque que les taux de principe actif cumulés libérés augmentent en fonction du temps selon une fonction non linéaire [244],[245]. Lorsque le gel atteint son taux de gonflement maximal, on observe un ralentissement de libération du principe actif au temps de saturation et donc la vitesse de libération tend à devenir constante [246].

On constate que les taux de libération du DCL à partir des émulgels formulés diminuent avec l'augmentation de la concentration en polymère. Cependant, on remarque que les taux de libération du DCL à partir des émulgels à base de KCRs, sont plus élevés en les comparants aux taux de DCL libérés par les émulgels à base de KC-OSAs. On constate une libération plus lente dans le temps à partir des émulgels à base KC-OSAs, cela indique des profils de libération prolongée du DCL [189], [247].

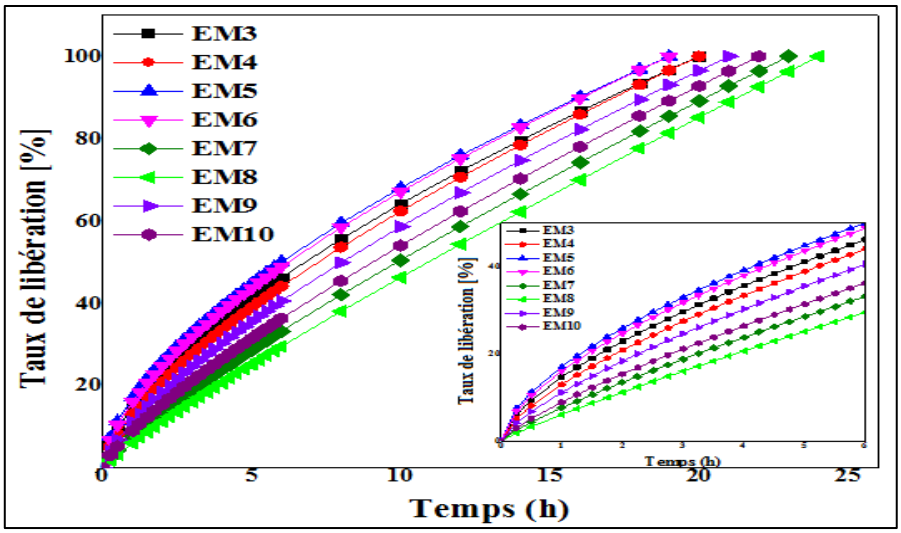


Figure IV.19. Profils de libération du Diclofénac de sodium à partir des émulgels à base de KCRs (EM3-EM6) et KC-OSAs (EM7-EM10).

Les valeurs des temps de libération du DCL (t10, t50 et t90) du principe actif à partir des émulgels **(Figure IV.20)** confirment la libération prolongée du principe actif DCL à partir de l'émulgels à base de KC-OSAs, en comparant ces temps de libération aux valeurs obtenues avec les émulgels à base de KCRs. Il a été vérifié également que les temps de libération du DCL à partir des émulgels formulés augmentent avec l'augmentation de la concentration en polymère [248].

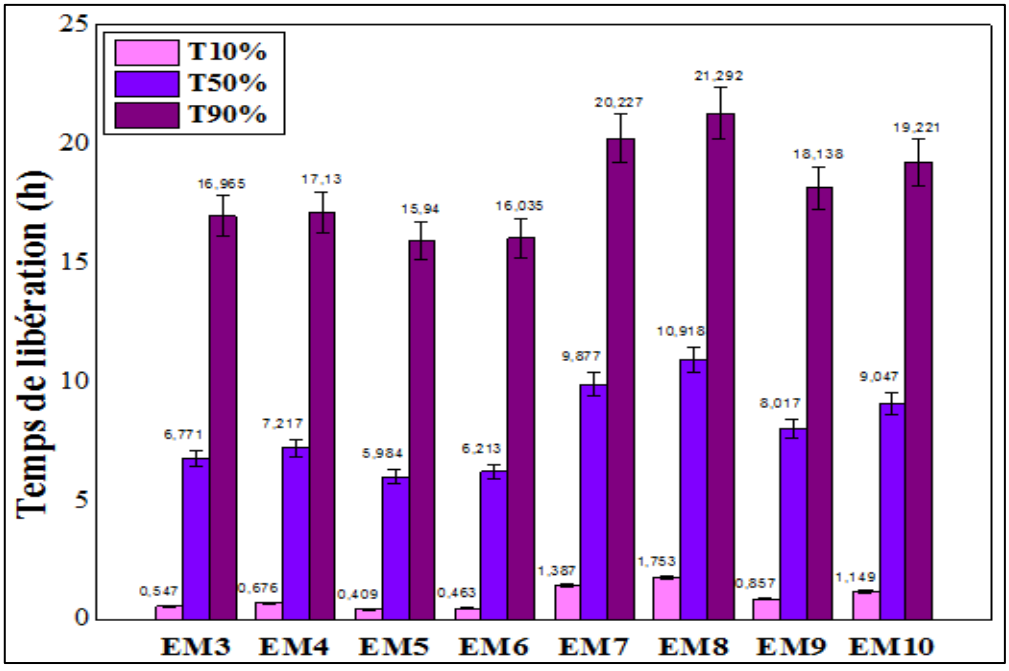


Figure IV.20. Taux de libération de 10 %, 50 % et 90 % du principe actif (Diclofénac de sodium) à partir des émulgels.

Le mécanisme de la cinétique de libération du principe actif est analysé selon l'équation d'ordre zéro (Eq.(IV.1)) ; Higuchi (Eq.(IV.2)) et Korsmeyer-Peppas (Eq.(IV.3)).

$$\mathbf{Q_t/Q_\infty = k_0 . t} \quad \textbf{(IV.1)}$$

$$\mathbf{Q_t/Q_\infty = k_H . t^{1/2}} \quad \textbf{(IV.2)}$$

$$\mathbf{Q_t/Q_\infty = k . t^n} \quad \textbf{(IV.3)}$$

Où Q_t/Q_∞ est la fraction du médicament libérée ; k_0, k_H, et k sont les constantes de la cinétique de libération ; n est l'exposant qui dépend du mécanisme de libération et de gonflement. La valeur de $n=0.5$ indique une libération fickienne, si $0.5< n < 1.0$ indique une libération anormale non fickienne (présence des deux phénomènes diffusion/relaxation), et quand la valeur de $n=1.0$ indique le transport de case II (relaxation, érosion) de libération du principe actif.

Les résultats de l'ajustement des profils de dissolution des émulgels aux modèles d'ordre zéro, d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas, sont résumés dans le Tableau IV.4.

Tableau IV.4. Ajustement des profils de dissolution aux modèles étudiés.

Modèles et Paramètres	Formulations							
	EM3	**EM4**	**EM5**	**EM6**	**EM7**	**EM8**	**EM9**	**EM10**
Ordre zéro								
k_0 (h^{-1})	5.756	5.872	6.343	6.416	4.339	4.635	4.937	5.334
R^2	0.882	0.834	0.791	0.755	0.992	0.978	0.962	0.924
Higuchi								
k_h ($h^{-1/2}$)	19.494	20.066	20.781	21.117	16.268	17.031	17.683	18.651
R^2	0.945	0.962	0.971	0.978	0.863	0.885	0.902	0.927
Korsmeyer-Peppas								
k (h^n)	14,700	13,040	17,090	16,110	7,645	6,101	11,170	8,972
n	0,640	0,680	0,600	0,620	0,820	0,880	0,720	0,780
R^2	0,998	0,998	0,998	0,998	0,999	0,999	0,999	0,999

Dans le cas présent, le modèle de Korsmeyer-Peppas permet d'avoir des valeurs de R^2 plus proche de l'unité (0.998-0.999), pour tous les émulgels étudiés. Quant au modèle d'Huguchi et le modèle d'ordre zéro, les valeurs du coefficient de détermination sont inférieur à 0.998. Ces résultats indiquent que le modèle de Korsmeyer-Peppas est plus approprié pour interpréter au mieux la cinétique de libération du DCL à partir des émulgels étudiés.

A cet effet, l'application du modèle Korsmeyer -Peppas sur l'ensemble des résultats de dissolution des gels a donné des valeurs de n comprises entre 0.60 et 0.88 (**Tableau IV.4**). Les valeurs de la constante *k* (Constante du modèle de Korsmeyer–Peppas) est plus importante pour les émulgels gels à base des dérivés KCRs, (EM3-EM6), alors qu'elle est plus faible pour les émulgels contenant les dérivés KC-OSAs (EM7-EM10). En comparant les valeurs de n des émulgels à base à base des différents dérivés de KC étudiés, on remarque que les valeurs de n augmentent avec l'augmentation du degré de substitution des dérivés et de la concentration des dérivés dans les émulgels, contrairement aux constantes *k*, qui diminuent, ce qui démontre que la cinétique de libération du DCL est plus prolongée à partir des émulgels (EM7 et EM8) à base des dérivés KC-OSA MM [249],[246],[250].

IV.3.11. Test de diffusion ex-vivo

D'après les courbes de diffusion, on remarque que la diffusion du DCL augmente avec le temps jusqu'à atteindre des valeurs maximales.

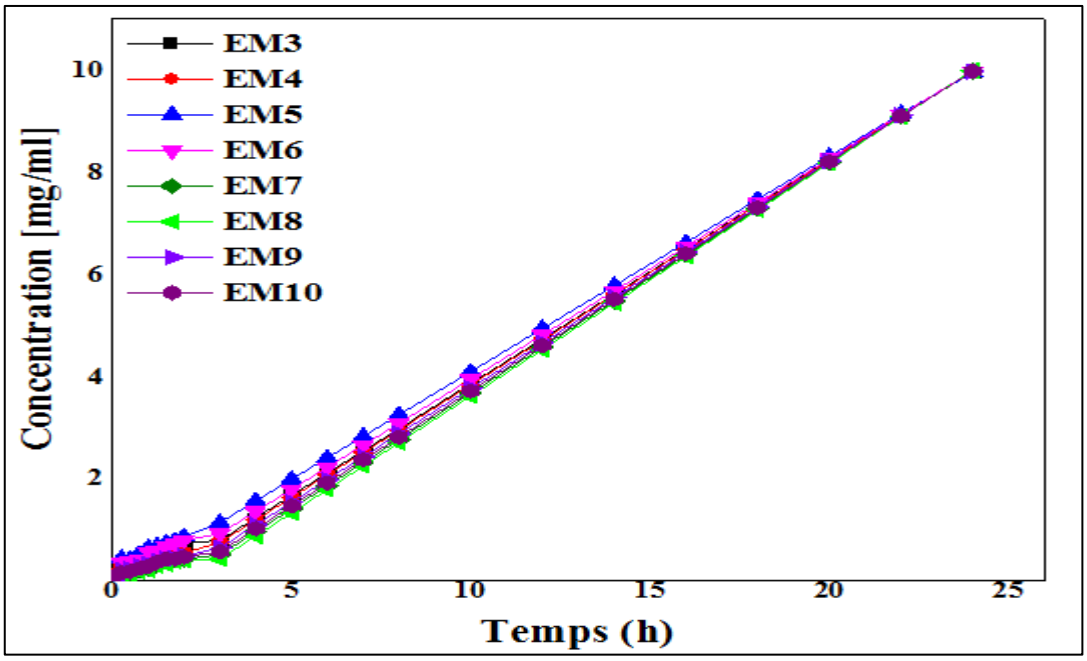


Figure IV.21. Profils de diffusion du DCL à partir des émulgels.

A partir des résultats expérimentaux obtenus lors des tests de diffusion, on calcule le coefficient de diffusion (*D*), le coefficient de perméabilité (*Kp*) et le temps de latence (tr).

- ***Le coefficient de diffusion (D):*** Le coefficient de diffusion (*D*) exprime la mobilité d'une substance à travers la couche de la membrane. Il est calculé à partir de l'équation (IV.4).

$$\boldsymbol{D = \frac{Q^2 \pi}{4 C_0^2 t}} \qquad \textbf{(IV.4)}$$

Où *D* est le coefficient de diffusion [cm²/h], Q est la quantité de médicament libérée par unité de surface [mg/cm²], C_0 est la concentration initiale du PA dans l'émulgel [mg/cm²], et t est le temps écoulé depuis le début de l'expérience de libération [h].

- ***Le coefficient de perméabilité (Kp) :*** Le coefficient de perméabilité (*Kp*) exprime une vitesse de perméation. Il permet d'établir le bilan d'une expérience d'absorption. Sa valeur est influencée par des paramètres de formulation et des caractéristiques de la membrane :

$$\boldsymbol{Kp = \frac{Jss}{C_0}} \qquad \textbf{(IV.5)}$$

Où Kp est le coefficient de perméabilité [cm/h], C_0 est la concentration initiale du PA dans la forme galénique étudiées [mg/cm²], J_{ss} est le flux à l'équilibre [mg/cm².h].

- ***Le temps de latence ou le temps de rétention du perméat (t_r) :*** La partie linéaire de la de la droite de la cinétique d'absorption peut être extrapolée à l'axe de temps. Cela permet de déterminer le temps de rétention ou « lag-time », lequel selon la deuxième loi de diffusion de Fick peut être mathématiquement exprimé par :

$$\mathbf{tr} = \boldsymbol{\frac{h^2}{6D}} \qquad \textbf{(IV.6)}$$

Où tr est le temps de latence [h], *D est* le coefficient de diffusion [cm²/h] et, *h* l'épaisseur de la membrane [cm].

Les résultats de l'étude de la diffusion du DCL dans le milieu PBS (pH 7.4), à partir des émulgels étudiés montrent des taux de diffusion qui augmentent avec le temps dans les différentes formules étudiées s'étalant sur 24 heures (Figure IV.21).

Les résultats expérimentaux indiquent que plus le degré de substitution et la concentration en polymères augmentent plus que le coefficient de perméabilité augmente. En effet, la diffusion du DCL à partir des émulgels à base de KC-OSAs est supérieure à celles de KCRs

[251],[252]. Cela peut être dû aux propriétés physico-chimiques du véhicule dans lequel le principe actif est dissous et la nature hydrophobe du principe actif (DCL) [253],[254]. De plus, la taille des gouttelettes huileuses peut avoir un effet marqué sur la diffusion du principe actif à travers la membrane [255], [256] [257]. De plus, il a été démontré que les formulation ayant une plus petite taille des particules se caractérise par libération d'une plus grande quantité du principe actif [258],[259].

Ceci est confirmé par les résultats obtenus, où l'émulgels EM7, stabilisés par le dérivé KC-OSA MM, présentent les paramètres de diffusion les plus importants, correspondant à un flux J_{SS} = (0.456 ±0.012) mg/cm^2.h et coefficient de perméabilité *Kp* = (0.06386 ±0.0021) cm/h. A l'inverse, le coefficient de diffusion (*D*) et le temps de latence augmentent avec l'augmentation de la concentration et du degré de substitution des polymères, indiquant une libération prolongée des émulgels, sans aucun effet de libération précoce du principe actif, à partir des émulgels. Finalement, il est claire que les émulgels étudiés présente d'excellente propriétés de diffusion, permettant une mise à disposition prolongée du PA au site d'action, sans aucune libération précoce et permettent une bonne perméabilité et une diffusion importante du PA au cite d'action.

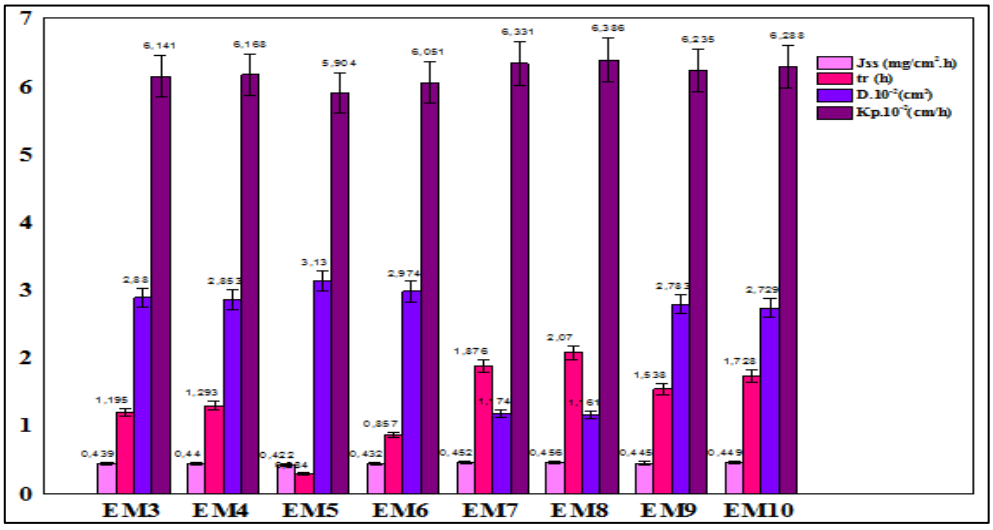


Figure IV.22. Résultats des paramètres de diffusion des émulgels.

IV.3.12. Contrôle de la qualité microbiologique

La présence d'un éventuel microorganisme se matérialise par l'apparition, après incubation à une température et pendant une durée déterminées, d'un trouble du milieu de culture lié à sa multiplication, confirmé par comparaison avec un témoin négatif [162]. Après la période

d'incubation, la lecture des résultats de dénombrement des germes aérobies viables totaux, des levures et des moisissures a été effectuée par un comptage des colonies, alors que la lecture des résultats de la recherche des germes spécifiques a été effectuée par l'observation à l'œil nu puis confirmée par des tests d'identification.

Au vu des résultats des ensemencements et après la lecture de boites incubées, on constate que les émulgels étudiés sont conformes aux exigences établis par la pharmacopée européenne[162]. Les résultats sont regroupés dans le tableau IV.5.

Tableau IV.5. Résultats des tests microbiologiques

Présences des microorganismes (UFC.g-1)	EM1	EM2	EM3	EM4	EM5	EM6	EM7	EM8	EM9	EM10	Normes [162]
DGAT	**1**	**2**	**5**	**4**	**4**	**13**	**9**	**9**	**13**	**11**	**≤ 100**
DMLT	**2**	**1**	**1**	**0**	**0**	**1**	**3**	**4**	**2**	**3**	**≤ 10**
Pseudomonas Aeruginosa	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Abs**	**Absence**

Les résultats du dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) dans les émulgels montrent que la charge microbiologique des échantillons **(Figure IV.23)** est inférieure à la limite maximale (≤100 UFC/g), selon les normes de la pharmacopée européenne [162].

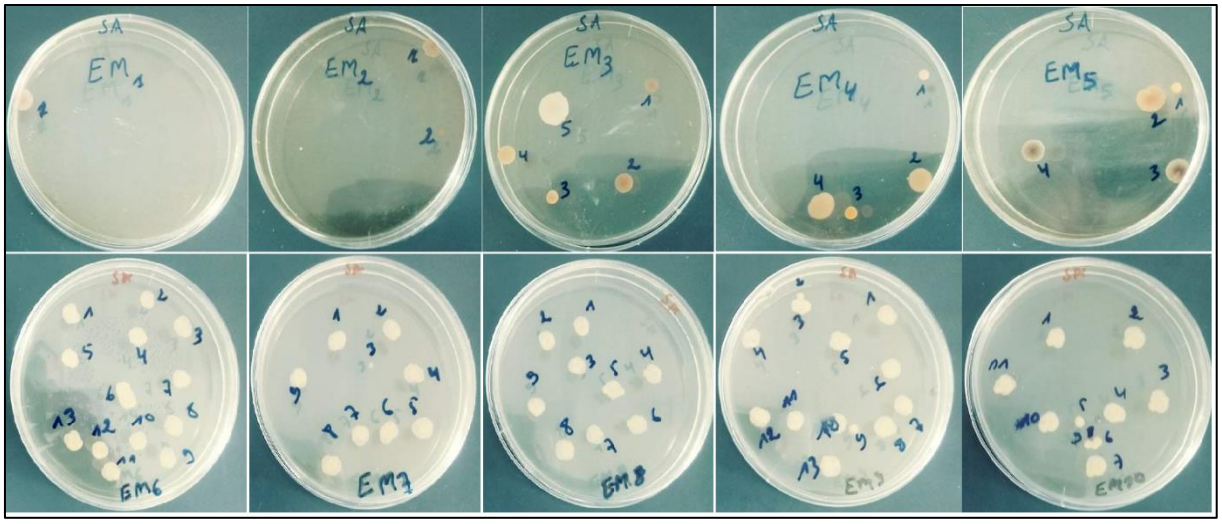


Figure IV.23. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) dans les émulgels.

Les résultats du dénombrement de ces microorganismes (DMLT) indiquent que les émulgels avaient des résultats acceptables et conformes aux normes de la pharmacopée européenne **(Figure IV.24)** dont le maximum autorisé est de 10 UFC/g [162].

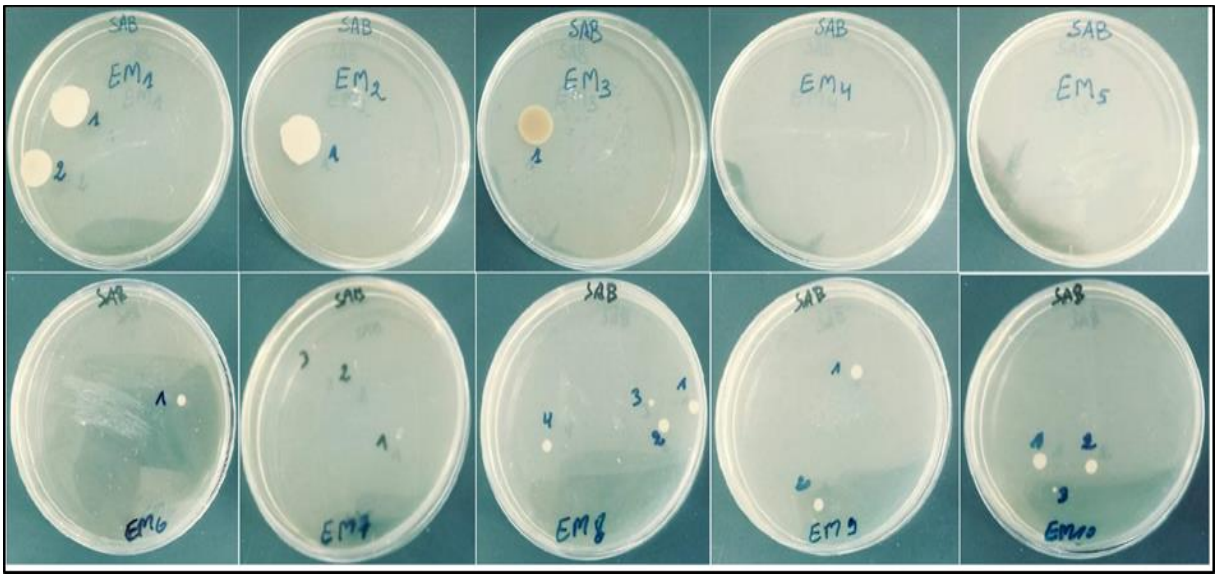


Figure IV.24. Dénombrement des moisissures et levures (DMLT) dans les émulgels.

La figure IV.25 représente les résultats du repiquage sur un milieu cétrimide agar base (CAB) incubé à 30 – 35 °C pendant 72 h pour les émulgels. Les résultats obtenus montrent l'absence totale de *Pseudomonas Aeruginosa* dans tous les émulgels, ce qui est conforme à la pharmacopée européenne[162].

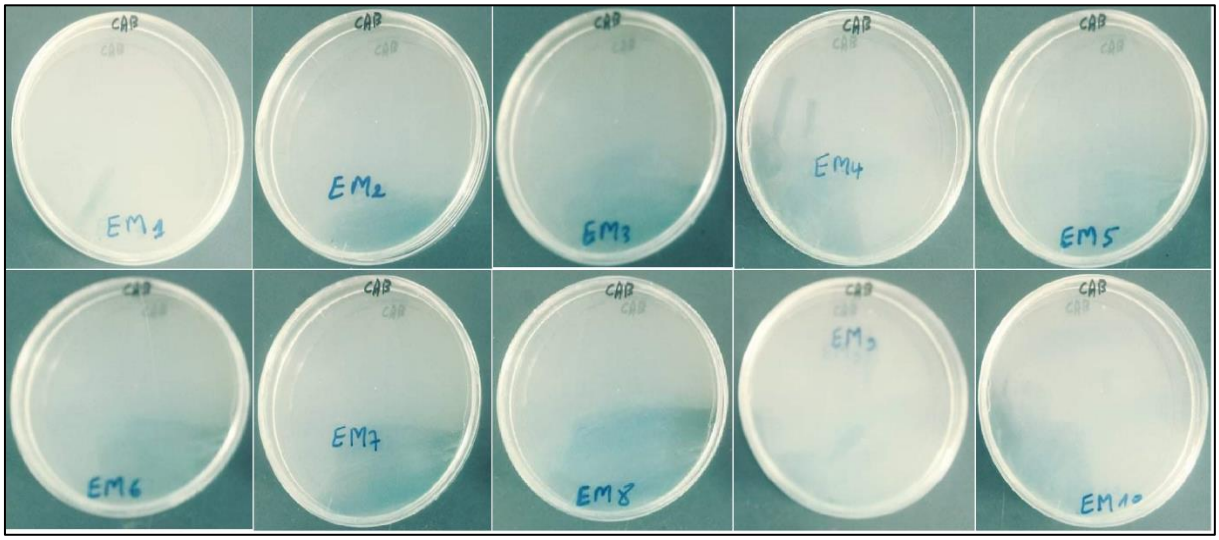


Figure IV.25. Aspect macroscopique de l'absence des colonies de *Pseudomonas Aeruginosa* sur le milieu cétrimide agar base (CAB).

La qualité microbiologique satisfaisante des émulgels sans l'utilisation de conservateur (agent antimicrobien), est liée à la présence de l'huile de nigelle qui possède une activité antimicrobienne prouvé [260]. Cette propriété de l'huile de Nigelle empêche la croissance des microorganismes [165],[166].

IV.4. CONCLUSION

La formulation et l'évaluation des propriétés physico-chimiques et biopharmaceutiques des émulgels contenant le principe actif Diclofénac de sodium (DCL), stabilisées par le kappa carraghénane et ses dérivés hydrophobiquement modifiés (KCRs et KC-OSAs) a été réalisée.

Les émulgels à base de KCRs (EM3-EM6) et les émulgels à base de KC-OSAs (EM7-EM10) forment des systèmes monodispersés et montre une stabilité à long terme.

L'ajustement des profils de dissolution du PA à partir des émulgels à base des dérivés du KC a présenté des caractéristiques d'une libération prolongée, avec un mécanisme de libération régit par les phénomènes de diffusion et de relaxation. L'étude de diffusion a montré que l'émulgel EM8 formulée à base de KC-OSA MM assure une meilleure diffusion du principe actif, sur une période de 24h. De plus, les émulgels ont montré une qualité microbiologique satisfaisante, sans l'utilisation d'un agent antimicrobien. Cette qualité est liée à la présence de l'huile de nigelle qui offre une activité antimicrobienne avérée. Enfin, d'après les résultats de tous les contrôles effectués sur les émulgels, en l'occurrence, analyses physico-chimiques, biopharmaceutiques et microbiologique, on peut conclure que les dérivés de KC hydrophobiquement modifiée semblent être des excipients de choix pour la formulation, la stabilisation et la libération prolongée du DCL.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'étude des systèmes dispersés à base de polysaccharides sur le plan physicochimique reste une tâche difficile pour les chercheurs. En effet, cette difficulté est inhérente à la mise en évidence des interactions inter et intra moléculaires qui conditionne le sort du système en matière de stabilité et de façon générale de son comportement de phase. La présente thèse avait pour objectif de développer et de caractériser des dérivés du kappa carraghénane, obtenus par deux modifications chimiques hydrophobes. Ces modifications ont conférées aux dérivés de nouvelles propriétés physico-chimiques reliées à leur propriété de s'adsorber aux interfaces eau-huile. Les propriétés amphiphiles de ces dérivés ont été mises à profit pour développer de nouveaux excipients pharmaceutiques, afin d'être utilisés comme véhicule pour la mise en forme d'un principe actif liposoluble par voie dermique sous forme d'émulgel.

La partie expérimentale dédiée à ce travail est subdivisée en deux parties. Une première partie a été dédiée à la modification chimique du kappa carraghénane en vue de lui conférer une activité de surface permettant de stabiliser les émulions de type H / E. Il s'agit de la substitution des fonctions hydroxyles du kappa carraghénane (KC) par des groupements hydrophobes, en utilisant deux réactions : une éthérification à l'aide du chlorooctane (CO) et une estérification à l'aide du 2-Octen-1-ylsuccinic anhydre (OSA). Lors des réactions de modification, deux types de chauffage ont été utilisés, le chauffage conventionnel (CM) et le chauffage par micro-ondes (MM). Les dérivés développés (KCRs et KC-OSAs) ont été soumis à une série de tests de caractérisation physico-chimiques et rhéologiques. L'analyse FTIR et ^{1}H-RMN ont démontré que les groupes hydrophobes étaient greffés sur le squelette de KC natif. Les dérivés obtenus par micro-ondes ont présenté un degré de substitution (DS) plus élevé (DS=0.77 pour KCR MM et DS=0.85 pour KC-OSA MM) que les dérivés obtenus par la méthode conventionnelle (DS=0.45 pour KCR CM et DS=0.62 pour KC-OSA CM).

Les résultats de la caractérisation physico-chimique démontrent que les réactions de modifications hydrophobes, soit par micro-ondes, ou par chauffage conventionnel n'altèrent aucunement les propriétés morphologiques, thermiques ou le comportement rhéologique des dérivés de KC (KCRs et KC-OSAs). L'analyse rhéologique a révélé le caractère rhéofluidifiants et pseudoplastiques des solutions de KC et ses dérivés. Le caractère amphiphile des dérivés a été confirmé par l'analyse de la concentration critique d'agrégation (CAC), qui est inversement proportionnelle au DS des dérivés de KC. Ainsi, les valeurs des CAC trouvées étaient égales à 0,08 % (p/v) pour KC-OSA MM et 0.13% (p/v) pour KCR MM. Alors que la CAC a atteint 0,12 % (p/v) pour KC-OSA CM et 0.15% (p/v) pour KCR

CM. A cet effet, il a été conclu que les dérivés hautement substitués présentent un caractère amphiphile plus prononcé et par conséquent un meilleur pouvoir émulsifiant et stabilisant des systèmes dispersés, en l'occurrence des émulsions directe H/E.

Une deuxième partie a été consacrée à la formulation d'émulgels contenant le Diclofénac de sodium (DCL) comme principe actif, formulés et stabilisé à l'aide de KC et ses dérivés (KCRs et KC-OSAs). Les résultats de la caractérisation physico-chimique des émulgels étudiés ont montré que les formulations à base des dérivés (KCR MM et KC-OSA MM) présentent une meilleure stabilité pendant six mois. En effet, ces émulgels sont restés stables et ont conservés une microstructure homogène. Une étude biopharmaceutique portant sur l'évaluation de la cinétique de libération et de diffusion du principe actif a été réalisée. L'étude de la cinétique de libération a montré que les émulgels à base de KC-OSA MM permettent une libération prolongée du principe actif en comparaison avec les émulgels à base de KCRs.

Ainsi, il a été vérifié que la modification hydrophobe du KC a permis l'obtention de plusieurs dérivés dont les propriétés physicochimiques, rhéologiques et biopharmaceutiques ont été soigneusement évaluées afin de rendre leurs utilisation comme excipients pharmaceutiques possible. En effet, les dérivés KCRs et KC-OSAs offrent de nouvelles propriétés permettant une large utilisation selon l'objectif du galéniste dans un éventail de formulations pharmaceutiques selon les besoins attendus, spécialement dans les formes dispersées.

Plusieurs perspectives peuvent être proposées pour la poursuite de ce travail de recherche, tel que :

- La modification du KC par d'autres méthodes de synthèse afin d'améliorer ses propriétés.
- Une étude rhéologique plus approfondie en vue de déterminer le comportement des dérivés en fonction de facteurs physiques ou chimiques tels que : la température ou la concentration en sels.
- Une étude rhéologique approfondie et des mesures de zêtamétrie sur les émulgels développés afin de mieux analyser leur structure ainsi que le mécanisme de stabilisation.
- Une étude de l'effet stabilisant des dérivés avec d'autres polysaccharides ou protéines.
- Le développement de nouveaux systèmes à base des dérivés pour la libération d'autres principes actifs.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

[1] P. Zarmpi, T. Flanagan, E. Meehan, J. Mann, and N. Fotaki, "Biopharmaceutical aspects and implications of excipient variability in drug product performance," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 111, pp. 1–15, 2017.

[2] C. Moreton, "Functionality and performance of excipients in quality-by-design world part 4: obtaining information on excipient variability for formulation design space," *Am American Pharmaceutical Review*, vol. 12, no. 5, pp. 28–33, 2009.

[3] G. Secchi, "Role of protein in cosmetics," *Clinics in dermatology*, vol. 26, no. 4, pp. 321–325, 2008.

[4] L. Bai, F. Liu, X. Xu, S. Huan, J. Gu, and D. J. McClements, "Impact of polysaccharide molecular characteristics on viscosity enhancement and depletion flocculation," *Journal of Food Engineering*, vol. 207, pp. 35–45, 2017.

[5] N. Rhein-Knudsen, M. T. Ale, and A. S. Meyer, "Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies," *Marine drugs*, vol. 13, no. 6, pp. 3340–3359, 2015.

[6] N. V. Krylova *et al.*, "Influence of the Structural Features of Carrageenans from Red Algae of the Far Eastern Seas on Their Antiviral Properties," *Marine Drugs*, vol. 20, no. 1, p. 60, 2022.

[7] J.-L. Jiang, W.-Z. Zhang, W.-X. Ni, and J.-W. Shao, "Insight on structure-property relationships of carrageenan and its chemically modified derivatives: a review," *Carbohydrate Polymers*, p. 117642, 2021.

[8] S. Lefnaoui and N. Moulai-Mostefa, "Polyelectrolyte complex based on carboxymethyl-kappa-carrageenan and Eudragit RL 30D as prospective carriers for sustained drug delivery," *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 97, pp. 165–174, 2015.

[9] C. Krueger and M. Thommes, "Multiple batch manufacturing of theophylline pellets using the wet-extrusion/spheronization process with κ-carrageenan as pelletisation aid," *Pharmaceutical development and technology*, vol. 18, no. 1, pp. 225–235, 2013.

[10] H. Hezaveh and I. I. Muhamad, "The effect of nanoparticles on gastrointestinal release from modified κ-carrageenan nanocomposite hydrogels," *Carbohydrate polymers*, vol. 89, no. 1, pp. 138–145, 2012.

[11] B. J. D. Barba, C. Tranquilan-Aranilla, and L. V. Abad, "Hemostatic potential of natural/synthetic polymer based hydrogels crosslinked by gamma radiation," *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 118, pp. 111–113, 2016.

[12] M. R. El-Aassar, G. F. El Fawal, E. A. Kamoun, and M. M. Fouda, "Controlled drug release from cross-linked κ-carrageenan/hyaluronic acid membranes," *International journal of biological macromolecules*, vol. 77, pp. 322–329, 2015.

[13] R. Meena, R. Lehnen, U. Schmitt, and B. Saake, "Effect of oat spelt and beech xylan on the gelling properties of kappa-carrageenan hydrogels," *Carbohydrate polymers*, vol. 85, no. 3, pp. 529–540, 2011.

[14] M. Bonnaud, J. Weiss, and D. J. McClements, "Interaction of a food-grade cationic surfactant (lauric arginate) with food-grade biopolymers (pectin, carrageenan, xanthan, alginate, dextran, and chitosan)," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 58, no. 17, pp. 9770–9777, 2010.

[15] L. L. Schramm, "Emulsions, foams, and suspensions: fundamentals and applications*" ed. John Wiley & Sons*, ISBN: 3-527-60688-2, 2006.

[16] J.-P. Canselier and M. Poux, "Procédés d'émulsification. Mécanismes de formation des émulsions," *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*, vol. 2, no. J2152, p. J2152. 1-J2152. 12, 2004.

[17] J. N. C. Whyte, R. E. Foreman, and R. E. DeWreede, "Phycocolloid screening of British Columbia red algae," in *Eleventh International Seaweed Symposium*, 1984, pp. 537–541.

[18] J. Berand, "Le technicien d'analyses biologiques; Guide théorie et pratique," *2^{éme} éd., Tec & Doc, Paris*, p. 177, 2001.

[19] R. Bhosale, R. Osmani, and A. Mmmm, "Review on natural polysaccharide based particulate drug delivery systems: an inimitable tactic in novel drug delivery systems," *Int. J. Curr. Pharm. Rev. Res.*, vol. 6, pp. 8–21, 2015.

[20] É. Wuitner, "Les algues marines de côtes de France:(manche et ocean)," vol. 7. P. *ed. Lechevalier*, 1947.

[21] E. Percival and R. H. McDowell, "Algal walls—composition and biosynthesis," in *Plant carbohydrates II*, Springer, 1981, pp. 277–316.

[22] M. Bodard, D. Christiaen, and M. Verdus, "Mise au point sur les phycocolloides," *Bull. Soc. Bot. N. France*, vol. 36, no. 1–2, pp. 1–14, 1983.

[23] B. Kloareg and R. S. Quatrano, "Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides," *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review.*, vol. 26, pp. 259–315, 1988.

[24] J. Bruneton, "Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales," *Botánica médica14* 1993.

[25] D. A. Rees, I. W. Steele, and F. B. Williamson, "Conformational analysis of polysaccharides. III. The relation between stereochemistry and properties of some natural polysaccharide sulfates (1)," in *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*, 1969, vol. 28, no. 1, pp. 261–276.

[26] C. W. Greer, I. Shomer, M. E. Goldstein, and W. Yaphe, "Analysis of carrageenan from Hypnea musciformis by using κ-and ι-carrageenanases and 13C-NMR spectroscopy," *Carbohydrate research*, vol. 129, pp. 189–196, 1984.

[27] S. O. Asare and A. SO, "Seasonal changes in sulphate and 3, 6-anhydrogalactose content of phycocolloids from two red algae," *Botanica marina*, vol. 23, no 9, pp. 595–598, 1980.

[28] S. H. Knutsen, D. E. Myslabodski, B. Larsen, and A. I. Usov, "A modified system of nomenclature for red algal galactans," *Botanica marina*, vol. 37, no. 2, pp. 163–170, 1994.

[29] D. Rees, "Structure, conformation, and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks," *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, vol. 24, pp. 267–332, 1969.

[30] E. L. McCandless and J. S. Craigie, "Sulfated polysaccharides in red and brown algae," *Annual review of plant physiology*, vol. 30, no. 1, pp. 41–53, 1979.

[31] C. W. Greer and W. Yaphe, "Characterization of hybrid (beta-kappa-gamma) carrageenan from Eucheuma gelatinae J. Agardh (*Rhodophyta, Solieriaceae*) using carrageenases, infrared and 13C-nuclear magnetic resonance spectroscopy," *Botanica marina*, vol. 27, no. 10, pp. 473–478, 1984.

[32] J. Mollion, S. Moreau, and D. Christiaen, "Isolation of a new type of carrageenan from *Rissoella verruculosa* (Bert.) J. Ag.(*Rhodophyta, Gigartinales*)," *Bot. Mar*, vol. 29, no. 6, pp. 549–552, 1986.

[33] N. S. Anderson, T. C. Dolan, and D. A. Rees, "Carrageenans. Part VII. Polysaccharides from *Eucheuma spinosum* and *Eucheuma cottonii*. The covalent structure of ι-carrageenan," *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, pp. 2173–2176, 1973.

[34] C. Bellion, G. Brigand, J.-C. Prome, D. Welti, and S. Bociek, "Identification et caractérisation des précurseurs biologiques des carraghénanes par spectroscopie de RMN-13C," *Carbohydrate research*, vol. 119, pp. 31–48, 1983.

[35] C. Bellion, "Analysis of Kappa-Iota Hybrid Carrageenans with Kappa-Carrageenase, Iota-Carrageenase and 13C NMR," *Xth International Seaweed Symposium. Walter de Gruyter & Co.*, Berlin-New York, 1981.

[36] M. C. Matulewicz, M. Ciancia, M. D. Noseda, and A. S. Cerezo, "Methylation analysis of carrageenans from tetrasporic and cystocarpic stages of Gigartina skottsbergii," *Phytochemistry*, vol. 29, no. 11, pp. 3407–3410, 1990.

[37] M. D. Noseda and A. S. Cerezo, "Room temperature, low-field 13C-nmr spectra of degraded carrageenans: Part III. Autohydrolysis of a lambda carrageenan and of its alkali-treated derivative," *International journal of biological macromolecules*, vol. 15, no. 3, pp. 177–181, 1993.

[38] R. Falshaw and R. H. Furneaux, "Carrageenan from the tetrasporic stage of Gigartina decipiens (*Gigartinaceae, Rhodophyta*)," *Carbohydrate research*, vol. 252, pp. 171–182, 1994.

[39] C. A. Stortz, B. E. Bacon, R. Cherniak, and A. S. Cerezo, "High-field NMR spectroscopy of cystocarpic and tetrasporic carrageenans from Iridaea undulosa," *Carbohydrate research*, vol. 261, no. 2, pp. 317–326, 1994.

[40] M. Ciancia, M. D. Noseda, M. C. Matulewicz, and A. S. Cerezo, "Alkali-modification of carrageenans: mechanism and kinetics in the kappa/iota-, mu/nu-and lambda-series," *Carbohydrate Polymers*, vol. 20, no. 2, pp. 95–98, 1993.

[41] I. J. Miller, "The chemical structure of galactans from some New Zealand red algae," *Botanica marina*, vol. 46, no. 6, pp. 572–577, 2003.

[42] R. Falshaw, R. H. Furneaux, and D. E. Stevenson, "Structural analysis of carrageenans from the red alga, Callophyllis hombroniana Mont. Kütz (Kallymeniaceae, Rhodophyta)," *Carbohydrate research*, vol. 340, no. 6, pp. 1149–1158, 2005.

[43] A. Penman and D. A. Rees, "Carrageenans. Part IX. Methylation analysis of galactan sulphates from *Furcellaria fastigiata*, *Gigartina canaliculate*, *Gigartina chamissoi*, *Gigartina atropurpurea*, *Ahnfeltia durvillaei*, *Gymnogongrus furcellatus*, *Eucheuma isiforme*, *Eucheuma uncinatum*, *Aghardhiella tenera*, *Pachymenia hymantophora*, and *Gloiopeltis cervicornis*. Structure of ξ-carrageenan," *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, pp. 2182–2187, 1973.

[44] V. Dininno, E. L. McCandless, and R. A. Bell, "Pyruvic acid derivative of a carrageenan from a marine red alga (Petrocelis species)," *Carbohydrate Research*, vol. 71, no. 1, pp. C1–C4, 1979.

[45] E. L. McCandless, J. A. West, and M. D. Guiry, "Carrageenan patterns in the Gigartinaceae," *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 11, no. 3, pp. 175–182, Jan. 1983.

[46] R. Falshaw and R. H. Furneaux, "Carrageenans from the tetrasporic stages of Gigartina clavifera and Gigartina alveata (Gigartinaceae, Rhodophyta)," *Carbohydrate Research*, vol. 276, no. 1, pp. 155–165, Oct. 1995.

[47] R. Falshaw and R. H. Furneaux, "Structural analysis of carrageenans from the tetrasporic stages of the red algae, Gigartina lanceata and Gigartina chapmanii (Gigartinaceae, Rhodophyta)," *Carbohydrate Research*, p. 7, 1998.

[48] S. H. Knutsen and H. Grasdalen, "Characterization of water-extractable polysaccharides from Norwegian *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour. (*Gigartinales, Rhodophyceae*) by IR and NMR spectroscopy," *Botanica Marina*, vol. 30, no. 6, pp. 497–506, 1987.

[49] E. Zablackis and G. A. Santos, "The carrageenan of Catenella nipae Zanard., a marine red alga," *Botanica marina*, vol. 29, no. 4, pp. 319–322, 1986.

[50] J. Necas and L. Bartosikova, "Carrageenan: a review," *Veterinarni medicina*, vol. 58, no. 4, 2013.

[51] S. Lefnaoui. "Formulation de systèmes bioadhésifs à base de polymères Etude des propriétés physicochimiques et biopharmaceutiques," *Université de blida*, 2014.

[52] E. R. Morris, D. A. Rees, and G. Robinson, "Cation-specific aggregation of carrageenan helices: domain model of polymer gel structure," *Journal of molecular biology*, vol. 138, no. 2, pp. 349–362, 1980.

[53] N. S. Anderson, J. W. Campbell, M. M. Harding, D. A. Rees, and J. W. B. Samuel, "X-ray diffraction studies of polysaccharide sulphates: double helix models for κ-and ι-carrageenans," *Journal of Molecular Biology*, vol. 45, no. 1, pp. 85–97, 1969.

[54] C. Viebke, L. Piculell, and S. Nilsson, "On the mechanism of gelation of helix-forming biopolymers," *Macromolecules*, vol. 27, no. 15, pp. 4160–4166, 1994.

[55] O. Smidsrød and H. Grasdalen, "Some physical properties of carrageenan in solution and gel state," *Carbohydrate Polymers*, vol. 2, no. 4, pp. 270–272, 1982.

[56] F. Cuppo, H. Reynaers, and S. Paoletti, "Association of κ-carrageenan induced by Cs+ ions in iodide aqueous solution: a light scattering study," *Macromolecules*, vol. 35, no. 2, pp. 539–547, 2002.

[57] F. van de Velde, H. S. Rollema, N. V. Grinberg, T. V. Burova, V. Y. Grinberg, and R. H. Tromp, "Coil–helix transition of ι-carrageenan as a function of chain regularity," *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, vol. 65, no. 4, pp. 299–312, 2002.

[58] H. J. Bixler, "Recent developments in manufacturing and marketing carrageenan," in *Fifteenth International Seaweed Symposium*, pp. 35–57, 1996.

[59] V. L. Campo, D. F. Kawano, D. B. da Silva Jr, and I. Carvalho, "Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis–A review," *Carbohydrate polymers*, vol. 77, no. 2, pp. 167–180, 2009.

[60] Y. S. Gu, E. A. Decker, and D. J. McClements, "Influence of pH and ι-carrageenan concentration on physicochemical properties and stability of β-lactoglobulin-stabilized oil-in-water emulsions," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 11, pp. 3626–3632, 2004.

[61] A. K. Stone and M. T. Nickerson, "Formation and functionality of whey protein isolate–(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes," *Food Hydrocolloids*, vol. 27, no. 2, pp. 271–277, 2012.

[62] H. Tsotetzo, "Valorisation des polysaccharides marins: élaboration de nanocomposites et synthèse de graphène dopé," *Normandie Université*, 2017.

[63] R. P. Millane, R. Chandrasekaran, S. Arnott, and I. C. Dea, "The molecular structure of kappa-carrageenan and comparison with iota-carrageenan," *Carbohydrate research*, vol. 182, no. 1, pp. 1–17, 1988.

[64] D. J. McHugh, "A guide to the seaweed industry," vol. 441. *Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome*, 2003.

[65] P. J. Cáceres, M. J. Carlucci, E. B. Damonte, B. Matsuhiro, and E. A. Zúñiga, "Carrageenans from chilean samples of Stenogramme interrupta (*Phyllophoraceae*): structural analysis and biological activity," *Phytochemistry*, vol. 53, no. 1, pp. 81–86, 2000.

[66] M. J. Carlucci, L. A. Scolaro, and E. B. Damonte, "Inhibitory action of natural carrageenans on Herpes simplex virus infection of mouse astrocytes," *Chemotherapy*, vol. 45, no. 6, pp. 429–436, 1999.

[67] L. M. Landoll, "Modified nonionic cellulose ethers," *Google Patents*, 1980.

[68] L.-M. Zhang, "New water-soluble cellulosic polymers: a review," *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 286, no. 5, pp. 267–275, 2001.

[69] J. J. Modi, "Hydrophobically modified polysaccharide in anhydrous antiperspirant products," *Google Patents*, 2000.

[70] X. Miao, "Synthesis and characterization of hydrophobically modified derivatives of polysaccharides," *Université de Grenoble; Sichuan University*, 2011.

[71] W. Lodige, F. Lodige, J. Lucke, and E. Lipp, "Process for the preparation of cellulose alkyl ethers," *Google Patents*, 1978.

[72] G. Kroon, C. M. Gortz, and K. M. Lusvardi, "Mixed hydrophobe polysaccharide as polymeric emulsifier and stabilizer," *Google Patents*, 2008.

[73] M. Blasutto, F. Delben, R. Milost, and T. J. Painter, "Novel cellulosic ethers with low degrees of substitution—I. Preparation and analysis of long-chain alkyl ethers," *Carbohydrate polymers*, vol. 27, no. 1, pp. 53–62, 1995.

[74] N. Beheshti *et al.*, "Characterization of interactions in aqueous solutions of hydroxyethylcellulose and its hydrophobically modified analogue in the presence of a cyclodextrin derivative," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 110, no. 13, pp. 6601–6608, 2006.

[75] S. Pelletier, P. Hubert, F. Lapicque, E. Payan, and E. Dellacherie, "Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate: synthesis and physico-chemical properties of aqueous dilute solutions," *Carbohydrate Polymers*, vol. 43, no. 4, pp. 343–349, 2000.

[76] S. Pelletier, P. Hubert, E. Payan, P. Marchal, L. Choplin, and E. Dellacherie, "Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate for cartilage repair: rheological properties," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 54, no. 1, pp. 102–108, 2001.

[77] K. V. Butsele, F. Stoffelbach, R. Jérôme, and C. Jérôme, "Synthesis of novel amphiphilic and pH-sensitive ABC miktoarm star terpolymers," *Macromolecules*, vol. 39, no. 17, pp. 5652–5656, 2006.

[78] T. Miyajima, T. Kitsuki, K. Kita, H. Kamitani, and K. Yamaki, "*P*olysaccharide derivative, and preparation process and use thereof," *Google Patents*, 1999.

[79] U. Pfeiffer, M. Gatto, M. Tenconi, L. Vigano, A. Balestrini, and G. L. Bassi, "Fast dissolving hydroxyalkyl guar derivatives," *Google Patents*, 2011.

[80] A. Durand and E. Dellacherie, "Neutral amphiphilic polysaccharides: chemical structure and emulsifying properties," *Colloid and Polymer Science*, vol. 284, no. 5, pp. 536–545, 2006.

[81] B. Morgenstern and H.-W. Kammer, "Solvation in cellulose-LiCl-DMAc solutions," *Trends in polymer Science*, vol. 3, no. 4, pp. 87–91, 1996.

[82] J. M. Fang, P. A. Fowler, C. Sayers, and P. A. Williams, "The chemical modification of a range of starches under aqueous reaction conditions," *Carbohydrate polymers*, vol. 55, no. 3, pp. 283–289, 2004.

[83] Z. Shariatinia, "Carboxymethyl chitosan: Properties and biomedical applications," *International journal of biological macromolecules*, vol. 120, pp. 1406–1419, 2018.

[84] K. H. Leong, L. Y. Chung, M. I. Noordin, Y. Onuki, M. Morishita, and K. Takayama, "Lectin-functionalized carboxymethylated kappa-carrageenan microparticles for oral insulin delivery," *Carbohydrate Polymers*, vol. 86, no. 2, pp. 555–565, 2011.

[85] L. Fan, J. Tong, C. Tang, H. Wu, M. Peng, and J. Yi, "Preparation and characterization of carboxymethylated carrageenan modified with collagen peptides," *International journal of biological macromolecules*, vol. 82, pp. 790–797, 2016.

[86] H. Yuan *et al.*, "Preparation and in vitro antioxidant activity of κ-carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives," *Carbohydrate Research*, vol. 340, no. 4, pp. 685–692, 2005.

[87] R. Dace, E. McBride, K. Brooks, J. Gander, M. Buszko, and V. M. Doctor, "Comparison of the anticoagulant action of sulfated and phosphorylated polysaccharides," *Thrombosis research*, vol. 87, no. 1, pp. 113–121, 1997.

[88] G. Opoku, X. Qiu, and V. Doctor, "Effect of oversulfation on the chemical and biological properties of kappa carrageenan," *Carbohydrate polymers*, vol. 65, no. 2, pp. 134–138, 2006.

[89] H. Yuan, J. Song, W. Zhang, X. Li, N. Li, and X. Gao, "Antioxidant activity and cytoprotective effect of κ-carrageenan oligosaccharides and their different derivatives," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 16, no. 5, pp. 1329–1334, 2006.

[90] G. C. dos Santos-Fidencio, A. G. Gonçalves, M. D. Noseda, M. E. R. Duarte, and D. R. Ducatti, "Effects of carboxyl group on the anticoagulant activity of oxidized carrageenans," *Carbohydrate polymers*, vol. 214, pp. 286–293, 2019.

[91] M. Zhu *et al.*, "Preparation, characterization and antibacterial activity of oxidized κ-carrageenan," *Carbohydrate polymers*, vol. 174, pp. 1051–1058, 2017.

[92] V. A. Cosenza, D. A. Navarro, C. A. Pujol, E. B. Damonte, and C. A. Stortz, "Partial and total C-6 oxidation of gelling carrageenans. Modulation of the antiviral activity with the anionic character," *Carbohydrate polymers*, vol. 128, pp. 199–206, 2015.

[93] G. C. Jayakumar, S. V. Kanth, B. Chandrasekaran, J. R. Rao, and B. U. Nair, "Preparation and antimicrobial activity of scleraldehyde from Schizophyllum commune," *Carbohydrate Research*, vol. 345, no. 15, pp. 2213–2219, 2010.

[94] T. Barahona *et al.*, "Cationization of kappa-and iota-carrageenan–Characterization and properties of amphoteric polysaccharides," *Carbohydrate polymers*, vol. 126, pp. 70–77, 2015.

[95] M. Bourrel and R. S. Schechter, "Microemulsions and Related Systems. Surfactant Science Series," *ed. Marcel Dekker New York*, 1988.

[96] R. Pal, "Techniques for measuring the composition (oil and water content) of emulsions—a state of the art review," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 84, no. 2–3, pp. 141–193, 1994.

[97] P.-L. Anne-Marie, "Conception des produits cosmétiques: la formulation," e*d. Lavoisier*, 2-7430-6574-5, 2014.

[98] J. Rao and D. J. McClements, "Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate & lemon oil," *Food hydrocolloids*, vol. 25, no. 6, pp. 1413–1423, 2011.

[99] S. Chen *et al.*, "Preparation of Coenzyme Q10 nanostructured lipid carriers for epidermal targeting with high-pressure microfluidics technique," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 39, no. 1, pp. 20–28, 2013.

[100] M. Goutayer, "Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques: étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo," *Université Pierre et Marie Curie-Paris* VI, 2008.

[101] T. G. Mason, J. N. Wilking, K. Meleson, C. B. Chang, and S. M. Graves, "Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties," *Journal of Physics: condensed matter*, vol. 18, no. 41, p. R635, 2006.

[102] F. Leal-Calderon, V. Schmitt, and J. Bibette, "Emulsion science: basic principles," *Springer Science & Business Media*, 2007.

[103] M. Sivakumar, S. Y. Tang, and K. W. Tan, "Cavitation technology–a greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions," *Ultrasonics sonochemistry*, vol. 21, no. 6, pp. 2069–2083, 2014.

[104] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar, "Biological effects of essential oils–a review," *Food and chemical toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446–475, 2008.

[105] J. Sjoblom, "Emulsions and emulsion stability" *2nd edition Surfactant science series/61, ed. crc press*, vol. 132, 2005.

[106] S. R. Reddy and H. S. Fogler, "Emulsion stability of acoustically formed emulsions," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 84, no. 12, pp. 1570–1575, 1980.

[107] P. Brochette, "Emulsification. Elaboration et étude des émulsions," *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*, vol. 2, no. J2150, p. J2150. 1-J2150. 18, 1999.

[108] R. Pal, "Rheology of simple and multiple emulsions," *Current opinion in colloid & interface science*, vol. 16, no. 1, pp. 41–60, 2011.

[109] N. Garti, "Double emulsions—scope, limitations and new achievements," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 123, pp. 233–246, 1997.

[110] S. van der Graaf, C. Schroën, and R. M. Boom, "Preparation of double emulsions by membrane emulsification—a review," *Journal of Membrane Science*, vol. 251, no. 1–2, pp. 7–15, 2005.

[111] F. Nielloud, "Pharmaceutical emulsions and suspensions: revised and expanded," *ed. CRC Press*, 2000.

[112] J.-L. Salager, R. E. Antón, J. M. Anderez, and J.-M. Aubry, "Formulation des micro-émulsions par la méthode HLD," *Techniques de l'Ingénieur*, vol. 157, p. 2001, 2001.

[113] M. Cortés-Muñoz, D. Chevalier-Lucia, and E. Dumay, "Characteristics of submicron emulsions prepared by ultra-high pressure homogenisation: Effect of chilled or frozen storage," *Food hydrocolloids*, vol. 23, no. 3, pp. 640–654, 2009.

[114] N. Uson, M. J. Garcia, and C. Solans, "Formation of water-in-oil (W/O) nano-emulsions in a water/mixed non-ionic surfactant/oil systems prepared by a low-energy emulsification method," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 250, no. 1–3, pp. 415–421, 2004.

[115] T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, and C. Solans, "Formation and stability of nano-emulsions," *Advances in colloid and interface science*, vol. 108, pp. 303–318, 2004.

[116] C. Qian and D. J. McClements, "Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size," *Food hydrocolloids*, vol. 25, no. 5, pp. 1000–1008, 2011.

[117] M. S. El-Aasser, C. D. Lack, Y. T. Choi, T. I. Min, J. W. Vanderhoff, and F. M. Fowkes, "Interfacial aspects of miniemulsions and miniemulsion polymers," *Colloids and surfaces*, vol. 12, pp. 79–97, 1984.

[118] S. Benita and M. Y. Levy, "Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 82, no. 11, pp. 1069–1079, 1993.

[119] I. Solè, A. Maestro, C. M. Pey, C. González, C. Solans, and J. M. Gutiérrez, "Nano-emulsions preparation by low energy methods in an ionic surfactant system," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 288, no. 1–3, pp. 138–143, 2006.

[120] M. Noshad, M. Mohebbi, F. Shahidi, and A. Koocheki, "Freeze–thaw stability of emulsions with soy protein isolate through interfacial engineering," *International Journal of Refrigeration*, vol. 58, pp. 253–260, 2015.

[121] M. Shahin, S. A. Hady, M. Hammad, and N. Mortada, "Development of stable O/W emulsions of three different oils," *Int J Pharm Stud Res*, vol. 2, pp. 45–51, 2011.

[122] I. Capek, "Degradation of kinetically-stable o/w emulsions," *Advances in colloid and interface science*, vol. 107, no. 2–3, pp. 125–155, 2004.

[123] M. M. Yahoum, " Formulation et Caractéisation de Fluides à Structure Complexe: Application Aux Dispersions," *Université de Médéa*. 2016.

[124] B. Abismaıl, J. P. Canselier, A. M. Wilhelm, H. Delmas, and C. Gourdon, "Emulsification by ultrasound: drop size distribution and stability," *Ultrasonics sonochemistry*, vol. 6, no. 1–2, pp. 75–83, 1999.

[125] D. Sanhes, "Nouveaux ligands dihydroanthracène vers la formation de nanoparticules et de complexes de palladium. Etudes de leur comportement catalytique dans différents milieux.," *Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatie*r, 2008.

[126] J. Shi, "Steric stabilization, group inorganic materials science," *The Ohio State University, Columbus*, 2002.

[127] H. Zhang *et al.*, "Mechanistic understanding of the relationships between molecular structure and emulsification properties of octenyl succinic anhydride (OSA) modified starches," *Food Hydrocolloids*, vol. 74, pp. 168–175, 2018.

[128] D. Guzey and D. J. McClements, "Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry," *Advances in colloid and interface science*, vol. 128, pp. 227–248, 2006.

[129] N. A. Peppas and R. W. Krosmeyer, "Hydrogels in medicine and pharmacy: properties and applications," *CRC Press, Boca Raton*, vol. 49802, p. 10223, 1987.

[130] T. Kean and M. Thanou, "Chitin and chitosan: sources, production and medical applications," in *Renewable resources for functional polymers and biomaterials*, 2011, pp. 292–318.

[131] S. Varghese and J. H. Elisseeff, "Hydrogels for musculoskeletal tissue engineering," *Polymers for regenerative medicine*, pp. 95–144, 2006.

[132] T. Nakajima, H. Furukawa, Y. Tanaka, T. Kurokawa, Y. Osada, and J. P. Gong, "True chemical structure of double network hydrogels," *Macromolecules*, vol. 42, no. 6, pp. 2184–2189, 2009.

[133] M. Rubinstein and A. V. Dobrynin, "Associations leading to formation of reversible networks and gels," *Current opinion in colloid & interface science*, vol. 4, no. 1, pp. 83–87, 1999.

[134] F. Ilmain, T. Tanaka, and E. Kokufuta, "Volume transition in a gel driven by hydrogen bonding," *Nature*, vol. 349, no. 6308, pp. 400–401, 1991.

[135] M. Guo, L. M. Pitet, H. M. Wyss, M. Vos, P. Y. Dankers, and E. W. Meijer, "Tough stimuli-responsive supramolecular hydrogels with hydrogen-bonding network junctions," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 136, no. 19, pp. 6969–6977, 2014.

[136] G. Miquelard-Garnier, S. Demoures, C. Creton, and D. Hourdet, "Synthesis and rheological behavior of new hydrophobically modified hydrogels with tunable properties," *Macromolecules*, vol. 39, no. 23, pp. 8128–8139, 2006.

[137] D. C. Tuncaboylu, M. Sari, W. Oppermann, and O. Okay, "Tough and self-healing hydrogels formed via hydrophobic interactions," *Macromolecules*, vol. 44, no. 12, pp. 4997–5005, 2011.

[138] W. Li *et al.*, "Hydrophobically associated hydrogels based on acrylamide and anionic surface active monomer with high mechanical strength," *Soft Matter*, vol. 8, no. 18, pp. 5078–5086, 2012.

[139] C. Karakasyan *et al.*, "Cold gelation of alginates induced by monovalent cations," *Biomacromolecules*, vol. 11, no. 11, pp. 2966–2975, 2010.

[140] S. Gupta, T. J. Webster, and A. Sinha, "Evolution of PVA gels prepared without crosslinking agents as a cell adhesive surface," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 22, no. 7, pp. 1763–1772, 2011.

[141] W. de Carvalho and M. Djabourov, "Physical gelation under shear for gelatin gels," *Rheologica Acta*, vol. 36, no. 6, pp. 591–609, 1997.

[142] N. A. Peppas, P. Bures, W. S. Leobandung, and H. Ichikawa, "Hydrogels in pharmaceutical formulations," *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, vol. 50, no. 1, pp. 27–46, 2000.

[143] A. M. Oelker and M. W. Grinstaff, "Ophthalmic adhesives: a materials chemistry perspective," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 18, no. 22, pp. 2521–2536, 2008.

[144] M. S. Lord, M. H. Stenzel, A. Simmons, and B. K. Milthorpe, "The effect of charged groups on protein interactions with poly (HEMA) hydrogels," *Biomaterials*, vol. 27, no. 4, pp. 567–575, 2006.

[145] M. M. Zohourian and K. Kabiri, "Superabsorbent polymer materials: a review," 2008.

[146] K. Kabiri, S. Faraji-Dana, and M. J. Zohuriaan-Mehr, "Novel sulfobetaine-sulfonic acid-contained superswelling hydrogels," *Polymers for advanced technologies*, vol. 16, no. 9, pp. 659–666, 2005.

[147] J. Kroupová, D. Horák, J. Pacherník, P. Dvořák, and M. Šlouf, "Functional polymer hydrogels for embryonic stem cell support," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 76, no. 2, pp. 315–325, 2006.

[148] Y. Qiu and K. Park, "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 53, no. 3, pp. 321–339, 2001.

[149] D. Steinhilber, T. Rossow, S. Wedepohl, F. Paulus, S. Seiffert, and R. Haag, "A microgel construction kit for bioorthogonal encapsulation and pH-controlled release of living cells," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 52, no. 51, pp. 13538–13543, 2013.

[150] D. M. Headen, G. Aubry, H. Lu, and A. J. García, "Microfluidic-based generation of size-controlled, biofunctionalized synthetic polymer microgels for cell encapsulation," *Advanced Materials*, vol. 26, no. 19, pp. 3003–3008, 2014.

[151] D. J. Beebe *et al.*, "Functional hydrogel structures for autonomous flow control inside microfluidic channels," *Nature*, vol. 404, no. 6778, pp. 588–590, 2000.

[152] S. Cosson and M. P. Lutolf, "Hydrogel microfluidics for the patterning of pluripotent stem cells," *Scientific reports*, vol. 4, no. 1, pp. 1–6, 2014.

[153] L. E. Scriven, "Equilibrium bicontinuous structure," *Nature*, vol. 263, no. 5573, pp. 123–125, 1976.

[154] B. Swathi, G. Kusuma, K. Kusuma, and P. Kumar, "Emulgel as a topical drug delivery system," *International Journal of Research in Phytochemistry and Pharmacology*, vol. 4, no. 1, pp. 9–17, 2014.

[155] J. M. Brandner and J. M. Jensen, "The skin: an indispensable barrier," *Experimental Dermatology*, vol. 17, pp. 1063–72, 2008.

[156] K. C. Madison, "Barrier function of the skin:'la raison d'etre' of the epidermis," *Journal of investigative dermatology*, vol. 121, no. 2, pp. 231–241, 2003.

[157] P. Ranga, V. Sellakumar, R. Natarajan, and K. Mohan, "Formulation and in-vitro evaluation of ciprofloxacin loaded topical emulgel," *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, vol. 1, no. 1, pp. 237–242, 2012.

[158] A. S. Dixit, N. Charyulu, and H. Nayari, "Design and evaluation of novel emulgel containing Acyclovir for herpes simplex keratitis," *Latin American Journal of Pharmacy*, vol. 30, 2011.

[159] E. Marco-Urrea, M. Pérez-Trujillo, C. Cruz-Morató, G. Caminal, and T. Vicent, "Degradation of the drug sodium diclofenac by Trametes versicolor pellets and identification of some intermediates by NMR," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 176, no. 1–3, pp. 836–842, 2010.

[160] M. Ulubay, K. K. Yurt, A. A. Kaplan, and M. K. Atilla, "The use of diclofenac sodium in urological practice: a structural and neurochemical based review," *Journal of chemical neuroanatomy*, vol. 87, pp. 32–36, 2018.

[161] R. N. Brogden, R. C. Heel, G. E. Pakes, T. M. Speight, and G. S. Avery, "Diclofenac sodium: a review of its pharmacological properties and therapeutic use in rheumatic diseases and pain of varying origin," *Drugs*, vol. 20, no. 1, pp. 24–48, 1980.

[162] Council of Europe, European Pharmacopoeia Commission, and European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, *European pharmacopoeia*. 2019.

[163] A. El-Kadi and O. Kandil, "Effect of Nigella sativa (the black seed) on immunity," in *Proceeding of the 4th International Conference on Islamic Medicine, Kuwait. Bull Islamic Med*, 1986, vol. 4, pp. 344–8.

[164] S. A. A. Al-Jishi, "A study of Nigella sativa on blood hemostatic functions," *King Faisal University*, 2000.

[165] M. A. Randhawa and M. S. Alghamdi, "Anticancer activity of Nigella sativa (black seed)—a review," *The American journal of Chinese medicine*, vol. 39, no. 06, pp. 1075–1091, 2011.

[166] M. A. Randhawa and S. Mastoor, "Al Ghamdi, A review of pharmaco-therapeutic effects of nigella sativa," *Pak. J. Med. Res*, vol. 41, no. 2, pp. 77–83, 2002.

[167] R. M. C. Dawson, D. C. Elliott, W. H. Elliott, and K. M. Jones, *Data for biochemical research, 3rd edn. Clarendon*. Oxford, 1986.

[168] R. C. Rowe, P. Sheskey, and M. Quinn, "Handbook of pharmaceutical excipients," *Libros Digitales-Pharmaceutical Press*, 2009.

[169] M. A. McGowan, A. Scheman, and S. E. Jacob, "Propylene glycol in contact dermatitis: a systematic review," *Dermatitis*, vol. 29, no. 1, pp. 6–12, 2018.

[170] M. M. Yahoum, N. Moulai-Mostefa, and D. Le Cerf, "Synthesis, physicochemical, structural and rheological characterizations of carboxymethyl xanthan derivatives," *Carbohydrate polymers*, vol. 154, pp. 267–275, 2016.

[171] X. Song, W. Zhu, Z. Li, and J. Zhu, "Characteristics and application of octenyl succinic anhydride modified waxy corn starch in sausage," *Starch-Stärke*, vol. 62, no. 12, pp. 629–636, 2010.

[172] R. Covis, "Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrane et application à la stabilisation d'émulsions directes et inverses," Institut National Polytechnique de Lorraine, 2011.

[173] F. F. Shih and K. W. Daigle, "Gelatinization and pasting properties of rice starch modified with 2-octen–1-ylsuccinic anhydride," *Food/Nahrung*, vol. 47, no. 1, pp. 64–67, 2003.

[174] J. O. Ighalo and A. G. Adeniyi, "A mini-review of the morphological properties of biosorbents derived from plant leaves," *SN Applied Sciences*, vol. 2, no. 3, pp. 1–16, 2020.

[175] M. Azarbarmas, "Modeling the Dynamic Recrystallization by Using Cellular Automaton: The Current Status, Challenges and Future Prospects, a Review," *Iranian Journal of Materials Science and Engineering*, vol. 17, no. 4, pp. 103–129, 2020.

[176] L. Fan *et al.*, "Synthesis, characterization and properties of carboxymethyl kappa carrageenan," *Carbohydrate polymers*, vol. 86, no. 3, pp. 1167–1174, 2011.

[177] M. A. Masuelli, "Mark-Houwink parameters for aqueous-soluble polymers and biopolymers at various temperatures," *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry, Vol. 2, No. 2, 37-43* 2014.

[178] A. HadjSadok, A. Pitkowski, T. Nicolai, L. Benyahia, and N. Moulai-Mostefa, "Characterisation of sodium caseinate as a function of ionic strength, pH and temperature using static and dynamic light scattering," *Food Hydrocolloids*, vol. 22, no. 8, pp. 1460–1466, 2008.

[179] D. Kumar, J. Singh, M. Antil, and V. Kumar, "Emulgel-novel topical drug delivery system-a comprehensive review," *International journal of pharmaceutical sciences and research*, vol. 7, no. 12, p. 4733, 2016.

[180] V. Singla, S. Saini, B. Joshi, and A. C. Rana, "Emulgel: A new platform for topical drug delivery," *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, vol. 3, no. 1, pp. 485–498, 2012.

[181] S. Lefnaoui, S. Rebouh, M. Bouhedda, and M. M. Yahoum, "Artificial neural network for modeling formulation and drug permeation of topical patches containing diclofenac sodium," *Drug delivery and translational research*, vol. 10, no. 1, pp. 168–184, 2020.

[182] T. Wuryandari, N. Sugihartini, and K. Kintoko, "Emulgel Formulation of Purified Extract of Moringa (Moringa oleifera L.) Leaf," *FMI*, vol. 55, no. 1, p. 17, Apr. 2019, doi: 10.20473/fmi.v55i1.12545.

[183] M. Jufri, M. Gozan, and E. A. Suyono, "Formulation, stability test and in vitro penetration test of emulgel from tobacco leaves extract," *Journal of Young Pharmacists*, vol. 10, no. 2, p. S69, 2018.

[184] T. C. Trevisol, L. Scartazzini, A. Valerio, S. M. A. Guelli Ulson de Souza, A. C. K. Bierhalz, and J. A. B. Valle, "Diclofenac release from alginate/carboxymethyl cellulose mono and bilayer films for wound dressing applications," *Cellulose*, vol. 27, pp. 6629–6642, 2020.

[185] A. R. Phad, N. T. Dilip, and R. S. Ganapathy, "Emulgel: A comprehensive review for topical delivery of hydrophobic drugs," *Asian Journal of Pharmaceutics*, vol. 12, no. 2, pp. S382–S393, 2018.

[186] S. Vats, C. Saxena, T. S. Easwari, and V. K. Shukla, "Emulsion based gel technique: Novel approach for enhancing topical drug delivery of hydrophobic drugs," *IJPRS*, vol. 3, pp. 649–60, 2014.

[187] T. N. Bargir, A. Aj, and P. Sa, "Composition of terbinafine HCL polymeric gel for mucosal drug delivery,"I*nternational Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences. IJBPAS*, 5(9): 2146-2168, 2016.

[188] E. Folzer, D. Gonzalez, R. Singh, and H. Derendorf, "Comparison of skin permeability for three diclofenac topical formulations: an in vitro study," *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 69, no. 1, pp. 27–31, 2014.

[189] S. Md *et al.*, "Improved analgesic and anti-inflammatory effect of diclofenac sodium by topical nanoemulgel: Formulation development—In vitro and in vivo studies," *Journal of chemistry*, vol. 2020, 2020.

[190] B. Hajjar, K.-I. Zier, N. Khalid, S. Azarmi, and R. Löbenberg, "Evaluation of a microemulsion-based gel formulation for topical drug delivery of diclofenac sodium," *Journal of Pharmaceutical Investigation*, vol. 48, no. 3, pp. 351–362, 2018.

[191] L. Fan, K. Peng, M. Li, L. Wang, and T. Wang, "Preparation and properties of carboxymethyl κ-carrageenan/alginate blend fibers," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 24, no. 9, pp. 1099–1111, 2013.

[192] C. Tranquilan-Aranilla, N. Nagasawa, A. Bayquen, and A. D. Rosa, "Synthesis and characterization of carboxymethyl derivatives of kappa-carrageenan," *Carbohydrate polymers*, vol. 87, no. 2, pp. 1810–1816, 2012.

[193] L. Han, I. Ratcliffe, and P. A. Williams, "Synthesis, characterisation and physicochemical properties of hydrophobically modified inulin using long-chain fatty acyl chlorides," *Carbohydrate polymers*, vol. 178, pp. 141–146, 2017.

[194] H. Sara, M. M. Yahoum, S. Lefnaoui, H. Abdelkader, and N. Moulai-Mostefa, "New alkylated xanthan gum as amphiphilic derivatives: Synthesis, physicochemical and rheological studies," *Journal of Molecular Structure*, vol. 1207, p. 127768, 2020.

[195] J. Wang, L. Su, and S. Wang, "Physicochemical properties of octenyl succinic anhydride-modified potato starch with different degrees of substitution," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 90, no. 3, pp. 424–429, 2010.

[196] Q. Xiao, H. Weng, G. Chen, and A. Xiao, "Preparation and characterization of octenyl succinic anhydride modified agarose derivative," *Food chemistry*, vol. 279, pp. 30–39, 2019.

[197] H. Namazi, F. Fathi, and A. Dadkhah, "Hydrophobically modified starch using long-chain fatty acids for preparation of nanosized starch particles," *Scientia Iranica*, vol. 18, no. 3, pp. 439–445, 2011.

[198] J. W. Y. Liew, K. S. Loh, A. Ahmad, K. L. Lim, and W. R. Wan Daud, "Synthesis and characterization of modified κ-carrageenan for enhanced proton conductivity as polymer electrolyte membrane," *Plos one*, vol. 12, no. 9, p. e0185313, 2017.

[199] L. Youssouf *et al.*, "Ultrasound-assisted extraction and structural characterization by NMR of alginates and carrageenans from seaweeds," *Carbohydrate Polymers*, vol. 166, pp. 55–63, 2017.

[200] A. Biswas, H. N. Cheng, S. Kim, C. R. Alves, and R. F. Furtado, "Hydrophobic modification of cashew gum with alkenyl succinic anhydride," *Polymers*, vol. 12, no. 3, p. 514, 2020.

[201] F. Gu, B.-Z. Li, H. Xia, B. Adhikari, and Q. Gao, "Preparation of starch nanospheres through hydrophobic modification followed by initial water dialysis," *Carbohydrate polymers*, vol. 115, pp. 605–612, 2015.

[202] M. C. Sweedman, M. J. Tizzotti, C. Schäfer, and R. G. Gilbert, "Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review," *Carbohydrate polymers*, vol. 92, no. 1, pp. 905–920, 2013.

[203] S. Ravichandran and E. Karthikeyan, "Microwave synthesis-a potential tool for green chemistry," *International Journal of ChemTech Research*, vol. 3, no. 1, pp. 466–470, 2011.

[204] J. Desbrières, C. Petit, and S. Reynaud, "Microwave-assisted modifications of polysaccharides," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 86, no. 11, pp. 1695–1706, 2014.

[205] S. M. Hosseini *et al.*, "Preparation and characterization of alginate and alginate-resistant starch microparticles containing nisin," *Carbohydrate polymers*, vol. 103, pp. 573–580, 2014.

[206] T. K. Giri, M. Pradhan, and D. K. Tripathi, "Synthesis of graft copolymer of kappa-carrageenan using microwave energy and studies of swelling capacity, flocculation properties, and preliminary acute toxicity," *Turkish Journal of Chemistry*, vol. 40, no. 2, pp. 283–295, 2016.

[207] S. A. Rodriguez, E. Weese, J. Nakamatsu, and F. Torres, "Development of biopolymer nanocomposites based on polysaccharides obtained from red algae chondracanthus

chamissoi reinforced with chitin whiskers and montmorillonite," *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, vol. 55, no. 15, pp. 1557–1564, 2016.

[208] W. Yanli, G. Wenyuan, and L. Xia, "Carboxymethyl Chinese yam starch: synthesis, characterization, and influence of reaction parameters," *Carbohydrate Research*, vol. 344, no. 13, pp. 1764–1769, 2009.

[209] H. H. Gahruie, M. H. Eskandari, P. Van der Meeren, and S. M. H. Hosseini, "Study on hydrophobic modification of basil seed gum-based (BSG) films by octenyl succinate anhydride (OSA)," *Carbohydrate polymers*, vol. 219, pp. 155–161, 2019.

[210] F. Meng, L. Zheng, Y. Wang, Y. Liang, and G. Zhong, "Preparation and properties of konjac glucomannan octenyl succinate modified by microwave method," *Food Hydrocolloids*, vol. 38, pp. 205–210, 2014.

[211] F. N. Jumaah, N. N. Mobarak, A. Ahmad, M. A. Ghani, and M. Y. A. Rahman, "Derivative of iota-carrageenan as solid polymer electrolyte," *Ionics*, vol. 21, no. 5, pp. 1311–1320, 2015.

[212] W. A. K. Mahmood, M. M. R. Khan, and T. C. Yee, "Effects of reaction temperature on the synthesis and thermal properties of carrageenan ester," *Journal of Physical Science*, vol. 25, no. 1, p. 123, 2014.

[213] N. Teramoto, T. Motoyama, R. Yosomiya, and M. Shibata, "Synthesis, thermal properties, and biodegradability of propyl-etherified starch," *European Polymer Journal*, vol. 39, no. 2, pp. 255–261, 2003.

[214] J. Aburto *et al.*, "Synthesis, characterization, and biodegradability of fatty-acid esters of amylose and starch," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 74, no. 6, pp. 1440–1451, 1999.

[215] C. A. Ferraz, R. L. Fontes, G. C. Fontes-Sant'Ana, V. Calado, E. O. López, and M. H. Rocha-Leão, "Extraction, Modification, and Chemical, Thermal and Morphological Characterization of Starch From the Agro-Industrial Residue of Mango (Mangifera indica L) var. Ubá," *Starch-Stärke*, vol. 71, no. 1–2, p. 1800023, 2019.

[216] J. Xu, W. Liu, W. Yao, X. Pang, D. Yin, and X. Gao, "Carboxymethylation of a polysaccharide extracted from Ganoderma lucidum enhances its antioxidant activities in vitro," *Carbohydrate Polymers*, vol. 78, no. 2, pp. 227–234, 2009.

[217] A. L. Ellis, T. B. Mills, I. T. Norton, and A. B. Norton-Welch, "The hydrophobic modification of kappa carrageenan microgel particles for the stabilisation of foams," *Journal of colloid and interface science*, vol. 538, pp. 165–173, 2019.

[218] C. Won *et al.*, "Rheological, pasting, thermal and retrogradation properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch," *Food Science and Technology*, vol. 37, pp. 321–327, 2017.

[219] Z. Yang, H. Yang, and H. Yang, "Effects of sucrose addition on the rheology and microstructure of κ-carrageenan gel," *Food Hydrocolloids*, vol. 75, pp. 164–173, 2018.

[220] Y. Chen, M.-L. Liao, and D. E. Dunstan, "The rheology of K+-κ-carrageenan as a weak gel," *Carbohydrate Polymers*, vol. 50, no. 2, pp. 109–116, 2002.

[221] L. Wang, F. Zhu, and D. Lu, "Rheological properties of sodium alginate and xanthan pastes on cotton with reactive dye in screen printing," *Textile Research Journal*, vol. 83, no. 17, pp. 1873–1884, 2013.

[222] A. H. Clark, "Structural and mechanical properties of biopolymer gels," *Food polymers, gels and colloids*, pp. 322–338, 1991.

[223] P. B. Fernandes, M. P. Gonçalves, and J. L. Doublier, "A rheological characterization of kappa-carrageenan/galactomannan mixed gels: a comparison of locust bean gum samples," *Carbohydrate polymers*, vol. 16, no. 3, pp. 253–274, 1991.

[224] S. R. Yang, J. H. Jeong, K. Park, and J.-D. Kim, "Self-aggregates of hydrophobically modified poly (2-hydroxyethyl aspartamide) in aqueous solution," *Colloid and Polymer Science*, vol. 281, no. 9, pp. 852–861, 2003.

[225] M. T. Muhammad and M. N. Khan, "Study of electrolytic effect on the interaction between anionic surfactant and methylene blue using spectrophotometric and conductivity methods," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 234, pp. 309–314, 2017.

[226] X.-M. Li, J. Zhu, Y. Pan, R. Meng, B. Zhang, and H.-Q. Chen, "Fabrication and characterization of pickering emulsions stabilized by octenyl succinic anhydride-modified gliadin nanoparticle," *Food Hydrocolloids*, vol. 90, pp. 19–27, 2019.

[227] C. Fantou, S. Comesse, F. Renou, and M. Grisel, "Hydrophobically modified xanthan: thickening and surface active agent for highly stable oil in water emulsions," *Carbohydrate polymers*, vol. 205, pp. 362–370, 2019.

[228] A. Dev, R. Chodankar, and O. Shelke, "Emulgels: a novel topical drug delivery system," *Pharmaceutical and biological evaluations*, vol. 2, no. 4, pp. 64–75, 2015.

[229] S. Sa'adon *et al.*, "Preparation and Physicochemical Characterization of a Diclofenac Sodium-Dual Layer Polyvinyl Alcohol Patch," *Polymers*, vol. 13, no. 15, p. 2459, 2021.

[230] L. Bi *et al.*, "Selective adsorption and enhanced photodegradation of diclofenac in water by molecularly imprinted TiO2," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 407, p. 124759, 2021.

[231] T. L. Nguyen, H. T. Nguyen, V. K. Nguyen, T. T. H. Pham, T. H. T. Le, and T. T. Nguyen, "Characteristics of HPMC/Beeswax Edible Composite Film and its Application for Preservation of Seedless Lime Fruit," in *Key Engineering Materials*, 2020, vol. 850, pp. 87–93.

[232] S. Alshehri, S. S. Imam, A. Hussain, and M. A. Altamimi, "Formulation of piperine ternary inclusion complex using β CD and HPMC: physicochemical characterization, molecular docking, and antimicrobial testing," *Processes*, vol. 8, no. 11, p. 1450, 2020.

[233] E. Proksch, "pH in nature, humans and skin," *The Journal of dermatology*, vol. 45, no. 9, pp. 1044–1052, 2018.

[234] C. J. Patel, S. Tyagi, A. K. Gupta, P. Sharma, P. M. Prajapati, and M. B. Potdar, "Emulgel: a combination of emulsion and gel," *Journal of drug discovery and therapeutics*, vol. 1, no. 6, pp. 72–76, 2013.

[235] R. Sanz, B. Clares, M. Mallandrich, J. Suñer-Carbó, M. J. Montes, and A. C. Calpena, "Development of a mucoadhesive delivery system for control release of doxepin with application in vaginal pain relief associated with gynecological surgery," *International journal of pharmaceutics*, vol. 535, no. 1–2, pp. 393–401, 2018.

[236] L. Seta, N. Baldino, D. Gabriele, F. R. Lupi, and B. de Cindio, "The influence of carrageenan on interfacial properties and short-term stability of milk whey proteins emulsions," *Food Hydrocolloids*, vol. 32, no. 2, pp. 373–382, 2013.

[237] M. I. Mohamed, "Optimization of chlorphenesin emulgel formulation," *The AAPS journal*, vol. 6, no. 3, pp. 81–87, 2004.

[238] Y. I. Khalil, A. H. Khasraghi, and E. J. Mohammed, "Preparation and evaluation of physical and, rheological properties of clotrimazole emulgel," *Iraqi J Pharm Sci*, vol. 20, no. 2, pp. 19–27, 2011.

[239] M. Shahin, S. A. Hady, M. Hammad, and N. Mortada, "Optimized formulation for topical administration of clotrimazole using Pemulen polymeric emulsifier," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 37, no. 5, pp. 559–568, 2011.

[240] H. Chaudhary, K. Kohli, S. Amin, P. Rathee, and V. Kumar, "Optimization and formulation design of gels of Diclofenac and Curcumin for transdermal drug delivery by Box-Behnken statistical design," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 100, no. 2, pp. 580–593, 2011.

[241] L. Dong, C. Liu, D. Cun, and L. Fang, "The effect of rheological behavior and microstructure of the emulgels on the release and permeation profiles of Terpinen-4-ol," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 78, pp. 140–150, 2015.

[242] L. Perioli, C. Pagano, S. Mazzitelli, C. Rossi, and C. Nastruzzi, "Rheological and functional characterization of new antiinflammatory delivery systems designed for buccal administration," *International journal of pharmaceutics*, vol. 356, no. 1–2, pp. 19–28, 2008.

[243] F. Niu *et al.*, "Ovalbumin/gum arabic-stabilized emulsion: Rheology, emulsion characteristics, and Raman spectroscopic study," *Food hydrocolloids*, vol. 52, pp. 607–614, 2016.

[244] K. V. Nikumbh, S. G. Sevankar, and M. P. Patil, "Formulation development, in vitro and in vivo evaluation of microemulsion-based gel loaded with ketoprofen," *Drug delivery*, vol. 22, no. 4, pp. 509–515, 2015.

[245] S. N. Murthy, "Approaches for delivery of drugs topically," *AAPS PharmSciTech Springer*, 2020.

[246] M. I. Mohamed, A. A. Abdelbary, S. M. Kandil, and T. M. Mahmoud, "Preparation and evaluation of optimized zolmitriptan niosomal emulgel," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 45, no. 7, pp. 1157–1167, 2019.

[247] M. Nerantzaki *et al.*, "Amphiphilic block copolymer microspheres derived from castor oil, poly (ε-carpolactone), and poly (ethylene glycol): Preparation, characterization and application in naltrexone drug delivery," *Materials*, vol. 11, no. 10, p. 1996, 2018.

[248] A. N. Mwangi *et al.*, "Meloxicam emulgels for topical management of rheumatism: Formulation development, in vitro and in vivo characterization," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 29, no. 4, pp. 351–360, 2021.

[249] P. Viitanen, E. Suokas, P. Törmälä, and N. Ashammakhi, "Release of diclofenac sodium from polylactide-co-glycolide 80/20 rods," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 17, no. 12, pp. 1267–1274, 2006.

[250] G. Ganarajan, D. C. Sharma, P. Tangri, and P. Kothiyal, "Design and characterization of apremilast loaded emulgel for topical treatment," *IJPBS*, vol. 8, no. 3, pp. 552–562, 2018.

[251] H. R. Thanushree, K. K. GB, and A. Acharya, "Formulation development of diclofenac sodium emulgel using Aloe vera gel for transdermal drug delivery system," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, vol. 10, no. 5, pp. 3858–3865, 2017.

[252] N. R. Charyulu, P. Joshi, A. Dubey, and A. Shetty, "Emulgel: A Boon for Enhanced Topical Drug Delivery," *Journal of Young Pharmacists*, vol. 13, no. 1, p. 76, 2021.

[253] S. G. Begum *et al.*, "A Review on Emulgels-A Novel Approach for Topical Drug Delivery," *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, vol. 7, no. 2, pp. 70–77, 2019.

[254] S. K. Yadav, M. K. Mishra, A. Tiwari, and A. Shukla, "Emulgel: a new approach for enhanced topical drug delivery," *Int J Curr Pharm Res*, vol. 9, no. 1, pp. 15–19, 2016.

[255] J. Thomas, S. Kuppuswamy, A. A. Sahib, A. Benedict, and E. George, "A review on emulgel as a current trend in topical drug delivery system," *International Journal of pharmacy and pharmaceutical science*, vol. 9, no. 3, pp. 273–281, 2017.

[256] V. Pakhare, S. V. Deshmane, S. S. Deshmane, and K. R. Biyani, "Design and development of emulgel preparation containing diclofenac potassium," *Asian Journal of Pharmaceutics*, vol. 11, no. 4, pp. S712–S716, 2017.

[257] S. Lefnaoui, N. Moulai-Mostefa, M. M. Yahoum, and S. N. Gasmi, "Design of antihistaminic transdermal films based on alginate–chitosan polyelectrolyte complexes: characterization and permeation studies," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 44, no. 3, pp. 432–443, 2018.

[258] L. P. Fonseca, R. B. Trinca, and M. I. Felisberti, "Amphiphilic polyurethane hydrogels as smart carriers for acidic hydrophobic drugs," *International journal of pharmaceutics*, vol. 546, no. 1–2, pp. 106–114, 2018.

[259] T. Şenyiğit, I. Tekmen, Ü. Sönmez, P. Santi, and Ö. Özer, "Deoxycholate hydrogels of betamethasone-17-valerate intended for topical use: in vitro and in vivo evaluation," *International journal of pharmaceutics*, vol. 403, no. 1–2, pp. 123–129, 2011.

[260] S. J. Mohammed *et al.*, "Structural characterization, antimicrobial activity, and in vitro cytotoxicity effect of black seed oil," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2019, 2019.