

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Spécialité : Chimie des produits naturels

Présenté Par : M^{elles} KESSOUM Amina et RAIS Feryal

Thème :

***INSERTION DE BIOMOLECULES PHOTO-
ACTIVES DANS DES MATRICES POLYMERIQUES
ET APPLICATION***

Soutenu le 28 Septembre 2020

Devant le jury composé de :

M ^{me} ZEFFOUNI Z.	MAB	Université de Blida 1	Présidente
M ^{me} BENMERAD F.	MAB	Université de Blida1	Examinatrice
M ^{eur} BOUTOUMI H.	Pr.	Université de Blida1	Promoteur

Promotion 2019/2020

RESUME

La désacétylation de la chitine extraite de la carapace conduit à la formation du chitosane ; un polysaccharide linéaire constitué de deux unités monomères, N-acétyl-2-amino-2-déoxyglucopyranose et 2-aminoglycopyranose, appartenant à la famille de glycosaminoglycanes. Grâce à sa biodégradabilité et non toxicité, le chitosane trouve beaucoup d'applications surtout dans le domaine biomédical ; mais ces utilisations restent limitées à cause de sa faible solubilité.

Dans le but de développée leur propriétés et augmenté le spectre d'activité de ce biopolymère ; la modification chimique du chitosane par des greffons contenant des groupements carbonyles fournit des liaisons imines avec l'amine libre d'unités désacétylé caractérisant une base de Schiff.

Le greffage du chitosane par des molécules photo-sensibilisantes comme les furocoumarines, caractérisé par de fortes activités biologiques, et utiliser surtout dans le traitement des maladies dermatologiques (vitiligo et psoriasis) par la photochimiothérapie et la photophérèse ; extraites à partir des plantes appartiennent à la famille des Rutaceae comme la *Ruta montana* en se basant sur des méthodes d'extractions classiques et alternatives, résulte un polymère photosensible réticulé appliqués dans l'administration de médicaments, l'encapsulation des médicaments et ainsi dans la dégradation des polluants d'eau.

Mots clés : Base de Schiff, chitosane, furocoumarine, photo-sensibilisante, *Ruta montana*

ABSTRACT

The deacetylation of chitin extracted from the shell leads to the formation of chitosan; a linear polysaccharide consisting of two monomer units, N-acetyl-2-amino-2-deoxyglucopyranose and 2-aminoglycopyranose, belonging to the family of glycosaminoglycans. According to its biodegradability and non-toxicity, chitosan finds many applications, especially in the biomedical field; but these uses remain limited because of its low solubility.

In order to develop their properties and increase the spectrum of activity of this biopolymer; chemical modification of chitosan by grafts containing carbonyl groups provides imine bonds with the free amine of deacetylated units characterizing a Schiff base.

The grafting of chitosan by photo-sensitizing molecules such as furocoumarins, characterized by strong biological activities, and used especially in the treatment of dermatological diseases (vitiligo and psoriasis) by photochemotherapy and photopheresis; extracted from plants belong to the Rutaceae family like *Ruta montana* based on conventional and alternative extraction methods, results in a crosslinked photosensitive polymer applied in drug delivery, drug encapsulation and thus in the degradation of water pollutants.

Key words: schiff base, chitosan, furocoumarin, photo-sensitizing, *Ruta Montana*

ملخص

يؤدي استخراج الكيتين من القشرة إلى تكوين الكيتوزان باتباع عملية نزع السيثلة، يتكون عديد السكاريد الخطي من وحدتين مونومر، ان-استيل-2-امينو-2-ديوكسي-غليكوبيجانوس و2-امينو-غليكوبيجانوس؛ ينتمي هذا الاخير إلى عائلة غليكوزامينو غليكان.

يجد الكيتوزان العديد من التطبيقات خاصة في مجال الطب الحيوي و ذلك لكونه غير سام وله قابلية للتحلل البيولوجي، لكن إستخداماته تظل محدودة نوعا ما بسبب انخفاض قابليته للذوبان. من أجل تطوير خصائص هذا البوليمر وزيادة طيف نشاطه الحيوي؛ نلجأ إلى تعديله كيميائيا عن طريق الطعوم التي تحتوي على مجموعات الكربونيل التي بدورها تشكل روابط إيمينية مع الأمين الحر لوحدات منزوعة الأستيل المميزة لقاعدة شيف .

تطعيم الكيتوزان بجزيئات حساسة للضوء مثل فيروكومارين ، التي تتميز بأنشطة بيولوجية قوية وتستخدم بشكل خاص في علاج الأمراض الجلدية (البهاق والصدفية) عن طريق العلاج الكيميائي الضوئي والفصل الضوئي ؛ المستخرجة من نباتات تنتمي إلى عائلة غوتاسي مثل غوتا مونتانا استنادًا على طرق الاستخراج التقليدية والبديلة، مما ينتج عنه بوليمر متشابه حساس للضوء ليتم تطبيقه في امتصاص وتغليف الأدوية بالإضافة إلى تفكيك ملوثات المياه.

الكلمات المفتاحية: قاعدة شيف، كيتوزان، فيروكومارين، حساسة للضوء ، غوتا مونتانا

REMERCIEMENTS

Tout d'abord nous nous remercions Allah de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de la science

*Au terme de ce travail nous tenons à exprimer notre profonde gratitude
remerciement à notre cher professeur et encadrant Monsieur « Boutoumi Houcine »
a pour avoir accepté d'encadrer notre travail, pour son soutien et ses précieux
conseils durant l'élaboration de ce manuscrit*

*Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury d'avoir accepté
d'évaluer ce travail*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements à Mme « Drioueche Asma » notre
co-encadreuse de nous avoir énormément aidé et encourager au long de la rédaction
de ce mémoire*

*Nous remercions à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la
réalisation de ce modeste travail*

Encore une fois, Merci à tous !

Dédicaces

Après de longues années ce modeste mémoire voit en fin le jour

Je dédie ce travail :

A ma très chère maman, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'elle m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurais tant aimé partagé la joie de ma réussite avec elle

A mon très cher papa, qui est ma offert sa vie pou moi par son sacrifice pou mon bonheur et ma réussite dans mes études

A mes très chères sœurs et leurs petites familles

A mes très chers frères : Kamel, Oussama et Tadj el dine

A toute ma famille son exception

A mes proches amies : Ahlem, Achouek, Zahra, Nesrine, Sabrina, Fella, Flora et Khadidja

A mon binôme Feryal

A tous les étudiants de ma promotion Master II CPN Blida

Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, de secondaire ou de l'enseignement supérieur

Amina

Dédicace

A mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection.

A mes chers frères et sœurs, source de joie et de bonheur.

A toute ma famille, source d'espoir et de motivation.

A tous mes amis, tout particulièrement Nesrine, Zahra, Ahlem,

Flora, Achouek.

A Amina, chère amie avant d'être binôme.

A vous cher secteur.

Feryal

SOMMAIRE

Résumé	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
CHAPITRE I: EXTRACTION ET EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES FUROCOUMARINES A PARTIR DE RUTA MONTANA L	
I.1. Généralité sur les furanocoumarines.....	3
I.1.1. Structures et propriétés chimiques	3
I.1.2. Distribution dans le règne végétal	5
I.1.3. Rôle écologique.....	6
I.1.4. Localisation des furocoumarines au sein d'une plante.....	6
I.1.5. Méthodes d'extractions des furocoumarines.....	7
I.1.6. Propriétés biologiques	12
I.1.7. Application thérapeutiques de furocoumarine	15
I.1.8. La phototoxicité des furocoumarines	20
I.2. Description de la plante <i>Ruta montana</i>	21
I.2.1. Description botanique.....	22
I.2.2. Classification systématique.....	22
I.2.3. Composition chimique	23
I.2.4. Intérêt thérapeutique	25
I.2.5. Toxicité de la plante	26
CHAPITRE II : HEMI-SYNTHESE DES BASES DE SCHIFF PHOTO-SENSIBLE A BASE DES BIOPOLYMERES	
II.1. Généralité sur les biopolymère.....	27
II.1.1. Définition	27
II.1.2. Classifications	27
II.1.3. Les biopolymère étudiés	28
II.2. Modification chimique.....	35
II.2.1. Bases de Schiff.....	35
II.2.2. Synthèse de photo-sensibilisants dérivées du chitosane et applications.....	40
Conclusion.....	53
Référence bibliographique	

LISTE DES FIGURES

Figure I.1: Exemple de plantes appartenant aux quatre familles botaniques produisant des Furocoumarines en grande quantité.....	5
Figure I.2 : Un extracteur Soxhlet.....	9
Figure I.3 : Appareillage d'extraction assisté aux ultrasons.....	9
Figure I.4 : Appareillage d'extraction assistée par microondes.....	10
Figure I.5 : Schéma général d'extraction par CO2 Supercritique.....	11
Figure I.6 : Appareillage d'extraction accélérée par solvant.....	12
Figure I.7 : Réaction de photo-addition du psoralène sur la thymine.....	14
Figure I.8 : Structure d'une cyclo-addition entre psoralène et l'acide linoléique.....	37
Figure I.9 : Photos des patients maladie par le vitiligo.....	16
Figure I.10 : Traitement du vitiligo par la photochimiothérapie.....	17
Figure I.11 : Traitement du psoriasis par la balnéo-PUVAthérapie.....	18
Figure I.12 : Principes de la photochimiothérapie extra-corporelle.....	18
Figure I.13 : Dermites phototoxiques d'origine végétale.....	21
Figure I.14 : <i>Ruta Montana</i> L.....	22
Figure I.15 : Fleur de <i>ruta montana</i> L.....	22
Figure I.16 : Structure de la rutine isolée du <i>ruta montana</i> de la Turquie.....	23
Figure I.17 : Les différentes structures d'alcaloïdes de <i>ruta montana</i>	24
Figure I.18 : Les différentes structures de furocoumarines de <i>ruta montana</i>	25
Figure II.1 : La structure chimique de la chitine.....	28
Figure II.2 : Les sources de chitine et chitosane.....	30
Figure II.3 : Réaction chimique de formation de chitosane.....	31
Figure II.4 : La structure chimique de chitosane.....	32
Figure II.5 : Les différentes formes de chitosane.....	34
Figure II.6 : Structure générale des bases de Schiff de chitosane.....	36
Figure II.7 : Schéma de synthèse générale de base de Schiff de chitosane avec aldéhyde/cétone.....	36
Figure II.8 : Structures de base de Schiff N°1.....	37
Figure II.9 : Structure de base de Schiff N°2.....	37

<u>Figure II.10</u> : Structure de base de Schiff N°3.....	37
<u>Figure II.11</u> : Structure de base de Schiff N°4.....	38
<u>Figure II.12</u> : Structure de base de Schiff N°5.....	38
<u>Figure II.13</u> : Structure de base de Schiff N°6.....	39
<u>Figure II.14</u> : Mécanisme réactionnel générale de formation des bases de Schiff.....	40
<u>Figure II.15</u> : Synthèse des dérivés de chitosane photosensible.....	41
<u>Figure II.16</u> : Structure de chitosane méthacrylique.....	41
<u>Figure II.17</u> : Aspect de chitosaneméthacrylamide avant et après l'irradiation.....	42
<u>Figure II.18</u> : Mécanisme de libération de métronidazole par le film photo-réticulé de chitosaneméthacrylamide sensible au glucose.....	42
<u>Figure II.19</u> : Schéma de préparation de chitosane photosensible.....	44
<u>Figure II.20</u> : Structure de N-[3-methoxy-4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy) benzyl] chitosane.....	45
<u>Figure II.21</u> : immobilisation autocatalytique au Nickel sur du bois (cypres japonais) enduit de chitosane témoin et de chitosane durcis par UV.....	45
<u>Figure II.22</u> : Spectre d'absorption de chitosane double greffé en fonction du temps d'irradiation UV.....	46
<u>Figure II.23</u> : Schéma de synthèse de chitosane photosensible double greffé.....	47
<u>Figure II.24</u> : Structure de chitosane-ACHCA.....	48
<u>Figure II.25</u> : changements dans les motifs spectraux UV du film mince chitosane-ACHCA après irradiation UV.....	48
<u>Figure II.26</u> : diagramme représente l'effet du temps d'irradiation sur le degré de réticulation d'un chitosane-ACHCA.....	49
<u>Figure II.27</u> : Photo-réticulation de chitosane-ACHCA.....	49
<u>Figure II.28</u> : Résultats histologique de l'implantation avec un chitosane photosensible.....	50
<u>Figure II.29</u> : schéma représente l'isomérisation de l'azobenzène.....	51
<u>Figure II.30</u> : schéma illustrative de la synthèse de polymère nanoporteur et la co-encapsulation de médicament.....	51
<u>Figure II.31</u> : Mécanisme de la photosensibilisation.....	52

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I.1</u> : Structure chimiques des principales furocoumarines linéaires et angulaires.....	3
<u>Tableau I.2</u> : Les proportions des furocoumarines dans <i>ruta montana</i>	25
<u>Tableau II.1</u> : Classifications des biopolymères.....	27

LISTE DES ABREVIATIONS

ACHCA :	Acide α -cyano-4-hydroxycinnamique
AcOH :	Acide acétique
AcONa :	Acétate de sodium
ADEME :	Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie
AIPcS4 :	Chloro aluminum tetrasulfophthalocyanine
ASE :	Extraction accélérée par solvant
CCM :	Chromatographie sur couche mince
C₂H₃O :	Groupe acétyle
CI :	Concentration inhibitrice
CPE :	Effet cytopathique
CSB :	Base de Schiff de Chitosane
CSBs :	Dérivés de base de Schiff de Chitosane
DDA :	Degré de désacétylation
DL :	Dose létale
DMF :	Diméthyl formamide
DMSO :	Diméthyl sulfoxyde
DPPh :	Diphényl-picrylhydrazyl
DS :	Degré de substitution
EC :	Concentration efficace
ECP :	Photochimiothérapie extracorporelle
EDC :	N-(3-diméthylaminopropyl)-N-éthylcarbodiimide hydrochloride
GlcNac :	N-acetyl-D-glucosamine
Fe₃O₄ :	Tétraoxyde de fer
HPA :	Hypothalamus-hypophysaire-surrénalien
HSCCC :	Chromatographie contre courant à grande vitesse

ICP :	Spectrométrie à plasma à couplage inductif
MAE :	Extraction assistée par microonde
MAO :	Monoamine oxydase
MFVF :	[(Methyl furylene vinylene)] furancarboxyaldehyde
MHz :	Mili hertz
MNZ :	Métronidazole
MDA :	Malondialdéhyde
MOP :	Méthoxypsoraléne
NA :	Neuraminidase
NaBH₃CN:	Cyanoborohydrure de sodium
NAPPAM :	N-(4-aminosulphonyl) phenyl acrylamide
NHPAM :	N-4-hydroxy acrylamide
NHS :	N-hydroxysuccinimide
NMP :	N-méthyl-2-pyrrolidone
NP :	Nucléoprotéine
PEO-CHO :	poly(oligoéther)carboxaldéhyde
PHB:	Poly hydroxy butyrate
PHVB:	Poly hydroxybutyrate valonate
PLA :	Poly acide lactique
PNSC :	N-succinyl-N-4-(2-(4-(phenylazo)phenoxy)ethanoloxo)-succinyl-chitosane
SOD :	Superoxide dismutase
TMP :	Triméthylpsoraléne



INTRODUCTION

Récemment, des efforts concertés pour protéger l'environnement non seulement en utilisant des matériaux naturels renouvelables respectueux de l'environnement, mais aussi en utilisant des matériaux qui se décomposent naturellement dans l'environnement comme les biopolymères [1].

Les biopolymères sont donc des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables [2]. Le chitosane, un polyaminosaccharide linéaire obtenu par la désacétylation de la chitine, qui est le principal composant constituant la carapace des crustacés ; est le biopolymère naturel le plus abondant après la cellulose ; le chitosane est caractérisé par la non toxicité, la biocompatibilité et sa biodégradabilité ce qui rend largement utilisé en médecine, en traitement de l'eau et d'autre domaine [3]. Cependant, leurs utilisations sont limitées à cause de son insolubilité dans les solvants organiques en générale à l'exception de certains acides, de plus le chitosane et ses dérivés ont une faible solubilité dans l'eau en raison de non protonation dans des conditions de pH neutre et alcalin [4].

Récemment, diverses études ont été menées à fabriquer des dérivés du chitosane par des techniques de modification chimique, par modification du greffon afin de surmonter cette difficulté, il est particulièrement intéressant en présence des groupements amine libre sur les unités désacétylées, qui peuvent être modifiés ou greffés par réaction de condensation avec les composés carbonyles de synthétisé des base de Schiff à base de ce biopolymère [5].

Certaines molécules qui peuvent greffer sur le chitosane et comportent des groupements chromophores dans leur structure donc absorbés des rayonnements lumineuse à des longueurs d'ondes définies transfert leur propriétés photo-sensibilisante au polymère et permet à ce dernier de convertir en un gel solide ou un film mince fortement réticulé présentant une grande résistance aux agents chimiques et atteint les propriétés mécaniques requises pour pourraient fournir des applications médicales à cause de sa capacité antimicrobien dans l'administration de médicament[6], de sa biocompatibilité [7] et utilisé comme un support nano-transporteur inerte porté un médicament ciblé au cellules[8].

Dans ce contexte l'hémi-synthèse de base de Schiff à base de furocoumarines, qui sont des molécules hétérocycliques photo-sensibilisantes comportent dans leur structure un groupement carbonyle et possède la capacité d'absorber la lumière et devenue réactif peuvent liés aux macromolécules comme l'ADN ; donne un intérêt judicieuse dans des applications divers.

Notre travail est divisé en deux chapitres :

- ✚ Dans le premier chapitre, une étude bibliographique est menée sur une présentation générale des furocoumarines, leurs structures, leurs différentes sources végétales et chemins d'extractions, ensuite on présentera leurs différentes propriétés physico-chimiques et les applications associées.
- ✚ Le deuxième chapitre est consacré sur l'étude des biopolymères plus précisément le chitosane, son différent sources, leur propriétés physico-chimiques. La dernière partie est consacrée à la synthèse des chitosane fonctionnels greffés par le photosensibilisateur. En effet, afin d'obtenir un film chitosane structuré photo-actif, Dans ce chapitre, les différentes synthèses et modifications chimiques pour obtenir les bases de Schiff photosensible lors de cette étude seront donc détaillées ainsi que les applications associées
- ✚ la conclusion permettra de faire un résumé récapitulant l'importance de la modification chimique de chitosane ainsi les propriétés acquis après la réticulation ; en effet l'insertion des furocoumarines avec le chitosane donne la possibilité de synthèse des bases de Schiff photo-sensibilisants.

CHAPITRE I

EXTRACTION ET EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES FUROCOUMARINES A PARTIR DE *RUTA MONTANA*

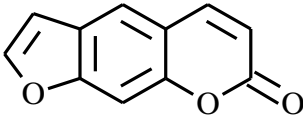
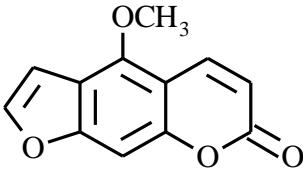
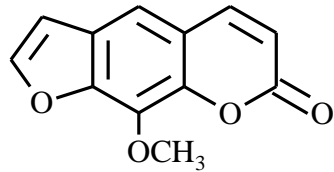
I.1. Généralité sur les furanocoumarine :

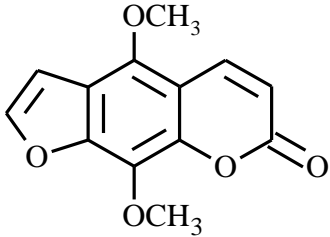
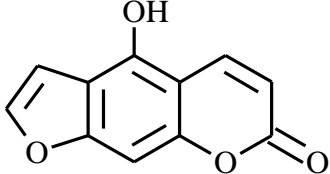
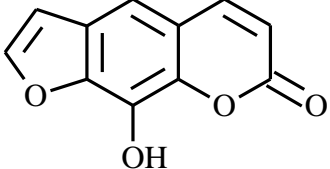
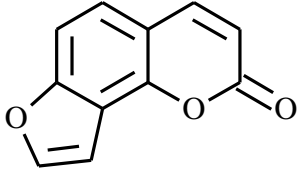
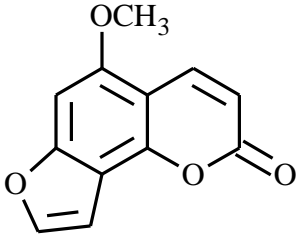
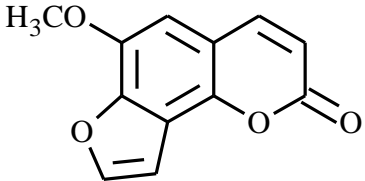
Les furanocoumarines sont utilisées en médecine traditionnelle depuis longtemps. Le livre Indien sacré Atharva Veda décrit le traitement de la leucoderme (vitiligo) à l'aide d'un cataplasme d'une plante maintenant connus sous le nom de *psoralea corylifolia*, et les anciens Egyptiens utilisaient Ammi majus pour le même trouble. La première furanocoumarine, 5-méthoxypsoralène, a été isolée en 1838 par KALBRUNNER à partir d'huile de bergamote [9].

I.1.1. Structures et propriétés chimiques :

Les furanocoumarines ou furanocoumarines sont des molécules tricycliques, produites par la condensation de deux hétérocycles, coumarine (ou benzo-alpha-pyrone) et furane. La position du cycle furane permet de distinguer deux types de furanocoumarines linéaires dont la forme de base est le psoralène et les angulaires représentées par l'angélicine. Les furanocoumarines constituent une classe de molécules abondantes, où chaque membre se distingue par la présence de divers groupements (hydroxy, alkoxy...) sur les carbones 2', 5 et 8 [10]. Les furanocoumarines linéaires les plus communes sont des dérivés méthoxylés du psoralène : Le 5-méthoxypsoralène ou bergaptène (5-MOP), le 8-méthoxypsoralène ou xanthotoxine (8-MOP) et le 5,8-diméthoxypsoralène ou isopimpinelline (5,8-MOP) sont déterminés dans le tableau I.1).

Tableau I.1 : Structure chimique des principales furanocoumarines linéaires et angulaires [9].

Dérivés	Formule Moléculaire
Psoralène	
Bergaptène	
Xanthotoxine	

Dérivés	Formules moléculaires
Isopimpinelline	
Bergaptol	
Xanthotoxol	
Angélicine	
Isobergaptène	
Sphondine	

Les furocoumarines présentent une bonne solubilité dans les solvants aprotiques apolaires comme le chloroforme, mais sont peu solubles dans certains solvants protiques polaires tels que le méthanol, l'éthanol et l'eau. Ce sont des molécules relativement stables qui résistent bien aux températures élevées. Toutefois, cette stabilité diminue lorsqu'on les soumet à un rayonnement UV. Les substituants présents sur le noyau coumarine, qui varient selon les furocoumarines, leur confèrent différentes propriétés physico-chimiques. L'ensemble de ces propriétés fait des furocoumarines des molécules qu'il est possible de séparer et de caractériser par les techniques de chromatographie sur couche mince (CCM), de chromatographie gazeuse (GC), et de chromatographie liquide haute performance (HPLC). De plus, les spectres d'absorption peuvent être caractérisés avec un détecteur à barrette de diodes car le noyau lactone des furocoumarines absorbe les rayonnements UVA (320-400 nm) [11].

I.1.2. Distribution dans le règne végétal :

Les furanocoumarines sont distribuées principalement chez quatre familles botaniques à savoir les Apiacées, les Rutacées, les Fabacées et les Moracées [12] sont illustré dans la figure I.1.



Ficus Carica (Moracées)



Coronilla emerus (Fabacées)



Ammi majus (Apiacées)



Citrus bergamia (Rutacées)

Figure I.1: Exemple de plantes appartenant aux quatre familles botaniques produisant des Furanocoumarines en grande quantité [13].

Certaines familles botaniques ne synthétisent que des formes linéaires. C'est le cas des Rutacées (*R. graveolens*, *Citrus bergamia*) qui synthétisent principalement du bergaptène (5-MOP), de la xanthotoxine (8-MOP) et de l'isopimpinelline [14,15], de la majorité des Moracées (*Ficus carica*) [16] bien que récemment des formes angulaires aient été mises en évidence chez *Dorstenia gigas* [17], et de certaines Apiacées (*Ammi majus*) [18]. D'autres familles botaniques synthétisent à la fois des furocoumarines linéaires et angulaires. C'est le cas des genres *Psoralea*, *Cullen* et *Coronilla* de la famille des Fabacées qui synthétisent uniquement des formes simples telles que le psoralène et son isomère angulaire, l'angélicine [19]. Certaines plantes de la famille des Apiacées (*Apium graveolens*, *Pastinaca sativa*) produisent également les deux formes linéaires et angulaires [20].

I.1.3. Rôle écologique :

Les furocoumarines sont des phytoalexines présentant un spectre d'action relativement large. En effet, ces molécules protègent la plante contre les herbivores et les microorganismes pathogènes grâce à leurs propriétés phototoxiques d'une part [21] Par exemple, des furocoumarines contenues dans les graines d'*Heracleum laciniatum* inhibent la croissance *in vitro* du champignon *Cladosporium*. La présence de furocoumarines dans ces graines présente un avantage adaptatif certain face aux micro-organismes qui menacent l'embryon au moment de la germination [22], d'autre part elles sont impliquées dans des processus d'allélopathie, inhibant la germination et la croissance des plantes environnantes, comme l'aviprine (furocoumarine linéaire extraite d'Apiacées) qui inhibe la germination de la laitue ou l'ammirine (Rutacées) qui inhibe celle de l'amarante [23].

I.1.4. Localisation des furocoumarines au sein d'une plante :

En raison de leur rôle de protection, les furocoumarines sont principalement localisées dans et à la surface des organes les plus exposés à la prédation. On trouve ainsi les concentrations les plus importantes dans les jeunes feuilles, dans les fruits et surtout dans les graines [12]. Cette localisation préférentielle au niveau des organes « clés » permettrait à la plante d'alléger le coût métabolique engendré par la synthèse de ces molécules [24]. Dans une même idée « d'économie métabolique », chez certaines plantes comme le céleri (*Apium graveolens*), la synthèse de furocoumarines est fortement induite en conditions de stress [25]. Mais la localisation des furocoumarines au sein des plantes est aussi soumise aux conditions environnementales et peut donc varier au cours de temps [23].

Les furocoumarines peuvent être toxiques pour la cellule, elles sont stockées ou excrétées de sorte qu'elles ne perturbent pas le fonctionnement cellulaire. Par exemple, les rutacées possèdent des glycosyl transférases qui glycosylent les furocoumarines cytosoliques qui sont ensuite stockées dans la vacuole [26]. Cette glycosylation permet d'inhiber la toxicité de ces molécules de façon provisoire [27]. Lors d'une attaque par un insecte, les blessures occasionnées permettent la libération des furocoumarines glycosylées qui sont ensuite remobilisées et transformées en forme aglycones par des B-glycosidases du cytosol retrouvant son activité toxique [28].

I.1.5. Méthodes d'extractions des furocoumarines:

L'extraction représente une étape cruciale à la fois pour le développement d'une méthode analytique pour l'étude de la composition d'un matériel végétal et pour l'isolement de composés naturels [29]. De nombreux facteurs peuvent affecter considérablement le rendement d'extraction y compris la technique d'extraction, la polarité du solvant, la nature chimique de l'isolat et sa concentration dans la matrice végétale et la durée d'extraction [29].

L'extraction des furocoumarines est fréquemment effectuée au moyen de procédures « classiques » basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation comme extraction par soxhlet et la macération, l'avantage de ces méthodes d'extraction résulte de l'équipement de base, peu coûteux, la simplicité de l'équipement permet à ces méthodes de se maintenir par rapport à de nouvelles techniques telles que les extractions par ultrasons, assistée par micro-ondes, par fluide supercritique ou par solvants accélérées [29].

I.1.5.1. Macération :

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction après la diffusion ce dernier à l'intérieur des cellules végétales, le processus est continué avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint [30]. En prend l'exemple d'extraction des furocoumarines (psoralène, xanthotoxine et bergaptène) à travers les surfaces des feuilles de *ruta graveolens*, d'après ZOBEL et al, les processus de broyage, de congélation et de lavage doivent être évités, en particulier lorsqu'il s'agit de travailler avec

des feuilles car peuvent également entraîner des pertes physiques de matériel cuticulaire cireux, affectant ainsi la quantification finale des furocoumarines [31]. Un simple trempage des feuilles du *R. graveolens* frais dans de l'eau bouillante dans une durée <2s, suivi d'une extraction liquide-liquide avec l'acétate d'éthyle et comparé avec l'extraction par des solvants organiques (MeOH et Me₂CO) à température ambiante a été appliqué par ZOBEL, la quantité extraite avec de l'eau bouillante est de 720µg/g au totale très important par rapport à l'extraction par solvant dans 1 min [31].

I.1.5.2. Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à la saturation de ce dernier par le soluté. Dans un système conventionnel de Soxhlet comme la montré la figure I.2, la matière végétale est placée dans une cartouche, et remplie de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant les substances dissous extraites dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le soluté est séparé du solvant par distillation pour qu'elle restée dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction complète soit réalisée et le solvant s'enrichit en substances extraites [30]. Les furocoumarines sont extraits à partir des fruits de *Archangelica officinalis hoffm* selon le protocole suivi par WAKSMUNDZKA et al, tout d'abord, les fruits ont été séchés, pulvérisés et extraits dans un extracteur de soxhlet avec éther de pétrole (40-60°C) pendant 15h, la marc obtenus poursuivie avec du méthanol à nouveau pendant 15h, les extraits obtenus ont été évaporés à sec dans un évaporateur sous vide à pression réduite. Les rendements obtenus en mg/g sont : Umbelliférone (0,0047) ; Xanthotoxine (1,2852) ; Isopimpinelline (1,0633) ; Bergaptène (3,3217) ; Impérorine (13,1188) ; Phellopterine (6,5908) [32].

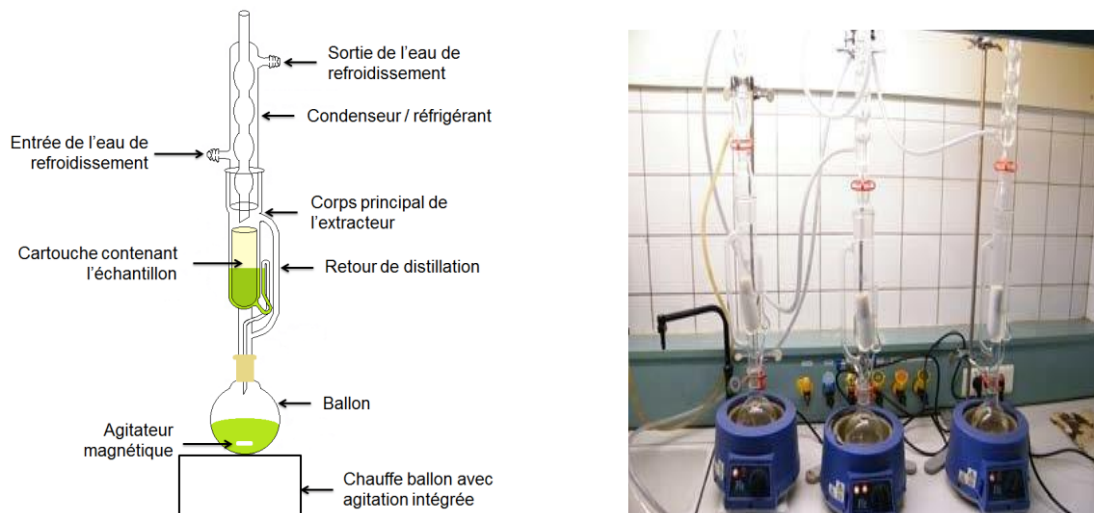


Figure I.2 : Un extracteur Soxhlet.

I.1.5.3. Extraction assistée par ultrason (UAE):

L'extraction par ultrasons est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par ultrasons permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale [30]. Selon WAKSMUNDZKA, l'extraction des furocoumarines à partir des fruits de *Pastinaca sativa* avec éther de pétrole suivi du méthanol dans un bain ultrasonique à 60°C pendant 30min, une méthode efficace pour récupérer un bon rendement (Xanthotoxine 11 mg/g ; Isopimpinelline 4mg/g et Impérorine 14 mg/g) [33].



Figure I.3: Appareillage d'extraction assistée aux ultrasons.

I.1.5.4. Extraction assistée par microondes (MAE) :

Lors d'une extraction assistée par micro-ondes, les microondes transmettent l'énergie (de fréquence de 0,3 à 300 GHz) aux substances à l'intérieur de matière végétale (en particulier les molécules polaires) et converti en énergie thermique. Par conséquent, la surchauffe intérieure peut provoquer la vaporisation du liquide à l'intérieur des cellules, ce qui peut rompre les parois cellulaires facilitant ainsi la libération des composés actifs dans le solvant et améliorant leur extraction [30]. Un couple d'extraction assistée par micro-ondes (2450 MHz) avec une méthode de chromatographie contre courant à grande vitesse (HSCCC) a été développé par QUI et al en 2012, pour la séparation et la purification de l'isopimpinelline, pimpinelline et phelloptérine à partir de 3,5 g d'une poudre séchée de *Toddalia asiatica* (L) Lam, ont été extraits avec 20 ml de méthanol (rapport solide/liquide de 1/10, g/ml) sous 50°C pendant 1min. l'extrait brut a été séparé et purifié par (HSCCC) (UV-vis=270 nm, vitesse de 800 rpm) avec un système de solvant hexane-acétate d'éthyle-méthanol-eau (5 : 5 : 5,5 : 4,5). 0,85 mg/g d'isopimpinelline (95%), 2,55 mg/g de pimpinelline (99,1%) et 0,95 mg/g de phelloptérine (96,4%) ont été obtenus à partir de l'échantillon d'origine en une étape en 240 min, la pureté est déterminée par HPLC et leurs structures sont identifiées par MS et RMN [34].



Figure I.4 : Appareillage d'extraction assistée par microondes.

I.1.5.5. Extraction par fluide supercritique (SFE) :

L'état supercritique correspond à un fluide dont la T et P sont supérieures à son point critique.

En extraction, le CO₂ supercritique est le plus utilisé du fait que les coordonnées de son point critiques sont facilement accessibles (31°C- 74 bar), de ses propriétés inertes et ininflammable, de sa faible toxicité et sa haute pureté à faible coût. Cependant le CO₂ fluide n'est efficace que pour l'extraction des molécules apolaires (similaire de polarité de

l'hexane) du coup peut en outre être modifié par l'addition d'un co-solvant (méthanol). Au cours de l'extraction, la matière végétale est chargée dans un extracteur cylindrique à travers laquelle le CO₂ circule à l'état supercritique, il va se charger de molécules solubles dans les conditions opératoires de P et T définis, ensuite il va détendus dans un séparateur pour devenir gazeux état où son pouvoir solvant est nul pour que le soluté précipite et tombe au fond du séparateur [31]. LOURENCO et al, ont été extrait la xanthotoxine et l'isopimpinelline à partir des feuilles de *zanthoxylum tinoassuiba*, après un prétraitement de séchage et broyage, les feuilles ont soumis au CO₂ supercritique en maintenant les conditions de P et T pendant 45min, extracteur (400 ml) est maintenu à 10.10⁷ Pa et 313 K. Ils ont ajoutés 5% de méthanol et isopropanol successivement au CO₂ [35].

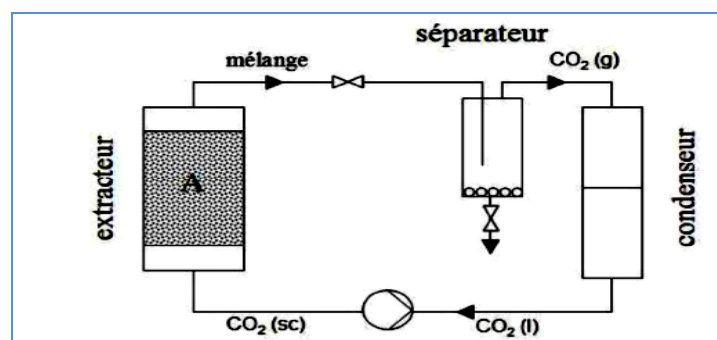


Figure I.5 : schéma générale d'extraction par CO₂ supercritique.

I.1.5.6. Extraction accélérée par solvant (ASE) :

Processus d'extraction solide-liquide effectuée à température et pression élevées environ de 50-200°C et 10-15 MPa. La pression exercée est assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'ASE, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques. Bien que le solvant utilisé soit les solvants organiques ou l'eau chaude pressurisé en faible quantité en comparaison à l'extraction au soxhlet, en réalisant ainsi une extraction efficace et rapide. Cependant cette technique peut causer une dégradation des solutés thermolabiles à température élevée [35]. L'extraction des furocoumarines appliquant l'ASE à partir des fruits de *Archangelica officinalis hoffm* avec le méthanol à 100-130°C et 60 bar pendant 10 min montre les rendement suivant en: isopimpinelline 3,6 mg/g; umbelliférone 1,4 mg/g ; isopimpinelline 1,2 mg/g; phellopterine 6,7 mg/g et pour impérorine 21,3 mg/g [32].



Figure I.6 : Appareillage Extraction accélérée par solvant.

I.1.6. Propriétés biologiques :

La structure aromatique des furocoumarines est responsable de leur capacité à absorber les longueurs d'onde UVA (320-400 nm), les furocoumarines excitées ont des effets photosensibilisants où plusieurs mécanismes sont impliqués : formation d'oxygène actif ; photoaddition avec ADN, les protéines et les lipides; formation d'intermédiaires réactifs (radicaux libres, des peroxydes ou des époxydes) [36].

I.1.6.1. Photooxydation et photolyse :

En présence d'un rayonnement UVA (320-400 nm), les furocoumarines sont susceptibles de quantifier l'énergie absorber puis les transférées au oxygène moléculaire, pouvant générer donc des espèces oxygénées réactives ($^1\text{O}_2$, H_2O_2 , $\text{H}_2\text{O}^\bullet$) par des réactions de photooxydation impliquées dans l'apoptose cellulaire [37]. Les travaux de MARLEY ont ainsi montré que l'irradiation du psoralène par les UVA provoque la formation de dérivés carbonylés (aldéhydes, acides) hautement toxiques par des réactions de photolyses. La formation de ces produits et en particulier des aldéhydes, pourrait être à l'origine du caractère phototoxique des furocoumarines [38].

I.1.6.2. Photoactivation et photocycloaddition :

Lorsque les furocoumarines sont soumises à un rayonnement UV, elles ont la capacité de se fixer à différentes macromolécules dans la cellule.

✚ Sur ADN

Les furocoumarines peuvent subir des phénomènes de photocycloaddition avec ADN comprenant 3 étapes [39]:

- Etape 1 : les furocoumarines forment des complexes moléculaires avec des acides nucléiques d'ADN par des liaisons de Van der Waals et hydrogènes de faible énergie.
- Etape 2 : Après irradiation avec de la lumière UVA, les furocoumarines activées sont combinées avec des bases pyrimidine (thymine) par cyclo-addition [2.2] formant une liaison covalente entre C2'-C3' du cycle furane ou C3-C4 du pyrone.
- Etape 3 : les furocoumarines forment des réticulations après l'absorption d'un 2^{ème} photon reliant la thymine des deux brins d'ADN.

Cette réticulation est connue pour la Xanthotoxine et les furocoumarines linéaires sous le nom de psoralène bifonctionnel mais se produit rarement avec furocoumarines angulaires [40]. La photocycloaddition des furocoumarines sur l'ADN provoque une modification de sa structure, pouvant alors empêcher la réplication et finalement la prolifération des cellules ou engendrer des recombinaisons à l'origine de mutations dans la séquence d'ADN [13].

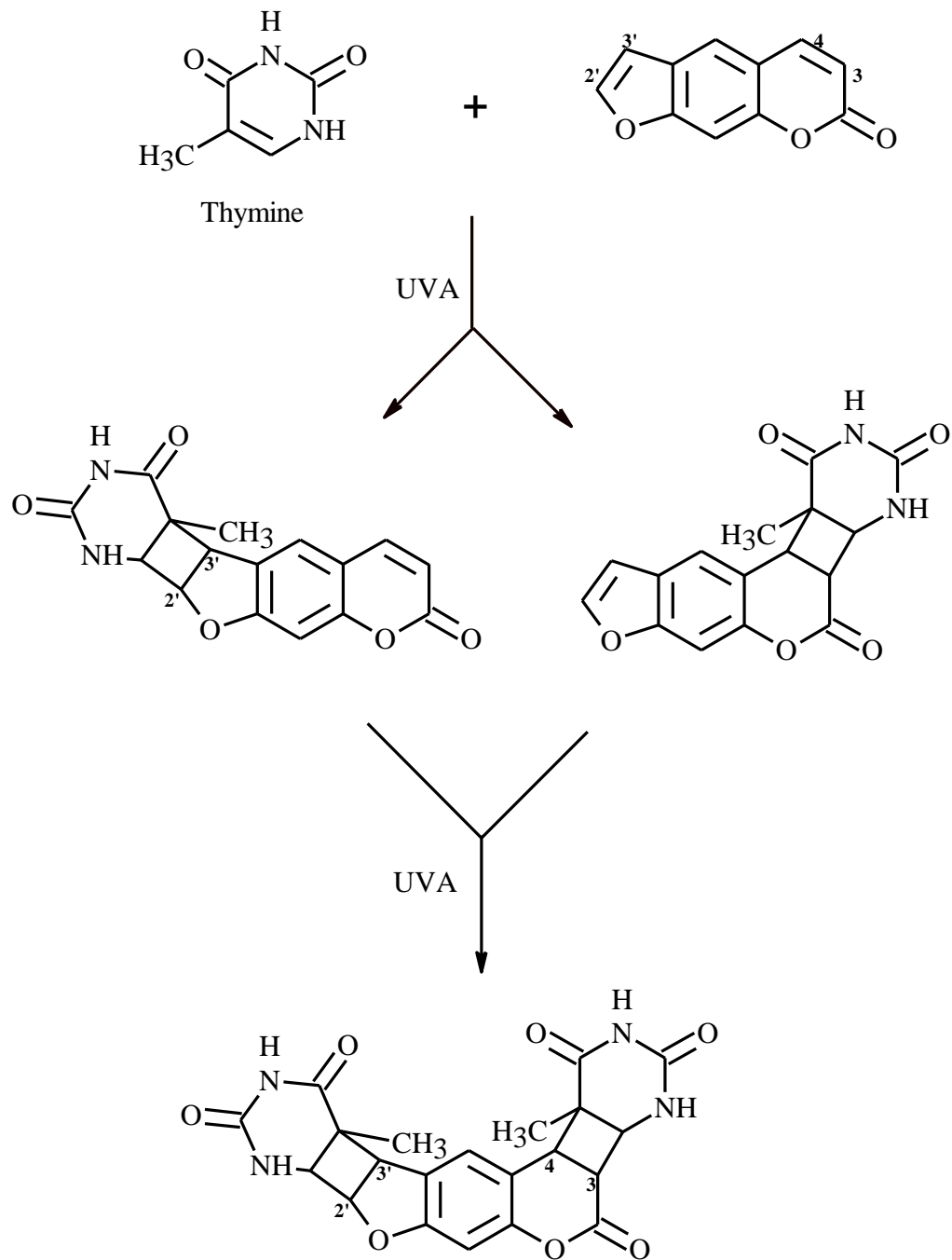


Figure I.7 : Photo-addition du psoralène sur la thymine [41].

✚ Sur Les Protéines :

Les réactions de photo-addition des furanocoumarines avec un large éventail de protéines conduisent à des perturbations cellulaires importantes comme la modification de signaux cellulaires, l'induction et/ou la répression de facteurs de transcription [13]. VERONESE et ces collègues ont déterminés la teneur en acides aminés du lysozyme avant et après irradiation UVA en présence de psoralène. Ils ont trouvés une corrélation étroite entre la

capacité des furocoumarines à photo-inactiver les enzymes et leur capacité à modifier les acides aminés cycliques (histidine, tryptophane, tyrosine, méthionine et phénylalanine). Ces acides aminés peuvent être les cibles les plus probables de modification des protéines des cellules traitées avec 8-MOP et UVA [42].

✚ Sur les Acides Gras

Les furanocoumarines soumises à un rayonnement UV peuvent endommager les membranes cellulaires en interagissant avec les lipides dont elles sont majoritairement constituées. Il existe deux types de réactions entre les furanocoumarines et les lipides membranaires : une réaction induite par des formes oxygénées réactives qui conduit à la peroxydation des acides gras insaturés, une réaction de photocycloaddition des furanocoumarines avec les acides gras insaturés qui pourrait stimuler la mélanogénèse [13].

- L'établissement de liaisons covalentes entre les carbones C₃, C₄ du cycle pyrone et/ou du cycle furane avec un acide gras s'effectue selon les mêmes mécanismes réactionnels mis en jeu avec les acides nucléiques [13].

L'acide gras possède plusieurs doubles liaisons, mais la photoaddition se produit principalement au niveau de la double liaison 12, 13 [43].

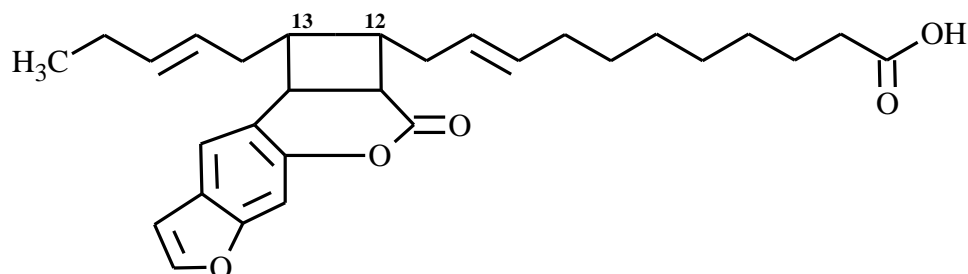


Figure I.8 : Structure d'une cycloaddition entre psoralène et acide linoléique [43].

I.1.7. Application thérapeutiques de furocoumarine :

Les effets thérapeutiques des furocoumarines sont très probablement les résultats de mécanismes biologiques. La plupart d'entre eux reposent sur l'activation des molécules par les rayonnements UV, précédant la fixation sur une macromolécule.

I.1.7.1. La photochimiothérapie :

La photochimiothérapie (ou P-UVA thérapie) est un traitement qui combine l'association de médicaments contenant des furanocoumarines avec une exposition aux rayonnements

UV (320-340 nm) et ceci dans le but de traiter certaines maladies de peau liées à une hyperprolifération cellulaire notamment le psoriasis, la mycose fongicoïde, le lichen planaire et le vitiligo. Le 8-MOP, le 5-MOP, le 4,5',8-triméthylpsoralène sont actuellement utilisées dans ce traitement et sont administrés 2h avant l'irradiation et peut être administré par voie orale ou application locale [9]. La capacité des furocoumarines à induire des photo-conjugaisons avec ADN dus aux effets génotoxiques ainsi que les effets antiprolifératifs ce qui permet d'inhiber la réplication cellulaire en conduisant donc une amélioration de la maladie [44].

a. Traitement de vitiligo avec la photochimiothérapie :

Vitiligo est un trouble pigmentaire idiopathique acquis de la peau et des cheveux caractérisé par la perte de mélanocytes fonctionnels de l'épiderme, avec l'apparition de macules blanches, cette maladie affecte jusqu'à 1 à 4% de la population [9]. La cause du vitiligo est inconnue, mais il a été rapporté qu'il peut provenir de causes auto-immunes, génétiques, de stress oxydatif, neurales ou virales, qui contribuent à la destruction des mélanocytes entraînant les lésions dépigmentées caractéristiques [9]. Les flavonoïdes sont bien connus pour leur propriété antioxydant et immunomodulatrice (par exemple curcumine, quercétine, hespéridine...) peuvent agir sur le système immunitaire et en combinaison avec le triméthylpsoralène (TMP) et UVA pourrait augmenter la repigmentation de la peau [45]. L'incorporation de TMP dans la nano-émulsion à base de lipide améliorerait sa perméation dans la peau, ce qui conduit à une photosensibilisation de la peau et active ainsi l'enzyme tyrosinase qui est le principal précurseur de la mélanogénèse [45].



Figure I.9 : Photos des patients malade par le vitiligo [46].



Figure I.10 : Traitement du vitiligo avec la photochimiothérapie.

b. Traitement du psoriasis avec la photochimiothérapie :

Le psoriasis est une affection cutanée chronique et auto-immune caractérisée par des plaques surélevées rouges, qui résultent d'une hyperprolifération de l'épiderme et d'une inflammation des couches épidermiques et dermiques [9]. En 1974, HARVARD et ses collègues ont été les premiers à utiliser la PUVA orale pour le traitement du psoriasis, des expositions répétées (18-20 traitements) aux UVA (320-390 nm) après ingestion orale de 8-MOP ont conduit à la disparition des lésions psoriasiques en inhibant la synthèse de l'ADN épidermique [47]. Des années plus tard, VALLAT et ses collègues ont introduit un modèle de traitement alternatif « la balnéo-thérapie », système de bain d'eau (bain PUVA), une nouvelle forme d'administration de PUVA dans laquelle le patient trempe pendant 15min dans une solution de psoralène (8-MOP) diluée (0,5 mg/1l d'eau) suivi immédiatement par l'exposition aux UVA (360 nm et une dose de 0,5 J/cm²) émise par des ampoules fluorescentes résultant d'une absorption cutanée uniforme et d'une répartition homogène du psoralène, le bain concentre sélectivement le psoralène dans l'épiderme par rapport au traitement PUVA utilisant le psoralène systémique [48]. La figure suivante montre le développement du psoriasis avant et après le traitement par la balnéo-PUVAthérapie.

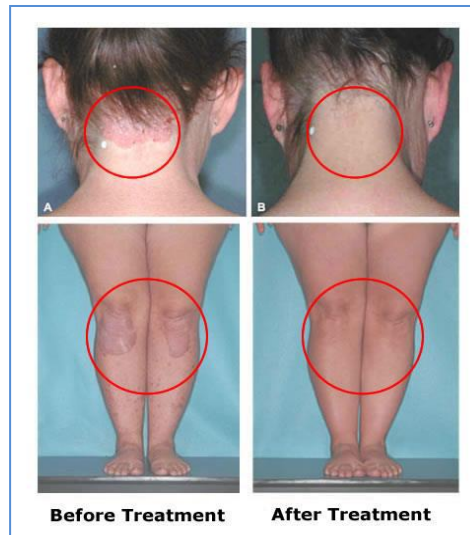


Figure I.11: traitement du psoriasis par la balnéo-PUVathérapie.

I.1.7.2. La photophérèse :

La photophérèse est une photochimiothérapie extracorporelle (ECP) été développé dans les années 80 par le Dr. EDELSON pour le traitement des lymphomes cutanés à cellules T [49]. Cette procédure d'aphérèse commence par la séparation du sang par centrifugation en trois composants : les érythrocytes, les leucocytes et le plasma. Les globules blancs et le plasma sont combinés puis irradiés par des rayons UVA de haute intensité ($1-2 \text{ J/cm}^2$) en présence d'un photosensibilisant 8-MOP, les composants combinés sont réinjectés dans la patient. Ce traitement conduit d'une suppression immunitaire spécifique de l'antigène vers les clones de cellules T pathogènes [50].

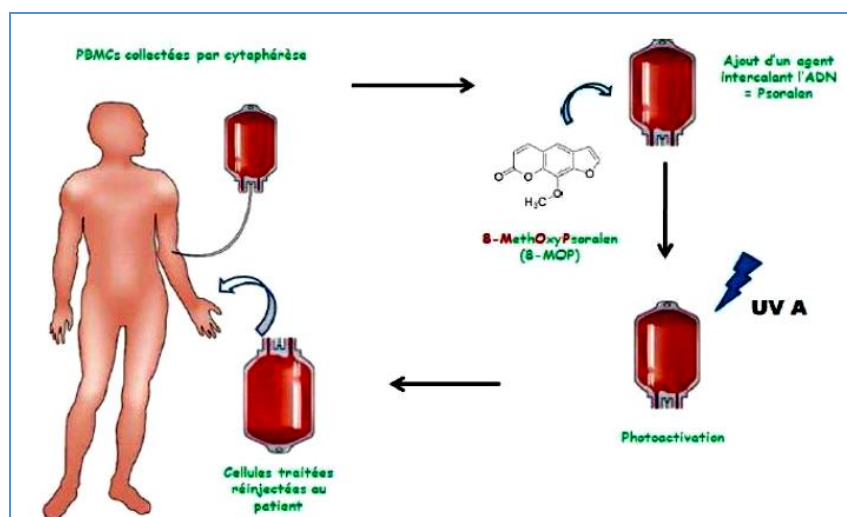


Figure I.12 : Principes de la photochimiothérapie extra-corporelle [51].

I.1.7.3. Traitement antidépresseur :

La dépression est une maladie qui peut avoir pour origine une hyperactivation de l'axe hypothalamus-hypophysaire-surrénalien (HPA en anglais), une augmentation du catabolisme des monoamines (MAO) et des dérèglements des systèmes oxydatifs [52]. De nombreux patients dépressifs présentent également une augmentation de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et le malondialdéhyde (MDA) un produit de la peroxydation lipidique [53]. CHEN et ses collaborateurs ont montré qu'un extrait de furanocoumarines de graines de *Psoralea corylifolia* diminuait les symptômes de stress chroniques et d'après leurs résultats, suggèrent que les furanocoumarines sont des antidépresseurs potentiels qui régulent la monoamine oxydase, la peroxydation des lipides et agit sur l'axe HPA [52].

I.1.7.4. Activités antioxydant :

Un radical libre est une molécule, un atome ou un ion qui possède un ou plusieurs électrons non appariés. Au cours de la pathogenèse de maladies chroniques, la surproduction de radicaux libres dans les tissus provoque une oxydation dommages causés aux lipides, aux protéines et à l'ADN en raison de sa réactivité élevée vers d'autres molécules. Ainsi, la réduction des oxydants stress par balayage de radicaux libres est reconnu comme une stratégie prometteuse de produits phytochimiques pour prévenir ou retarder l'apparition de maladies chroniques [54]. En 2004, XIANG et ces collègues ont été extrait 11 dérivés de furocoumarines à partir des racines d'une plante médicinale coréenne *Angelica dahuricae* utilisant le chlorure de méthylène comme solvant d'extraction, le 9-hydroxy-4-méthoxypsoralène est l'un de ces composés isolés, ils ont testé in vitro l'activité antioxydante, les résultats montre une inhibition de 50% de la formation de DPPH avec une concentration de 6,1 µg/ml (CI₅₀) [55].

I.1.7.5. Activités anti-inflammatoire :

L'inflammation est un processus biologique complexe en réponse lésion tissulaire, agents pathogènes ou stimulation chimique. L'inflammation chronique est positivement liée à plusieurs maladies chroniques, comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète et les maladies neurodégénératives [54]. En 2015, les chercheurs ont comparé les activités anti-inflammatoires de constituants isolés des parties aériennes ou racines d'*Angelica acutiloba* en utilisant le modèle cellulaire RAW 264,7 stimulé par les lipopolysaccharide. Grace à la chromatographie sur colonne, ils ont identifiés Zligustilide, falcarindiol et bergaptol et par comparaison, le bergaptol présentait de bonnes activités anti-inflammatoires dans les cellules RAW 264,7 par l'atténuation de la production de nitrites,

de prostaglandine. L'activité anti-inflammatoire du bergaptol a pris son origine dans une partie de la régulation à la hausse de l'hème oxygénase-1, qui joue un rôle protecteur contre les réponses inflammatoires en élevant l'activité antioxydante [56].

I.1.7.6. Activités anticancéreuse :

Les furocoumarines présentent également des activités anticancéreuses contre de nombreux types de cancer, y compris le cancer du sein, cancer de la peau et leucémie. Le cancer du sein est la seconde principale cause de décès chez les femmes du monde entier, la Société Américaine de cancer a rapporté environ 231 840 nouveaux cas de cancer mortel pour les femmes d'États-Unis. Le traitement typique du cancer du sein comprend la chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie. Des études ont suggéré que les composés phytochimiques isolés à partir des agrumes présentent un potentiel prometteur pour la prévention ou le retard du développement du cancer du sein [54]. En 2012, un groupe de chercheurs ont été démontrés que le traitement au bergabtène extrait de pamplemousse inhibe la croissance des cellules cancéreuses du sein (MCF-7 et ZR-75) pendant 48h ou 96h de manière dose-dépendante [57]. La diminution de la prolifération cellulaire après traitement a également été observée dans les cellules MCF-7 résistants au tamoxifène modulateur sélectif des récepteurs des œstrogènes [57].

I.1.7.7. Activités antivirale :

Un groupe de chercheurs ont été étudié les propriétés antigrippales d'un extrait n-butanolique des quatre furocoumarines (Isoimpératorine, oxypeucedanine, hydrate oxypeucedanine et impératorine) isolés à partir des racines de *Angelica dahurica* contre les virus de la grippe A (H_1N_1 et H_9N_2), pour cela, ils ont testé l'inhibition de la synthèse des protéines virales (NA et NP), l'inhibition des effets cytopathiques (CPE) dans différentes phases du cycle de réplication virale. Comme résultats, le Oxypeucedanine a montré un effet inhibiteur de CPE significatif contre H_1N_1 et H_9N_2 avec $EC_{50}=5,98\mu M$ plus fort que celui du ribavirine témoin avec du $EC_{50}=4,52\mu M$ et le niveau de production virale de NA et NP a été nettement réduit à moins de 20% pour les deux protéines dans les cellules traités avec Oxypeucedanine ($20\mu M$) par rapport aux cellules non traitée 2h après l'infection [58].

I.1.8. La phototoxicité des furocoumarines :

Les furocoumarines sont des composés photo-sensibilisantes qui ont au mois une double liaison résonante ou un cycle aromatique, lorsque absorbent une énergie rayonnante de

longueur d'onde dans la gamme 320-400 nm et avec leur propriété d'intercalation dans l'ADN causent de graves dommages cutanés commençant de 2 à 6 heures après exposition et atteignant un maximum pouvant être atteint de 12 à 24 heures puis disparaît au cours des prochains jours [59]. En particulier le 5-méthoxypsoralène (bergaptène) et le 8-méthoxypsoralène (xanthotoxine), composés volatils présents dans les HE de *Ruta montana* et *Ruta graveolens*. Plusieurs cas de réactions photo-toxiques sont signalés chez l'homme, à la suite de contact cutané avec des espèces appartenant à la famille des Rutaceae (plus particulièrement, le genre *Ruta* : *Ruta graveolens* et *Ruta chalepensis*) et d'exposition aux UV. Cela se traduit par des érythèmes, des dermatites bulleuses parfois sévères, simulant des brûlures, qui diffèrent des réactions de photoallergie [60].



Figure I.13 : Dermite photo-toxiques d'origine végétale [61].

Doses toxiques :

Peu de données sur la toxicité aiguë sont disponibles chez l'Homme.

0,1 à 1 g de poudre de *Ruta graveolens* agit comme emménagogue. On estime, en thérapeutique, la dose maximale de la poudre de *Ruta graveolens*, chez l'adulte, à 0,50 g/dose et à 1 g/24 heures [60]. Pour certains, un mélange de 10 mg 8-MOP + 10 mg 5-MOP, soit l'équivalent de 15 mg de 8-MOP, est phototoxique. Chez l'animal, les DL₅₀, per os, sont inférieures à 5 g/kg [60].

I.2. Description de la plante *Ruta montana* :

La rue appelée populairement « fidjel » est une plante annuelle de la famille des rutacées, utilisée depuis longtemps pour des usages thérapeutiques et culinaires. C'est une plante aromatique de la région méditerranéenne [62]. Elle vit à l'état spontané ou subspontané sur les lieux arides de presque toute la France, l'Europe méridionale et l'Afrique du nord. En Algérie, elle est rencontrée dans les zones montagneuses, elle pousse jusqu'à 1m et elle

fleurie de mai à juin. La plante émet une odeur très forte, plutôt désagréable et le goût de ses feuilles est très amer et acre [62].

I.2.1. Description botanique :

La rue de montagne « *Ruta montana* L. » couramment appelée « fidjel » en arabe local et « Awermî » en berbère, est un sous-arbrisseau appartenant à la famille des Rutacées, originaire du pourtour méditerranéen et du Moyen Orient [63] Caractérisé par des tiges grêles, il possède des feuilles vert glauque à blanchâtre, profondément découpées en segments linéaires, Le terminal étant un peu plus large; ses fleurs, groupées en grappes serrées, sont de petite taille et leurs pétales spatulés sont à peine dentés sur les bords [60]. Le fruit, une capsule globuleuse portée par un pédoncule court, ne dépasse pas 4 mm et se termine par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents [60].



Figure I.14 : *Ruta montana* L

Figure I.15: Fleur de *Ruta montana* L.

(Photos prises par NAJEM en mai 2017 dans la région d’Azrou) [63]

I.2.2. Classification systématique [64] :

Règne :	Plantae
Sous règne :	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Super division:	Spermatophyta (plantes à graine)
Division :	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Sous division :	Angiospermae
Classe :	Magnoliopsida (dicotylédons)
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Sapindales
Famille :	Rutaceae
Genre :	<i>Ruta</i>
Espèce :	<i>Ruta montana</i> L

I.2.3. Composition chimique :

Ruta Montana est riche en métabolites secondaires importants tels que des furanocoumarines, des alcaloïdes, des flavonoïdes et bien d'autres substances. Plusieurs études réalisées sur la plante ont clairement indiqué que son utilisation en thérapeutique était justifiée en raison de sa composition [65]. Le screening phytochimique des différentes parties des espèces de *Ruta* à révéler la présence de divers composés: huile essentielle (cétones aliphatiques), coumarines, (furanocoumarines : psoralène, bergaptène, etc.), alcaloïdes (essentiellement : furoquinoléines et dérivés de l'acridone), flavonoïdes (rutoside) [60].

➤ Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont un groupe de composé polyphenolique largement répandus dans le règne végétal. *Ruta Montana* produit majoritairement un flavonoïde glycosylé qui est la rutine ; Flavonoïde naturel de type flavonol qui a été extrait, pour la première fois de *Ruta graveolens* [66].

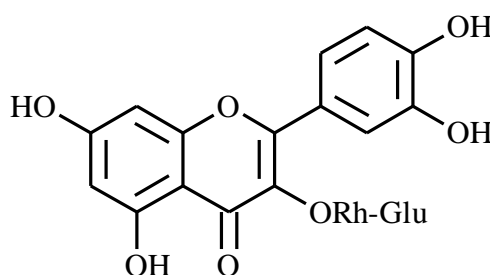
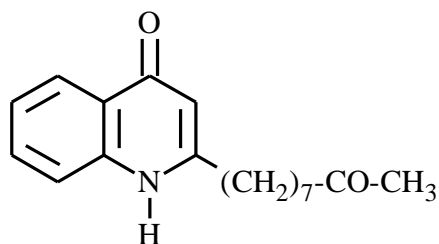


Figure I.16 : Structure de la rutine isolée du *Ruta montana* de la Turquie [67]

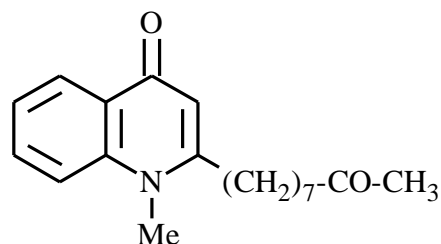
➤ Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances d'origine naturelle retrouvée dans environ 20% des espèces végétales azotées et basiques [68]. Les alcaloïdes constituent à côté des coumarines un second groupe de métabolites secondaires largement répandus dans la famille des Rutacées et plus particulièrement dans le genre *Ruta* [69].

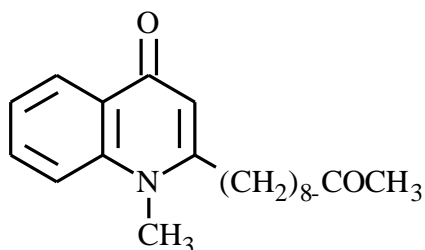
Différents types d'alcaloïdes ont été isolés à partir des différents organes de *Ruta montana* [70].



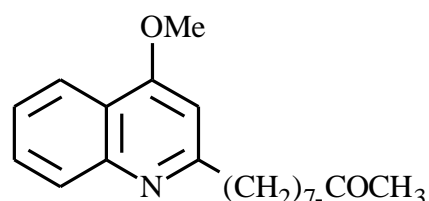
2-(nonan-8-one)-(1H)-4-quinolone



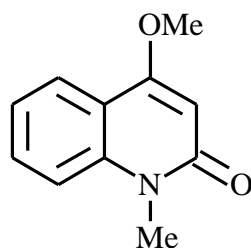
2-(nonan-8-one)-N-méthyl-4-quinoline



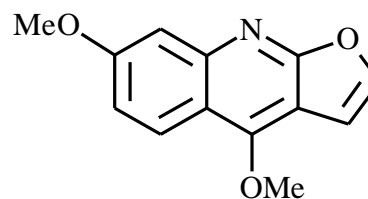
2-(decan-9-one)-N-méthyl-4-quinolone



2-(nonan-8-one)-4-méthoxy-quinoline



1-méthyl-4méthoxy-2-quinolone



Evolitrine

Figure I.17 : Les différentes structures d'alcaloïde de *ruta montana* [70].

➤ **Les huiles volatiles :**

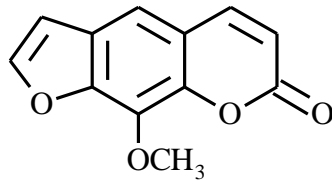
Les principaux composés étaient des monoterpènes oxygénés undécane-2-one (32,8%) et non-2-one (29,5%) et acétate-nonanol-2-acétate (18,2%) [71].

➤ **Les coumarines :**

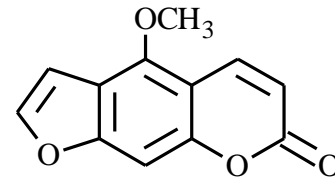
Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzoquinone [72]. *Ruta montana* contient des furocoumarines en quantités plus élevées que celles trouvés dans d'autres familles qui produisent les mêmes composés : la xanthotoxine, bergaptène, psoralène et l'isopimpinelline [73].

Tableau I.2 : représente les proportions des furocoumarines dans *Ruta montana* [73]

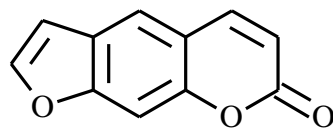
Molécules	Psoralène	Xanthotoxine	isopimpinelline	Bergaptène	Totale
Quantité mg/g	1,4	4,4	0,7	1,1	7,1



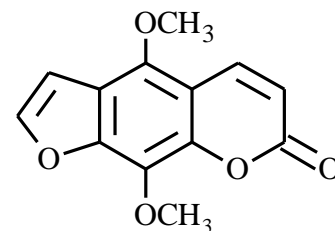
Xanthotoxine



Bergaptène



Psoralène



Isopimpinelline

Figure I.18: Les différentes structures de furocoumarine de *Ruta montana* [73].

I.2.4. Intérêt thérapeutique :

✚ Dans la médecine traditionnelle :

- Une étude fait par NAJEM et al [63] montre que la totalité ont recours à la rue de montagne pour des usages thérapeutiques, alors que 20,83 % seulement la recommandent en cosmétique, Tous les enquêtés utilisent la plante sous forme sèche mais certains l'utilisent également à l'état frais, ils ont utilisé les feuilles (100%), de moins en moins, les racines (96%), les fleurs (68%) et les tiges (64%).
- En Maroc elle est utilisée comme répulsif pour les moustiques et les serpents et un antidote des empoisonnements par les venins de serpents et de scorpions, appliquée en cataplasmes au niveau de la morsure ou de la piqûre.
- La plante fraîche écrasée est appliquée en cataplasme pour soigner les maux de tête, les contusions et les œdèmes. Le suc peut être utilisé comme collyre d'œil.

- L'infusion est employée en collyre contre les ulcérations de la cornée, en gouttes auriculaires pour les otites et les bourdonnements d'oreilles, en gouttes nasales pour traiter l'ozène ainsi que les fièvres et les vomissements du nourrisson et du jeune enfant.
- La décoction dans l'huile soulage, en friction, les rhumatismes, les courbatures et, appliquée sur la peau, a la réputation d'améliorer le vitiligo et le psoriasis.

Dans la médecine moderne :

Les métabolites secondaires, en particulier les coumarines et les alcaloïdes, sont responsables de la plupart des activités biologiques, elle est utilisée, à faible dose comme emménagogue, anthelminthique, diurétique et antispasmodique [63], stimulante, abortive, antiparasitaire et antirhumatismale [74] elle est aussi également utilisée chez les malades sujets aux attaques de l'épilepsie et l'hystérie [75].

I.2.5. Toxicité de la plante :

La toxicité de *Ruta montana* due à la présence des furocoumarines, l'empoisonnement par *Ruta montana* L. est due, en général, à l'ingestion d'infusion concentrée de la plante ou à son utilisation chronique [75].

Après absorption digestive, ces coumarines sont toxiques pour le rein et le foie voire cancérigènes car elles altèrent les acides nucléiques et peuvent aussi provoquer des lésions du génome. Les signes d'intoxication par la rue commencent par des troubles digestifs (douleurs, vomissements, hypersalivation) qui s'accompagnent rapidement de signes de choc, voire d'excitation neurologique et même de convulsions ; selon la gravité de l'intoxication, il peut se développer une insuffisance rénale et hépatique pouvant conduire au décès [76].

Une étude montre que la prise d'infusion des feuilles et des tiges de *Ruta montana* L. pendant une semaine à forte dose (3 infusions de 200 ml par jour) a causé une intoxication aiguë d'une femme en Tunisie [77]. L'usage thérapeutique de la rue de montagne est fréquent et revient sûrement à sa richesse en métabolites secondaires d'intérêt pharmacologique ; mais elle peut se révéler toxique en cas d'utilisation abusive et irrationnel [63].



CHAPITRE II

HEMI-SYNTHESE DES BASES DE SCHIFF PHOTO- SENSIBLE A BASE DES BIOPOLYMERES



II.1. Généralité sur les biopolymère:

II.1.1. Définition :

Selon l'UIPAC, les biopolymère se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), les biopolymère sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux [78].

II.1.2. Classifications :

Les biopolymères sont classés en fonction de leurs processus de synthèse [79] :

- a) **Polymères issus d'agro-ressources** : sont des macromolécules naturelles issus de ressources renouvelables tels que les polysaccharides, les protéines.
- b) **Polymères issus d'origine microbienne**: Les polymères d'origine microbienne sont des polyesters synthétisés au cours de la fermentation de matières premières d'origine naturelle et excrétés ou stockés par les microorganismes comprend principalement les polyhydroxyalcanoates.
- c) **Polymères issus des biotechnologies** : sont obtenus par une polycondensation (chauffage) de monomère obtenu par fermentation bactérienne à partir des ressources renouvelables

Tableau II.1 : Principaux biopolymère [79].

Polymères issus d'agroressources	Polymères issus d'origine microbienne	Polymères issus des Biotechnologies
<p>polysaccharides Amidon (blé, mais) Cellulose (bois), pectine, chitosane, chitine, agar et carraghénane (algue rouge)</p> <p>protéines Animales caséine, collagène gélatine, albumine végétales Zéine, Soya, Gluten</p>	<p>polyhydroxyalcanoates PHB PHVB</p>	<p>polylactides PLA</p>

II.1.3. Les biopolymère étudiés :

II.1.3.1. La Chitine et le Chitosane :

En 1811, le Pr. HENRI BRACONNOT, Directeur du jardin biologique à Nancy (France) a isolé une substance fibreuse d'un certain type de champignon. De plus, il a observé que cette substance n'est pas soluble dans les solutions aqueuses d'acides. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, le Pr. ROUGET a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé les différentes solubilités de la chitine. La substance, résultant du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, seulement en 1894 cette substance a été nommée chitosane par HOPPE-SEYLER [80].

Entre 1930 et 1940, ces biopolymère ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le monde médical et la purification de l'eau. A partir des années 70, le chitosane a commencé à susciter un réel intérêt en raison notamment des grandes quantités de déchets disponibles que produisaient les conserverais de crustacés [81].

II.1.3.2. Chitine :

La chitine est un polysaccharide structural constitué par des unités de N-acétyl-D-glucosamine (GlcNac) liées par des liens B (1 → 4) comme montre la figure II.1 .Elle diffère des autres polysaccharides par la présence d'azote en plus du carbone, d'hydrogène et d'oxygène dans la chaine macromoléculaire, la nature hydrophobe de la chaine la rend insoluble dans l'eau aussi bien que dans la plupart des solvants organiques [82].

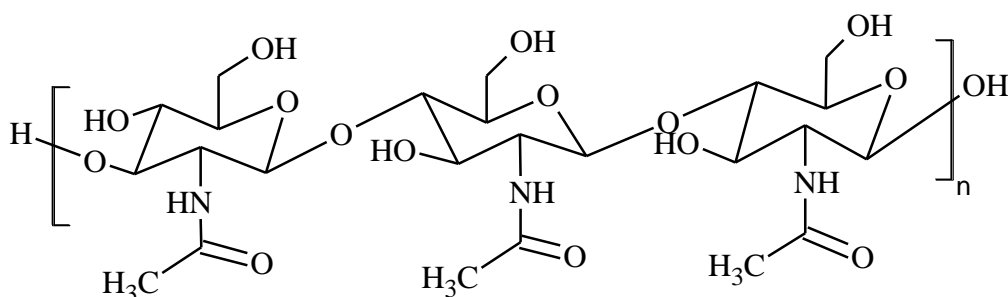


Figure II.1: la structure chimique de la chitine [83]

II.1.3.3. Sources de la Chitine et le Chitosane:

La chitine est le polysaccharide le plus abondant dans l'écosystème marin et le deuxième dans la nature après la cellulose [84]. Dans le règne animal, la chitine est un élément structural important des téguments de certains invertébrés ; elle n'existe que sous la forme

de complexes avec des protéines et des minéraux. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés. La chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique. Il est présent aussi dans certaines levures et bactéries [78].

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (figure II.2), elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevettes. Pendant longtemps, ces déchets n'étaient pas récupérés et étaient simplement rejetés à la mer après décorticage. La production de chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer, ce qui engendre des problèmes de pollution car les carcasses des arthropodes (crustacés, céphalopodes...) sont très résistantes à la biodégradation [85].

Les carapaces de crustacés contiennent environ 30-40% de protéine, 30-50% de carbonate de calcium, et 20-30% de chitine par rapport au poids sec [86].

Les estimations montrent que $3,2.10^4$ tonnes de chitine peuvent être produites annuellement dans la filière de la culture des champignons comestibles. Il faut retenir que la source majeure du chitosane vendu commercialement provient de la désacétylation de la chitine obtenue à partir de crustacés. Des études sur les basidiomycètes ont rapporté que la chitine constitue de 8 à 19 % du mycélium, alors que le chitosane ne dépasse guère 1 % [87,88].

La chitine est présente également dans le mycélium d'ascomycète *Aspergillus Niger* 42 % de chitine et 11 % de chitosane. Chez le zygomycète, *Rhizopus oryzae*, le chitosane constitue 14 % alors que chez *Mucor rouxii* le pourcentage est variable entre 8,9 et 35 % [89,90].

Animaux marins : Crustacés, Coelenterata, Annelida, Mollusca, Homard, Crevette, Krill, Crabe, des écailles de poisson.

Insectes : Scorpion, Brachiopode, Blatte, Araignée, Coléoptère, Fourmi.

Microorganismes : algues vertes, levure, Champignons (paroi cellulaire), Mycelia penicillium, algues brunes, chytridiacées, ascomycètes, blastocladiacées, spores.



Figure II.2 : sources de chitine et de chitosane [91].

La chitine est hautement hydrophobe et est insoluble dans l'eau, acides dilués et la plupart des solvants organiques ; il est soluble que dans les solvants peu communs, ce qui limite son utilisation et sa valorisation. En effet, elle n'est soluble que dans le hexafluoroisopropanol, hexafluoro-acétone et dans des mélanges tels que diméthyle acétamide/chlorure de lithium, soluble ainsi dans les solutions acides concentrés de HCl, H₂SO₄ (70-97%), H₃PO₄ et l'acide formique anhydre [92,93]. De nombreux dérivés de chitine ont été préparés dans le but d'améliorer la solubilité, le plus simple étant le chitosane.

II.1.3.4. Chitosane :

Le chitosane est un polysaccharide appartenant à la famille des glycosaminoglycanes. Le terme chitosane est donné à tout copolymère dont le DDA est inférieure à 50%, ainsi chaque motif est caractérisé par la fraction de groupement N-acétamide résiduels (DDA) ou par la quantité relative de groupement acétylé retirés à la macromolécule de chitine lors de sa préparation. Les propriétés du chitosane seront donc dépendantes du DDA et la MM, masse qui est souvent très élevé comme pour tous les polysaccharides [94].

II.1.3.4.1. Production :

La désacétylation de la chitine en chitosane implique l'élimination de l'acétyle, c'est-à-dire le groupe C₂H₃O entraînant la formation de groupe amino. Ce processus commence d'abord par des régions amorphes et se déplace vers des régions plus cristallines et se traduit par la formation de copolymères de N-acétylglucosamine et de glucosamine [95]. La désacétylation comme illustré le schéma dans la figure II.3 est réalisé en présence de soude concentrée (40-45%) à haute température (120°C), pendant 1-3h pour enlever certains ou tous les groupements acétylés de la chitine [83]. Il y a plusieurs facteurs essentiels qui

affectent le rendement de désacétylation comme la température, la durée de traitement, la concentration d'alcalin, traitement préalable appliqué à l'isolement de la chitine, la quantité de la chitine par rapport à la solution alcalin. L'utilisation d'atmosphère inerte (N₂) ou en présence de substances réductrices telles que le NaBH₄ permettent d'éviter la dépolymérisation du polymère [83].

Considérant toutes ces conditions nécessaires, le but idéal de la désacétylation est de préparer du chitosane qui n'est pas dégradé et qui est soluble dans l'acide dilué en un minimum de temps [93].

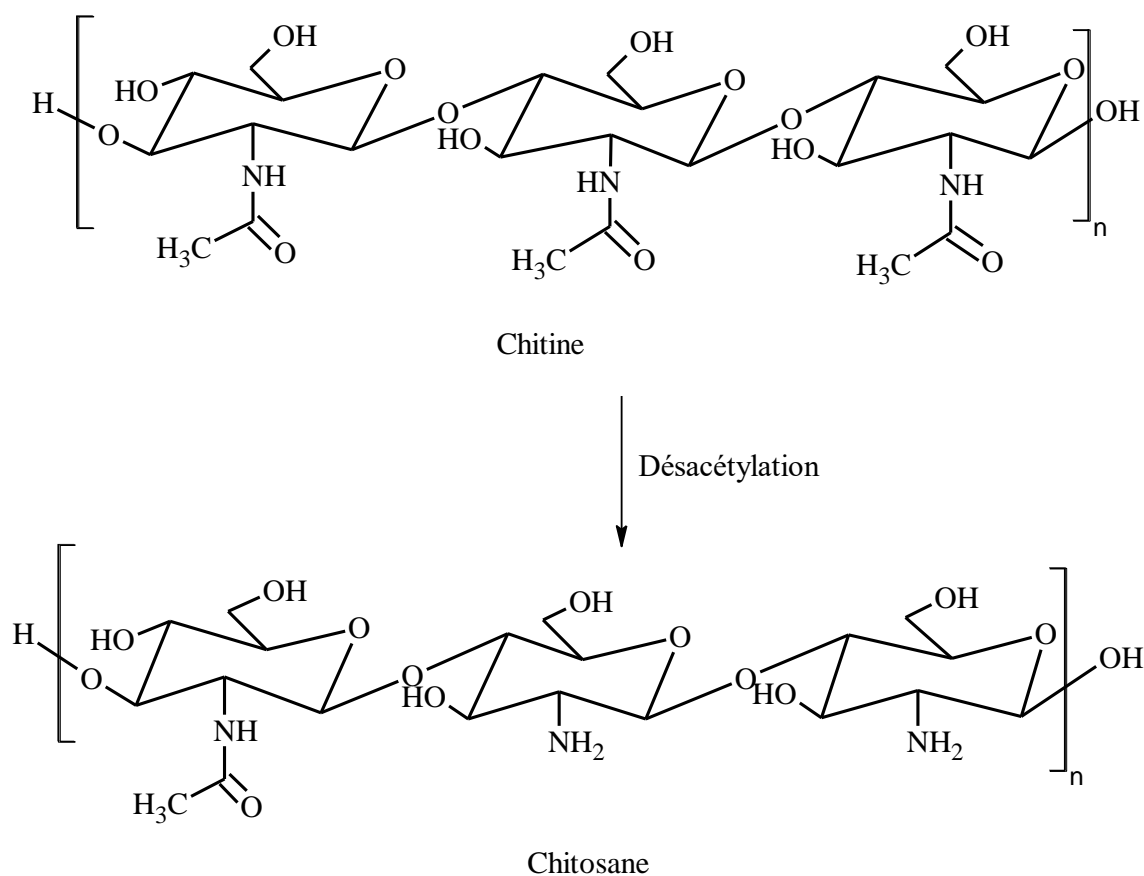


Figure II.3: formation chimique de chitosane [96].

II.1.3.4.2. Structure chimique :

Le chitosane (figure II.4) est structurellement analogue à la cellulose, dans laquelle l'hydroxyle de C2 a été remplacé par des groupements acétamido ou groupe amino [97]. Il s'agit d'un copolymère constitué d'unités N-acétyl-2-amino-2-déoxy-D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy-D-glucopyranose. Les deux types d'unités répétitives sont liés par les liaisons B (1→4) glucosidique [98].

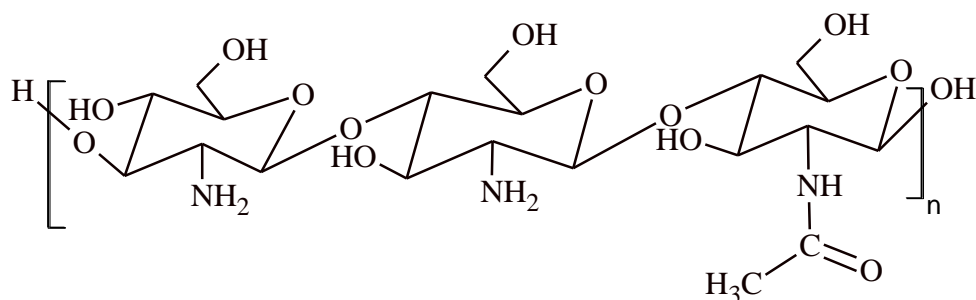


Figure II.4 : la structure chimique de chitosane [83].

Le chitosane est généralement moins cristallin que la chitine, ce qui rend probablement de chitosane plus accessible aux réactifs. La multitude des sites cationiques formés par la protonation des groupes amino par les acides le long de chaîne chitosane augmente sa solubilité en augmentant à la fois la polarité et le degré de répulsion électrostatique [99].

II.1.3.4.3. Importance environnementale :

Les polymères dérivés de chitosane semi-synthétiquement sont des aminopolysaccharides qui ont des structures uniques, des propriétés multidimensionnelles, une fonctionnalité hautement sophistiquée et un large éventail d'application dans les domaines biomédicaux et autres domaines industriels [100]. Ils sont devenus intéressants non seulement parce qu'ils sont fabriqués à partir d'une abondante ressource renouvelable, mais parce qu'ils sont des biomatériaux très compatibles et efficaces qui sont utilisés dans la pléthore d'application. Le chitosane est un polymère écologique car il est biodégradable, ce qui le rend exempté par l'Agence Américaine de protection de l'environnement à des tests de niveau de tolérance [101].

II.1.3.4.4. Les propriétés physico-chimiques de chitosane :

a. Masse moléculaire (MM):

Le chitosane est caractérisé par le nombre d'unités de sucre par mole de polymère (n), qui définit son poids moléculaire (MM) et affecte également la taille des cristaux et leurs caractéristiques morphologiques ; avec l'augmentation de la MM, la cristallinité de la membrane diminue. Le poids moléculaire de chitosane peut varier de 50 à 2000 KDa selon le processus de désacétylation [83].

b. Le degré de désacétylation (DDA) :

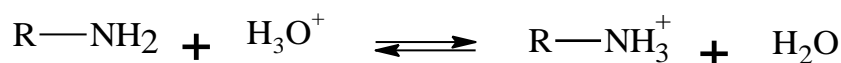
La teneur en acétyle dans le chitosane est mesurée par DDA. Le groupe amino est responsable de la polyvalence du chitosane, pour augmenter sa teneur et une désacétylation sera élevée (par exemple DDA >50%) est soumis à un traitement alcalin répété. Il a été démontré que le DDA du chitosane est liés à sa solubilité dans une solution acide et à la cristallinité de sa membrane, il est connu que la densité de charge le long de la chaîne augmente avec l'augmentation du DDA [83]. Le chitosane disponible dans le commerce a un DDA de 40 à 98%, avec l'augmentation de la désacétylation, la chaîne devient plus flexible, tendant ainsi à former une bobine aléatoire avec plus de liaisons hydrogène intramoléculaire au sein de la chaîne. En revanche, les chaînes de chitosane moins désacétylées sont plus étendus et ont des interactions intermoléculaires plus fortes, ce qui rend les chaînes plus intriquées [102]. Des techniques de spectroscopie (IR, RMN, UV-visible) et de titration permettent de le mesurer [102].

c. La viscosité :

La viscosité de la solution de chitosane augmente avec la concentration et le degré de désacétylation et chute lorsque la température augmente, plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, donc le chitosane est soluble et par conséquent sa viscosité est important [103]. Le chitosane est disponible dans le commerce avec une large gamme de viscosité. Il est utilisé comme agent améliorant la viscosité en raison de son poids moléculaire élevé et de sa structure linéaire et non ramifiée. Le chitosane est pseudo-plastique car la viscosité diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement [103]. La viscosimétrie est la méthode la plus employée pour connaître la viscosité de la solution du chitosane [81].

d. Solubilité:

Le chitosane est insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, les solutions alcalines, alcools, acétone, DMF, DMSO ; mai soluble en milieu acide dilué, que ce soit des acides organiques (acide acétique, lactique, citrique, solutions de l'acide formique 0,2-100%) ou minéraux (acides chlorhydrique, nitrique et phosphorique) [93]. Ce sont ses propriétés acido-basiques qui permettent une dissolution faciles grâce à la protonation de ses groupes amines suivants l'équilibre [81]:



La solubilité du chitosane dépend de la masse molaire, la force ionique du milieu, la nature de l'acide utilisé, les conditions d'isolation et de séchage du chitosane, les liaisons hydrogènes possibles impliquant les groupements hydroxyles et la distribution des groupements acétyles le long de la chaîne [104]. Ces paramètres influent particulièrement sur la conformation de la chaîne en solution. Le chitosane se comporte comme une sphère dans une solution aqueuse d'acide acétique ou comme une bobine aléatoire expansée dans l'urée [83]. L'insolubilité du chitosane est attribuée à la liaison hydrogène intermoléculaire à l'état solide. Il se dégrade avant de fondre, ce qui est typique des polysaccharides avec une liaison hydrogène étendue [83].

e. La cristallinité du chitosane :

La cristallinité est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés diffusionnelles [105]. La cristallinité est, en général, déterminée par des mesures de diffraction de rayons X. Elle peut être également mesurée par spectroscopie IR ou RMN du solide [105]. Le chitosane est également une substance semi-cristalline. Il cristallise dans le système orthorhombique et deux types de produits sont connus : le chitosane I (faible DDA, sous forme de sel) est plus désordonné que le chitosane II (fort DDA, forme amine libre) [105].

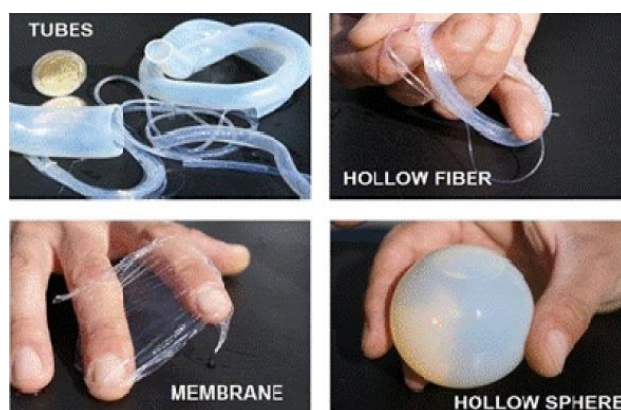


Figure II.5 : Différentes formes de chitosane [105].

f. Réactivité du chitosane :

La présence de nombreux groupes hydroxyle confère au chitosane un caractère hydrophile intéressant qui sera très utile pour des propriétés d'adsorption dans des solutions aqueuses et pour quelques réactions catalytiques. Cependant, le groupe réactif le plus important pour la conception de catalyseurs supportés est le groupe amine porté par le chitosane. Ces

groupes amine sont très réactifs pour la fixation des métaux et leur action peut passer par différents mécanismes [81].

Le pKa des groupes amine du chitosane dépend fortement du degré de désacétylation et du degré de neutralisation de ces groupes fonctionnels. SORLIER et COLL., ont trouvé que le pKa varie entre 6,4 et 7,2. Il augmente en fonction du DDA ; pour un chitosane faiblement acétylé le pKa est voisin de 6,4 [106]. En générale, en milieu acide, la plus part des groupes aminés sont protonés, ce caractère cationique est à l'origine de la fixation de différents anions tels que les colorants anioniques et les complexes d'anions métalliques [81].

II.2. Modification chimique:

Bien que le chitosane possède de nombreuses propriétés fonctionnelles, la mauvaise solubilité limite son utilisation [107].

Le chitosane possède une faible solubilité dans les milieux aqueux attribuée à leur structure rigide et à leur cristallinité, pour améliorer la solubilité dans l'eau, le chitosane est modifié par des réactions chimique comme le greffage, la réticulation ou par copolymérisation. L'amélioration de la solubilité du chitosane est un facteur crucial pour une utilisation judicieuse de la multitude d'application [108].

II.2.1. Bases de Schiff:

II.2.1.1. Définition :

Les bases de Schiff sont des produits de condensation d'amines primaires avec des composés carbonylés et ils ont été rapportés, pour la première fois, par Le chimiste allemand HUGO SCHIFF en 1864. Au cours des dernières années, de nombreuses études ont commencé à se concentrer sur l'utilisation de biopolymère pour la synthèse des bases de Schiff bioactives parmi les quelles le chitosane.

Les dérivés de bases de Schiff de chitosane (CSBs) sont généralement synthétisés par la condensation des groupes amino du chitosane avec les groupes carbonyle des aldéhydes/cétones via l'élimination des molécules d'eau [5].

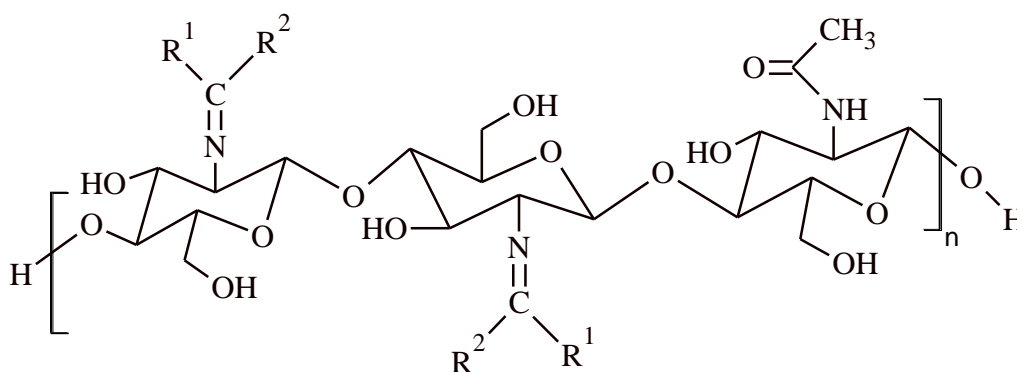


Figure II.6 : structure générale des bases de Schiff de chitosane.

II.2.1.2. Voies de synthèses :

S.HIRANO et Al. Ont synthétisé un premier CSB en 1977 en faisant réagir du chitosane avec différents aldéhydes en utilisant le mélange de solvant acétique-méthanol [5]. Après cela, de nombreux CSBs sont rapportés par différents groupes de recherche. Dans la plus part des cas, l'acide acétique ou l'éthanol ou le méthanol ou leur mélange est utilisé comme milieu solvant pour la synthèse de CSBs dans des conditions de température ambiante ou de reflux comme montré la réaction suivante [109].

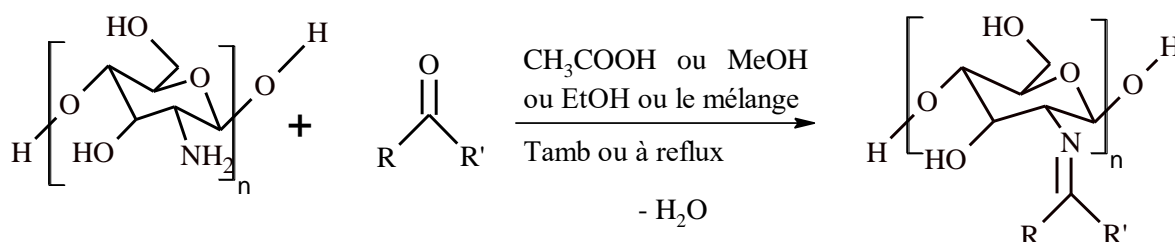


Figure II.7 : Schéma de synthèse générale de base de Schiff de chitosane avec aldéhydes/cétones [109].

a. Voie directe :

La voie directe est la plus simple, il suffit de mettre en réaction une cétone ou un aldéhyde avec le chitosane. On prend les exemples de synthèses comme suit :

II.2.1.2. 1. Préparation de deux dérivés phénoliques de la base de schiff de chitosane :

MOHAMED.A. HASSAN et Al, ont été synthétisé deux nouvelles bases de Schiff dérivés de chitosane ; ils ont mélangé la molécule de chitosane (MM=100000-300000 Da) dissous dans l'acide acétique de 2% de pureté avec un aldéhyde (indole-3-carboxyaldéhyde de 97% ou 4-diméthyl aminobenzaldéhyde de 99%) préalablement dissous dans l'éthanol. La réaction est chauffée à 50°C pendant 6h [110].

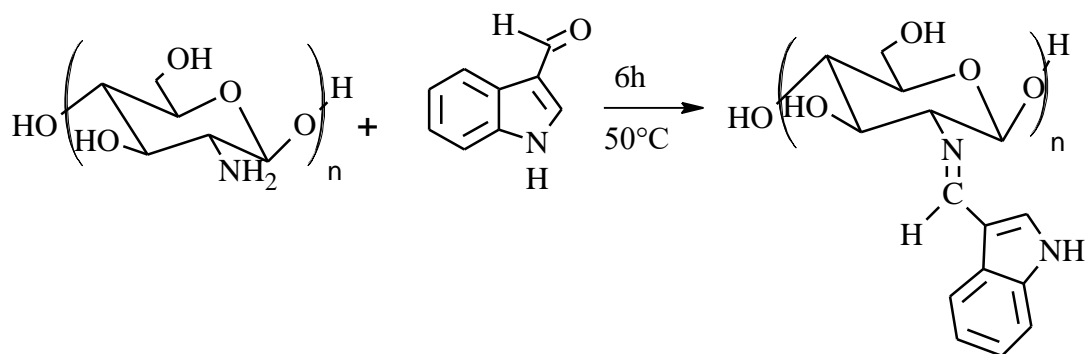


Figure II.8: Structures de base de Schiff N° 1 [110].

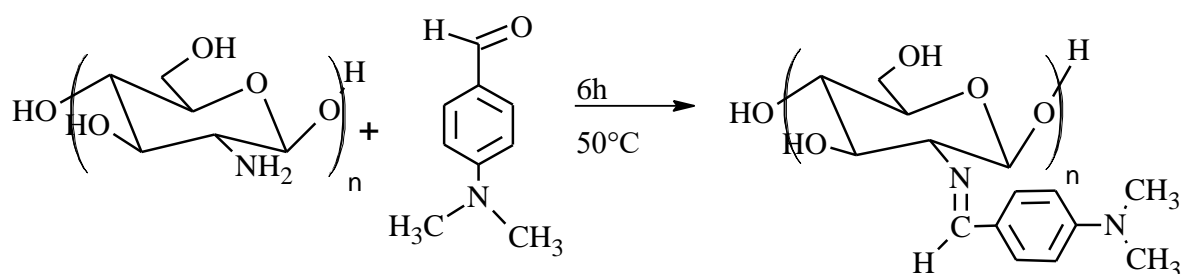


Figure II.9 : Structure de base de Schiff N°2 [110].

II.2.1.2. 2.Préparation de base de Schiff d'isatine/chitosane :

A.M.OMER et al, ont été préparés l'isatine chitosane on mélangeant le chitosane purifié dissous dans acide acétique (2%) avec un volume de THF contenant une quantité définie d'isatine. Ce mélange a été agité pendant 6h à 70°C. La formation d'une couleur jaune foncé se réfère à la formation de base de Schiff [111].

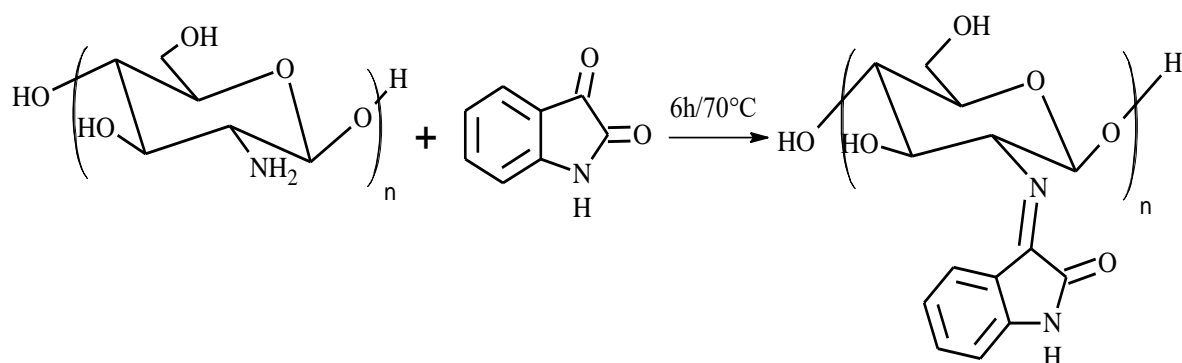


Figure II.10 : structure de base de Schiff N°3 [111].

II.2.1.2.3. Synthèse de deux dérivés de base de Schiff de chitosane aromatique :

TAMER M.TAMER et al, ont été préparés deux bases de Schiff aromatique. Ils ont couplés le chitosane dissous dans l'acide acétique à 2% avec un aldéhyde (4-chlorobenzaldéhyde 97%) ou cétone (benzophénone 98%) mélangé d'éthanol, la réaction est chauffée à 50°C pendant 6h [112].

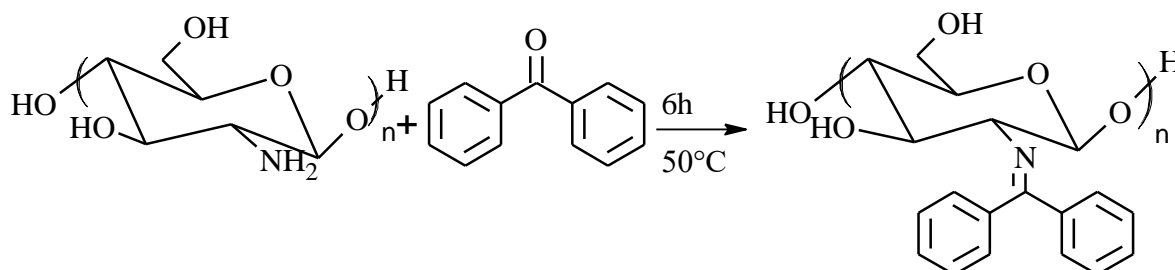


Figure II.11: Structure de base de Schiff N°4 [112].

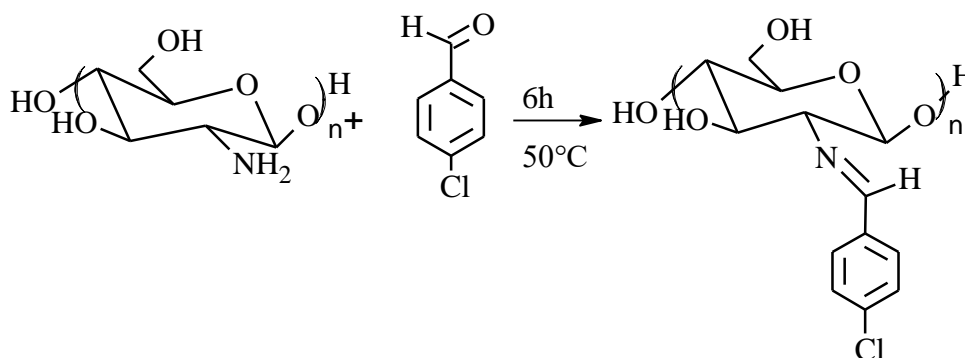


Figure II.12 : Structure de base de Schiff N° 5 [112].

b. Voie indirecte :

II.2.1.2.4. Synthèse de bases de Schiff o-carboxyméthyl chitosane :

La voie indirecte consiste à synthétiser une simple base de Schiff au départ, par réaction entre un dicétone et une amine, puis à greffer la base obtenue sur le chitosane, on obtiendra à la fin de cette réaction, deux bases de Schiff au lieu d'une seule, une qui est simple, et l'autre greffée sur le chitosane. On prend comme exemple la réaction présentée dans l'article publié dans le journal international des macromolécules biologiques comme illustrée le schéma suivant [113].

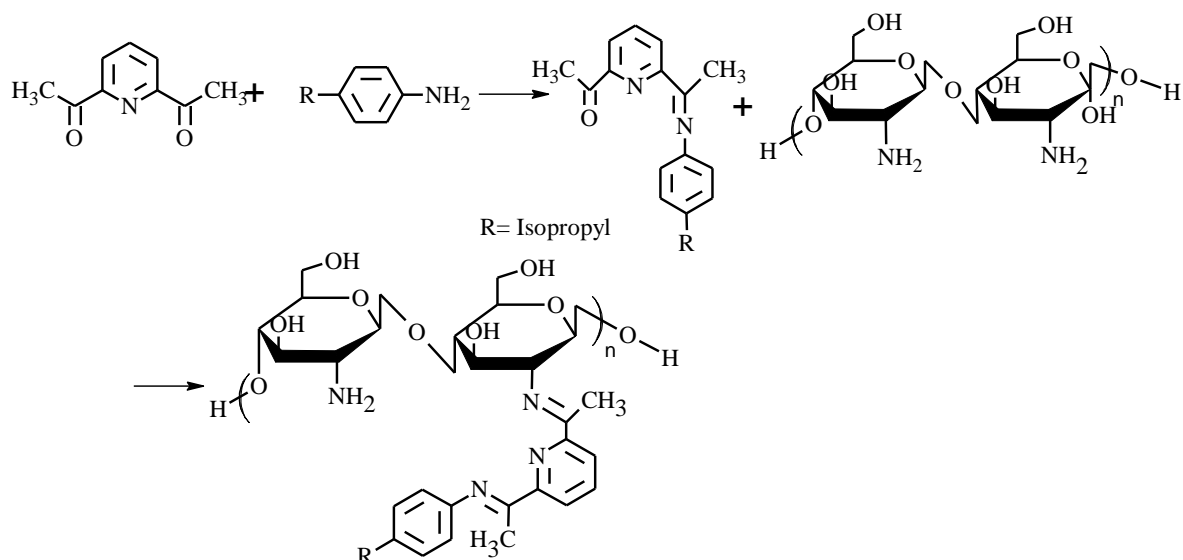


Figure II.13 : Structure de base de Schiff N°6 [113].

II.2.1.3. Mécanisme réactionnel générale de synthèse:

Ci-dessous, nous représentons un mécanisme général détaillé décrivant la formation d'une base de Schiff.

Le mécanisme se déroule en trois étapes sont schématisées dans la figure II.14 :

- ✚ Formation de carbocation après l'activation du caractère électrophile du dérivé carbonyle par protonation de l'atome d'oxygène.
- ✚ Attaque nucléophile de l'amine sur le carbocation.
- ✚ Régénération de catalyseur (H^+) :
 - ✓ déprotonation.
 - ✓ protonation de l'atome d'oxygène.
 - ✓ élimination intramoléculaire d'eau.
 - ✓ déprotonation de l'imine.

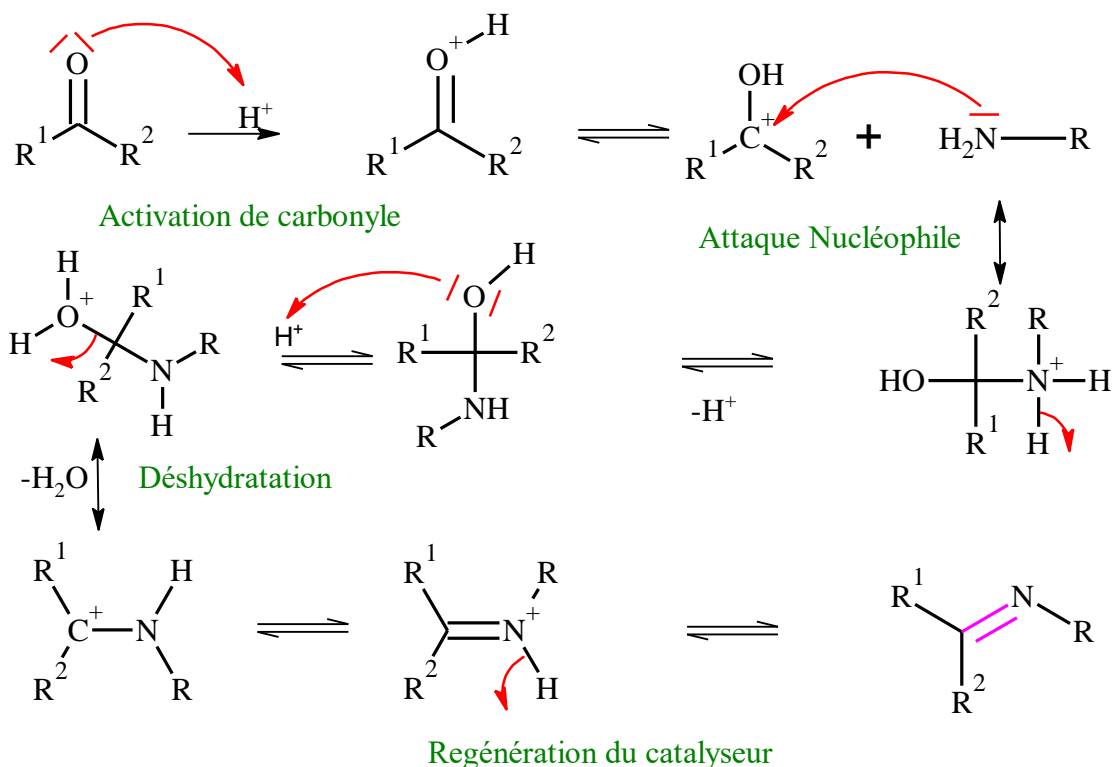


Figure II.14 : Mécanisme réactionnel générale de formation des bases de Schiff.

II.2.2. Synthèse de photo-sensibilisants dérivées du chitosane et applications :

La photo-réticulation de chitosane est essentiellement un type de réaction radicalaire, nécessite que la molécule greffé doit possède des groupes photosensibles absorbent des rayonnements lumineuses à longueur d'onde spécifique. Lors de l'ajout d'un photo-initiateur, ces groupes seront décomposés par la lumière en générant des radicaux libres pour initier la réaction secondaire et enfin obtenir la structure du réseau de réticulation. Irgacure est sélectionné comme initiateur en raison de sa solubilité dans l'eau, de son efficacité élevée et de sa faible cytotoxicité, ce qui est un choix courant pour la préparation du système de photo-réticulation soluble dans l'eau pour une application biomédicale [6]. Nous avons par la suite citez quelques exemples de chitosane photosensible à lumière UV.

II.2.2.1. Synthèse de dérivés de chitosane photosensibles :

Deux dérivés de chitosane photo-sensibilisant à été synthétisés par la réaction de MICHAEL, en faisant intervenir le chitosane extrait de coquille de crabe avec un DDA 88% et de masse moléculaire de 200 KDa lié aux N-(4-(aminosulphonyl) phenyl) acrylamide (NAPPAM) et N-(4-hydroxyphenyl) acrylamide (NHPAM). Le mélange est chauffé à 50 °C pendant 36h dans un mélange de solvants eau-éthanol avec acide acétique. Une solution de NaHCO₃ a été ajouté pour ajusté le pH à environ 7, après évaporée sous

vide et lyophilisé la solution pendant 24h. L'analyse par la spectroscopie UV-Vis résulte que le chitosane absorbe vers 220-400 nm et leurs dérivés absorbent à environ 263 nm de NAPPAM et 275 nm pour NHPAM [114].

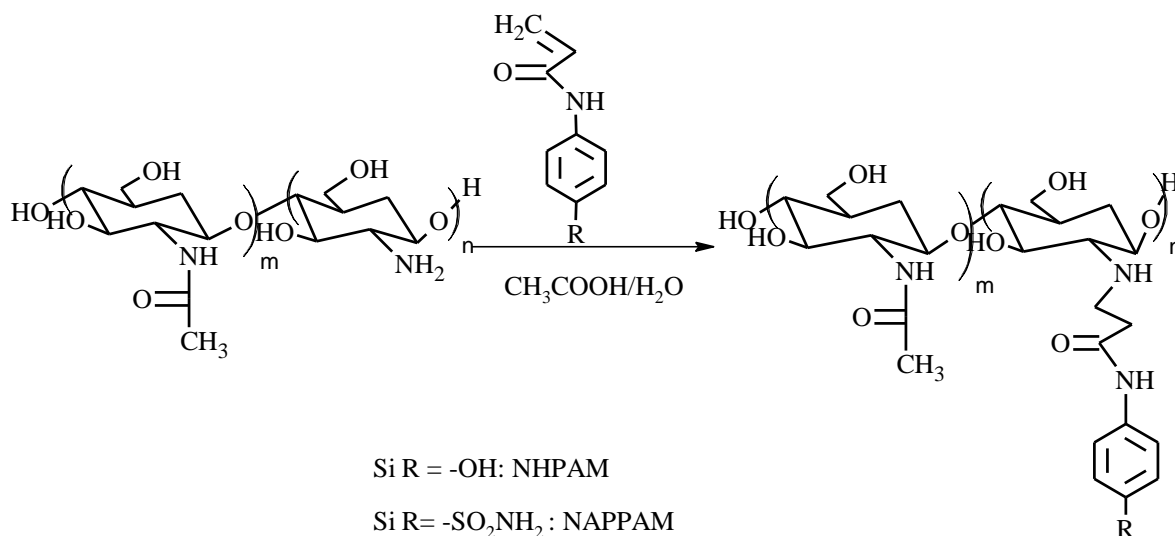


Figure II.15 : Synthèse des dérivés de chitosane photosensible [114].

II.2.2.2. Administration sensible au glucose de métronidazole en utilisant un film photo-réticulé d'hydrogel de chitosane pour inhiber la prolifération du *Porphyromonas gingivalis*

Une étude a été faite par un groupe de chercheur déroule sur le greffage d'anhydride méthacrylique sur les chaines moléculaires de chitosane dans un acide acétique dilué à 60°C pendant 12h afin de produire le chitosane méthacrylamide (CM) (figure II.16).Ce dernier est transformé en un film réticulé après irradiation par UV-vis à 254 nm en présence d'irgacure comme illustré la figure II.17 avant l'irradiation (a) et après l'irradiation (b).

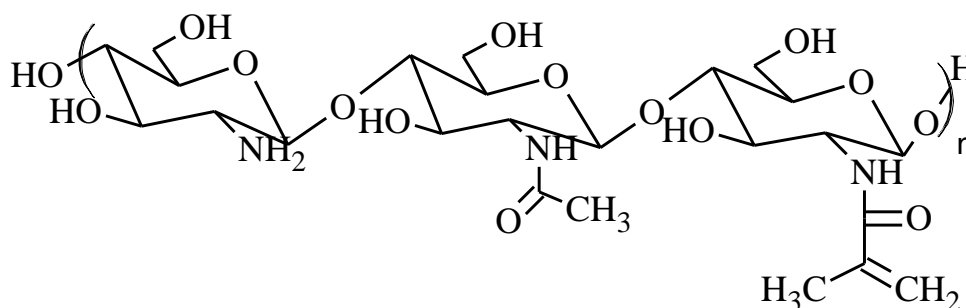


Figure II.16 : Structure de chitosane méthacrylamide [6].

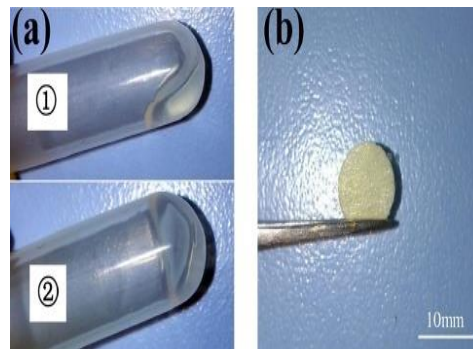


Figure II.17 : Aspect de chitosane méthacrylamide avant et après l'irradiation [6].

Le film hydrogel CM réticulé a été immerger dans une solution de glutaraldéhyde puis dans une solution de glucose oxydase et par la suite dans une solution de métronidazole pour obtenir a la fin un film sensible au glucose et chargé avec métronidazole (MNZ) ; conservé à -20°C pendant 48h. Le film résultant a été placé dans des tubes à essais contenant des solutions de glucose à des concentrations croissantes. Les échantillons sont agités dans un agitateur à air de vibration 50 cycles/min. 1 ml de solution a été recueilli puis mesurer la densité optique de chaque échantillon par spectrométrie UV-vis à 312 nm. La quantité libérer de MNZ a été calculé par courbe d'étalonnage. Les résultats montrent que cet hydrogel peut augmenter la libération de MNZ lorsque la concentration de glucose augmente telle que à 250 mg/dl de glucose, le film libèrent 80,1% et ca revient aux l'augmentation de la porosité dans les concentrations élevées de glucose ce qui d'avantage de libération de médicament [6].

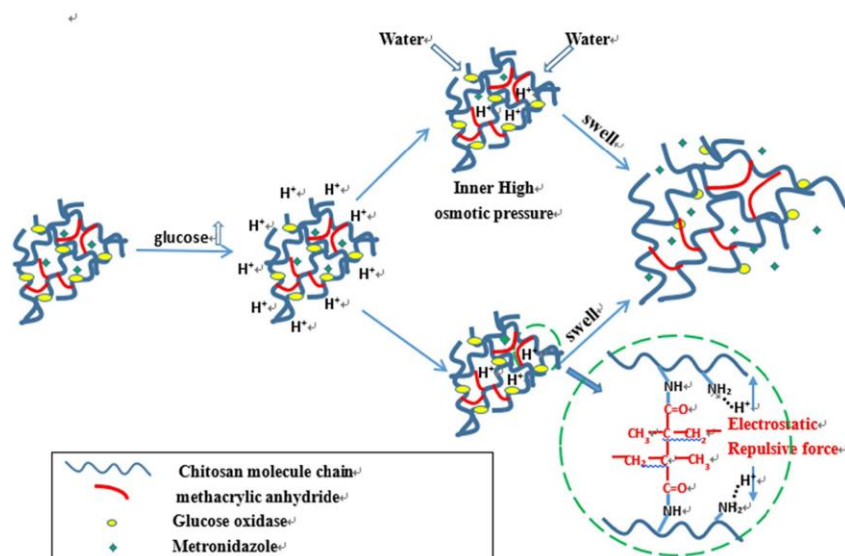


Figure II.18 : mécanisme de libération de MNZ par le film photo-réticulé de CM sensible au glucose [6].

Lorsque le film a été immergé dans une solution de glucose, le glucose oxydase (Gox) commence à oxydé le glucose en acide gluconique. Cette réaction génère des protons dans le milieu qui vont être pénétrés à l'intérieur de film pour protoner les groupements amines ce qui augmente la pression osmotique, plus la force de répulsion électrostatique de $-NH_2$ sur les chaînes de chitosane adjacentes. D'autre part l'eau présente à l'extérieur de film cause des gonflements (la taille des pores d'étendue). Sont des facteurs responsables à libération de MNZ [6].

Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne testée sur le film chitosane méthacrylamide photo-réticulé sensible au glucose chargé de MNZ (le cas d'exemple cité au-dessus) contre une bactérie anaérobie de gramme négative *Porphyromonas gingivalis* immergé dans une solution de glucose. Le résultat antibactérien confirme que le film avait une bonne capacité antibactérienne couramment appliqué dans la parodontite, même lorsque les échantillons étaient dilués plusieurs fois. De plus, ce film peut libérer plus de MNZ à un milieu de glucose plus élevé et bien étendu, conduire à une capacité antibactérienne plus efficace telle que MIC de MNZ est de 0,06 mg par 1l de BHI (bouillon cœur cerveau) [6].

II.2.2.3. Synthèse de dérivés du chitosane durcissables aux UV et le comportement d'adsorption du palladium (II) à leurs films exposés aux UV

Renbutsu et al en 2007, ont été synthétisé un dérivé de chitosane photosensible (II) N-[3,4-Bis (2-hydroxy-3-méthacryloyloxypropoxy) benzyl]chitosan, on mélangeant le chitosane dissous dans une solution tampon AcOH/AcONa de pH=4,5 et du méthanol avec la solution de l'aldéhyde photosensible (I) 3,4-Bis(2-hydroxy-3-méthacryloyloxypropoxy) benzaldehyde dissous préalablement dans THF. Le tout sous agitation à 25°C pendant une nuit. La réaction est refroidit jusqu'à 0°C et neutralisé avec la solution de $NaBH_3CN$ goutte à goutte sous agitation pendant 1h puis dans 25°C pendant une nuit. Le produit final est neutralisé avec 10% de soude ; le précipité est séparé et rincé avec de l'éthanol et de l'eau puis lyophilisé. Ce synthèse est partagée en deux étapes montrée dans la figure II.19 [115] :

1/ Estérification de 3,4-dihydroxy benzaldéhyde avec glycidyl méthacrylate pour produire l'aldéhyde photosensible.

2/ Alkylation de chitosane par l'aldéhyde photosensible.

Ils ont obtenus un rendement de 1,57 mg avec un degré de substitution d'aldéhyde photosensible sur la chaîne chitosane est de DS=0,11. Ils ont ainsi testé la solubilité du

10mg de produit dans 1ml des solvants organiques de polarité différents, et trouvé que le chitosane photosensible est insoluble dans l'acide méthacrylique à 100% mais soluble dans l'acide méthacrylique à 2%, 70% et ainsi dans l'acide acétique à 2%, et aussi partiellement soluble dans DMSO, DMF et NMP ; comparé avec la solubilité du chitosane dans les trois derniers solvants été purement insoluble. On conclut que la solubilité de chitosane est augmentée avec le degré de substitution [115].

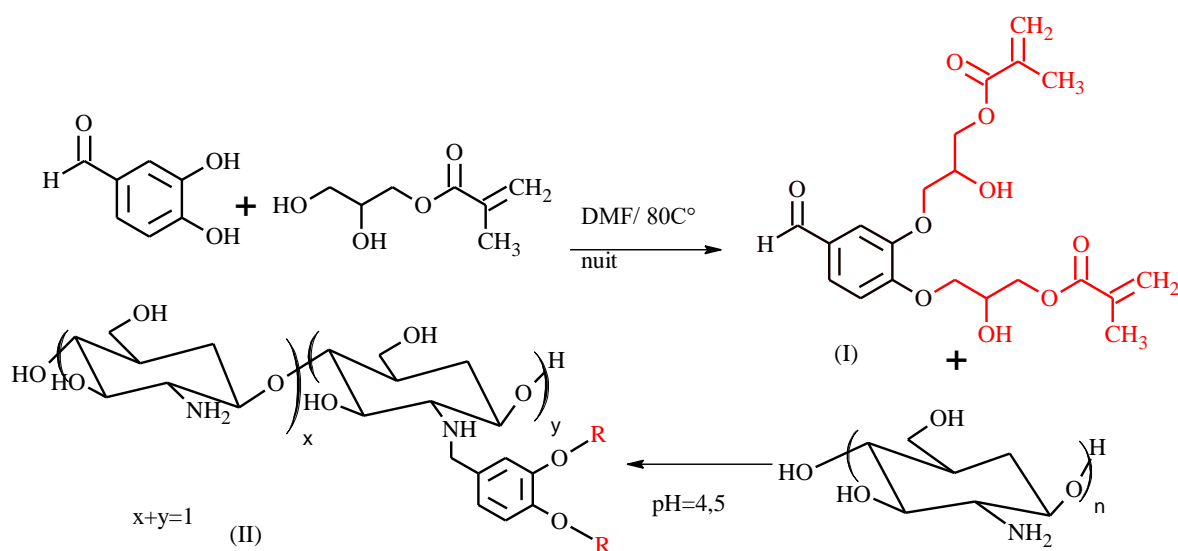


Figure II.19 : schéma de préparation de chitosane photosensible [115].

Application :

✚ Un dérivé de chitosane photo-sensibilisant N-[3,4-Bis(2-hydroxy-3-méthacryloyloxypropoxy) benzyl]chitosan dissous dans l'acide acétique dilué 2% et du méthanol est transformée en gel en présence d'un photo-initiateur (igracure 1000) après irradiation par des rayons UV pendant 20s sous une lampe de mercure à une distance de 15cm à pression atmosphérique. Le gel est transformé en un film après séchage par lyophilisation. Ce dernier a été immergé dans une solution de chlorure de Palladium PdCl₂ à 30 °C sous agitation pendant 3min.

Le film de chitosane photo-durcis (la figure II.19 au-dessus) est immergé dans deux solutions de chlorure de palladium à pH différents ; les résultats d'adsorption de palladium ont été analysés par ICP.

La quantité de Pd (II) adsorbé sur le film traité aux UV avec un faible degré de substitution (DS=0,11) égale 0,25 mg était comparable à celle sur le film de chitosane d'origine qui égale 0,28 mg dans un pH=5,3. Une grande quantité de Pd était adsorbée sur le film durcis à pH=1,1 égale 0,46 mg par contre le chitosane est soluble dans cette condition ; de

nombreux sites de réticulation sur le film à tendance à adsorbé beaucoup plus de palladium [115].

une solution d'un dérivé de chitosane photo-sensibilisant illustré dans la figure II.20 avec un degré de substitution DS=0,84 dissous dans l'acide acétique et NMP et en présence d'un photo-initiateur, à été étalé sur un morceau de bois de cyprès japonais dégraissé par le méthanol par pulvérisation ou trempage. La solution se transforme en un film après exposition aux UV pendant 20s à une distance de 15cm pendant 30min. la pièce est immergé dans une solution auto-catalytique du Nickel à pH=9 à 40°C pendant 4min puis séché dans étuve à 60C° pendant 1h. les résultats est montrés dans la figure II.21; le film métallique homogène uniforme formé présentait une excellente adhésion à la surface du bois et d'autre coté le chitosane présente un dépôt partiel du Nickel comparé avec la pièce témoin, le Nickel à été déposé de manière incohérente [115].

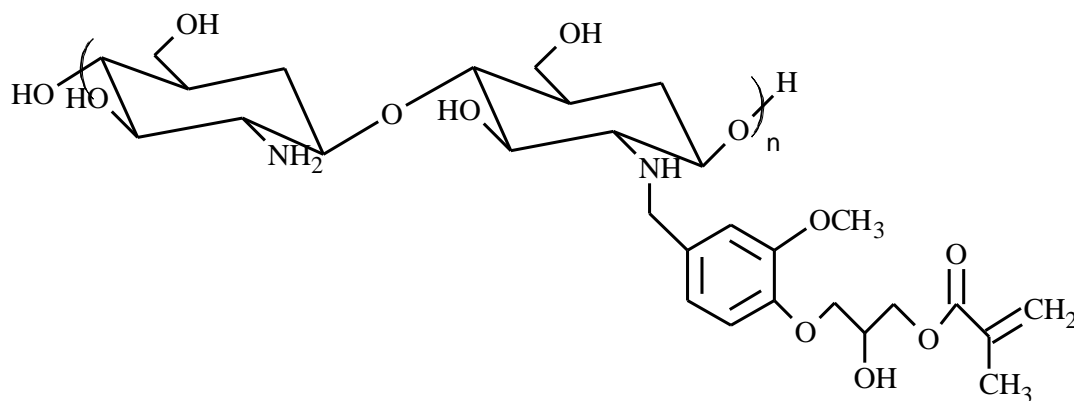


Figure II.20: Structure de N-[3-methoxy-4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy)benzyl] chitosane

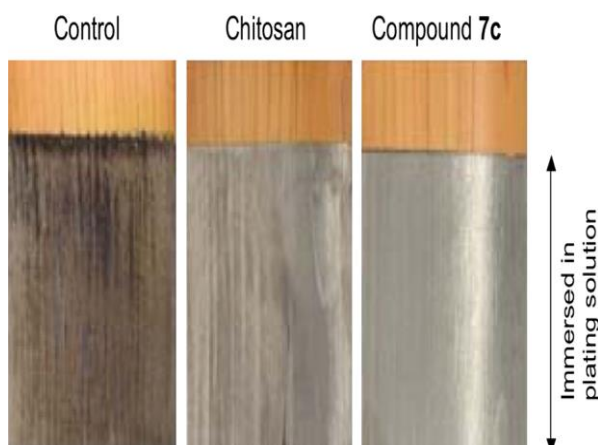


Figure II.21 : immobilisation auto-catalytique du Nickel sur du bois (cyprès japonais) enduit de chitosane témoin et de chitosane durcis par UV [115].

II.2.2.4. Chitosane modifiés par le furane-polyéther comme électrolytes polymères photosensibles :

La stratégie de fixation de greffons photosensibles sur la chaîne chitosane (chitosane-POE-MFVF) suivie par GANDINI et ces collègues est basée sur le mélange de chitosane à la fois avec un poly(oligo-éther)carboxyaldéhyde (PEO-CHO) et le 5-[2-(5-Méthyl furylene vinylène)] furancarboxyaldéhyde (MFVF) selon le rapport ($[\text{NH}_2]/[\text{CHO}]/[\text{MFVF}] = 1/1,2/0,10$) dans un solvant binaire constitué de l'acide acétique et de méthanol à pH=5 à température ambiante pendant 1h, après la réaction sera neutralisé avec de NaBH_3CN ajouté goutte à goutte pendant 25min jusqu'au pH= 6,5. Ajouté l'eau pour éliminer les impuretés. Après lyophilisé le solide et rincé avec de l'acétone et séché dans l'étuve puis caractérisé par la spectroscopie UV ; il absorbe dans la région proche ultraviolette à 335 nm qui correspond à la structure de $-\text{Fu}-\text{CH}=\text{CH}-\text{Fu}-$; le chitosane double greffé est dissous dans l'acide acétique à 1% puis irradié la solution avec une lampe de mercure à pression moyenne. La progression de la réticulation a été suivie par la spectroscopie UV entre 0 et 60 mn [116].

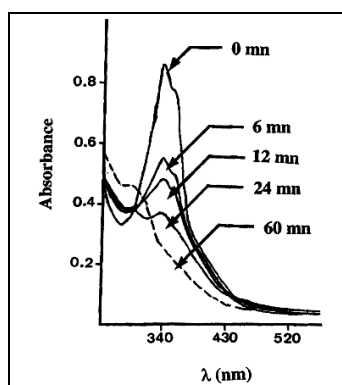


Figure II.22: spectre d'absorption de chitosane double greffé en fonction du temps d'irradiation UV

Les résultats montrent que l'intensité de bande 335 nm est diminuée en fonction du temps d'irradiation accompagné par une précipitation concomitante du polymère (élastomère réticulé après lavage et séchage) à cause d'une réaction de photocyclo-addition [2.2] entre une partie excitée et une fraction d'état fondamentale du polymère [116].

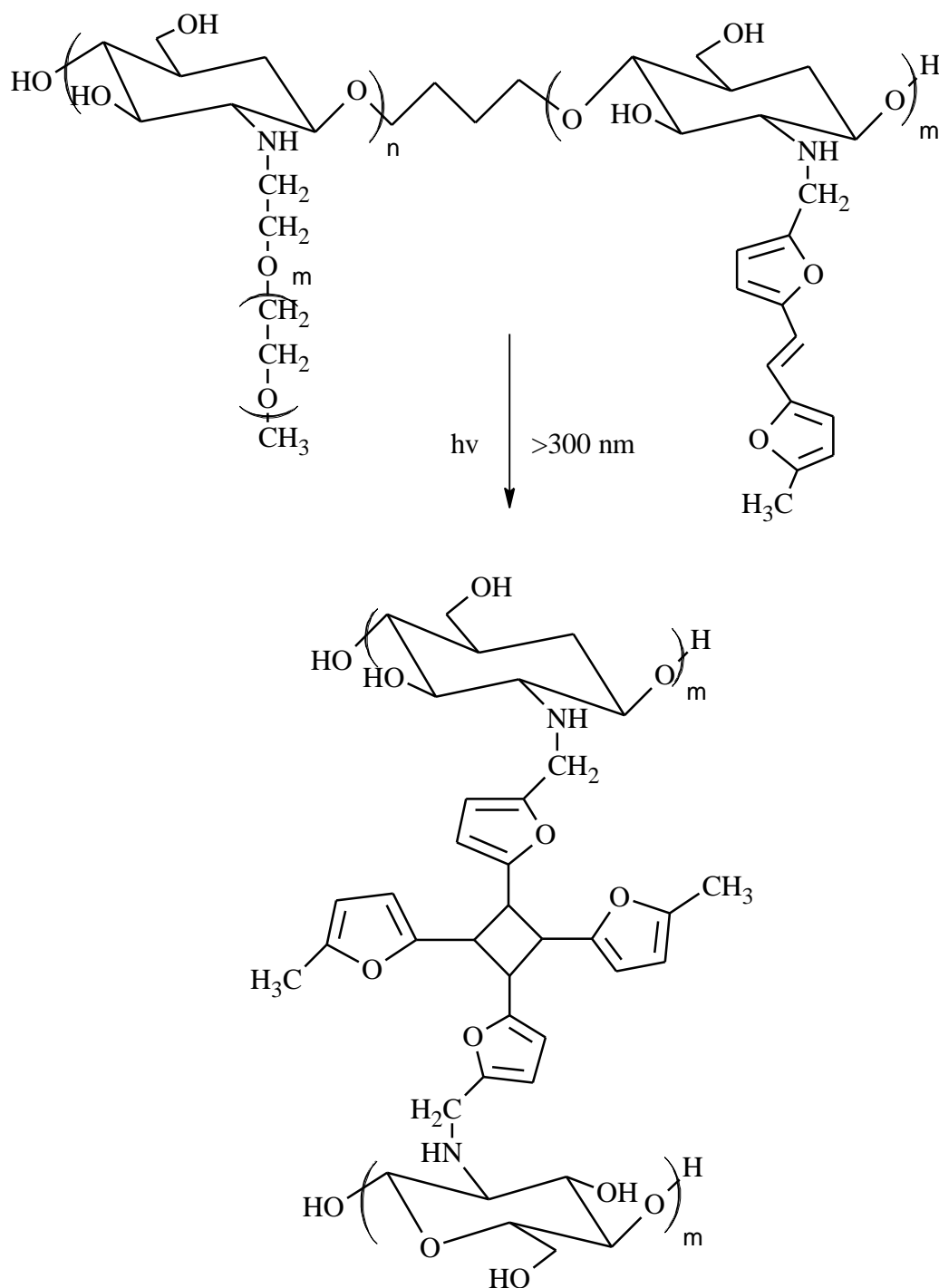


Figure II.23 : schéma de synthèse de chitosane photosensible double greffé [116].

II.2.2.5. Synthèse et évaluation du potentiel des supports polymères sur des membranes d'hydrogel photo-réticulable à base de chitosane modifié

MONIER et al, ont été modifié le chitosane (DDA=85%) avec l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (ACHCA) en présence de EDC (N-(3-diméthylaminopropyl)-N-éthylcarbodiimide hydrochloride et N-hydroxysuccinimide (NHS, 98%) utilisés comme des agents activant la formation de la fonction amide. La solution d'ACHCA, EDC et NHS

dissous dans l'eau et acétonitrile sont ajoutés vigoureusement dans la solution de chitosane dissous dans le mélange de solvants d'acide acétique à 2% dans l'eau- acétonitrile (1 :1). La réaction est met sous agitation pendant 24h dans l'obscurité à température ambiante puis récupérer le polymère avec une grande quantité d'acétone [117].

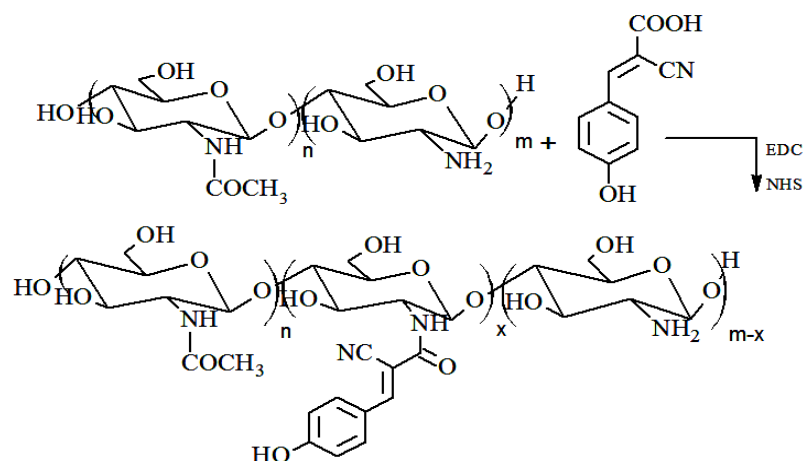


Figure II.24 : Structure de chitosane-ACHCA

Le chitosane modifié est dissous dans de l'eau, la solution est versé dans une boîte de pétri et laissé séché à température ambiante pendant une nuit à l'obscurité a fin de former un film mince uniforme. Ce dernier sera irradié par une lampe multi-bandes UV 254/365 nm [117]. La cinétique du processus de photo-réticulation a été suivie en mesurant la disparition de la bande d'absorbance à 326 nm, caractéristique du groupement α -cyano-4-hydroxycinnamoyle.

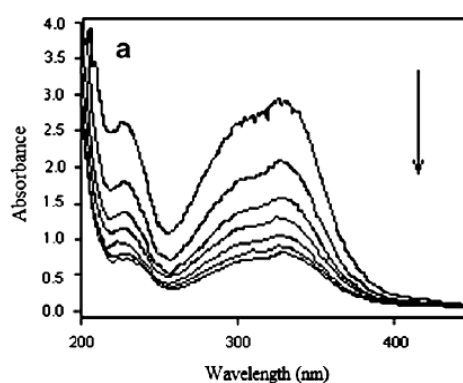


Figure II.25 : Changements dans les motifs spectraux UV du film mince chitosane-ACHCA après irradiation UV [117]

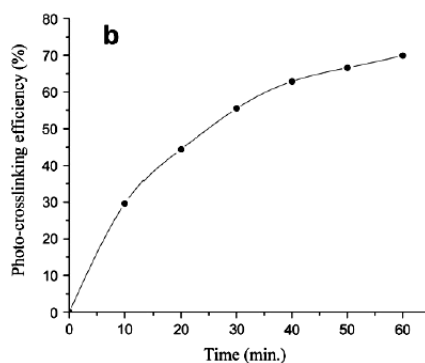


Figure II.26 : diagramme représente l'effet du temps d'irradiation sur le degré de réticulation d'un chitosane-ACHCA

L'efficacité de réticulation à tout moment (p_t) a été déterminée en calculant le pourcentage de conversion du chromophore photo-actif en utilisant équation suivante :

$$p_t = [(A_0 - A_t) / A_0] * 100$$

L'intensité de l'absorbance à 326 nm diminuait avec le temps d'exposition, en 60 min l'efficacité de réticulation étaient 70%, cela implique que la photo-réticulation du chitosane modifié se produit principalement par une réaction de cycloaddition type [2.2] détaillé dans la figure II.27 [117].

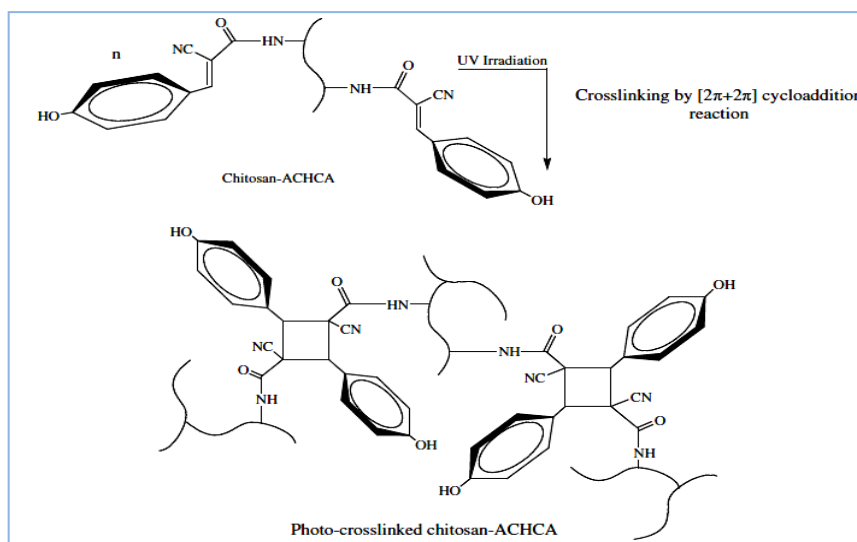


Figure II.27: photo-réticulation de chitosane-ACHCA [117].

D'après les résultats par l'analyse thermogravimétrique, montre que la modification du chitosane par photo-réticulation après greffage par ACHCA à travers la formation de liaison amide rend le chitosane plus stable thermiquement, dû à la formation d'un réseau polymère rigide. Concernant les résultats par DRX qui indiquent qu'avec l'augmentation

de degré de substitution de α -cyano-4-hydroxycinnamoyle sur la chaîne chitosane va diminuer la cristallinité du polymère photo-réticulé et cela attribué au réseau formé après le processus de photo-réticulation qui conduit à rompre la liaison hydrogène entre $-\text{NH}_2$ et $-\text{OH}$ dans le chitosane résultant en une structure amorphe [117].

II.2.2.6. Préparation et biocompatibilité des nouvelles dérivées du chitosane durcissable aux UV :

RENBUTSU et al en 2005, ont été préparé un dérivé de chitosane photosensible (figure II.20 illustré au précédemment dans l'application d'adsorption de Nickel) humide puis mélangé dans DMSO et agité vigoureusement pendant un jour pour donner une solution visqueuse claire. Après ils ont ajouté un photo-initiateur (igracure 1000), le mélange a été versé dans une microplaque puis irradié par la lumière UV à travers une lampe à arc de halogène-métal court pendant 4s à une distance de 10mm de la solution. Pour déterminer la biocompatibilité de chitosane durcis, ce dernier a été implanté dans les tissus sous cutanés de souris avec intervention chirurgicale ; la réponse a été observée après sept jours après l'implantation par un examen histologique comme montre la figure II.28, l'implant a été entouré de tissus fibreux granuleux fins sans infiltration cellulaire inflammatoire [7].

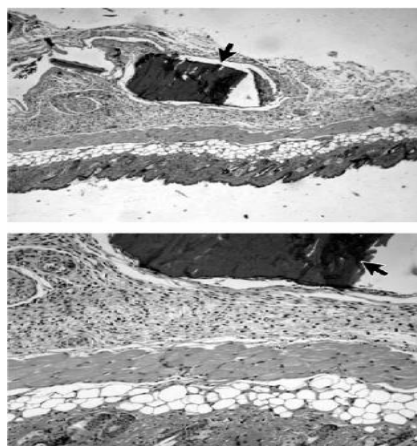


Figure II.28 : résultat histologique de l'implantation avec un chitosane photosensible [7]

II.2.2.7. Fabrication des nanopORTEURS photosensibles :

Un travail d'un groupe de chercheurs basé sur le développement d'un nano-transporteur inerte et biodégradable de médicament ; cette synthèse est consistée en l'insertion de 4-phényl azophénol photosensible aux UV dans le squelette d'un biopolymère n-succinyl chitosane pour former un copolymère amphiphile, qui sera responsable de la photolibération de médicament et ciblé pour les cellules CTBs cardiaques afin d'inhiber la fibrillation auriculaire [8].

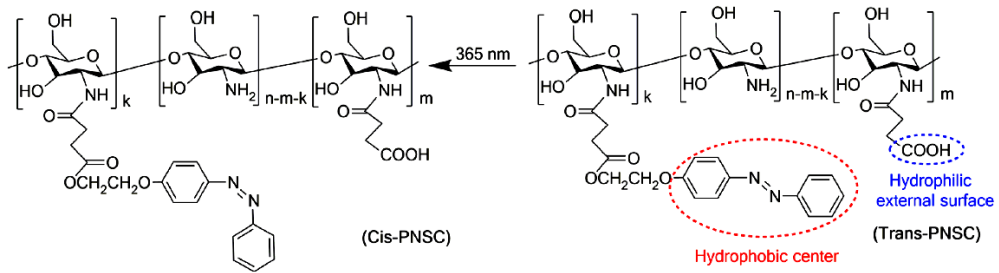


Figure II.29 : schéma représente l'isomérisation de l'azobenzène [8].

Lorsque le copolymère amphiphile est exposé à une lumière UV de 365 nm, il subit une photo-isomérisation en augmentant le moment dipolaire, la polarité passe d'un centre hydrophobe trans-azobenzène à un centre hydrophile Cis-azobenzène, avec ce changement de conformation, le médicament hydrophobe est relâché; et d'après les résultats de la spectrophotométrie UV-vis, montrent que la libération de médicaments a été considérablement accélérée après une très courte durée d'irradiation aux UV.

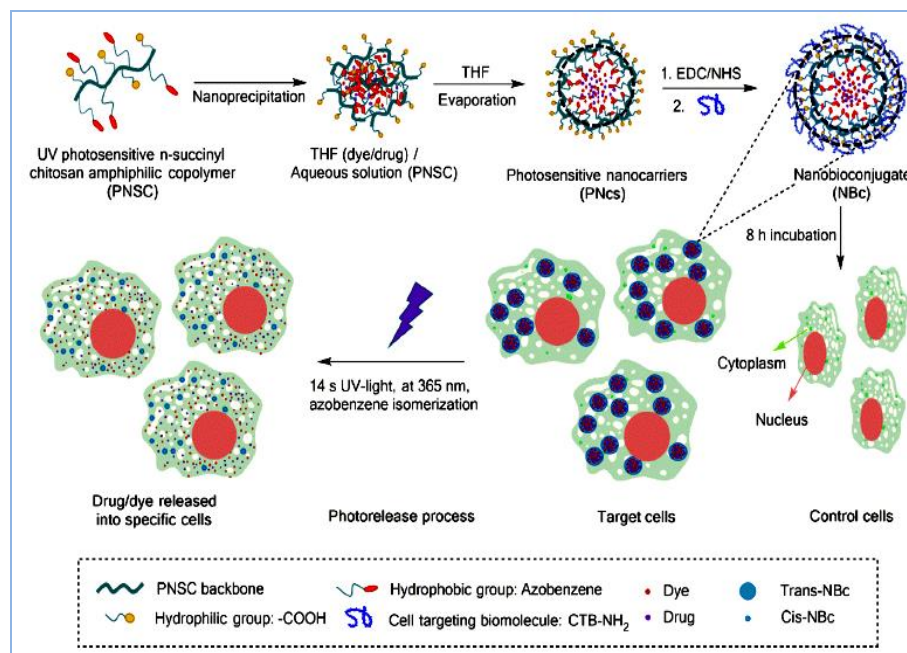


Figure II.30 : schéma illustrative de la synthèse de polymère nanoporteur et la co-encapsulation de médicament [8].

Cette stratégie est devenue un moyen prometteur pour atteindre des doses thérapeutiques avec une concentration moindre de médicament, réduisant potentiellement les effets secondaires et améliorant l'efficacité du traitement. Parmi les avantages d'encapsulation des médicaments est l'amélioration de la spécificité de ciblage, leur efficacité et leur efficacité et aussi comme un support protecteur contre la dégradation et améliore la biodisponibilité et permet de contrôler la libération de médicament [8].

II.2.2. 8. Dégradation des eaux polluées :

L'une des possibilités de dégradation photochimique efficace à l'aide de la lumière du soleil est le processus d'oxydation photosensibilisée. Le processus est lancé lorsqu'un photosensibilisateur à l'état fondamentale (PS_0) absorbe la lumière d'une longueur d'onde appropriée et est converti en un état excité singulet ($^1PS^*$). L'état singulet peut se désactiver par différentes voies, notamment vers l'état triplet par croisement intersystème. Le photosensibilisateur (singulet ou triplet) peut réagir selon deux modes : En présence O_2 , il peut réagir par transfert d'énergie pour former de l'oxygène singulet (1O_2) ou par transfert d'électron pour former l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). La formation d'oxygène singulet est favorisée par l'utilisation de photosensibilisateur absorbant dans le domaine du visible (les colorants) et la formation de l'anion superoxyde est favorisée par l'utilisation de photosensibilisateur absorbant dans l'ultraviolet (les phénols ou les amines). Ces deux espèces de l'oxygène sont très réactives et permettent l'oxydation d'espèces organiques, ce qui peut ouvrir à plusieurs types d'applications comme la photo-dégradation de polluants organiques (composés organiques volatils (COV), colorants, phénols...) [118].

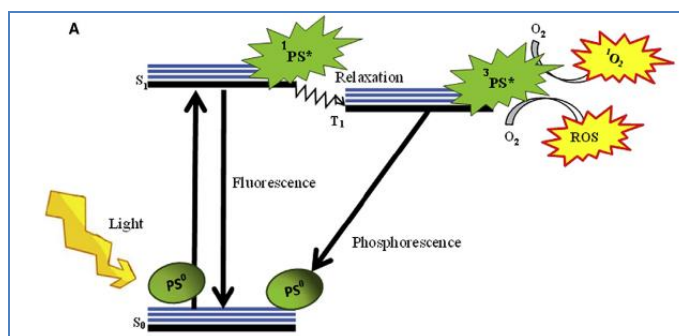


Figure II.31 : Mécanisme de la photosensibilisation [119]

A cet égard, on prend l'exemple de la dégradation des polluants d'eau publiée dans le journal *Chemical Engineering* ; lors d'exposition de chitosane photo-actif immobilisé par la phtalocyanine à la lumière visible et la lumière naturelle du soleil, génère un oxygène singulet 1O_2 responsable de la dégradation photochimique des xénobiotiques 4-benzyl parabène et 2,4-dichlorophénol présents dans l'eau dans un système hétérogène [120].

La présence des groupements amine libre dans les unités répétées de chitosane conduit à la possibilité de plusieurs modifications chimiques, y compris la préparation de base de Schiff ($-N=CH-R$) par action des groupements carbonyles des aldéhydes ou des cétones sur ces groupements, cette réaction peut être effectuée soit par voie direct ou bien indirectement tous en présence des solvants : acides acétiques, éthanol, méthanol ou leurs mélange dans des conditions de température ambiante ou à reflux.

L'insertion de molécules photo-sensibilisante sur le chitosane, offre à ce dernier la propriété d'absorber les rayonnements lumineux à longueurs d'ondes déterminés, et en conséquence un durcissement de la solution du chitosane modifié en gel solide ou un film mine fortement réticulé présentant une grande résistance aux agents chimiques, comme la température. Ces modifications pourraient être effectuées pour rendre le chitosane plus soluble dans les systèmes aqueux, améliorer leurs propriétés et répondre aux besoins spécifiques des différentes applications biomédicales à cause de sa biocompatibilité dans l'administration de médicament, ses capacités antimicrobiennes, ainsi leurs capacités à dégrader les polluants d'eau ; les bases de Schiff photo-sensibilisante sont aussi utilisés comme des supports nano-transporteurs inerte porté un médicament ciblé à la cellule.

Les furocoumarines sont des molécules tricycliques photo-sensibilisant qui peuvent être greffées sur le chitosane pour former des bases de Schiff photo-sensibilisants.

Références bibliographies

- [1] M.E. Hassan*, J. Bai, De-Qiang Dou, (2019). Biopolymers: Definition, Classification and Applications, Egyptian Journal of Chemistry, Vol. 6(9), P 1725 – 1737.
- [2] N. Mokrani, (2013). Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères Alginate de sodium/chitosane, Mémoire de Magister, université M'HAMED BOUGARA, BOUMERDES.
- [3] M. Kumar, (2000). A review of chitin and chitosan applications, Reactive and Functional Polymers, Vol. 46(1), P 1–27.
- [4] J. Liu, H. Pu, S. Liu, J. Kan, C. Jin, (2017). Synthesis, characterization, bioactivity and potential application of phenolic acid grafted chitosan: a review, Carbohydrate Polymers, Vol. 174, P 999–1017.
- [5] S. Hirano, R. Yamaguchi, N. Matsuda, O. Miura, Y. Kondo, (1977). Chitosan-aldehyde gel a novel polysaccharide gel produced from chitosan and aldehydes, Agricultural and biological chemistry, Vol. 41(8), P 1547–1548.
- [6] Junyu Liu, Yu Xiao , Xiangyu Wang, Lixun Huang , Yu Chen*, Chongyun Bao**, (2019). Glucose-sensitive delivery of metronidazole by using a photo-crosslinked chitosan hydrogel film to inhibit Porphyromonas gingivalis proliferation, International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 122(1), P 19-28.
- [7] E. Renbutsu, M. Hirose, Y. Omura, Fumiaki Nakatsubo, Y. Okamura, Y. Okamoto, H. Saimoto, Y. Shigemasa, S. Minami*, (2005). Preparation and Biocompatibility of Novel UV-Curable Chitosan Derivatives, Biomacromolecules, Vol. 6, P 2385-2388.
- [8] P.Mena-Giraldo, S. Pérez-Buitrago, M. Londoño-Berrío, I. C. Ortiz-Trujillo, L. M. Hoyos-Palacio, J. Orozco*, (2020). Photosensitive nanocarriers for specific delivery of cargo into cells, Scientific Reports, 10(1):2110

- [9] José Antonio Del Río, Licinio Diaz, David Garcia-Bernal, Miguel Blanquer, Ana Ortuno, Enrique Correal and José Maria Moraleda, (2014). Furanocoumarins: Biomolecules of Therapeutic Interest, *Studies in Natural Products Chemistry*, chapitre 5, Vol .43, P 145- 195.
- [10] O. Matern, H. Strasser, H. Wendorff, and D. Hamerski, (1988). Coumarins and furanocoumarins, In book: *Phytochemicals in Plant Cell Cultures*, Chapitre 1, P 3-16.
- [11] S. Doerper, (2008). Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. Par une approche de génie métabolique, thèse de doctorat en science agronomique, université de Nancy- lorraine.
- [12] M.A. Pathak, F. Daniels, T.B. Fitzpatrick, (1962). The Presently Known Distribution of Furocoumarins (Psoralens) in Plants 1, *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 39(3), P 225–239
- [13] C. Krieger, (2014). Identification moléculaire et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle sous-famille de cytochromes P450, CYP71AZ, impliquée dans la synthèse de furanocoumarines et coumarines chez *Pastinaca sativa*, *Alimentation et Nutrition*, thèse de doctorat, Université de Lorraine
- [14] A.Z.Abyshev, V.A. Gindin, Yu.B. Kerimov, E.Sh. Ismailov, É.M. Agaev, N.Ya. Isaev, (1992). Furocoumarins of *Ruta graveolens*, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 28(3), P 382–383.
- [15] G. Gattuso, D. Barreca, C. Caristi, Gargiulli, C, and Leuzzi, U, (2007). Distribution of Flavonoids and Furocoumarins in Juices from Cultivars of *Citrus bergamia* Risso, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55(24), P 9921–9927.
- [16] M. Marrelli, F. Menichini, G.A. Statti, M. Bonesi, P. Duez, F. Menichini, F. Conforti, (2012). Changes in the phenolic and lipophilic composition, in the enzyme inhibition and antiproliferative activity of *Ficus carica* L. cultivar Dottato fruits during maturation, *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, Vol. 50(3-4), P 726–733.

- [17] R.Heinke, K.Franke, K. Michels, L. Wessjohann, N. Ali, J. Schmidt, (2012). Analysis of furanocoumarins from Yemenite *Dorstenia* species by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Mass Spectrometry*, Vol. 47(1), P 7–22.
- [18] O.L.Pokrovskii, A.A.Markoliya, F.D. Lepeshkin, I.V. Kuvykin, Parenago, O. O. Parenago, S.A. Gonchukov, (2009). Extraction of linear furocoumarins from *Ammi majus* seeds by means of supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography, *Russian Journal of Physical Chemistry. B*, Vol. 3(8), P 1165–1171.
- [19] M. Boardley, C.H. Stirton, J.B. Harborne, (1986). A chemotaxonomic survey of the tribe Psoraleeae in Africa, *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 14(6), P 603–613.
- [20] H.Ekiert, W.Kisiel, (2000). Isolation of furanocoumarins from *Pastinaca sativa* L. callus culture , *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, Vol. 69(3), P 193–195.
- [21] E.S Mc Cloud , M.R. Berenbaum et R.W. Tuveson , (1992). Furanocoumarin content and phototoxicity of rough lemon (*Citrus jambhiri*) foliage exposed to enhanced ultraviolet-B (UVB) irradiation, *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 18(7), P 1125-1137.
- [22] O. Junttila, 2006. Allelopathic inhibitors in seeds of *Heracleum laciniatum*, *Physiologia Plantarum*, Vol. 36(4), P 374-378.
- [23] A. Dugrand-Judek, (2015). Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre *Citrus*, thèse de doctorat en sciences agronomiques, Université de Lorraine.
- [24] J.K. Nitao, A.R. Zangerl, (1987). Floral development and chemical defense allocation in wild parsnip (*Pastinaca sativa*), *Ecology*, Vol. 68(3), P 521-529.
- [25] S.K. Chadhary, O. Ceska , P.J. Warrington, M.J. Ashwood-Smith*, (1985). Increased furocoumarin content of celery during storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 33 (6), P 1153-1157.

- [26] G.Taguchi, S. Fujikawa, T. Yazawa, R. Kodaira, N. Hayashida, M. Shimosaka, M.Okazaki,(2000). Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2,4-D-treated tobacco cells, *Plant Science*, Vol. 151(2), P 153–161.
- [27] P. Jones, T. Vogt, (2001). Glycosyltransferases in secondary plant metabolism: tranquilizers and stimulant controllers, *Planta*, Vol. 213(2), P 164–174.
- [28] U.Wittstock, J.Gershenzon, (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens, *Current Opinion in Plant Biology*, Vol. 5(4), P 300–307.
- [29] R. Bruni, D. Barreca , M. Protti , V. Brighenti , L. Righetti , L. Anceschi , L. Micolini , S. Benvenuti , G. Gattuso and F. Pellati *, (2019). Botanical Sources, Chemistry, Analysis, and Biological Activity of Furanocoumarins of Pharmaceutical Interest, *Molecules*, Vol. 24, 2163. doi:10.3390/molecules24112163.
- [30] B. Benamor, (2008). Maitrise de l’aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d’extraction de principes actifs. Texturation par détente instantanée, Thèse de doctorat. France: Université de la Rochelle, P 120.
- [31] A.M. Zobel, S.A. Brown, (1988). Determination of furanocoumarins on the leaf surface of *Ruta graveolens* with an improved extraction technique, *Journal of Natural Products*, Vol. 51(5), P 941–946.
- [32] M. Waksmundzka-Hajnos *, A. Petruczynik, A. Dragan, D. Wianowska and A.L. Dawidowicz, (2004). Effect of Extraction Method on the Yield of Furanocoumarins from Fruits of *Archangelica officinalis Hoffm*, *Phytochemical Analysis*, Vol. 15(5), P 313–319.
- [33] M. Waksmundzka-Hajnos *, A. Petruczynik , A. Dragan , D. Wianowska, A. L. Dawidowicz , I. Sowa, (2004). Influence of the extraction mode on the yield of some furanocoumarins from *Pastinaca sativa* fruits, *Journal of Chromatography B*, Vol. 800, P 181–187.
- [34] H. Qiu, X. Xiao, Gongke Li, (2012). Separation and purification of furanocoumarins from *Toddalia asiatica (L.) Lam.* using microwave-assisted extraction coupled with high-speed counter-current chromatography, *Journal of Separation Science*, Vol. 35(7), 901-906.

- [35] L. L. B. Santana, C. V. Silva*, L. C. Almeida, T. A. C. Costa, E. S. Velozo, (2011). Extraction with supercritical fluid and comparison of chemical composition from adults and young leaves of *Zanthoxylum tingoassuiba*, *Journal of Pharmacognosy*, Vol. 21(3), P 564-567.
- [36] F.Dall'Acqua, P.Martelli, (1991). Photosensitizing action of furanocoumarins on membrane comonents and consequent intracellular events, *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*, Vol. 8(3), P 235-254.
- [37] B.Mignotte, J.L. Vayssiere, (1998). Mitochondria and apoptosis, *European Journal of Biochemistry* ,Vol. 252(1), P 1–15.
- [38] K.A.Marley, R.A.Larson, R. Davenport, (1995). Alternative mechanisms of psoralen phototoxicity, *ACS National Meeting Book of Abstracts*, Chapitre 15, P 179–188.
Doi: 10.1021/bk-1995-0616.ch015
- [39] Scott, B.R., Pathak, M.A., Mohn, G.R., (1976). Molecular and genetic basis of furocoumarin reactions, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Vol. 39(1), P 29–74.
- [40] M. M. Melougha, Eunyoung Chob, Ock K. Chuna*, (2018). Furocoumarins: A review of biochemical activities, dietary sources and intake, and potential health risks, *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 113, P 99–107.
- [41] P.S.Song, K.J.Tapley, (1979). Photochemistry and photobiology of psoralens, *Photochemistry and Photobiology*, Vol. 29(6), P 1177-1197.
- [42] F. Veronese, O. Schiavon, R. Bevilacqua, (1982). Photoinactivation of enzymes by linear and angular furocoumarins, *Photochemistry and Photobiology*, Vol. 36(1), P 25-30.
- [43] F.Dall'Acqua, P. Martelli, (1991). Photosensitizing action of furanocoumarins on membrane comonents and consequent intracellular events, *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*,Vol. 8(3), P 235-254.

- [44] N. Kitamura, S. Kohtani, R. Nakagaki*, (2005). Molecular aspects of furocoumarin reactions: Photophysics, photochemistry, photobiology, and structural analysis, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, Vol.6, P 168–185.
- [45] U.V. Shivasaraun, R. Sureshkumar*, C. Karthika, N. Puttappa, (2018). Flavonoids as adjuvant in psoralen based photochemotherapy in the management of vitiligo/leucoderma, *Medical Hypotheses*, Vol. 121, P 26–30.
- [46] D. Abeck, (2020). Häufige Hautkrankheiten in der Allgemeinmedizin.
doi:10.1007/978-3-662-57447-8
- [47] J.A. Parrish, T.B. Fitzpatrick, M.A. Pathak, L. Tanenbaum, (1974). Photochemiothérapie of psoriasis with oral methoxsalen and longwave ultraviolet light, the *New England journal of medicine*, Vol. 291, P 1207–1211.
- [48] B.V.P. Vallat, P. Gilleaudeau, L. Battat, J. Wolfe, R. Nabeya, N. Heftier, E. Hodak, A. B. Gottlieb, and J.G. Krueger, (1994). PUVA Bath Therapy Strongly Suppresses Immunological and Epidermal Activation in Psoriasis: A Possible Cellular Basis for Remittive Therapy, *Journal of Experimental Medicine*, Vol. 180(1), P 283–296
- [49] R. Edelson, C. Berger, F. Gasparro, R. Jegasothy, P. Heald, B. Wintroub, E. Vonderheid, R. Knobler, K. Wolff, G. Plewig, G. McKiernan, I. Christiansen, M. Oster, H. Honigsmann, H. Wilford, E. Kokoschka, T. Rehle, M. Perez, G. Stingl, L. Laroche, (1987). Treatment of cutaneous Tcell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy, *New England journal of medicine*, Vol. 316, P 297–303.
- [50] N. Ratcliffe *, N. M. Dunbar , J.Adamski , D. Couriel , R. Edelson , C. L. Kitko , J. E. Levine , S. Morgan , J. Schneiderman , S. Sloan , Wu.Yanyun , Z. M. Szczepiorkowski , Laura Cooling for the American Society for Apheresis, (2015). National Institutes of Health State of the Science Symposium in Therapeutic Apheresis: Scientific Opportunities in Extracorporeal Photopheresis, *Transfusion Medicine Reviews*, Vol. 29, P 62–70.
- [51] S. Lanoiselee, (2013). Photochimiothérapie extra-corporelle : Analyse descriptive des patients traités entre Mars 2010 et Décembre 2012 au Chu d'angers, Qualification en : Neurologie, Université D'ANGERS.

- [52] Y. Chen, H.-D. Wang, X. Xia, H.-F. Kung, Y. Pan, L.-D. Kong*, (2007). Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the chronic mild stress model of depression in mice, *Phytomedicine*, Vol. 14, P 523–529
- [53] Bilici, M., Efe, H., Koroglu, M.A., Uydu, H.A., Bekaroglu, M., Deger, O., (2001). Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: alterations by antidepressant treatments, *Journal of Affective Disorders*, Vol. 64(1), P 43–51.
- [54] Wei-LunHung, Joon HyukSuh, YuWang, (2017). Chemistry and health effects of furanocoumarins in grapefruit, *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 25(1), P 71-83.
- [55] Xiang Lan Piao, Il Ho Park, Seung Hoon Baek, Hyun Young Kim, Man Ki Park, Jeong Hill Park*, (2004). Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicae dahuricae*, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 93, P 243–246.
- [56] T. Uto, N.H. Tung, R. Taniyama, T. Miyanowaki, O. Morinaga, Y. Shoyama, (2015). Anti inflammatory activity of constituents isolated from aerial part of *Angelica acutiloba* Kitagawa, *Phytotherapy Research*, Vol. 29(12), P 1956-1963
- [57] M.L. Panno, F. Giordano, P. Rizza, M. Pellegrino, D. Zito, C. Giordano, L. Mauro, S. Catalano, S. Aquila, D. Sisci, (2012). Bergapten induces ER depletion in breast cancer cells through SMAD4-mediated ubiquitination, *Breast Cancer Research and Treatment*, Vol. 136(2), P 443-455
- [58] Ba Wool Lee, Thi Kim Quy Ha, Hyo Moon Cho, Jin-Pyo An, Seong Kyun Kim, Choong-Sik Kim, Eunhee Kim, Won Keun Oh*, (2020). Antiviral activity of furanocoumarins isolated from *Angelica dahurica* against influenza A viruses H1N1 and H9N2, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 259, P 112945.
- [59] Neelam Jain*, Pramod Kumar Sharma, Arunabha Banik, Vineet Bhardwaj, (2011). Applications of Photosensitizer in Therapy, *Pharmacognosy Journal*, Vol.3 (22), P 11-17.
- [60] V. Hammiche, M. Azzouz, (2013). Les rues : ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité, Article original Ethnobotanique, *Phytothérapie*, Vol. 11, P 22-30, Springer-Verlag France

- [61] Société française de Photodermatologie - Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie, (2008). 2eme edition. Rueil-Malmaison : Arnette, P 449.
- [62] M. Benziane, (2007). Screening photochimique de la plante *Ruta montana*. Extraction de l'huile essentielle de la rutine. Activité antioxydant de la plante, thèse de magistère, option chimie organique.
- [63] M. Najem*, R. Belaidi, H. Bouiamrine, J. Ibjibjen, L. Nassiri, (2018). La rue de montagne « *Ruta montana L.* » : Usages en pharmacopée traditionnelle au Moyen Atlas central et risques de toxicité, Proceedings BIOSUNE'1. P 62-66.
<https://www.researchgate.net/publication/333755813>
- [64] G. Bonnier, (1999). La Grande flore en couleur, Ed: Belin, Tome 3. P 205 - 206.
- [65] K. Günaydin, S. Savcib, (2005). Phytochemical studies on *Ruta chalepensis (lam.) lamarck*, Natural Product Research, Vol. 19 (3), P 203 - 210.
- [66] R.R. Paris, H. Moyse, (1976). Précis de matière médicale, Ed Masson, Paris, T2, P 301.
- [67] G. Toker, S. Turkoz, N. Erdemoglu, (1998). National. Product, Vol. 20(4), P 240.
- [68] P.Facchini, (2001). Alkaloid biosynthesis in plants :biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications, Annual Review of Plant Biology, Vol. 52, P 29 - 66.
- [69] N. Mohr, K.Budzi, B.El-Tawil, (1982). Phytochemistry, Vol. 7(9).
- [70] D. Touati*, A. Rahman, A. Ulubelen, (2000), Alkaloids from *Ruta montana*, Phytochemistry, Vol. 53, P 277-279.
- [71] N. Kambouche, B. Merah, S. Bellahouel, J. Bouayed, A. Dicko, A. Derdour, C.Younos,R. Soulimani, (2008). Chemical composition and antioxidant potential of *Ruta montana L.* essential oil from Algeria, Journal of medicinal food, Vol.11(3), P 593-595
- [72] P.Waterman, (1993). Phytochemical diversity in the order Rutales, Phytochemical Potential of Tropical Plants, Vol. 27, P 203-233.

- [73] S. Milesi, B. Massot, E. Gontier, F. Bourgaud *, A. Guckert, (2001). *Ruta graveolens*.L.: apromising species for the production of furanocoumarins, Plant Science, Vol. 161, P 189–199
- [74] Y.C Kong, CP. Lan, KH. Wat, Ng. KH, But. PPH, Cheng Kf, (1998). Planta Med, Vol. 55, P 176.
- [75] B. L. Bezanger, M. Pinkas, M. Torch, (1986). Les plantes dans la thérapeutiques moderne 2éme édition.
- [76] C. Seak, C. Lin, (2007). *Ruta graveolens* intoxication. Clin Toxicol (Phila), Vol .45 (2), P 173-175.
- [77] W. Masri, I. Belwaer, F. Khelifi, A. Nouioui, D. Ben salah, D. Amira, A. Hedhili, (2015). A propos d'un cas d'intoxication aigüe par *Ruta montana*, Phytotherapie, Vol. 13(1), P 36-38.
- [78] N. Mokrani, (2013). Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères Alginate de sodium/chitosane, Mémoire de Magister, université M'HAMED BOUGARA, BOUMERDAS.
- [79] S. Gaudin, (2008). Etude de durabilité photochimique de composites bois polymères biodégradables, thèse de doctorat, Université BLAISE PASCAL.
- [80] D. Jaouen, (1994). Chitine, Chitosane et Dérivés, PhD Thèse en pharmacie, Université d'Angers, Angers (France).
- [81] A.Djelad, (2011). Préparation des matériaux composites chitosane-zeolithes. Application dans l'adsorption du cuivre, thèse de doctorat en chimie, Université d'ORAN.
- [82] F. Badaoui, (2012). Comportement rhéologique de solutions de biopolymères. Application au chitosane, au poly (vinyle alcool) et à leurs mélanges, Mémoire de Magister, Université M'HAMED BOUGARA, BOUMARDES.
- [83] P.S.Bakshi *, D. Selvakumar, K. Kadirvelu, N.S. Kumar, (2019). Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications, International Journal of Biological Macromolecules, Article in press. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113>

- [84] B.B. Aam, E.B. Heggset, A.L. Norberg, M. Sorlie, K.M. Varum, V.G. Eijsink, (2010). Production of chitoooligosaccharides and their potential applications in medicine, *Marine Drugs*, Vol. 8, P 1482-1517.
- [85] F. Shahidi, R. Abuzaytoun., (2005). Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects, *Advances in food and nutrition research*, Vol. 49, P 93-135.
- [86] E.L. Johnson, Q.P. Peniston, (1982). Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production. In *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*; Martin. R.E, Flick G.J, Hebard. C.E, Ward. D.R, Eds, AVI Publishing: Westport, CT. Chapter 19.
- [87] J. Vetter, (2007). Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*, *Food Chemistry*, Vol. 102(1), P 6-9.
- [88] F. Di Mario et Al, (2002). Chitin and chitosan from Basidiomycetes, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 43(1), P 8-12.
- [89] P. Pochanavanich, W. Suntornsuk, (2002). Fungal chitosan production and its characterization. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 35(1), P 17-21.
- [90] J. Synowiecki, N.A.A.Q. Al-Khateeb, (1997). Mycelia of *Mucor rouxii* as a source of chitin and chitosan, *Food Chemistry*, Vol. 60(4), P 605-610.
- [91] https://www.researchgate.net/publication/334746596_From_Chitin_to_Chitosan/figures?lo=1
- [92] Majeti N.V Ravi Kumar, (2000). A review of chitin and chitosan applications, *Reactive and functional polymers*, Vol.46, P 1-27.
- [93] V.S. Yeul, S.S. Rayalu, (2013). Unprecedented Chitin and Chitosan: A Chemical Overview, *Journal of Polymers and the Environment*, Vol. 21(2), P 606-614.
- [94] Y.D. Hang, (1990). Chitine et chitosane : du biopolymère à l'application, *Biotechnol Letters* 12, 911.
- [95] T. Jiang, R. James, S.G. Kumbar, C.T. Laurencin, (2014). Chitosan as a Biomaterial: Natural and Synthetic Biomedical Polymers, *Elsevier Science et Technology*, P 91-113.

- [96] M. Yadav, P. Goswami, K. Paritoch, M. Kumar, N. Pareek, V. Vivekanand, (2019). Seafood waste: a source for preparation of commercially employable chitin/chitosan materials, *Bioresources and Bioprocessing*, 6 (1). DOI: 10.1186/s40643-019-0243-y
- [97] M.A. Ibrahim, O. Osman, A.A. Mahmoud, (2011). Spectroscopic analyses of cellulose and chitosan: FTIR and modeling approach, *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, Vol. 8(1), P 117-123.
- [98] T. Jiang, R. James, S.G. Kumbar, C.T. Laurencin, (2014). Chitosan as a biomaterial: structure, properties, and applications in tissue engineering and drug delivery, *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*, Chapitre 5, P 91-113.
- [99] W. Paul, C.P. Sharma, (2015). *Advances in wound healing materials: Science and skin engineering*, Smithers Rapra Publishing.
- [100] M. Dash, F. Chiellini, R.M. Ottenbrite, E. Chiellini, (2011). Chitosan – a versatile semisynthetic polymer in biomedical applications, *Progress in Polymer Science*. Vol. 36, P 981-1014.
- [101] W.J. Hennen, (1996). *Chitosan natural Fat blocker*, Woodland Publishing, Salt Lake City.
- [102] Y. Habibi, L.A. Lucia, (2012). Polysaccharide building blocks: A sustainable approach to the development of renewable biomaterials. doi: [10.1002/9781118229484](https://doi.org/10.1002/9781118229484)
- [103] R.R. Klossner, H.A. Queen, A.J. Coughlin, W.E. Krause, (2008). Correlation of chitosan's rheological properties and its ability to electrospin, *Biomacromolecules*, Vol. 9, P 2947–2953.
- [104] M. Rinaudo, (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications, *Progress in Polymer Science*, Vol. 31(7), P 603–632
- [105] G. Crini, B. P.M. Badot, E. Guibal, (2009). Chitine et chitosane du biopolymère à l'application, *Press universitaire de Franche-Comté*, chapitre 1, P 28.
- [106] P. Sorlier, A. Deunuzière, C. Vitron, A. Domard, (2001). Relation between the Degree of Acetylation and the Electrostatic Properties of Chitin and Chitosan, *Biomacromolecules*, Vol. 2, P 765-772

- [107] D. Snyman, J.H. Hamman, J.S. Kotze, J.E. Rollings, A.F. Kotze, (2002). The relationship between the absolute molecular weight and the degree of quaternisation of N-trimethyl chitosan chloride, *Carbohydrate Polymer*, Vol. 50, P 145–150.
- [108] S.A. Hashmi, A. Chandra, R.K. Singh, A. Chandra, S. Chandra, (2015). *Electroactive polymers: Materials and devices*, Allied Publishers.
- [109] C. Peng, Y. Wang, S. Tan, G. Cheng, (1998). Preparation of chitosan derivatives. Synthesis of N-Schiff base type and N-secondary amino type chitosan-crown ethers, *Polymer Journal*, Vol. 30, P 843-845.
- [110] M.A. Hassan, A.M. Omer, E. Abbas, M.A. Baset Walid, T.M. Tamer, (2018). Preparation, physicochemical characterization and antimicrobial activities of novel two phenolic chitosan Schiff base derivatives, *Scientific Reports*, 8:11416.
- [111] A.M. Omer*, Y.A. Ammar, G. A. Mohamed, Y. M. Abd elbaky, T.M. Tamer, (2019). Preparation of Isatin/chitosan Schiff base as Novel Antibacterial Biomaterials, *Egyptien Journal of Chemistry*. Vol. 62(1), P 123- 131.
- [112] T.M. Tamer, M.A. Hassan, M.A. Omer, M.A. Baset Walid, M.E. Hassan, M.E.A. El-Shafeey, M. S. MohyEldin, (2016). Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of two aromatic chitosan Schiff base derivatives, *Process Biochemistry*, Vol.51, P 1721-1730.
- [113] T. Baran, A. Mentens, (2015). Cu (II) and Pd (II) complexes of Water soluble O-carboxymethyl chitosan Schiff bases: Synthesis, characterization, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol.79, P 542-554
- [114] Guiping Ma, Bin Qian, Jianxin Yang, Chunqing Hu, Jun Nie*, (2010). Synthesis and properties of photosensitive chitosan derivatives(1), *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 46, P 558–561.
- [115] E. Renbutsu, S. Okabe, Y. Omura, F. Nakatsubo, S. Minami, H. Saimoto*, Y. Shigemasa, (2007). Synthesis of UV-curable chitosan derivatives and palladium(II) adsorption behavior on their UV-exposed films, *Carbohydrate Polymers*, Vol. 69, P 697-706.

[116] A. Gandini*, S.Hariri, Jean-François Le Nest, (2003). Furan–polyether-modified chitosans as photosensitive polymer electrolytes, *Polymer*, Vol. 44, P 7565-7572.

[117] M. Monier*, Y.Wei*, A.A. Sarhan, D.M. Ayad, (2010). Synthesis and characterization of photo-crosslinkable hydrogel membranes based on modified chitosan, *Polymer*, Vol. 51(5), P 1002-1009.

[118] Laurence PESSONI, (2013). Synthèse de polystyrène greffé rose Bengale pour l'élaboration de films poreux photo-actifs structurés en Nid d'abeille, thèse de doctorat en Chimie et Physico-Chimie des Polymères, Université de PAU et DES PAYS DE L'ADOUR.

[119] Zivile Luksiene, (2021). Photosensitization: Principles and Applications in Food Processing, *Innovative Food Processing Technologies: A Comprehensive Review*.doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22668-1

[120] M. Gmurek, M. Foszpanczyk, M. Olak-Kucharczyk, D. Gryglik, S. Ledakowicz, (2017). Photosensitive chitosan for visible-light water pollutant degradation, *Chemical Engineering Journal*, Vol. 318, P 240-246.