



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire de master

En vue d'obtention du diplôme de master

Spécialité : chimie des produits naturels

PRODUCTION PILOTE DES POLYSACCHARIDES SULFATES ISSUS DE L'ULVA LACTUCA DANS LA DELIVRANCE DE LA METFORMINE

Présenté par :

GUELMY Manel

ESSELAMI Sabrine

Les membres des jurys :

Dr. BRAHIMI.S	MCB	Présidente	Université Blida 1
Dr. TALEB.M	MAA	Examinatrice	Université Blida 1
Dr. ZEFFOUNI.Z	MCB	Promotrice	Université Blida 1
Dr. MZYENE.F	MAA	Co-promotrice	Université Blida 1

Blida, juillet 2022

∞ REMERCIEMENTS

En premier lieu, nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, la patience et le courage nécessaire pour accomplir ce travail.

*Nous voulons tout d'abord adresser nos gratitudees à notre chère promotrice la docteur madame **ZEFFOUNI. Z**, en la remercier pour sa patience, sa confiance, sa disponibilité et la qualité de ses conseils durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous remercions notre Co-promotrice madame **MZYENE. F** pour son aide et ses précieux conseils.*

*Nous remercions également notre présidente de jury madame **BRAHIMI.S**, ainsi que l'examinatrice madame **TALTEB. M** pour avoir accepté d'évaluer notre travail.*

Nous remercions aussi toute l'équipe des laboratoires pédagogiques de chimie du pavillon 5 et de laboratoire de recherche des substances naturels de pavillon 8.

Nous remercions tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.

Enfin nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire de fin d'étude.

∞ Dédicace

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Du profond de mon cœur, Je dédie ce travail :

À mes chers parents

Signe de fierté et d'honneur, ce travail est le vôtre, Inchallah.

Mon cher Papa Abde EL Hamid,

Aucune dédicace ne peut exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices consentis pour mon instruction et mon bien être.

Mes remerciements plus chaleureux pour le soutien et l'intérêt dont j'ai trouvé depuis mon enfance et que ce modeste travail soit l'exaucement de votre vœu tant formulé et le fruit d'innombrables sacrifices. Puisse dieu, le tout puissant vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Ma chère Maman Karima Hayate,

Nul mot ne parviendra à exprimer l'amour que je te porte.

Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que ce travail sera le fruit de tes efforts et un témoignage de ma profonde affection. Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À ma grand-mère Cherifa, qui m'a soutenue tout au long de mon parcours scolaire, merci pour tes prières et ton amour que dieu vos protège et te gardes.

A ma chère tante Dr. Guelmi Souad, merci pour tous les efforts.

À mes chers frères, Belkacem et Anes

À mes chères sœurs, Nesrine et Nada

A ma grand-mère Fadhila et mon grand-père Mohamed

A toute ma famille.

A tous mes amis.

A toute la promotion CPN 2022.

MANEL.



Dédicace

Je dédie ce projet de fin d'étude accompagné d'un profond amour à :

*A mes chers parents **Ali** et **Malika** pour leurs soutiens et leurs motivations dans mes études. Que Dieu vous protège et vous garde.*

*A mes sœurs **Imène** et **Ikram***

*A mon frère **Abderrahmane***

*A ma grand-mère **Yamina***

A tous mes cousins et cousines

A toute les membres de ma famille

A tous mes amis

Esselami Sabrina

RESUME

L'objectif principal de notre travail est la valorisation d'un hydrogel à base d'un biopolymère naturel dans la délivrance des médicaments.

Le biopolymère utilisé est l'ulvane, extrait à partir d'une algue marine verte « Ulva Lactuca ». Un rendement de 12.4% a été obtenu par l'extraction avec de l'eau chaude.

La formation de l'hydrogel a été réalisée en mélangeant l'Ulvane au chlorure de calcium (CaCl₂).

L'imprégnation d'un principe actif (PA) « la metformine » sur l'hydrogel à base de l'Ulvane a été effectuée en deux doses différentes 850 et 500mg.

La libération prolongée du principe actif a été étudiée dans deux milieux (pH=1.2 et pH=6.8), et suivie par la spectroscopie UV-visible. Les résultats montrent une libération optimale au pH de 1.2 au bout de 40min avec 850 mg de PA, et de 55min avec 500 mg de PA,

Et pour un pH de 6.8, la libération optimale a été obtenue au bout de 40min avec 850 mg du PA et de 45min avec 500 mg de PA.

Mots clés : polysaccharides sulfatés, délivrance des médicaments, metformine.

ABSTRACT

The main objective of our work is the valorization of a hydrogel based on a natural biopolymer in the delivery of drugs.

The biopolymer used is ulvane, extracted from a green seaweed «Ulva Lactuca». A yield of 12.4% was obtained by extraction with hot water.

The formation of hydrogel was achieved by mixing Ulvane with calcium chloride (CaCl₂).

The impregnation of an active ingredient (AP) "metformin" on the Ulvane-based hydrogel was carried out in two different doses 850 and 500mg.

Prolonged release of the active ingredient was studied in two media (pH=1.2 and pH=6.8), followed by UV-visible spectroscopy. The results show an optimal release at pH of 1.2 after 40min with 850 mg PA, and 55min with 500 mg PA.

And for a pH of 6.8, the optimal release was obtained after 40min with 850 mg of PA and 45min with 500 mg of PA.

Keywords: sulfated polysaccharides, drug delivery, metformin.

الملخص

الهدف الرئيسي لعملنا هو تثمين الهيدروجيل بناءً على بوليمر حيوي طبيعي في توصيل الأدوية. البوليمر الحيوي المستخدم هو ulvane، مستخرج من الأعشاب البحرية الخضراء «Ulva Lactuca» تم الحصول على محصول بنسبة 12.4% عن طريق الاستخراج بالماء الساخن. تم تحقيق تكوين الهيدروجيل عن طريق مزج أولفان مع كلوريد الكالسيوم (CaCl_2). تم تلقيح مكون نشط «(AP) ميتفورمين» على الهيدروجيل القائم على Ulvane بجرعتين مختلفتين 850 و 500 مجم. تمت دراسة الإطلاق المطول للمكون النشط في وسطين $\text{pH} = 1.2$ و $\text{pH} = 6.8$ ، يليه التحليل الطيفي المرئي بالأشعة فوق البنفسجية. تظهر النتائج الإصدار الأمثل عند درجة الحموضة 1.2 بعد 40 دقيقة مع 850 ملغ PA ، و 55 دقيقة مع 500 ملغ PA ، وبالنسبة لدرجة الحموضة 6.8، تم الحصول على الإصدار الأمثل بعد 40 دقيقة مع 850 مجم من PA و 45 دقيقة مع 500 مجم من PA.

الكلمات الرئيسية: السكريات الكبريتية، توصيل الأدوية، الميتفورمين.

SOMMAIRE

REMERCIEMENT

DEDICACE

RESUME

ABSTRACT

المخلص

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE 1 :ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Ulva lactuca	4
1.1.1. Généralités	4
1.1.2. Description.....	4
1.1.3. Taxonomie (classification).....	5
1.1.4. Composition biochimique	5
1.1.4.1. Les minéraux	5
1.1.4.2. Les pigments.....	6
1.1.4.3. Les polysaccharides	6
1.1.4.4. Les protéines.....	7
1.1.4.5. Les lipides.....	8
1.1.5. Toxicités.....	9
1.2. Polysaccharide ulvane	9
1.2.1. Définition et structure	9
1.2.2. Propriétés physico chimique d’ulvanes	11
1.2.2.1. La viscosité	11
1.2.2.2. Propriétés gélifiantes	11
1.2.2.3. Poids moléculaire	12
1.2.2.4. La solubilité	12
1.2.3. Les méthodes d’extraction de l’ulvane	12
1.2.3.1. Extraction à l’eau chaude	13
1.2.3.2. Extraction acide	13
1.2.3.3. Extraction avec chélateur.....	13
1.2.3.4. Extraction enzymatique	14

1.2.4.	Les activités biologiques de l'ulvane	15
1.2.4.1.	Activité anti-inflammatoire	15
1.2.4.2.	Activités antioxydant	16
1.2.4.3.	Activité antibactérienne	16
1.2.4.4.	Activité antivirale	16
1.2.4.5.	Activité immunomodulatrice	17
1.2.4.6.	Activité antihyperlipidémique	17
1.2.4.7.	Activité anticoagulante	17
1.2.4.8.	Activité cytotoxique et anticancéreuse	18
1.3.	Les hydrogels à base d'ulvane pour la délivrance des médicaments	18
1.3.1.	Généralités sur les hydrogels	18
1.3.1.1.	Historique	18
1.3.1.2.	Définition.....	19
1.3.1.3.	Classification	19
1.3.1.4.	Propriétés et caractéristiques	20
1.3.1.5.	Préparation des hydrogels.....	21
1.3.1.5.1.	Réticulation physique	21
1.3.1.5.2.	Réticulation chimique.....	24
1.3.2.	Généralités sur la délivrance des médicaments	25
1.3.2.1.	Définition d'un système de délivrance des médicaments.....	25
1.3.2.2.	Définition de la libération prolongée d'un médicament.....	26
1.3.2.3.	Avantages et inconvénients de la libération prolongée	26
1.3.2.4.	Les systèmes de la libération prolongée	27
1.3.2.5.	Propriétés physicochimiques modulant la cinétique de libération prolongée	29
1.3.3.	Hydrogel à base d'ulvane.....	29

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

2.1.	L'objectif de travail	32
2.2.	Matériels	32
2.2.1.	Matériel végétal	32
2.2.2.	Appareillages	33
2.2.3.	Réactifs et produits chimiques	33
2.2.4.	Le principe actif : «la metformine ».....	35
2.3.	Méthodes	36
2.3.1.	Prétraitement de l'algue « Ulva Lactuca »	36

2.3.3. Caractérisation du polysaccharide ulvane.....	43
2.3.3.1. Test de molisch.....	43
2.3.3.2. Caractérisation par FTIR	43
2.3.4. Préparation d'hydrogel à base d'ulvane.....	44
2.3.5. L'encapsulation de la metformine par l'hydrogel.....	46
2.3.5. L'étalonnage de la metformine	47
2.3.6. Étude de la libération de la metformine à partir des hydrogels à base d'ulvane ...	48
2.3.6.1. Préparation des milieux physiologiques.....	48
2.3.6.2. Cinétique de la libération de la metformine (principe actif)	48

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DESCUSSIONS

3.1. Extraction	51
3.1.1. Le rendement d'extraction	51
3.1.2. Effet de temps et température	51
3.2. Caractérisation de polysaccharide ulvane.....	52
3.2.1. Teste de molisch.....	52
3.2.2. Spectrophotométrie ATR-FTIR	53
3.3. Formation d'hydrogel	54
3.4. Encapsulation de la metformine	55
3.5. Spectre UV-Visible de la metformine	56
3.6. La courbe d'étalonnage de la metformine	56
3.7. La libération de la metformine	57
CONCLUSION GENERALE	60
REFERENCES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1. 1: Ulva lactuca	4
Figure 1. 2: La structure d'ulvane	11
Figure 1. 3: Organigramme schématique de la méthode d'extraction ulvane d'Ulva lactuca	15
Figure 1. 4: Formation de gel due à l'agrégation de l'hélice lors du refroidissement d'une solution chaude de carraghenane	22
Figure 1. 5: Gélification ionotropique par interaction entre les groupes anioniques sur alginate (COO-) et les métalliques divalents (Ca ²⁺)	22
Figure 1. 6: Coacervation complexe entre un polyanion et un polycation	23
Figure 1. 7: Formation d'un réseau hydrogéologique en raison de la liaison hydrogène intermoléculaire dans le CMC a faible pH	23
Figure 1. 8: Illustration schematique de l'utilisation d'un reticuler chimique pour obtenir un resezau hydrogéolofique reticulé	24
Figure 1. 9: Greffage d'un monomère sur ossature polymère préformée conduisant à une ramification et une réticulation infinie	25
Figure 1. 10: Mécanisme de contrôle de la libération d'un principe actif par le système réservoir	28
Figure 1. 11: Mécanisme de contrôle de la libération d'un principe actif par le système matriciel	28
Figure 2. 1: Photo de la plage de Fouka marine « La petite mer ».....	32
Figure 2. 2: Structure chimique de la metformine	36
Figure 2. 3: Le prétraitement d'Ulva lactuca.	37
Figure 2. 4: Extraction d'ulvane.....	38
Figure 2. 5: Refroidir à température ambiante.	38
Figure 2. 6: Centrifugation.	39
Figure 2. 7: Extrait ulvane avant et après le séchage.....	39
Figure 2. 8: Macération à froid après 48h.	40
Figure 2. 9: Extrait ulvane avant et après séchage.	40
Figure 2. 10: Procédure d'extraction de polysaccharide ulvane à partir d'Ulva Lactuca 01	41

Figure 2. 11: Procédure d'extraction de polysaccharide ulvane à partir d'Ulva lactuca	02.42
Figure 2. 12: Photo représentant le spectrophotomètre ATR-FTIR.	44
Figure 2. 13: Photo représentant appareil spectrophotométrie d'absorption UV-Visible.	49
Figure 3. 1: Teste de Molisch.	52
Figure 3. 2: Réaction de Molisch.	52
Figure 3. 3: Le spectre ATR-FTIR de polysaccharide ulvane.	53
Figure 3. 4: Hydrogel à base d'ulvane.	55
Figure 3. 5: Résultat de l'encapsulation de la metformine a 500mg et 850mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane.	55
Figure 3. 6: Spectre UV de la metformine.	56
Figure 3. 7: La courbe d'étalonnage de la metformine.	56
Figure 3. 8: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 500mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane à pH=1.2.	57
Figure 3. 9: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 850mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane à pH=1.2.	58
Figure 3. 10: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 500mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane a pH= 6.8.	58
Figure 3. 11: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 850mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane a pH=6.8.	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. 1: Classification d'algue vert «Ulva Lactuca»	5
Tableau 1. 2: Composition chimique d'Ulva Lactuca	5
Tableau 1. 3: Teneur des minéraux dans L'Ulva Lactuca	6
Tableau 1. 4: Composition en monosaccharides de la macroalgue U. Lactuca	7
Tableau 1. 5: Profil des acides aminés dans Ulva Lactuca	7
Tableau 1. 6: Profil en acides gras d'Ulva Lactuca	8
Tableau 1. 7: Les avantages et les inconvénients de la libération prolongée	26
Tableau 2. 1: L'appareillage utilise au laboratoire lors de l'expérimentation.	33
Tableau 2. 2: Les produits chimiques utilisés dans notre étude expérimentale.....	33
Tableau 2. 3: Principales caractéristiques de la metformine	35
Tableau 2. 4: Les calculs de solutions filles.	47
Tableau 3. 1: Résultats des rendements par deux méthodes d'extraction.	51

LISTE DES ABREVIATIONS

A3s : L'acide ulvanobiuronique 3-sulphate A

ATR : Réflectance totale atténuée

B3s : L'acide ulvanobiuronique 3-sulphate B

Ca²⁺: ion calcium

cm : centrimètre

CMC : Carboxyméthylcellulose

DDS : Drug delivery system

EDTA: Acide éthylène diamide tétra-acétique

FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier

g : gramme

h : Heure

HAP : Hydrocarbure aromatique polycyclique

HCl : Acide chlorhydrique

INCI : La nomenclature internationale des ingrédients cosmétiques

K⁺: ions potassium

kDa: Kilodalton

Kg: kilogramme

KH₂PO₄: dihydrogénophosphate de potassium ou le phosphate de monopotassium

M : Moule

mL: Millilitre

Na⁺: Ion sodium

nm: nanomètre

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

PEG : Polyéthylène glycol

PVA : Poly alcool vinylique

pH : Potentiel d'hydrogène

pKa : Constante d'acidité

PNIPAm : Le poly(N-isopropylacrylamide)

R: Rendement

tpm : tour par minute

SDM : Système de délivrance des médicaments

U3s: Sulfate d'acide 3-sulfate d'ulvanobiose

U2's3s: Disulfate d'acide 2,3- sulfure d'ulvanobiose

UV : Ultraviolet

°C : Degré celsius

%: Pourcentage

INTRODUCTION GENERALE

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source importante de molécules actives à structure chimique originale. Parmi ces organismes marins figurent les algues [1].

La valorisation de la biomasse algale est considérée parmi les programmes internationaux les plus intéressants dans l'exploitation du milieu marin [2].

Les algues ont déjà une valeur commerciale reconnue dans les domaines variés tel que : l'alimentation, la cosmétique, le textile, la papeterie, la pharmacie et la médecine [2].

Les algues marines sont la ressource la plus riche en polysaccharides sulfatés [3]. Ces polysaccharides sulfatés sont des molécules courantes dans les parois cellulaires des algues marines et leur structure chimique varient en fonction de l'espèce spécifique et de la partie de l'algue dont elles ont été extraites [4]. Leurs propriétés dépendent principalement de leur poids moléculaire, de la présence de groupes sulfates et de leur solubilité [3].

Parmi les polysaccharides sulfatés les plus connus sont les fucanes, les fucoidanes, les galactanes (agaranes et carraghénanes) et les ulvanes, provenant respectivement d'algues brunes, rouges et vertes [4]. Ils sont très solubles dans l'eau, et ont plusieurs propriétés biologiques importantes comme antivirales, anticancéreuses, anticoagulantes, antioxydantes, antitumorales, prébiotiques, immunomodulatrices, et anti-inflammatoires. En outre, leurs caractéristiques structurales en font des substances idéales pour les programmes d'échafaudage cellulaire, les remèdes pour certaines maladies, la libération contrôlée des médicaments [4].

Notre intérêt s'est porté sur l'ulvane, un polysaccharide sulfaté extrait d'algues vertes appartenant à l'espèce *Ulva*. Cette biomasse abondante représente une source renouvelable, et présente un large éventail d'activités biologiques, y compris des propriétés antivirales, anticoagulantes, antioxydantes et antihyperlipidémiques [5].

De nombreuses études indiquent que l'ulvane peuvent former des hydrogels à cause de leurs propriétés de gonflement [6]. Ces derniers sont utilisés pour le développement de nouveaux systèmes de libération contrôlée ou prolongée afin d'optimiser l'effet

thérapeutique, protéger le médicament, augmenter la solubilité et la biodisponibilité du médicament et réduire les effets secondaires et la toxicité [7].

Dans ce travail, nous allons élaborer un nouveau système biodégradable à base d'ulvane dans le but d'évaluer la libération prolongée de la metformine, un principe actif antidiabétique.

Notre mémoire est subdivisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est une étude bibliographique sur :

- La description d'ulva lactuca.
- Une étude détaillée sur le polysaccharide ulvane.
- Une étude sur l'hydrogel à base d'ulvane.

Le deuxième chapitre consiste à une étude expérimentale qui comporte :

- L'extraction d'ulvane.
- Caractérisation d'ulvane.
- Préparation des hydrogels.
- Encapsulation de la metformine par des hydrogels à base d'ulvane.
- Etude de la cinétique de la libération prolongée de la metformine.

Le troisième chapitre représente les résultats et discussions.

Et on termine par une conclusion générale.

CHAPITRE 1 :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE1.1. Ulva lactuca1.1.1. Généralités

L'algue *Ulva Lactuca* ou « laitue de mer » est une macro-algue verte comestible [8], décrite pour la première fois par Linné dans la mer Baltique au XVIII^e siècle [9], présente une distribution cosmopolite (très vaste), répandue dans l'océan atlantique et les mers attenantes. Elle se fixe sur différents supports solides telles que les roches, dans les zones littorales et sublittorales des régions côtières [8].

Cette algue est visible surtout aux fortes périodes d'ensoleillement, la fin de l'hiver, le printemps et l'été. Elle a une durée de vie assez courte, quelques mois en général, mais plusieurs générations se succèdent au cours de l'année [8].

1.1.2. Description

Elle est formée d'un thalle mince et aplati, souvent lobé [10], comprend environ 100 espèces, qu'elles présentent avec une variété de formes complexes en raison de la plasticité phénotypique et des différences morphologiques [11], ne comportant que deux couches de cellules (bicouche cellulaire), orbiculaire et translucide, avec une marge lisse [12], possédant chacune un seul chloroplaste (organite contenant de la chlorophylle). Cette lame souple peut varier du vert foncé au vert clair [10], leur taille est variable, en moyenne de 30 à 40 cm, et peut même atteindre 1 mètre si elles se trouvent dans des zones eutrophisées [11] (des eaux riches en matières organiques). L'algue adhère au substrat grâce à un petit disque de fixation, surmonté d'un stipe très court [10].



Figure 1. 1: *Ulva lactuca* [13].

1.1.3. Taxonomie (classification)

Tableau 1. 1: Classification d'algue vert «Ulva Lactuca» [11], [12].

Monde	Biota
Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Embranchement	Chlorophyta
Sous-embranchement	Chlorophytina
Classe	Ulvophyceae
Sous-classe	Ulothricophycidées
Ordre	Ulvales
Famille	Ulvaceae
Genre	Ulva
Espèce	Ulva Lactuca

1.1.4. Composition biochimique

La composition biochimique des algues marines est généralement connue pour être fortement influencée par les conditions environnementales locales (saison, pollution...) et l'emplacement géographique. Riche en vitamine C (8 fois plus que l'orange), en vitamine A, calcium, chlorophylle, fer (2 fois plus que les germes de blé), magnésium (10 fois plus que les germes de blé), Ulva Lactuca a une teneur élevée en protéines et est assez pauvre en lipides. Signalons qu'en INCI répertorie un extrait d'Ulva Lactuca par le numéro CAS 97281-59-9, en tant qu'agent de protection de la peau [14].

Tableau 1. 2: Composition chimique d'Ulva Lactuca [14].

	Composition biochimique d'Ulva Lactuca (%)
Protéine	25,52±2,12
Lipides	2,85±0,72
Humidités	75,56±3,24
Cendre	70,28±2,54

1.1.4.1. Les minéraux

Les algues contiennent dans leur composition de nombreux micro et macroéléments, tels que l'iode, le zinc, le fer, le cuivre, le calcium et le magnésium, le

sodium et le potassium, nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme humain. Leur teneur dans la biomasse atteint parfois 40%, davantage que dans n'importe quelle plante terrestre comestible (10 à 100 fois plus élevée que les légumes traditionnels). C'est pourquoi les algues constituent potentiellement une source riche en macro et micro-éléments [8].

Tableau 1. 3: Teneur des minéraux dans L'Ulva Lactuca [8].

Calcium (Ca)	0,9 à 5,6 % de la matière sèche (MS)
Magnésium (Mg)	2 à 3,7 % de la MS
Phosphore (Ph)	4,99 % de la MS
Soufre (S)	2,8 à 10,3 % de la MS
du sel, dont du chlorure de sodium (Na)	0,9 à 5,9 % de la MS

1.1.4.2. Les pigments

Les pigments d'algues peuvent être divisés en trois groupes principaux : la chlorophylle (chlorines et porphyrines) et les caroténoïdes (polyisoprénoïdes avec des cycles terminaux cyclohexane) et les phycobiliprotéines (tétrapyrroles ouvertes) sont des pigments liposolubles. Les caroténoïdes (carotènes et xanthophylles) sont des pigments terpénoïdes produits par des algues marines, des plantes, des champignons et certaines bactéries, et sont les pigments les plus répandus dans la nature [8].

1.1.4.3. Les polysaccharides

Les polysaccharides les plus abondants dans les algues vertes et surtout dans Ulva Lactuca sont les ulvanes. Les ulvanes sont des polysaccharides sulfatés de la paroi cellulaire des algues marines vertes appartenant aux Ulvales. Ces polysaccharides sont responsables d'un large éventail d'activités physiologiques et biologiques telles que les activités anticancéreuses, anticoagulantes, antioxydants, antifongiques et anti tumorales [8].

La structure et la composition de l'ulvane dépendent fortement des conditions d'extraction [8].

Ces ulvanes sont composées en majorité de rhamnose et d'acide uronique, unités majoritaires, auxquelles s'ajoutent du xylose et du glucose. Le taux de sulfates est assez élevé, autour de 30% [8].

Tableau 1. 4: Composition en monosaccharides de la macroalgue U. Lactuca [8].

Sucres naturels	Contenu(%)
Glucose	17.24 ± 0.20
Rhamnose	7.40 ± 0.21
Xylose	1.93 ± 0.03
Galactose	0.35 ± 0.01
Mannose	0.29 ± 0.00
Arabinose	0.08 ± 0.00

1.1.4.4. Les protéines

Les lectines sont les protéines les plus abondantes dans Ulva Lactuca. Ces composés sont capables de se lier aux glucides et participent donc à de nombreuses activités biologiques. Ils sont responsables du transport des enzymes cellulaires, de leur synthèse et de la régulation de l'activité des enzymes. Ils jouent également un rôle important dans la communication cellule-cellule. De plus, ces composés procurent des propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires [8].

Ulva Lactuca collectée au large de la Norvège était riche en protéines, allant de 90 à 120 g kg⁻¹ DW. Les teneurs en protéines varient d'une étude à l'autre, cela peut s'expliquer en partie par les variations géographiques et saisonnières, mais aussi par les différences de méthodologie [8].

Tableau 1. 5: Profil des acides aminés dans Ulva Lactuca [8].

Acides aminés essentiels d'Ulva Lactuca (g kg⁻¹ DW.)	
Thréonine	7.1 ± 0.1
Valine	7.1 ± 0.1
Méthionine	2.2 ± 0.1
Isoleucine	4.4 ± 0.2
Leucine	8.5 ± 0.3
Phénylalanine	6.0 ± 0.2
Lysine	5.1 ± 0.2
Histidine	1.6 ± 0.1
Tryptophane	pas disponible
Acides aminés non essentiels (NEAA)	

Acide aspartique	9.0 ± 0.3
Serine	5.9 ± 0.3
Acide glutamique	12.2 ± 0.5
Proline	5.8 ± 0.5
Glycine	7.3 ± 0.2
Alanine	10.1 ± 0.3
Cystéine	1.0 ± 0.2
Tyrosine	3.4 ± 0.4
Arginine	6.0 ± 0.3
Somme TAA	101.5 ± 3.9
Quantité relative	40.3 ± 0.4
Score chimique	0.92

1.1.4.5. Les lipides (corps gras)

Kendel et al. ont rapporté que la teneur en lipides dans les algues vertes et spécifiquement *U. Lactuca* est faible. Elle varie de 0.3% jusqu'à 3 % selon l'origine des algues [8].

Tableau 1. 6: Profil en acides gras d'*Ulva Lactuca* [8].

acide gras	Ester méthylique (%)
Myristique C14:0	2.40 ± 0.10
Palmitique C16:0	59.40 ± 0.56
Palmitoléique C16:1	6.87 ± 0.23
Stéarique C18:0	1.87 ± 0.11
Oléique C18:1	15.93 ± 0.50
Linoléique C18:2	2.43 ± 0.05
α-linoléique C18:3	3.20 ± 0.17
Arachidique C20:0	1.13 ± 0.10
Eicosénoïque C20:1	1.52 ± 0.05
Béhénique C22:0	4.17 ± 0.05
Docosahexénoïque C22:6	1.10 ± 0.05

Ortiz et al. Ont également rapporté que les principaux acides monoinsaturés présents chez *U. Lactuca* sont l'acide oléique, palmitoléique et éicosénoïque. Les variations des teneurs en acides gras sont imputables aux différences environnementales et génétiques [8].

1.1.5. Toxicités

Les algues vertes sont nitrophiles, c'est-à-dire qu'elles ont besoin de beaucoup de nitrates pour assurer le développement, entre autres, de leur appareil chlorophyllien. Ainsi en hiver et au début du printemps cette croissance est exponentielle pour ensuite se tarir entre avril et juillet. En effet si les algues vertes ne sont pas toxiques en elles-mêmes, puisqu'elles sont comestibles, quoique peu savoureuses et donc réservées aux périodes de disette, leur toxicité sur le milieu est indirecte et liée à leur prolifération [14].

- Au-dessous de la couverture trop épaisse des algues surabondantes se créent des zones mortes. Le couvercle des algues crée en effet les conditions d'une hypoxie qui asphyxie le phytoplancton et le zooplancton dont les « cadavres » vont se déposer au fond de l'océan. Les conditions de ces zones mortes se reproduisent régulièrement tous les ans à la saison chaude dans la plupart des zones côtières concernées [14].

- Au-dessus de la surface de l'eau, les algues en se desséchant forment un dépôt pouvant faire plusieurs mètres de hauteur. Sous cette croûte, les algues en décomposition fabriquent du sulfure d'hydrogène, un gaz très toxique qui sent l'œuf pourri. Mais à forte concentration l'atteinte du système nerveux central entraîne une perte de connaissance, le nerf olfactif est ensuite lentement détruit, puis le gaz réagissant avec les enzymes dans le sang empêche la respiration cellulaire, l'apnée est rapide, et la détresse respiratoire est responsable d'un arrêt cardiaque en cinq à dix minutes [14].

1.2. Polysaccharide ulvane

1.2.1. Définition et structure

Ulvane est un polysaccharide sulfaté soluble dans l'eau, qui constitue les composants primaires de la paroi cellulaire du genre *Ulva* [15], et représente généralement 9 à 36 % du poids sec de la biomasse *Ulva* (comme *Ulva Lactuca* et *Ulva Compressa*) [16].

Ulvane est une chaîne polymères de différents résidus de sucre comme le glucose, le rhamnose, la xylose, le glucuronique et l'acide iduronique avec des liaisons α - et β - (1 \rightarrow 4) [17].

On a constaté que les principales unités disaccharides répétés dans l'extrait d'ulvane de différents échantillons d'*ulva* comprenaient deux types différents d'acide

aldobiouronique Appelés acide ulvanobiuronique 3-sulfate de type A et de type B (A3s et B3s, respectivement) [18].

Des aldobioses disaccharides mineures [16] sont appelés acides ulvanobiose et symbolisés par U3s (sulfate d'acide 3-sulfate d'ulvanobiose) et U2's3s (disulfate d'acide 2,3-ulfure d'ulvanobiose) [18]. Les types A et B sont beaucoup plus communs que U [16].

- L'acide ulvanobiuronique de type A3s, l'une des unités les plus courantes de disaccharide, se compose d'acide β -D-glucuronique (1 \rightarrow 4)-lié au α -L-rhamnose 3-sulfate, tandis que dans l'acide α -L-iduronique de type B3S (épimère C-5 d'acide glucuronique) est (1 \rightarrow 4)-lié à α -L-rhamnose 3-sulfate [16].
- L'ulvanobiose U3S est constitué de β -D-xylose (1 \rightarrow 4)-lié au α -L-rhamnose 3-sulfate, tandis que le type U2's, 3s est constitué de β -D-xylose 2-sulfate (1 \rightarrow 4) -lié au α -L-rhamnose 3-sulfate [16].

Alors que les liaisons glycosidiques (1 \rightarrow 4) sont les liaisons prédominantes, les liaisons glycosidiques (1 \rightarrow 2) et (1 \rightarrow 3) sont les liaisons glycosidiques se produisent également [16].

À cet égard, des ramifications mineures ont été associées avec de l'acide glucuronique (1 \rightarrow 2)-lié au résidu de rhamnose de l'acide ulvanobiuronique de type A3S. Cependant, il y a des indications qu'une plus grande diversité dans la structure de l'ulvane est probable pour les comparaisons structurales [16].

En raison du grand nombre de sucres dans sa composition, ulvane peut présenter des variations dans la densité électronique et la distribution de charge, ainsi que des variations de poids moléculaire [17].

Comme il contient des sucres rares, ulvane est une source naturelle pour les obtenir lors de la dépolymérisation, au lieu de recourir à la synthèse chimique [17].

La configuration, la ramification et le mode de sulfatation de l'ulvane seront affectés par la source, le type et les conditions de culture des algues utilisées comme matières premières. C'est une raison importante pour la diversification des caractéristiques et activités biologiques d'ulvane [15].

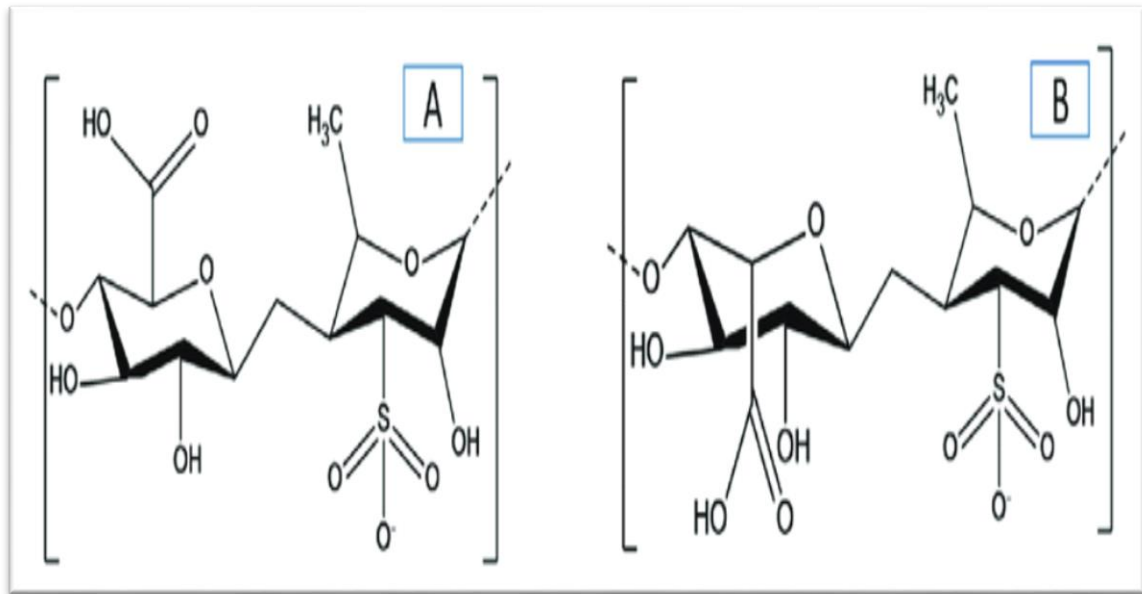


Figure 1. 2: La structure d'ulvane [19].

1.2.2. Propriétés physico chimique d'ulvanes

De nombreuses caractéristiques et propriétés de l'ulvane restent inconnues lorsque les conditions d'extraction varient, à savoir les propriétés rhéologiques et texturales. Selon la littérature, il existe peu de rapports sur les propriétés rhéologiques des polysaccharides ulvanes extraits dans des conditions particulières [18].

Cependant, l'impact des procédures d'extraction sur les propriétés chimiques, texturales et rhéologiques des extraits d'ulvane d'*Ulva lactuca* a été récemment évalué [18].

1.2.2.1. La viscosité

Les extraits d'Ulvane ont généralement montré un comportement pseudo plastique, une diminution de la viscosité étant observée à mesure que le taux de cisaillement augmentait. De plus, l'ulvane produit des viscoussolutions lorsqu'il est dissous dans l'eau [18]. Les viscosités faibles peuvent également refléter la variabilité du poids moléculaire de l'ulvane avec des proportions élevées de polysaccharides à chaîne courte et/ou de structures fortement ramifiées [20].

1.2.2.2. Propriétés gélifiantes

La composition chimique hétérogène de l'ulvane conduit à une conformation essentiellement désordonnée du biopolymère. Malgré cette structure désordonnée, la régularité locale donnée par les unités aldobiouroniques répétées, par exemple, est jugée

suffisante pour la formation de « zones de jonction » transitoires responsable de la formation du faible gel qu'ulvane est connu pour produire dans l'état natif [18].

La capacité de gélification a été démontré de dépendre de la présence de cations divalent. Selon les chercheurs, l'ulvane produit des solutions aqueuses visqueuses qui peuvent former des gels thermoréversibles en présence du cation divalent [18].

Dans l'ensemble, des études ont révélé que les gels ulvanes sont thermoréversibles et que des concentrations d'ions élevées ou faibles, ainsi que des variations de pH, peuvent influencer la conformation ulvane, et donc la formation du gel [18].

1.2.2.3. Poids moléculaire

Différents types d'ulvane ont été isolés en fonction de leurs poids moléculaires et de leurs distributions de poids moléculaire, dont la détermination a été effectuée avec un certain nombre de méthodes [20].

Les mesures de sédimentation ont indiqué des poids moléculaires allant de 530 kDa à $3,6 \times 10^3$ kDa pour les polysaccharides ulvanes isolés de différentes espèces [18].

La fraction polysaccharidique extraite à basse température avait le poids moléculaire le plus élevé, le plus probablement en raison de la perturbation des interactions ioniques et de la liaison inter chaîne à des températures élevées et à un pH acide [20].

Il est évident que la variabilité du poids moléculaire de l'ulvane provient de son origine et de son mode d'extraction. Cependant, les poids moléculaires peuvent également refléter différentes méthodes et conditions utilisés pour leur détermination [20].

1.2.2.4. La solubilité

Ulvane est considéré comme un polysaccharide ayant une densité de charge élevée, qui détermine sa solubilité dans l'eau. Cependant, il a un certain caractère hydrophobe, éventuellement déterminé par la présence d'une grande quantité de groupes méthyliques dans l'unité de répétition du rhamnose [18].

En tant que polyélectrolyte, la résistance ionique et le pH du solvant utilisé jouent un rôle sur la solubilité et la morphologie de l'ulvane, puisque le type et la quantité de contreponds en solution pourraient contribuer à la condensation du polymère [18].

1.2.3. Les méthodes d'extraction de l'ulvane

Afin d'extraire l'ulvane des macroalgues, les chercheurs ont découvert diverses méthodes d'extraction, comme l'extraction à l'eau chaude, l'eau chaude avec chélateur de

calcium (p.ex., oxalate de sodium et oxalate d'ammonium acidifié), l'eau chaude avec lavage à l'éthanol, extraction assistée par enzyme et extraction acide. La quantité et la qualité de l'ulvane extrait sont influencées par le procédé d'extraction et la sélection du solvant utilisé pour l'extraction [15].

1.2.3.1. Extraction à l'eau chaude

L'extraction à l'eau distillée pure est la méthode la plus utilisée [21].

La solubilité de l'ulvane dans les solutions aqueuses est améliorée par l'extraction à haute température (80-90 °C) [16].

La température est habituellement plafonnée sous le point d'ébullition de l'eau pour plus de commodité et pour éviter des températures plus élevées favorisant la dégradation (p. ex., dépolymérisation et désulfuration) [16].

Cette procédure fournit de l'ulvane qui est de l'acide glucuronique, du glucose, de l'arabinose et de la xylose, avec un rendement moyen de 25 à 40 % [21].

1.2.3.2. Extraction acide

Les extractions dans l'acide fort (p. ex., HCl) provoquent la désulfuration presque complète de l'ulvane isolé [16].

L'extraction acide consiste à ajouter de 0,05 à 1 % d'acide chlorhydrique (pH de 1,5 à 2), avec un rendement total moyen de 15 à 45 % [21].

Mécaniquement, les extractions à pH inférieur au pKa des acides glucuroniques dispersent les agrégats ulvanes, facilitant son extraction [16].

Notamment, des températures élevées (de 80 à 90 °C) sont encore nécessaires pour faciliter une extraction efficace à faible pH, mais les méthodes d'isolement influent sur les rendements [16].

1.2.3.3. Extraction avec chélateur

Les extractants, tels que les chélateurs, sont utilisés pour surmonter l'intégrité structurale de la paroi cellulaire de la plante, améliorant ainsi l'efficacité d'extraction d'ulvane [16].

Les chélateurs, comme les oxalates et l'EDTA, éliminent les cations divalents (p. ex., Ca²⁺) qui favorisent la réticulation d'ulvane dans la paroi cellulaire [16].

Les extractions à l'aide de chélateurs sont généralement effectuées à un pH presque neutre et à des températures élevées (80 à 90 °C). Les rendements déclarés varient

considérablement, mais l'efficacité d'extraction (et la sélectivité) est améliorée lorsque le pH est ajusté à 4,5 [16].

1.2.3.4. Extraction enzymatique

L'extraction enzymatique utilise l'onozula, la pectinase macerozyme, l' α -amylase et la protéinase K, qui sont en suspension dans le tampon [21].

Le rendement de l'extraction enzymatique est de 15 à 47 % .Ce rendement a le potentiel d'être amélioré parce qu'il n'y a pas eu d'optimisation [21].

En plus des quatre méthodes largement utilisées, d'autres méthodes comprennent l'extraction à plusieurs niveaux, en utilisant de l'eau suivie par des solvants Na_2CO_3 et NaOH , avec un rendement de 3,14 à 6,50 % [21].

Diverses méthodes peuvent être utilisées pour extraire l'ulvane en fonction du composant actif qui sera analysé [21].

Les variations de concentration, de pH et de température sont des paramètres importants pour obtenir les résultats souhaités [21].

Une étude a comparé l'eau chaude, le Na_2CO_3 et le NaOH et a indiqué que le rendement le plus élevé est obtenu par extraction d'eau chaude [21].

La combinaison de la température d'extraction, du pH du solvant et de la durée d'extraction influe sur le rendement et la qualité de l'extraction (p. ex., pureté et intégrité moléculaire) [21].

Les températures d'extraction plus élevées permettent une plus grande dissolution de l'ulvane et le pH plus bas permet une plus grande sélectivité de l'ulvane. En outre, une augmentation de la durée d'extraction augmentera le rendement de l'ulvane [21].

Toutefois, il faut prendre des précautions cruciales pour protéger l'intégrité de la structure ulvane [21].

Par exemple, la stabilité peut être réduite à haute température, à faible pH et à un temps d'extraction plus long [21].

La durée et le pH inférieur provoquent une dépolymérisation significative de l'ulvane [21].

Par conséquent, d'après les données disponibles de la littérature, les conditions d'extraction pour un rendement d'extractions élevées, une sélectivité élevée et une faible dégradation sont à des températures de 80 à 90 °C, un pH de 2 à 4,5 et une durée de 1 à 3h [21].

La figure 1.2.2. Donne un aperçu de l'extraction de l'ulvane à partir d'*Ulva lactuca*.

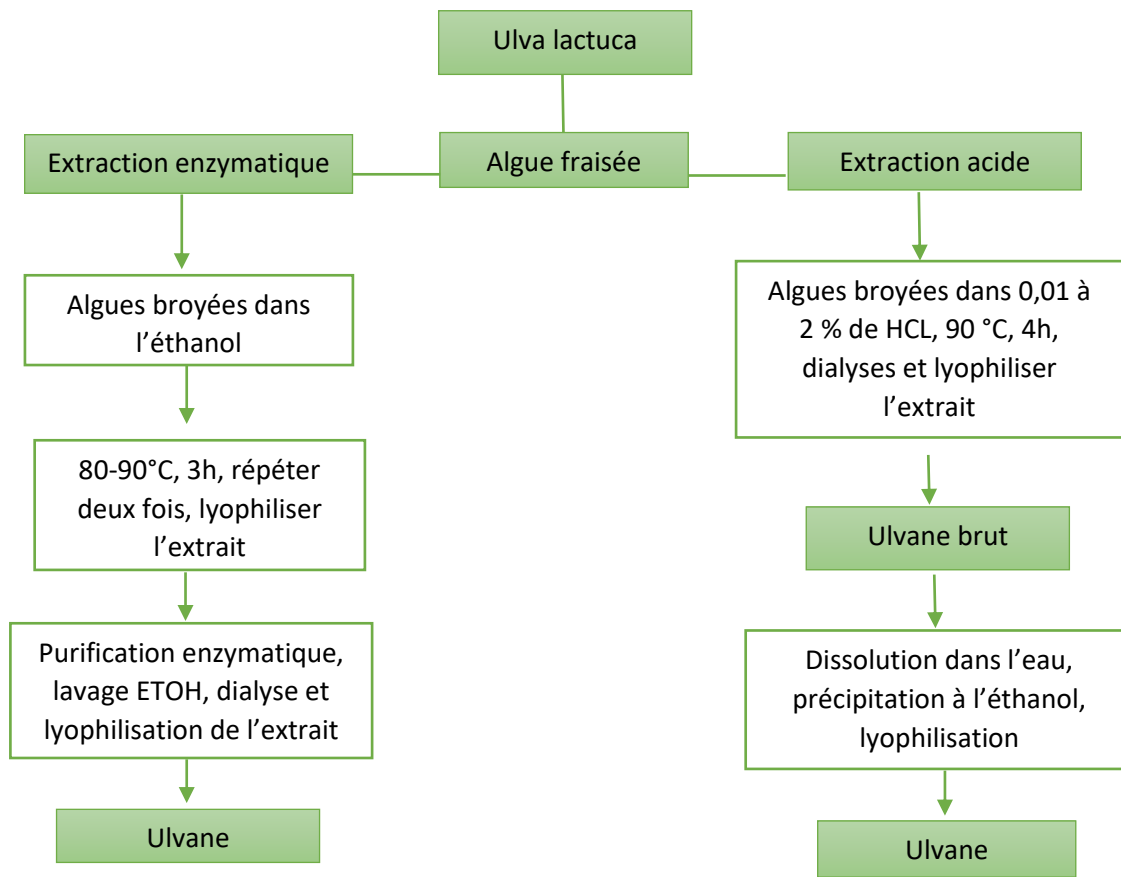


Figure 1. 3: Organigramme schématique de la méthode d'extraction ulvane d'*Ulva lactuca* [20].

1.2.4. Les activités biologiques de l'ulvane

1.2.4.1. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est causée par la libération de produits chimiques provenant de tissus et de cellules qui migrent dans tout l'organisme [21].

Ulvane a une activité anti-inflammatoire qui a été testée in vitro chez plusieurs espèces animales. Des cellules Véro ont été utilisées pour identifier les effets anti-inflammatoires causés par l'infection. Le mécanisme anti-inflammatoire ulvane est lié au granulome dans le foie [21].

L'administration de polysaccharides sulfatés pendant 24 semaines réduit considérablement l'inflammation et la nécrose du foie et induit une apoptose [21].

Ulvane a le potentiel de réduire les symptômes chroniques de l'inflammation [21].

1.2.4.2. Activité antioxydant

Les antioxydants peuvent être obtenus à partir d'animaux et de plantes, y compris U. Lactuca. Cette algue a une capacité anti-radicalaire en inhibant la peroxydation des lipides et en augmentant l'activité des enzymes antioxydantes [21].

Des études ont indiqué que la forte activité antioxydante de l'ulvane est corrélée au degré de substitution des groupes sulfatés le long de la colonne vertébrale polymérique.

La teneur en sulfates et le poids moléculaire jouent un rôle important dans les effets antioxydants de l'ulvane d'Ulva sp [21].

Le polysaccharide a démontré une activité antioxydante, qui dépend apparemment du poids moléculaire, puisque l'ulvane de faible poids moléculaire montre une activité antioxydante plus forte que les fractions plus grandes [21].

1.2.4.3. Activité antibactérienne

Un composé antibactérien peut être utilisé pour contrôler la croissance de bactéries nocives. Cette action vise à prévenir la propagation de la maladie et de l'infection, à éradiquer l'hôte infecté et à prévenir la décomposition et la destruction d'un matériel par des bactéries [21].

Plusieurs plantes ont une activité antibactérienne, dont U.Lactuca. Plusieurs études ont examiné le potentiel antibactérien de l'ulvane, avec une gamme de résultats, y compris le potentiel élevé, modéré et faible. Ulvane a été testé pour ses propriétés antibactériennes contre un large éventail de bactéries toxiques [21].

1.2.4.4. Activité antivirale

Les médicaments antiviraux peuvent inhiber l'entrée ou la sortie du virus ou inhiber les processus viraux dans les cellules. Si l'inhibiteur n'est pas sélectif, la fonction de la cellule hôte peut être perturbée et la toxicité peut se produire. Ulvane a été testé contre plusieurs virus [21].

D'autres recherches mécaniques ont révélé que les polysaccharides sulfatés de l'ulvane peuvent bloquer l'absorption du virus et donc rendre le virus incapable d'entrer dans la cellule [18].

Ulvane a également été étudié pour son activité antivirale in vitro contre un certain nombre de virus de la grippe humaine et aviaire [18].

En fait, Ivanova et al. Ont décrit que les polysaccharides ulvanes isolés des algues vertes avaient un bon effet inhibiteur sur le virus de la grippe A. De même, il a été

démontré que l'ulvane a une activité élevée et spécifique contre le virus herpès simple [18].

Toutefois, le mécanisme de l'U. Lactuca en tant que source d'antiviraux n'a pas encore été clarifié [21].

1.2.4.5. Activité immunomodulatrice

La modulation du système immunitaire joue un rôle essentiel dans la gestion de la santé et le mécanisme de la maladie chez l'homme [21].

L'importance du système immunitaire découle de la nécessité d'éliminer et de moduler les microorganismes pathogènes et non pathogènes qui peuvent inhiber la capacité du corps à maintenir l'homéostasie [21].

Des agents améliorant le système immunitaire peuvent être obtenus à partir de matériaux naturels tels que les algues *Ulva* sp, et efficace comme immunomodulateur et l'ingrédient actif est ulvane [21]

1.2.4.6. Activité antihyperlipidémique

L'hyperlipidémie est une maladie dont les taux de lipides sanguins sont élevés, y compris le cholestérol total (TC), la glycérade totale (TG) et le cholestérol lipoprotéique de faible densité (LDL-C) [21].

Au cours des dernières décennies, les polysaccharides sont considérés comme ayant un effet antihyperlipidémique [21].

L'activité antihyperlipidémique d'un type d'*Ulva* sp, à savoir *U. Pertusa*, a été étudiée in vivo sur deux espèces d'animaux et les résultats obtenus sont ceux qui ont la plus haute teneur en acide uronique, la plus haute teneur en soufre et un faible poids moléculaire ont une activité plus puissante [21].

1.2.4.7. Activité anticoagulante

Les anticoagulants sont la pierre angulaire du traitement de divers troubles thrombotiques et thromboemboliques. Les indications générales d'anticoagulation comprennent la fibrillation auriculaire [21].

Le risque de thrombose continue d'augmenter en raison de l'incidence accrue de maladies chroniques et de la vieillesse [21].

Dans certaines études, ulvane a montré une activité anticoagulante. *U. fasciata* a été étudié à l'aide d'un essai de thromboplastine partielle activée (APTT) [21].

Ces résultats indiquent que l'analyse anticoagulante des ulvanes de polycarboxyle dépend de la teneur élevée en carboxyle et en sulfate à faible poids moléculaire. En outre, il dépend de la conformation flexible de la structure [21].

1.2.4.8. Activité cytotoxique et anticancéreuse

De nouveaux biomatériaux présentant des avantages économiques et environnementaux sont nécessaires [21].

Dans ce contexte, la toxicité doit être déterminée et prise en compte au moment de déterminer la stabilité et l'efficacité [21].

Étant donné que l'ulvane peut être utilisé comme supplément, nutraceutique et agent thérapeutique, il doit être testé pour déterminer la cytotoxicité potentielle et la gamme de doses thérapeutiques qui peuvent être utilisées [21].

Plusieurs études ont testé l'activité anticancéreuse, en particulier pour le cancer du sein, l'anticolon, et l'activité anticancéreuse, en étudiant la toxicité et la viabilité cellulaire de l'ulvane [21].

Ulvane peut être un agent chimio préventif pour le cancer du foie. Les polysaccharides sulfatés dans l'ulvane peuvent inhiber la prolifération du carcinome hépatocellulaire et induire l'apoptose [21].

1.3. Les hydrogels à base d'ulvane pour la délivrance des médicaments

1.3.1. Généralités sur les hydrogels

1.3.1.1. Historique

D'après *Lee al*, et selon SciFinder, le mot « hydrogel » est apparu pour la première fois dans un article publié en 1894. Cependant, le matériau décrit n'était pas un hydrogel comme nous le décrivons aujourd'hui mais un gel colloïdal fait avec des sels inorganiques. La définition actuelle d'un hydrogel avec ses propriétés spécifiques, principalement sa grande affinité avec l'eau, a été mise en place en 1960 par *Wichterle & Lim* après leurs travaux sur un hydrogel à base de polyhydroxyéthylméthacrylate (pHEMA) en vue de l'utiliser dans des applications qui exigent un contact permanent avec les tissus humains. Les premières applications des hydrogels concernaient effectivement des implantations dans le corps humain. Depuis lors, le développement de ces systèmes n'a pas cessé d'augmenter surtout dans les domaines pharmaceutique et biomédical. Ceci est prouvé par

le nombre d'articles scientifiques publiés pendant les 20 dernières années qui dépasse les 6000 publications sous les thèmes « libération de médicaments », « hydrogels intelligents » et « nanotechnologie » [22].

1.3.1.2. Définition

Les hydrogels sont définis comme des réseaux tridimensionnels [23] formés par des chaînes polymériques naturels ou synthétiques hydrophiles reliées par réticulations [24]. Ces réticulations se produisent par des moyens chimiques ou physiques selon les propriétés du polymère et les conditions expérimentales [25], et elles sont nécessaires pour éviter la dissolution des chaînes de polymères hydrophile dans la phase aqueuse [26].

Les hydrogels peuvent absorber de grandes quantités d'eau jusqu'à mille fois de leur poids sec sans se dissoudre [27]. Ils sont largement utilisés dans diverses applications médicales [28].

1.3.1.3. Classification

Les hydrogels peuvent être classés selon plusieurs critères :

- Selon l'origine du polymère utilisé : On distingue les hydrogels naturels qui sont généralement formés à partir des polysaccharides (acide hyaluronique, alginate, pullulane, chitosane...) ou à partir de protéines (collagène, gélatine...), on distingue aussi les hydrogels synthétiques comme le PVA, le PEG et le poly (acrylamide) [22].
- Selon la méthode de préparation : On distingue les hydrogels homopolymères, les hydrogels copolymères, les hydrogels multipolymères et les hydrogels de réseaux d'interpénétration [29].
- Selon la charge ionique des polymères : On distingue les hydrogels neutres, les hydrogels ioniques, les hydrogels cationiques et les hydrogels ampholytiques lorsque les deux charges sont présentes sur les mêmes hydrogels [30].
- Selon les caractéristiques structurales physicochimiques du réseau : On distingue les hydrogels amorphes (ayant des liaisons covalentes) et les hydrogels semi-cristallins (peuvent ou non avoir des liaisons covalentes) [29].
- Selon la forme de l'hydrogel : On distingue les hydrogels sous forme d'un film, d'une matrice ou d'une microsphère [22].
- Selon la nature ou le type de réticulation : On distingue les hydrogels physiques et les hydrogels chimiques [22].

1.3.1.4. Propriétés et caractéristiques

➤ Les propriétés mécaniques

La propriété mécanique de l'hydrogel est évaluée en déformant le gel par application d'une charge de compression statique.

Les caractéristiques mécaniques d'un hydrogel sont déterminées pour améliorer l'aptitude de l'hydrogel à l'application souhaitée. Pour les applications non biodégradables, il est essentiel que la matrice hydrogéologique porteuse maintienne son intégrité physique et mécanique afin de protéger les médicaments et autres biomolécules contre les environnements nocifs dans l'organisme, tels que les environnements à pH extrême, avant qu'ils ne soient rejetés au site requis. La résistance du matériau peut être augmentée en incorporant des agents de réticulation, des Co-monomères et en augmentant le degré de réticulation.

La réticulation augmente la stabilité des hydrogels à l'état humide. Mais la réticulation devrait être au niveau optimal parce qu'un degré plus élevé de réticulation conduit à la fragilité et moins d'élasticité [24].

➤ Les propriétés de gonflements

L'autre propriété très importante d'un hydrogel est le gonflement, déterminé comme la quantité d'eau retenue dans le réseau 3D. Les propriétés de gonflement de l'hydrogel sont influencées par de nombreux facteurs tels que la densité de réticulation, la nature de l'agent réticulant, le caractère neutre ou chargé du polymère, la méthode de réticulation, les techniques de séchage et d'autres facteurs environnementaux comme le pH, la température et la force ionique [31].

➤ Porosité

Une autre caractéristique remarquable des hydrogels est leur structure très poreuse. La porosité et la taille des pores des hydrogels pourraient être réglées en modifiant différents paramètres, comme la température, la concentration des polymères ou des monomères, le degré de réticulation, le taux de congélation, l'ajout de solvants ou de sels organiques [31].

➤ Biodégradabilité et biocompatibilité

La biodégradabilité de l'hydrogel est une caractéristique requise dans les applications biomédicales exigeant une résorption in vivo contrôlée ou une dissolution locale pour

soutenir les activités cellulaires et favoriser la régénération des tissus. À cet égard, la température ou le pH pourraient agir comme des paramètres environnementaux locaux, qui peuvent accélérer/ralentir la dégradation de l'hydrogel par démêlage en chaîne, hydrolyse ou même protéolyse [31].

Les études préliminaires sur la biocompatibilité des hydrogels basées sur le méthacrylate d'AA et de 2-(diméthylamino)éthyle (DMAEMA) (poly(AA-Co-DMAEMA)) étudiées à l'aide de lignées de cellules fibroblastiques de souris HeLa et McCoy ont montré leur non-cytotoxicité. Les hydrogels à base de PNIPAm ont également été utilisés sans aucun effet cytotoxique significatif pour soutenir l'adhésion et la prolifération des cellules fibreuses pendant des périodes de temps étendues.

Cependant, la biocompatibilité de l'échafaudage pourrait être réduite par une modification avec des polymères naturels et des particules naturelles comme le HAP [31].

1.3.1.5. Préparation des hydrogels

Il existe plusieurs méthodes de production des hydrogels physiques et chimiques, les plus générales sont décrites ci-dessous :

1.3.1.5.1. Réticulation physique

On s'intéresse de plus en plus aux gels physiques ou réversibles en raison de la facilité relative de production et de l'avantage de ne pas utiliser d'agents de réticulation. Ces agents affectent l'intégrité des substances à piéger (par ex. cellules, protéines, etc.) ainsi que la nécessité de les éliminer avant l'application [32].

Les diverses méthodes mentionnées dans la littérature pour obtenir des hydrogels physiquement reliés sont les suivantes :

- **Chauffage/refroidissement d'une solution polymère**

Des gels physiquement réticulés se forment lors du refroidissement de solutions chaudes de gélatine ou de carraghénane. La formation du gel est due à la formation de l'hélice, l'association des hélices, et la formation des zones de jonction. La carraghénane en solution chaude au-dessus de la température de transition de fusion est présente sous forme de conformation aléatoire de la bobine. Lors du refroidissement, il se transforme en tiges hélicoïdales rigides. En présence de sel (K^+ , Na^+ , etc.), en raison du criblage de la répulsion du groupe sulfonique (SO^{-3}), les hélices doubles se regroupent pour former des gels stables. Dans certains cas, l'hydrogel peut également être obtenu en réchauffant

simplement les solutions de polymère qui provoquent la copolymérisation en bloc. Certains exemples sont l'oxyde de polyéthylène-oxyde de polypropylène, l'hydrogel d'acide polyéthylène glycol-poly lactique [32].

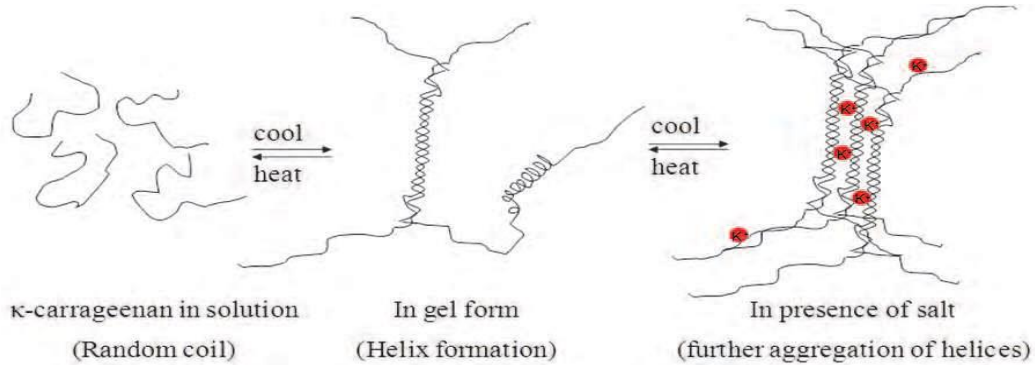


Figure 1. 4: Formation de gel due à l'agrégation de l'hélice lors du refroidissement d'une solution chaude de carraghenane [32].

- **Interaction ionique**

Les polymères ioniques peuvent être réticulés par l'ajout de contre-ions di- ou tri-valents. Cette méthode repose sur le principe de gélification d'une solution polyélectrolytique avec un ion multivalent de charges opposées [32].

Le polysaccharide sulfaté ulvane possède un mécanisme de gélification particulier, qui se produit en présence d'acide borique et de cations divalents tels que Ca^{2+} [23].

Chez les gels ulvanes, on a constaté que les cations Cu^{2+} conduisaient à la formation d'un hydrogel plus fort que chez Ca^{2+} , alors qu'aucune formation de gel n'a été observée en présence de Mg^{2+} [23].

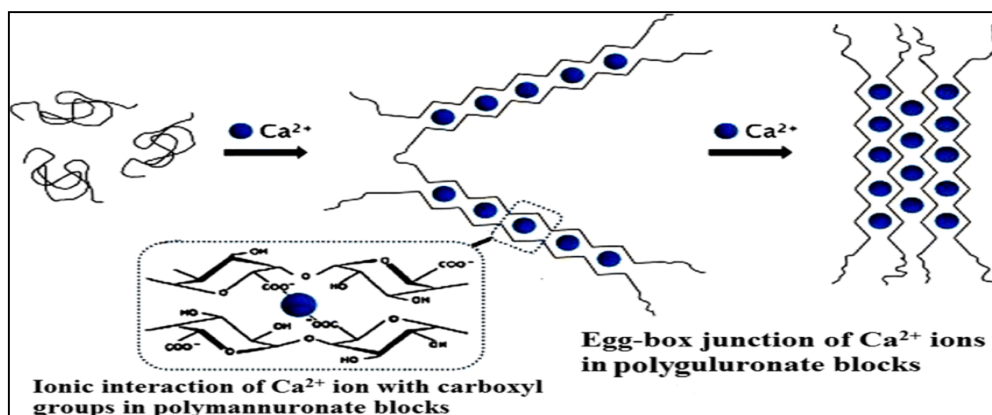


Figure 1. 5: Gélification ionotropique par interaction entre les groupes anioniques sur alginate (COO^-) et les métalliques divalents (Ca^{2+}) [33].

- **Coacervation complexe**

Les gels coacervés complexes peuvent être formés par mélange d'un polyanion avec un polycation. Le principe sous-jacent de cette méthode est que les polymères à charges opposées se collent et forment des complexes solubles et insolubles en fonction de la concentration et du pH des solutions respectives [32].

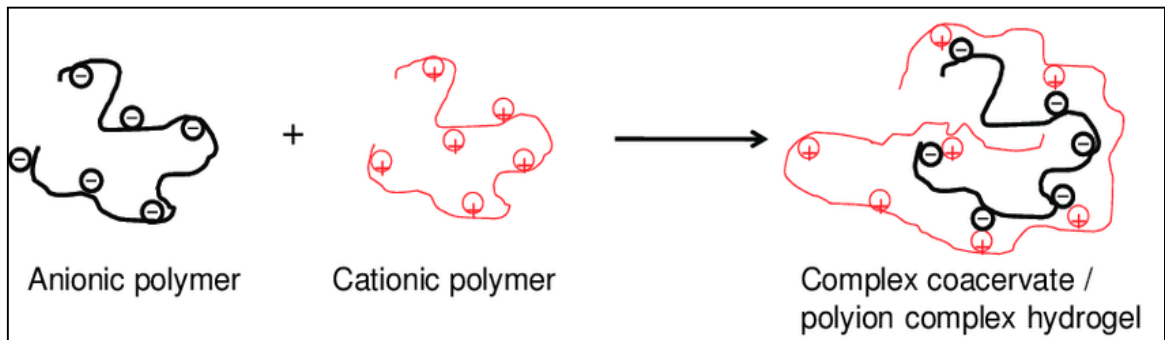


Figure 1. 6: Coacervation complexe entre un polyanion et un polycation [32].

- **Liaison d'hydrogène**

L'hydrogel lié au H peut être obtenu en abaissant le pH de la solution aqueuse de polymères portant des groupes carboxyliques. Un exemple de cet hydrogel est un réseau de CMC (carboxyméthylcellulose) lié à l'hydrogène formé par dispersion de CMC en HCl de 0,1 M. Le mécanisme consiste à remplacer le sodium dans le CMC par de l'hydrogène dans la solution acide pour favoriser la liaison hydrogène. Les liaisons hydrogène induisent une diminution de la solubilité de CMC dans l'eau et entraînent la formation d'un hydrogel élastique [32].

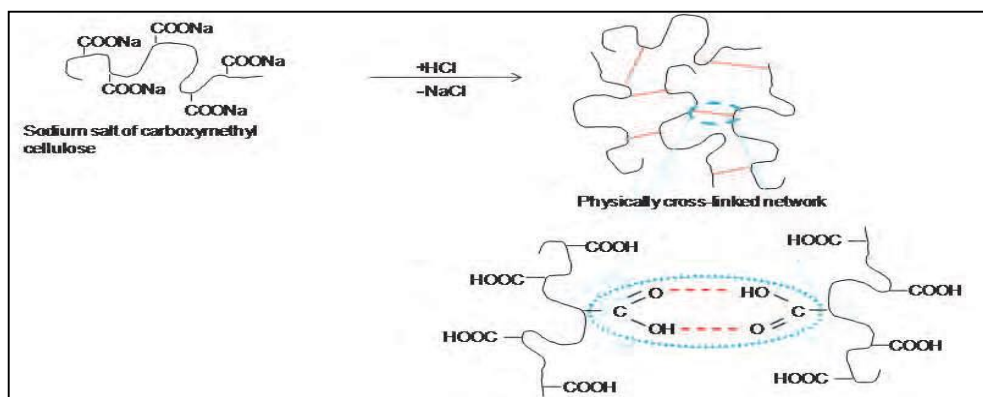


Figure 1. 7: Formation d'un réseau hydrogéologique en raison de la liaison hydrogène intermoléculaire dans le CMC à faible pH [32].

1.3.1.5.2. Réticulation chimique

La réticulation chimique couverte ici consiste à greffer des monomères sur l'épine dorsale des polymères ou à utiliser un agent réticulant pour relier deux chaînes de polymères [32].

Les principales méthodes pour obtenir les hydrogels chimiques sont décrites ci-dessous :

- **Réticulateurs chimiques**

Des réticules tels que le glutaraldéhyde, l'épichlorhydrine, etc., ont été largement utilisés pour obtenir le réseau hydrogéologique réticulé de divers polymères synthétiques et naturels.

La technique consiste principalement à introduire de nouvelles molécules entre les chaînes polymériques pour produire des chaînes réticulées [32].

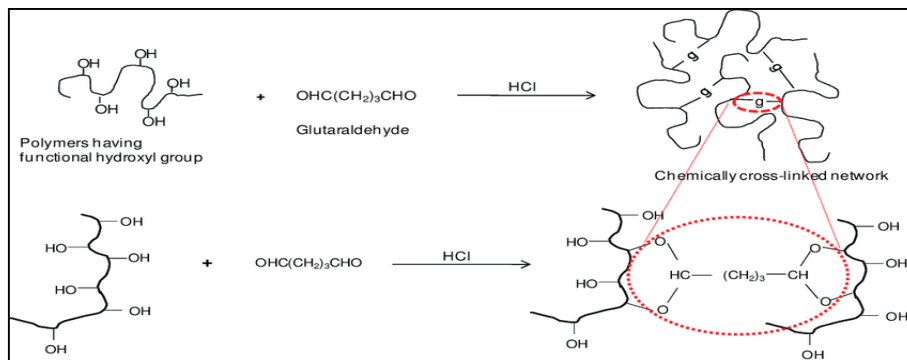


Figure 1. 8: Illustration schématique de l'utilisation d'un réticuler chimique pour obtenir un réseau hydrogéologique réticulé [32].

- **Greffage**

La greffe implique la polymérisation d'un monomère sur l'épine dorsale d'un polymère préformé. Les chaînes de polymères sont activées par l'action de réactifs chimiques, ou traitement de radiation à haute énergie telle que les rayons gamma. La croissance des monomères fonctionnels sur les macroradicaux activés mène à la ramification et à la réticulation [32].

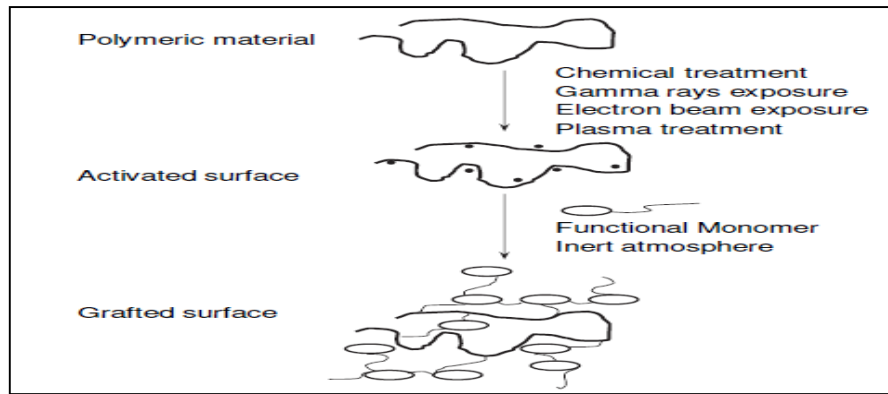


Figure 1. 9: Greffage d'un monomère sur ossature polymère préformée conduisant à une ramification et une réticulation infinie [32].

- **Réticulations par rayonnements**

La réticulation par rayonnement est une technique largement utilisée puisqu'elle n'implique pas l'utilisation d'additifs chimiques et donc le maintien de la biocompatibilité du biopolymère. En outre, la modification et la stérilisation peuvent être réalisées en une seule étape et il est donc rentable de modifier les biopolymères ayant leur utilisation finale spécifiquement dans l'application biomédicale. La technique repose principalement sur la production de radicaux libres dans le polymère après l'exposition à la source d'énergie élevée telle que les rayons gamma, les rayons X ou le faisceau d'électrons. L'action du rayonnement (direct ou indirect) dépend de l'environnement du polymère (c.-à-d. solution diluée, solution concentrée, état solide) [32].

1.3.2. Généralités sur la délivrance des médicaments

1.3.2.1. Définition d'un système de délivrance des médicaments

D.D.S. est le sigle anglo-saxon utilisé pour Drug Delivery System. En français ce terme se traduit par « système de délivrance des médicaments » (S. D. M.) alors que le terme exact devrait être : « système de délivrance des substances actives » [33].

Un système d'administration de médicaments est défini comme une formulation ou un dispositif qui permet d'introduire une substance thérapeutique dans l'organisme et d'en améliorer l'efficacité et la sécurité en contrôlant la vitesse, le moment et le lieu de libération des médicaments dans l'organisme. Ce processus comprend l'administration du produit thérapeutique, la libération des principes actifs par le produit et le transport ultérieur des principes actifs à travers les membranes biologiques jusqu'au site d'action [35].

Il existe plusieurs formes de la délivrance des médicaments comme la libération contrôlée, la libération retardée, la libération immédiate, la libération prolongée... [36].

1.3.2.2. Définition de la libération prolongée d'un médicament

La libération prolongée d'un principe actif est celle pour laquelle la dose unitaire totale est retenue au sein d'un système contrôlant la vitesse de libération. La rétention du principe actif peut être faite par son inclusion dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une espèce de matrice à partir de laquelle le principe actif sera libéré lentement [37].

La libération prolongée est basée sur deux principes :

- La vitesse de libération du principe actif à partir de la forme galénique est plus lente que dans le cas de libération conventionnelle. Cette étape est préalable aux étapes de dissolution et d'absorption. Elle correspond donc au facteur limitant qui contrôle la dissolution et l'absorption.
- La durée de cette libération augmente avec le temps.

1.3.2.3. Avantages et inconvénients de la libération prolongée

Les avantages et les inconvénients de la libération prolongée sont résumés dans le tableau.

Tableau 1. 7: Les avantages et les inconvénients de la libération prolongée [34].

Les avantages	Les inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> • Diminution du nombre de prises quotidiennes d'où gain de temps en milieu hospitalier, simplification pour le malade, diminution du risque d'erreur dans l'application de la posologie, meilleure complaisance chez le patient. • Maintien sur un temps prolongé de taux sanguins efficaces pour, des principes actifs de demi-vie relativement courte permettant, par exemple, un traitement continu, 	<ul style="list-style-type: none"> • Risque d'accumulation de principe actif si la vitesse d'élimination est lente et si la présence du médicament dans l'organisme est nécessaire 24 heures par jour. • Difficulté d'interrompre le traitement rapidement en cas d'intoxication grave ou d'intolérance. • Efficacité faible ou nul si le principe actif est mal absorbé au niveau du site d'administration ou de libération, comme par exemple au niveau de la

<p>même la nuit, sans réveiller le malade, la libération continuant pendant la période nocturne.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diminution voire suppression des effets secondaires indésirables provoqués par de fortes concentrations de médicaments libérées rapidement au lieu d'administration ou d'absorption. • Amélioration des conditions de traitement par suppression ou diminution, dans les profils plasmatiques, de la succession de pics et vallées faisant suite à chaque dose administrée. 	<p>muqueuse intestinale (faible solubilité ou degré d'ionisation trop élevé dans le suc intestinal) ou s'il est instable dans le milieu biologique considéré.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Manque de reproductibilité ou de régularité de la réponse thérapeutique dans certaines conditions physiologiques avec, par exemple, l'influence de la vitesse de vidange gastrique ou de la température d'un muscle. • Risque de toxicité dû au relargage de toute la dose pour les principes actifs de faible index thérapeutique et de toxicité élevée.
---	--

1.3.2.4. Les systèmes de la libération prolongée

Les formes à libération prolongée ont été développées dans le but de réduire la fréquence des prises médicamenteuses.

Il existe de nombreux systèmes permettent d'obtenir une libération prolongée du principe actif, parmi ces systèmes on distingue : les systèmes matriciels et les systèmes réservoirs.

➤ Systèmes réservoirs :

Le principe actif compacté est situé au centre du système (noyau), entouré d'une membrane polymérique perméable. La diffusion du principe actif s'effectue à travers les chaînes macromoléculaires du polymère quand la membrane est homogène et non poreuse, ou à travers les pores quand elle est microporeuse. L'épaisseur et la perméabilité de la membrane contrôlent en partie la vitesse de diffusion du principe actif. Ces systèmes ont le grand avantage d'approcher une cinétique de libération d'ordre zéro, la vitesse de diffusion est constante [37].

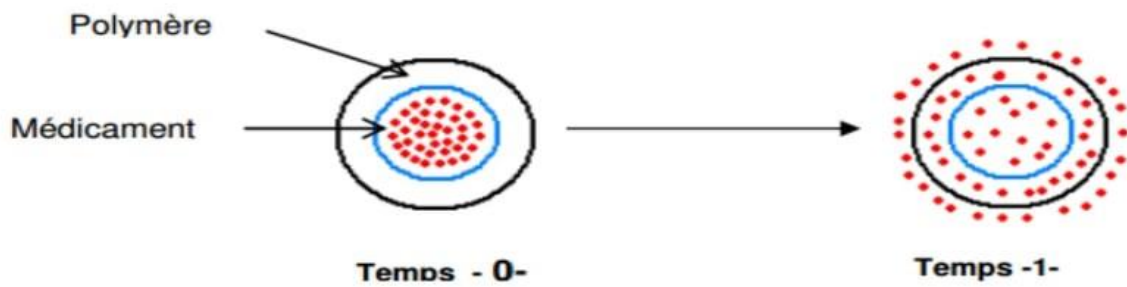


Figure 1. 10: Mécanisme de contrôle de la libération d'un principe actif par le système réservoir [37].

➤ Systèmes matriciels :

Le principe actif est distribué de manière uniforme à travers la masse du polymère. Comme pour le réservoir, la diffusion du principe actif à travers le polymère est le facteur limitant.

Ces distribution uniforme du principe actif par rapport au polymère est simple de conception, rendant ainsi ces systèmes peu onéreux à fabriquer.

« Les matrices sont des supports constitués d'excipients physiologiquement tolérés, plus ou moins inertes qui ne se désagrègent pas et forment un réseau piégeant le médicament ». La matrice comporte des canalicules où se trouve emprisonné le principe actif [38].

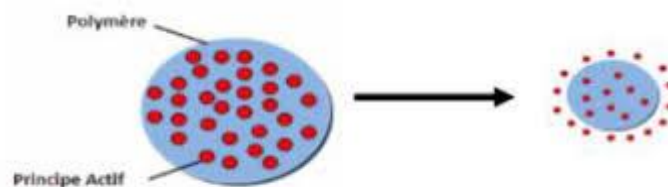


Figure 1. 11: Mécanisme de contrôle de la libération d'un principe actif par le système matriciel [38].

La libération du principe actif hors de la matrice se déroule en trois phases :

1. Pénétration des liquides digestifs dans les canalicules de la matrice.
2. Dissolution du principe actif par les liquides digestifs.
3. Diffusion de la solution de principe actif de l'intérieur de la matrice vers la surface du compartiment médicamenteux [38].

1.3.2.5. Propriétés physicochimiques modulant la cinétique de libération prolongée

Les propriétés physicochimiques des drogues affectent les performances de libération dans l'organisme. Elles peuvent être déterminées à partir des expériences in vitro.

Ces propriétés incluant la solubilité aqueuse, stabilité de drogue, la taille moléculaire, le coefficient de partage, et la liaison moléculaire aux protéines, peuvent empêcher/réduire l'emploi des drogues dans la libération contrôlée, limitent la voie d'administration de drogue, et limite de manière significative les performances de dégagement [39].

1.3.3. Hydrogel à base d'ulvane

L'utilisation de polymères naturels comme les polysaccharides dans des applications biomédicales présentent un potentiel énorme en raison de leurs avantages par rapport aux polymères synthétiques. En plus de leur biocompatibilité et biodégradabilité [19].

Haug a étudié l'influence du borate et du calcium sur la formation de gel d'ulvane à partir d'*Ulva lactuca*. On a constaté que l'hydrogel ulvane peut se former en présence d'ions borate et calcium dans la solution de dialyse lorsque la concentration de polysaccharide sulfaté n'est pas inférieure à 1 % en poids et que le pH est supérieur à 7,5. La formation de complexes borate-polysaccharide crée des liaisons intermoléculaires stabilisées par des ions calcium, ce qui est essentiel à la formation du gel d'ulvane [19].

Lahaye et Axelos ont étudié les propriétés gélifiantes des polysaccharides hydrosolubles des algues vertes (*Ulva* spp.). Il a été constaté que l'ulvane étudié formait un hydrogel faible à une concentration de 1,6 % en poids dans l'eau désionisée [19].

Le module élastique de l'hydrogel a augmenté de manière significative lorsque l'acide borique et du chlorure de calcium ont été ajoutés. Contrairement à l'observation de Haug, l'augmentation du pH à 7,5 et supérieur à 7,5 est préjudiciable à la formation de gel, qui pourrait résulter de la structure différente de l'ulvane d'*Ulva* spp. Les deux études ont révélé que la présence de borate et d'ions calcium est importante pour la formation de l'hydrogel ulvane [19].

➤ Hydrogel à base d'ulvane pour la délivrance des médicaments

Il est bien connu que les hydrogels sont utilisés comme systèmes de développement. L'incorporation d'agents bioactifs peut être modifiée pour atteindre des objectifs précis afin de prolonger l'action [7].

La molécule bioactive doit atteindre le site d'action à une certaine concentration et la plage de dose thérapeutique doit rester constante dans le temps [7].

Par conséquent, plusieurs facteurs diminuent l'application efficace des ingrédients pharmaceutiques, y compris la dégradation du médicament, le manque de pénétration dans les tissus et l'interaction avec les cellules [7].

Ainsi, les dispositifs biopolymériques en tant que vecteurs de médicaments utilisant des polysaccharides soulèvent des préoccupations parce qu'ils pourraient produire activités pharmacologiques préférables [7].

Leur structure poreuse permet de charger les médicaments, puis de les libérer. Cependant, il y a certains facteurs de contrôle comme la force de gonflement, la force mécanique, le rejet de diffusion (matrice ou système de réservoir), et la viscosité qui doit être considérée pour libérer le médicament de la matrice [7].

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES2.1. L'objectif de travail

L'objectif de ce travail est la production d'un hydrogel à base de polysaccharide sulfaté l'ulvane extrait à partir d'algues vertes *Ulva Lactuca*, qui va encapsuler un principe actif antidiabétique "Metformine" pour étudier sa libération prolongée.

Ce travail a été réalisé au niveau de Laboratoire de Science de la Matière et au Laboratoire de Recherche « Chimie Des Produits Naturels et Biomédicales » de la Faculté des Sciences de l'Université Saad Dahleb Blida 1.

2.2. Matériels2.2.1. Matériel végétal

La matière végétale ayant fait l'objet de notre étude est l'algue verte «*Ulva Lactuca*». La récolte a été effectuée durant le mois de mars 2022, au niveau de la plage de Fouka marine « La petite mer » de la wilaya de Tipaza.



Figure 2. 1: Photo de la plage de Fouka marine « La petite mer ».

2.2.2. Appareillages

Tableau 2. 1: L'appareillage utilisé au laboratoire lors de l'expérimentation.

Appareil	Nom (la marque)	Utilité
Balance	RADWAG WLC 0	Mesure de poids en (g)
Balance analytique	OHAUS EXPLORER	Mesure de poids en (mg)
agitateur magnétique à plaque chauffante	Snijders	Chauffage et agitation
Centrifugeuse	Unicen 21	Séparation des constituants de taille et de masses très variables contenues dans un liquide
Pompe à vide	Adixen	Filtration sous vide
Etuve	Memmert	Le séchage à chaud
Evaporateur rotatif	Heidolph	Concentrer les solutions ou évaporer les solvants
pH mètre	OHAUS STARTER 3100	Mesure de pH
FTIR	Thermo scientifique	Caractérisation
Lampe-UV	Rayleigh	Mesure de l'absorbance

2.2.3. Réactifs et produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans ce travail sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 2. 2: Les produits chimiques utilisés dans notre étude expérimentale.

Produits chimiques	Propriétés physico chimiques	Utilisation
Méthanol	Formule : CH ₃ OH Masse molaire : 32.0419 g/mol Densité : 0.791g/ml T°eb=65°C, T°f= -98°C	Co-extraction (macération)
Dichlorométhane	Formule : CH ₂ CL ₂ Masse molaire : 119.38g/mol Densité : 1.49 T°eb= 61.2°C, T°f= -63.5°C	

Eau distillé	Formule : H ₂ O Masse molaire : 18g/mol Densité : 0.997 g/ml T°eb=100°C	
Acétone	Formule : C ₃ H ₆ O Masse molaire : 58.0791 g/mol Densité : 0.788 g/ml T°eb=56.05°C, T°f= -94.6°C	Nettoyage de l'évaporateur rotatif
Acide chlorhydrique	Formule : HCl Masse molaire : 36.461g/mol Densité : 1.19 g/ml T°eb=48°C, T°f=-30 °C	Préparation de solution tampon
Eau distillé	Formule : H ₂ O Masse molaire : 18g/mol Densité : 0.997g/ml T°eb=100°C	Extraction
Ethanol	Formule : C ₂ H ₆ O Masse molaire : 46.07g/mol Densité : 0.789g/ml T°eb=78.37°C, T°f= -114.1°C	Précipitation
Potassium dihydrogène phosphate	Formule : KH ₂ PO ₄ Masse molaire : 136.0855g/mol T°f= 252.6°C	Préparation de solution tampon
Hydroxyde de sodium	Formule : NaOH Masse molaire : 39.997g/mol Densité : 2.19g/ml T°eb=1388°C, T°f= 318°C	
Chlorure de calcium	Formule : CaCl ₂ Masse molaire=110.98 g/mol T°eb= 1935 °C T°f= 772 °C	Agent réticulant
Acide sulfurique	Formule : H ₂ SO ₄ Masse molaire=98.078 g/mol	

	$T^{\circ}\text{eb} = 337^{\circ}\text{C}$ $T^{\circ}\text{f} = 10.31^{\circ}\text{C}$	Test de Molisch
Alpha naphtol	Formule : $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}$ Masse molaire=144.169 g/mol $T^{\circ}\text{eb} = 279.05^{\circ}\text{C}$ $T^{\circ}\text{f} = 95^{\circ}\text{C}$	

2.2.4. Le principe actif : «la metformine »

La metformine est un dérivé biguanide issu de la fusion de deux guanidines trouvées dans *Galega officinalis* [40]. Il s'agit d'une base hydrophile qui existe au pH physiologique sous forme d'espèce cationique [41].

La metformine est un médicament le plus couramment utilisé pour traiter le diabète de type 2 (DT2). Il agit en réduisant le glucose fabriqué par le foie, en diminuant la quantité de glucose absorbée par l'organisme et en augmentant l'effet de l'insuline dans le corps [42].

Ce médicament est administré par voie orale, environ 40 à 60% de sa quantité administrée est absorbée dans le sang.

Tableau 2. 3: Principales caractéristiques de la metformine [43].

Nomenclature	1,1-diméthylbiguanide
Forme brute	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}_5$
Poids moléculaire	129.17 g/mol
Longueur d'onde	233 nm
Aspect	Poudre cristalline hygroscopique blanche, inodore et au gout amer.
Solubilité	Soluble dans l'eau et dans l'éthanol
Comportement	Hydrophile

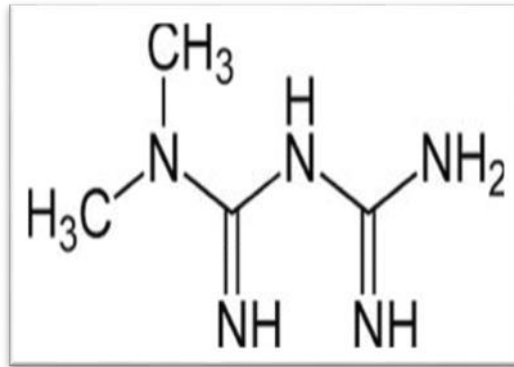


Figure 2. 2: Structure chimique de la metformine [44].

2.3. Méthodes

2.3.1. Prétraitement de l'algue « Ulva Lactuca »

Après la récolte, l'algue verte *Ulva Lactuca* est d'abord préparée selon les étapes suivantes :

✓ Lavage

L'algue fraîche a été soigneusement lavée à l'eau du robinet à plusieurs reprises, cette étape est nécessaire pour éliminer toutes les sources de contamination (épiphytes, larves, crustacés, sable, gravier...) puis lavés à l'eau distillée.

✓ Séchage

Les algues ont été séchées à l'air libre à l'ombre, et étalées sur un papier absorbant pendant une semaine.

✓ Broyage

L'échantillon séché a été broyé dans une meuleuse mécanique de la marque « High star » pendant 5 à 10 minutes et tamisées pour obtenir une poudre fine et homogène aient la taille du grain.

Ce dernier a été conservé dans des boîtes stérilisées à température ambiante (25 °C) jusqu'à son utilisation.



Figure 2. 3: Le prétraitement d'*Ulva lactuca*.

2.3.2. Extraction d'ulvane

L'extraction d'ulvane à partir d'*Ulva Lactuca* est une extraction de type solide-liquide. Le choix de solvant dépend de la nature des composés à extraire, de leur solubilité dans le solvant et surtout de la matière végétale.

L'eau distillée est le meilleur solvant pour extraire l'ulvane.

Afin d'extraire le polysaccharide ulvane avec une bonne qualité et un rendement élevé nous avons essayé plusieurs méthodes d'extraction telle que :

- L'extraction avec de l'eau chaude [45].
- L'extraction avec de l'eau chaude par Co-extraction [46].

- Extraction avec de l'eau chaude

Dans un ballon Bicol d'une capacité de 250 ml, on met la poudre ulvane (7.5g) dans de l'eau distille (150ml), la suspension a été placée sous reflux dans un bain d'huile végétale. Le tout est chauffé à 90°C sous agitation continue pendant 3heures (figure 2.6).

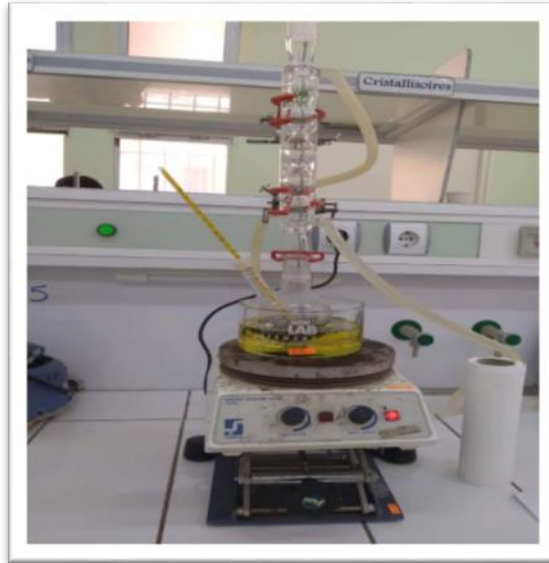


Figure 2. 4: Extraction d'ulvane.

Une fois le temps d'extraction terminé, on refroidit le mélange réactionnel

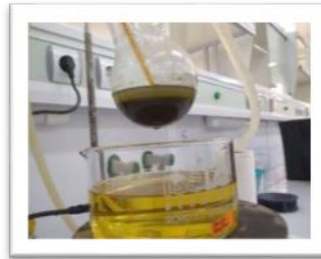


Figure 2. 5: Refroidir à température ambiante.

La solution est ensuite centrifugée pendant 15min à 2800 tpm (tour par minute) afin de séparer les composants insolubles du surnageant renfermant les composants hydrosolubles dans la phase aqueuse.

Cette opération est répétée deux fois, les surnageant rassemblés sont ensuite filtrés sur papier filtre afin d'éliminer d'éventuels débris.



Figure 2. 6: Centrifugation.

Le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60°C à environ $\frac{1}{4}$ de son volume d'origine. Le résidu concentré a été précipité avec 3 ml d'éthanol froid (99.9%), un gel se précipite, puis récupéré par filtration sous vide avec lavage par l'éthanol.

L'ulvane sous forme de gel est ensuite étalé sur des porte feuilles en plastique et séché dans une étuve à 45°C pendant 24h à fin d'éliminer toute trace d'éthanol et l'eau (figure2.7).

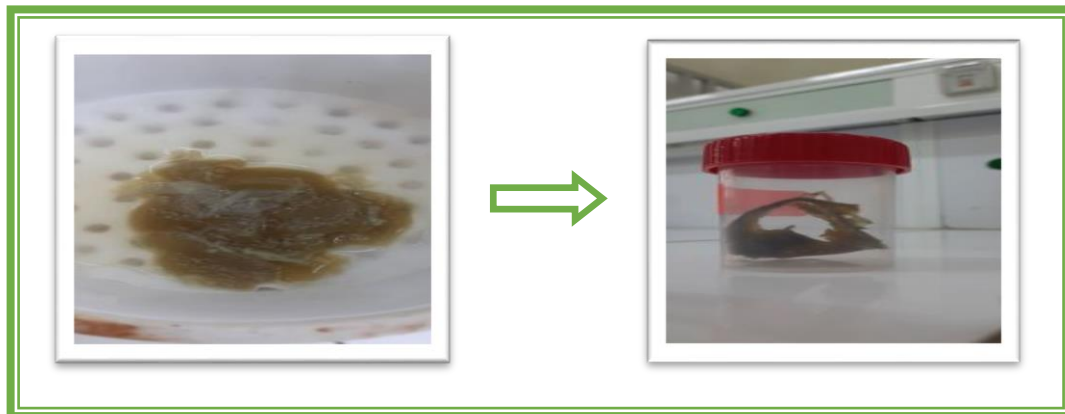


Figure 2. 7: Extrait ulvane avant et après le séchage.

- Extraction avec de l'eau chaude par Co-extraction

Afin d'éliminer les composants indésirables (pigments, protéines, lipides, les minéraux...) nous avons d'abord réalisé un processus qui s'appelle « Co-extraction » par macération à froid.

Dans un erlenmeyer on introduire 5g de la poudre d'algue Ulva avec un mélange de [80 :40 :20] de [méthanol : dichlorométhane : eau] à température ambiante durant 2 jours. Ensuite le mélange est filtré sous vide pour obtenir la biomasse d'algue.

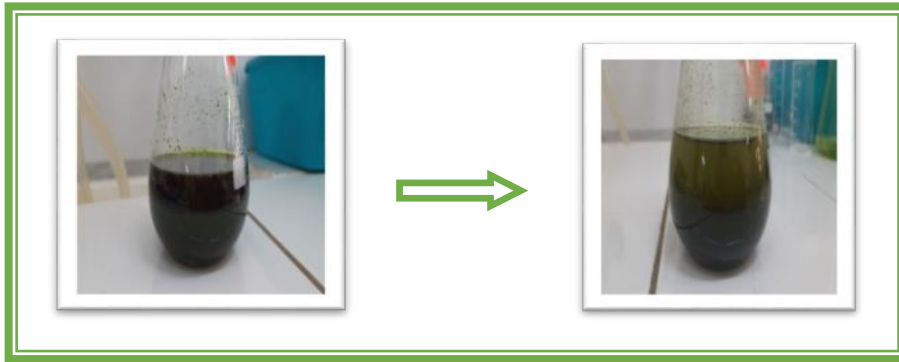


Figure 2. 8: Macération à froid après 48h.

L'algue obtenue a été placée dans un ballon Bicol de capacité 250ml et on ajoute 100ml d'eau distillé, puis on établit un montage à reflux dans un bain d'huile à 80-90°C pendant 2h sous agitation à l'aide d'un barreau magnétique.

Une fois le temps d'extraction terminé, on arrête le chauffage et l'agitation, et on laisse le mélange revenir à température ambiante.

Après l'extraction, l'extrait aqueux a été centrifugé à 2800 tpm pendant 15min pour éliminer les composants insolubles, ensuite le surnageant a été filtré puis concentré à l'aide un évaporateur rotatif. Le résidu concentré a été centrifugé à 2800 tpm pendant 15min. On filtre le liquide obtenu et on précipite avec 4ml d'éthanol (99.9%), le gel formé ensuite a été récupéré par filtration sous vide et lavé plusieurs fois avec l'éthanol.

L'ulvane obtenue sous forme de gel est ensuite étalée sur des portefeuilles en plastique et séché dans une étuve à 45°C pendant 24h afin d'éliminer toute trace d'éthanol et l'eau (figure2.9).



Figure 2. 9: Extrait ulvane avant et après séchage.

Le rendement pour les deux extractions est calculé par la relation suivante :

$$R(\%) = \frac{(\text{La masse d'ulvane})}{(\text{La masse d'algues séchées})} \times 100$$

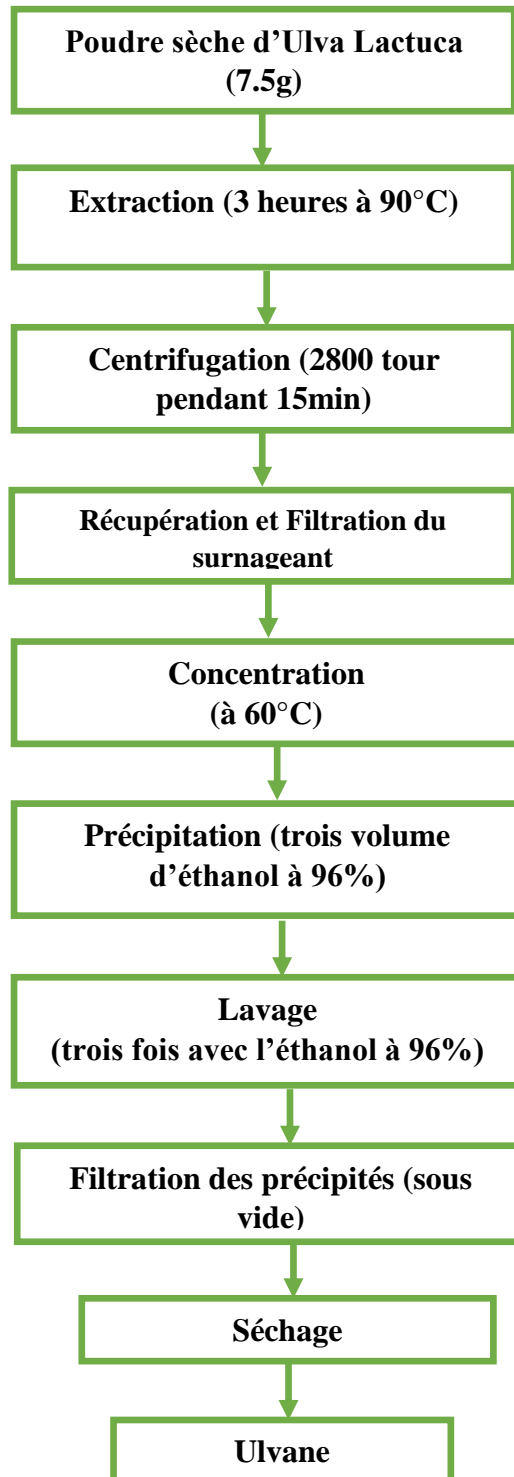


Figure 2. 10: Procédure d'extraction de polysaccharide ulvane à partir d'Ulva Lactuca (01).

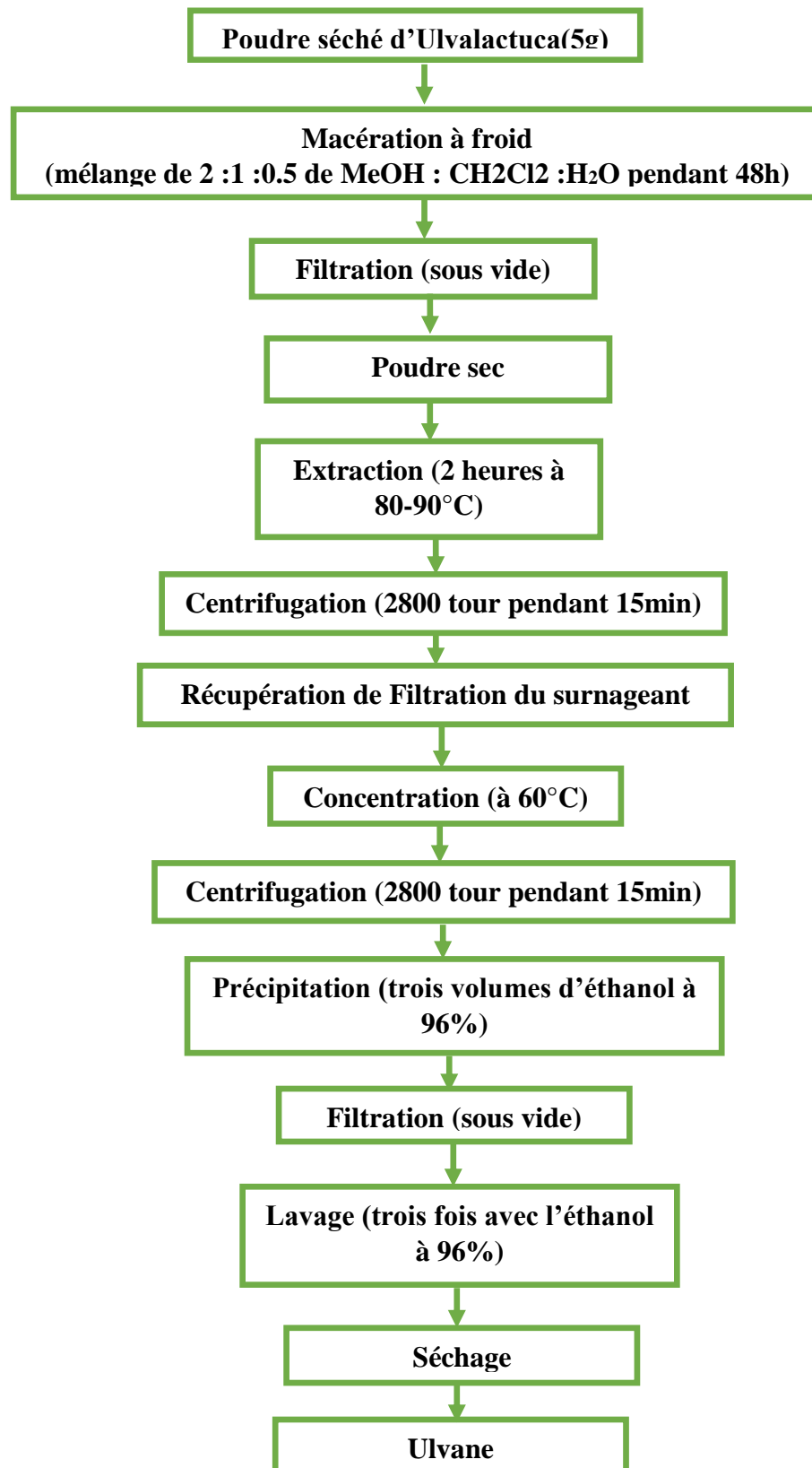


Figure 2. 11: Procédure d'extraction de polysaccharide ulvane à partir d'*Ulva lactuca* (02).

2.3.3. Caractérisation du polysaccharide ulvane

2.3.3.1. Test de Molisch

Le test de Molisch est un test chimique qui est utilisé pour vérifier la présence de glucides dans un analyte donné. Ce test doit son nom au botaniste tchéco-autrichien Hans Molisch, qui est crédité de sa découverte.

a. Réaction de Molisch

C'est une réaction générale à tous les sucres (oses ou osides). En présence d'acide sulfurique, les sucres forment un dérivé furfural qui se condense avec l'alpha -naphтол pour donner un produit coloré en violet [47].

b. Mode opératoire

Dans un bécher de capacité 50ml on mélange 0.5g d'ulvane avec 10ml d'eau distillé, on chauffe le mélange avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique jusqu'à dissolution complète d'ulvane [47].

Dans un autre bécher on ajoute 0.56g de réactif alpha -naphтол avec 10ml de l'éthanol [47].

Dans un tube à essai propre et sec on met :

- 1 ml de solution d'ulvane.
- 0.5 ml de solution alpha -naphтол et agiter bien le tube à essai pour mélanger le contenu.
- Sous la hotte, on couler doucement le long de la paroi de tube 1 ml de l'acide sulfurique concentré.

2.3.3.2. Caractérisation par FTIR

La spectrométrie infrarouge est l'un des outils les plus utilisés pour la caractérisation et l'identification des molécules organiques. C'est une méthode de caractérisation rapide et sensible de la plupart des molécules existantes.

La spectrométrie ATR-FTIR fournit des informations relatives à la présence de groupes fonctionnels, la structure moléculaire et ses liaisons chimiques et la composition du polysaccharide ulvane.

L'analyse a été réalisée avec un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier de type THERMO SCIENTIFIC type « Nicolet iS10 », équipé d'un détecteur DTGS KBr et d'un rayonnement laser et une séparatrice XT-KBr.

Le polysaccharide est déposé sur une cellule cristalline de diamant à réflexion totale atténuée (ATR).

Le spectre IRTF est enregistré dans une gamme de nombre d'onde allant de 4000 à 500 cm^{-1} . Le spectre a été traité avec le logiciel OMNIC 9.8.



Figure 2. 12: Photo représentant le spectrophotomètre ATR-FTIR.

2.3.4. Préparation d'hydrogel à base d'ulvane

Ulvane a un mécanisme de gélification particulière, qui se produit en présence de cations divalents tels que Ca^{2+} ou d'acide borique et de cations divalents conduisant à la formation d'un gel thermoréversible.

- Mode opératoire 1
 - Dissolution d'ulvane

Dans un bécher, on introduit 0.5g d'ulvane dans 25mL d'eau distillé. Puis on agite le mélange à froid pendant 1 heure jusqu'à la dissolution complète d'ulvane.

➤ Formation d'hydrogel à base d'ulvane

Après la dissolution d'ulvane, on ajoute une solution de chlorure de calcium de concentration 2mol/l goutte à goutte à l'aide d'une burette gradué avec agitation jusqu'à la formation d'un hydrogel.

On verse le mélange dans des boites de pétri et on le met dans une étuve à 45°C pendant 48 heures.

• Mode opératoire 2

➤ Dissolution d'ulvane

Dans un bécher, on introduit 1g d'ulvane dans 20mL d'eau distillé à 80°C avec agitation jusqu'à la dissolution complète d'ulvane.

➤ La formation d'hydrogel

On verse la solution de CaCl_2 dans une burette graduée de capacité 25ml et on ajoute goutte à goutte dans la solution d'ulvane jusqu'à la formation d'un gel, on note le volume de CaCl_2 ajouté.

On verse l'hydrogel dans une boite à pétri et on le met sous la hotte à température ambiante pendant 48h.

✓ Préparation de la solution de chlorure de calcium (CaCl_2) 2mol/l

$$n = c \times v \rightarrow c = \frac{n}{v} = \frac{m/M}{v} \rightarrow c = \frac{m}{M \times v} \rightarrow m = c \times v \times M$$

$$m = 2 \times 0.05 \times 110.98$$

$$m = 11.098 \text{ g}$$

M : la masse molaire de CaCl_2

C : concentration de CaCl_2

V : volume de la fiole

On introduit 11.098g de chlorure de calcium dans une fiole de 50ml puis on complète avec l'eau distillée jusqu'au le trait de jauge.

2.3.5. L'encapsulation de la metformine par l'hydrogel

On a préparés quatre hydrogels à base d'ulvane en utilisant deux doses différentes 500mg et 850mg.

- Fixation de la metformine dans l'hydrogel à base d'ulvane (dose= 850mg)
 - Nous avons dissous 0,5 g d'ulvane dans 10 ml d'eau distillée, puis maintenu la solution à 80 ° C à l'aide d'une plaque chauffante sous agitation.
 - Dans un bécher on ajoute 850mg de la metformine avec 5 ml d'eau distillé.
 - Après, On mélange les deux solutions et on réalisé l'agitation sans chauffage.
 - Par la suite, on introduit goutte à goutte à l'aide d'une burette graduée la solution de chlorure de calcium jusqu'à la formation d'un hydrogel.
 - Nous avons répété l'opération deux fois.

- Fixation de la metformine dans l'hydrogel à base d'ulvane (dose=500mg)

On suit les mêmes étapes du Protocole expérimental précédent.

- Dans un bécher on mélange 0.5g d'ulvane avec 10ml de l'eau distillé, on chauffe le mélange à 80°C avec agitation jusqu'à la dissolution de polysaccharide ulvane.
- Dans un autre bécher on ajoute 500mg de la metformine avec 5ml de l'eau distillée.
- Après la dissolution d'ulvane on arrête le chauffage et on verse la solution de la metformine dans la première solution d'ulvane.
- A l'aide d'une burette graduée on ajoute goutte à goutte la solution de chlorure de calcium jusqu'à la formation d'hydrogel.
- Nous avons répété l'opération deux fois.

Lorsque nous avons terminé la préparation des quatre hydrogels, les hydrogels résultant sont versés dans des boîtes a pétrie suivi d'un séchage à température ambiante sous la hotte pendant 48h.

2.3.5. L'étalonnage de la metformine

Un dosage est une technique qui permet de déterminer la concentration d'une espèce chimique dissoute dans une solution.

Dans ce travail la technique de dosage par étalonnage utilisée est la spectrophotométrie UV.

✓ Préparation de la solution mère

On a pesé 0.5mg de la metformine.

Dans une fiole de 50mL, on verse la metformine et on ajoute l'eau jusqu'à le trait de jauge.

La concentration de la solution mère :

$$c_m = \frac{0.5}{50} = 0.01 \text{ mg/ml}$$

✓ Préparation des solutions filles

On prépare quatre solutions de concentration de 0.002, 0.004, 0.006 et 0.008 mg/ml dans des fioles de 20mL.

Le volume prélevé de la solution mère pour préparer les solutions filles est calculé par la relation suivante :

$$c_m \times v_m = c_f \times v_f \rightarrow v_m = \frac{c_f \times v_f}{c_m}$$

Les calculs sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2. 4: Les calculs de solutions filles.

Solution fille	C _f (mg/mL)	V _f (mL)	V _m (mL) = $\frac{C_f \times V_f}{C_m}$
1	0.002	20	4
2	0.004	20	8
3	0.006	20	12
4	0.008	20	16

- On étalonne le spectrophotomètre UV par le blanc qui est l'eau distillé.
- On mesure l'absorbance de chaque solution.
- On trace le graphique $A = f(C)$.

2.3.6. Étude de la libération de la metformine à partir des hydrogels à base d'ulvane

2.3.6.1. Préparation des milieux physiologiques

Pour nos différentes études cinétiques, on a choisi deux milieux physiologiques de pH=1,2 et pH=6,8, milieu gastrique et intestinal, respectivement. Ces milieux correspondent aux temps de séjours les plus importants du principe actif dans le tractus digestif.

- Préparation de solution tampon pH= 1.2 à base de HCl (0.1N) (milieu gastrique)

Dans 500 ml d'eau distillé on ajoute 4.15ml de solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0.1N

On ajuste le pH à l'aide d'un pH mètre de type « OHAUS » étalonné au préalable à une température de 25°C jusqu'à la valeur de 1,2.

- Préparation de solution tampon pH=6.8 à base de KH_2PO_4 et NaOH (milieu intestinale)

Dans 500ml d'eau distillé on ajoute 3.4g de potassium hydrogène phosphate (KH_2PO_4) et 0.45g d'hydroxyde de sodium (NaOH).

On ajuste le pH à l'aide d'un pH mètre jusqu'à la valeur 6,8.

2.3.6.2. Cinétique de la libération de la metformine (principe actif)

Dans cette étape, ont été étudié la cinétique de la libération de la metformine avec deux doses différentes (850mg et 500mg) contenue dans les hydrogels à base d'ulvane dans deux milieux physiologiques, gastrique (pH=1.2) et intestinal (pH=6.8), et montrer quelle est la meilleure libération de la metformine.

- Cinétique de la libération de metformine (pH= 1.2)

Un hydrogel à base d'ulvane contenant une dose de principe actif (850mg de la metformine) est introduire dans 500ml du milieu de dissolution. Le bain est réglé à une température de 37°C et à une faible agitation.

✓ On a préparé plusieurs montages pour faire des prélèvements chaque 5min.

A l'aide d'une pipette pasteur on prélève 1ml de la solution et l'introduire dans une cuve en verre (ou en quartz pour les longueurs d'ondes maximales inférieures à 260 nm), ensuite on place la cuve dans le spectrophotométrie UV-visible pour suivre la libération du principe actif en mesurant l'absorbance en fonction du temps a une longueur d'onde fixe (233 nm).

L'expérience est répète une autre fois avec une dose de 500mg de la metformine.

- Cinétique de la libération de metformine (pH= 6.8)

Un hydrogel à base d'ulvane contenant une dose de principe actif (850mg de la metformine) est introduite dans 500ml du milieu de dissolution. Le bain est réglé à une température de 37°C et à une faible agitation.

✓ On a préparé plusieurs montages pour faire des prélèvements chaque 5min.

A l'aide d'une pipette pasteur on prélève 1ml de la solution et l'introduire dans une cuve en verre (ou en quartz pour les longueurs d'ondes maximales inférieures à 260), ensuite on place la cuve dans la spectroscopie UV-visible pour suivi la libération du principe actif on mesurant l'absorbance en fonction du temps a une longueur d'onde fixe (233 nm).

L'expérience est répète une autre fois avec une dose de 500mg de la metformine.

Le suivi cinétique de libération du principe actif «la metformine » est effectué en utilisant un spectrophotométrie d'absorption UV-Visible «Rayleigh» :

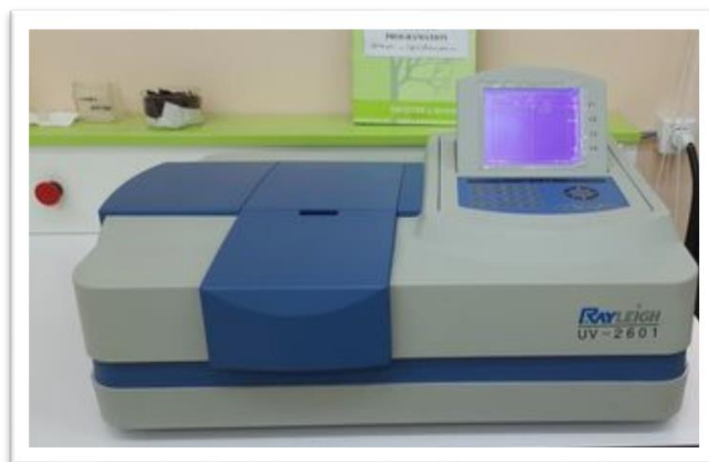


Figure 2. 13: Photo représentant appareil spectrophotométrie d'absorption UV-Visible.

Chapitre 3 : Résultats et Discussions

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DESCUSSIONS

3.1. Extraction3.1.1. Le rendement d'extraction

Les rendements d'extraction d'ulvane obtenue à partir de la poudre d'algue ulva lactuca par les deux méthodes d'extraction suivi d'une précipitation alcoolique dans différents conditions telle que la durée d'extraction, la température et le pH sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3. 1: Résultat des rendements par deux méthodes d'extraction.

Méthodes d'extraction	Rendement d'extraction(%)
Extraction avec de l'eau chaude	25.26%
Extraction avec de l'eau chaude par Co-extraction	12.4%

➤ Méthode 1

Le rendement obtenu pour l'ulvane exprimé en % est de 25.6 équivalent de 3.75g.

Cette valeur est trop élevée en raison de la présence des impuretés telles que les protéines, d'autres polysaccharides (amidon, cellulose, xyloglucan et glucuronan), les lipides et les pigments.

➤ Méthode 2

Dans cette extraction nous avons réalisé une « Co-extraction » par macération à froid pour éliminer les éléments indésirables, le rendement obtenu est de 12.4% équivalent de 5g. Ce rendement est plus faible par rapport au premier à cause de l'application de prétraitement.

- Ces valeurs sont situées dans l'intervalle des valeurs obtenues par les chercheurs.

3.1.2. Effet de temps et température

La variation de temps et la température sont des paramètres importants pour obtenir les résultats souhaitables (rendement élevé et la qualité d'ulvane).

La température plus élevé (80°C – 90°C) permet une grande dissolution d'ulvane, et le temps entre 2h à 3h conduit à l'augmentation de rendement de l'ulvane.

3.2. Caractérisation de polysaccharide ulvane

3.2.1. Test de Molisch

➤ Observation

Nous observons sur le tube à essai la formation d'un anneau de couleur violet foncé à la couche entre la solution et l'acide.

Alors, on conclue que le résultat de test de Molisch est probablement positif.



Figure 3. 1: Test de Molisch.

➤ Commentaire

La réaction est basée sur le fait qu'en présence de l'acide sulfurique (H₂SO₄) concentré le polysaccharide ulvane est déshydratée en hydroxyméthylfurfural.

Ce dernier se condense avec deux molécules alpha-naphtol pour former un anneau brun-violet à l'interface de l'acide et de la couche d'essai.

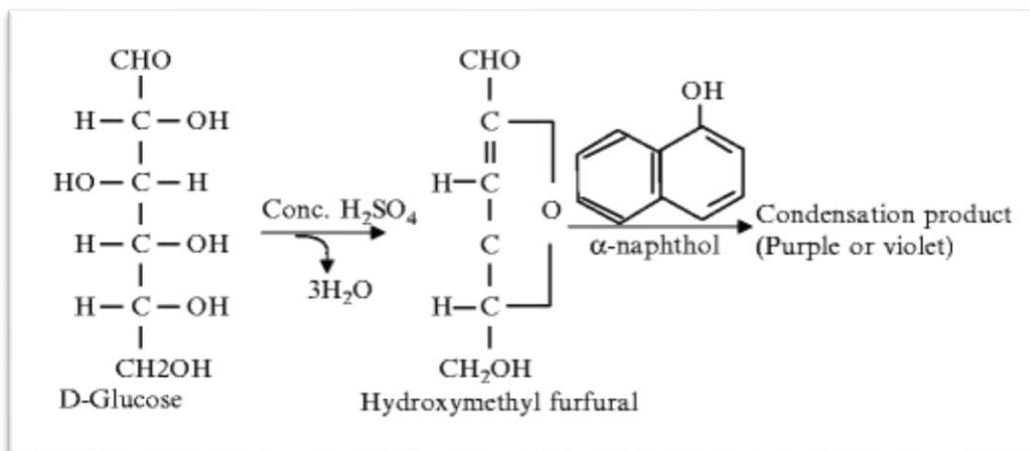


Figure 3. 2: Réaction de Molisch.

3.2.2. Spectrophotométrie ATR-FTIR

L'analyse infra rouge a Transformée de fourrier FTIR couplé à l'ATR de l'ulvane nous a permis de révéler de manière qualitative la présence de groupes fonctionnels caractéristiques (figure3.3).

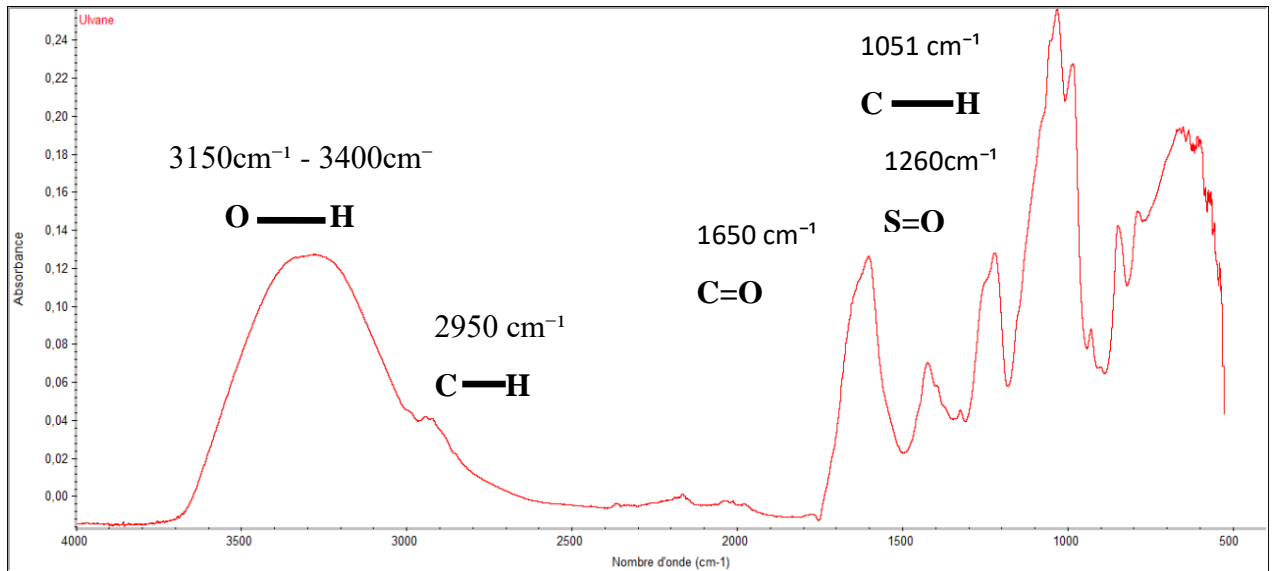


Figure 3. 3: Le spectre ATR-FTIR de polysaccharide ulvane.

Le spectre obtenu est en accord avec celui trouvé dans la littérature [48].

✓ Région des groupes fonctionnels (500-4000 cm⁻¹)

En analysant le spectre obtenu dans cette région on remarque une présence d'une large bande intense entre 3150 cm⁻¹ et 3400 cm⁻¹ est attribué à la vibration d'élongation des groupements hydroxyle (-OH) caractéristique d'un anneau de sucre [49].

Le pic d'absorption de 1 650 cm⁻¹ était une bande intense de vibration remarqué qui est caractéristiques des groupes carbonyles d'acides uroniques (C=O) [50].

D'autre part, une bande plus ou moins intense vers 2950 cm⁻¹ qui indique la présence d'une élongation (C-H) qui est de méthyl. Deux pics d'étirement à 1 436 et 1 380 cm⁻¹ indiquent les vibrations de (C-H) dans l'anneau de sucre [49].

En effet, une bande faible vers 1210 cm⁻¹ est attribuée au méthyle (CH₃) de groupe acétyle. Le pic intense autour de 1051 cm⁻¹ est attribué à la vibration d'étirement (C-O) d'un anneau d'éther (C-O-C), des deux sucres principaux, à savoir le rhamnose et l'acide uronique [49].

En outre, l'absorption caractéristique du groupe sulfate est apparue autour de 1 253 et 843.81 cm^{-1} . Les absorptions à 843.81 et 892.26 cm^{-1} sont attribués aux monomères α et β des unités de sucre, qui a indiqué que le groupe sulfate était en position verticale, c'est-à-dire, la position C-2 ou C-3 de rhamnose [49].

L'absorption à la longueur d'onde de 1260 cm^{-1} était caractéristique de l'étirement des vibrations de l'ester sulfaté (S=O) du polysaccharide [50].

Enfin, en faisant une interprétation sur le spectre FTIR, on pourra déduire que notre échantillon d'ulvane est caractéristique par :

- La présence de fonction alcène et alcane.
- La présence de fonction éther.
- La présence de fonction alcool.
- La présence d'ester sulfaté.
- La présence de groupement sulfate.

3.3. Formation d'hydrogel

L'hydrogel à base d'ulvane a été préparé en mélangeant une solution d'ulvane à 5% avec une solution de CaCl_2 à 2mol/L.

En tant que polymère naturel de la classe des polysaccharides, l'ulvane devient le potentiel de former des hydrogels par des méthodes physiques ou chimiques.

Dans notre cas on a utilisé la méthode physique par réticulation ionique.

Les chaînes polymériques d'ulvane ont été réticulées en présence des cations divalents Ca^{2+} , ce qui induit à la gélification d'ulvane.

Il existe des interactions ioniques entre le carboxyle de l'acide uronique ou le sulfate avec de cation divalent Ca^{2+}

L'hydrogel a été laissé pendant 48heures pour assurer une réticulation complète.



Figure 3. 4: Hydrogel à base d'ulvane.

3.4. Encapsulation de la metformine

L'encapsulation de la metformine à partir un hydrogel d'ulvane est à 100%, c'est-à-dire toute la quantité de la metformine (500mg et 850mg) a été encapsulée dans l'hydrogel.

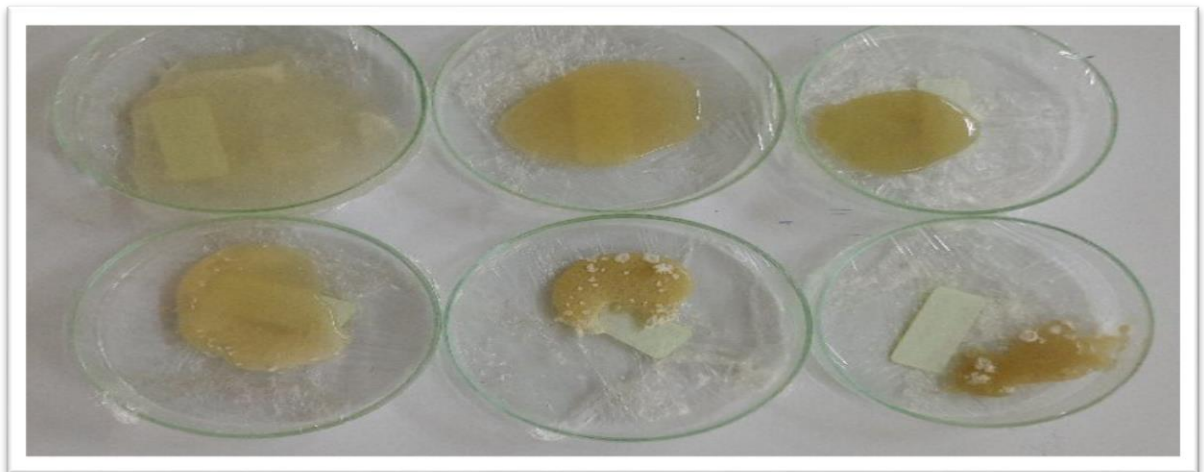


Figure 3. 5: Résultat de l'encapsulation de la metformine à 500mg et 850mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane.

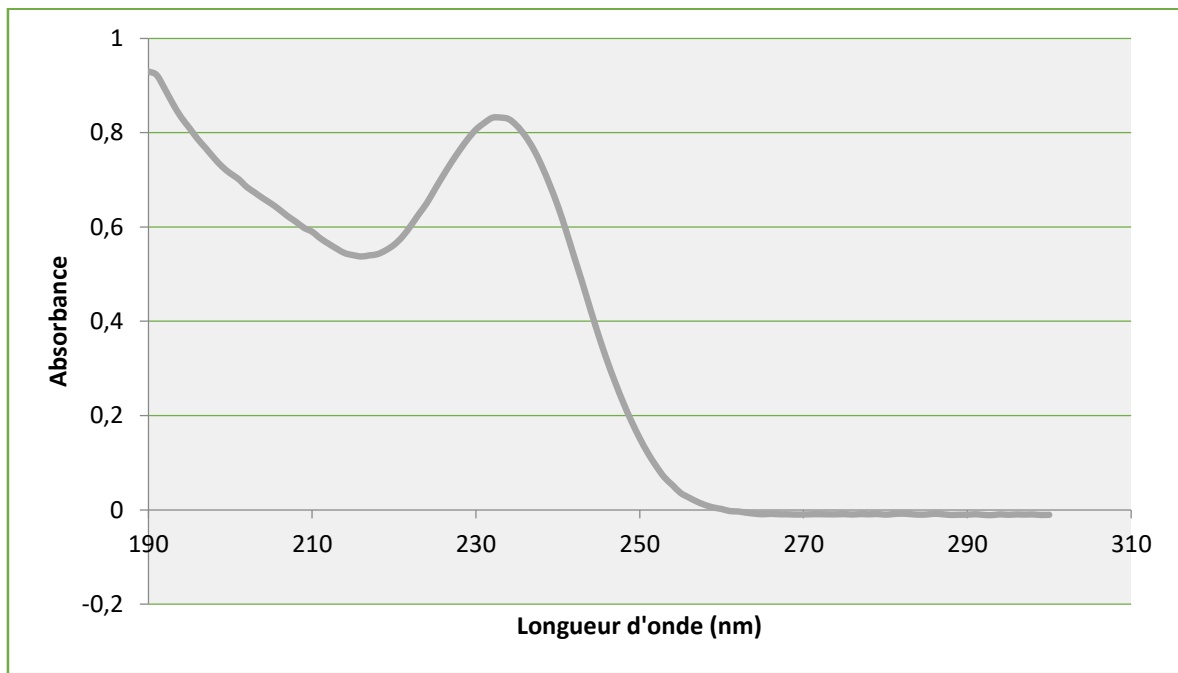
3.5. Spectre UV-Visible de la metformine

Figure 3. 6: Spectre UV de la metformine.

D'après la courbe obtenue, on observe que la longueur d'onde de la metformine est de 233nm.

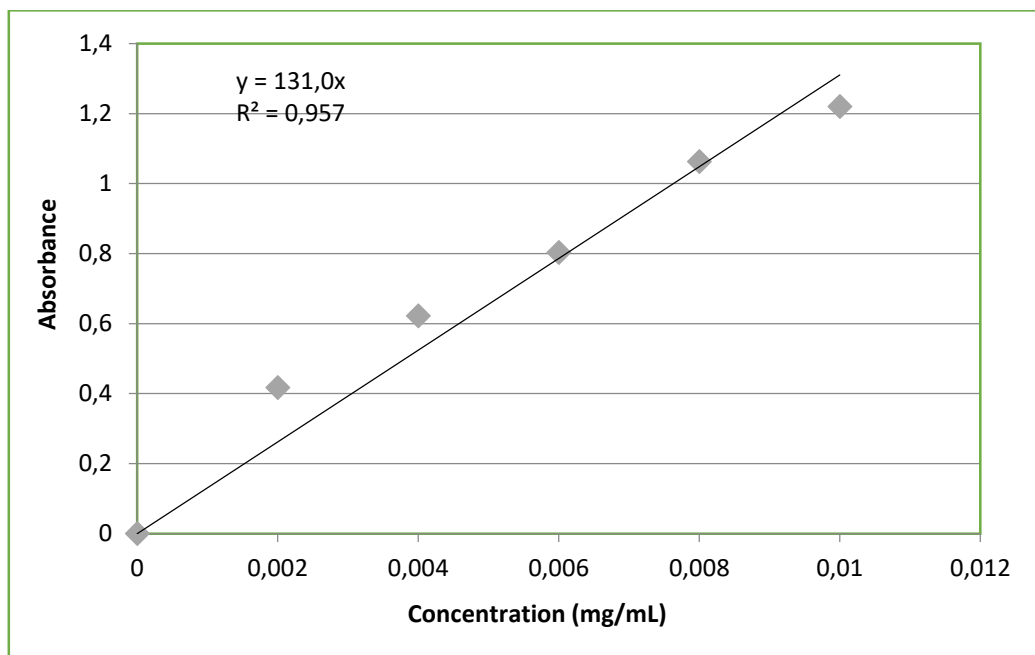
3.6. La courbe d'étalonnage de la metformine

Figure 3. 7: La courbe d'étalonnage de la metformine.

3.7. La libération de la metformine

Pour étudier la cinétique de la libération de la metformine encapsulée par un hydrogel à base d'un polysaccharide ulvane à deux doses différentes, les pH de désorption étudiés 1.2 et 6.8 ont été choisis en stimulant le pH de l'estomac et des intestins pour des personnes en bonne santé.

La libération de la metformine à 500mg et 850mg dans des milieux à pH 1.2 et 6.8 à $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ est présentée dans les figures 3.7, 3.8, 3.9, 3.10.

- La libération de la metformine à 500mg à pH= 1.2

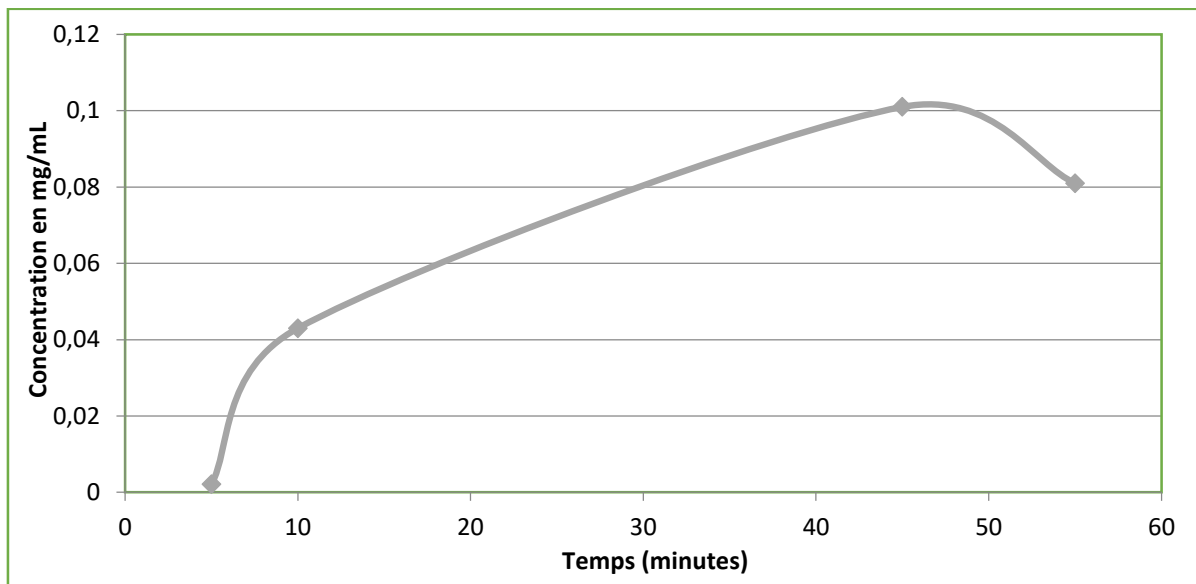


Figure 3. 8: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 500mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane à pH=1.2.

- La libération de la metformine à 850mg à pH= 1.2

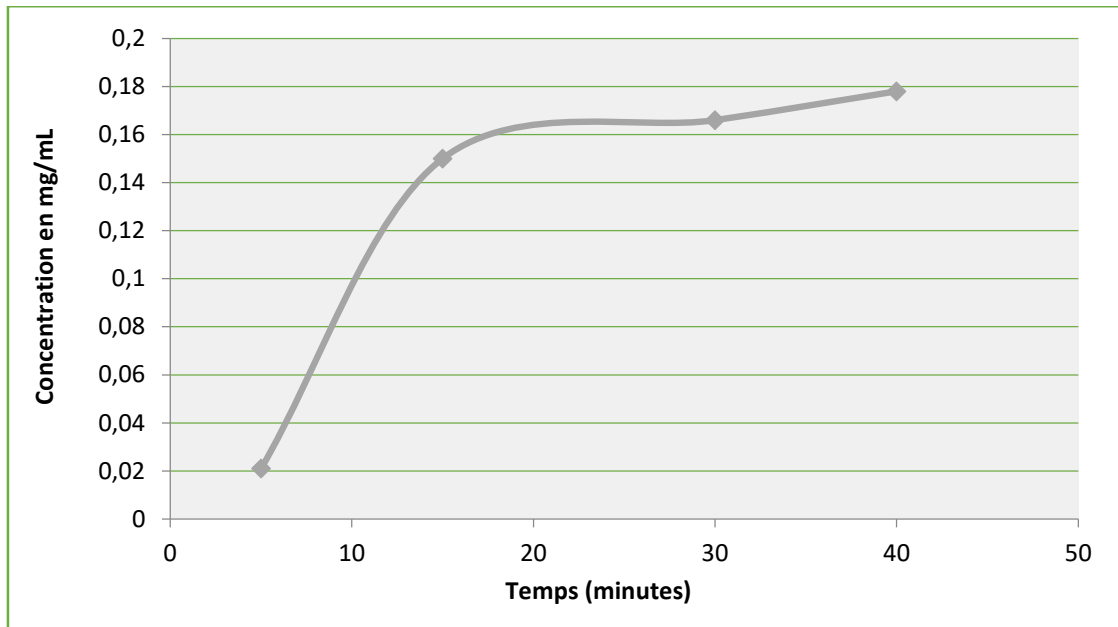


Figure 3. 9: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 850mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane à pH=1.2.

- La libération de la metformine à 500mg à pH=6.8

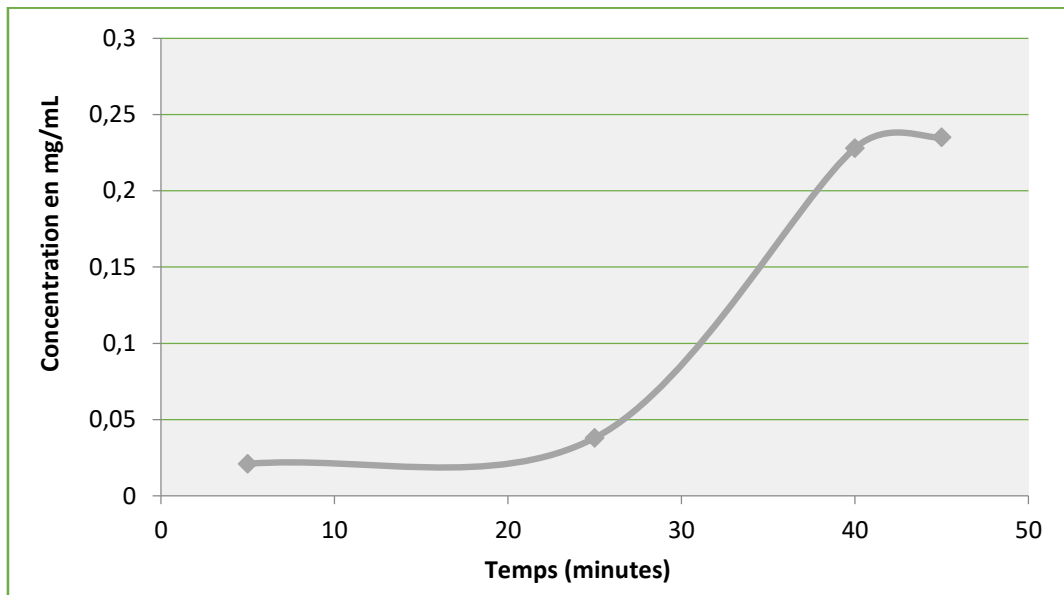


Figure 3. 10: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 500mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane a pH= 6.8.

- La libération de la metformine à 850mg à pH= 6.8

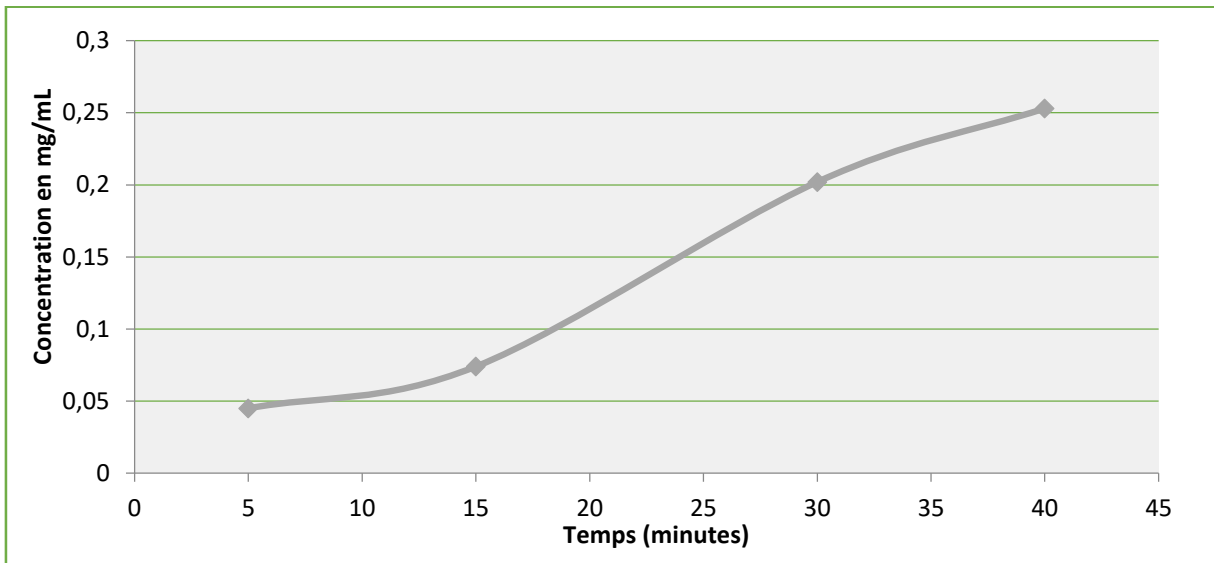


Figure 3. 11: Profil de la cinétique de libération de la metformine à 850mg à partir d'un hydrogel à base d'ulvane a pH=6.8.

Les pourcentages de la libération de la metformine à partir de l'hydrogel sont calculés à l'aide de l'équation suivante [51] :

$$R = \frac{m_t}{m_0} \times 100$$

D'où, m_t est la quantité de médicament libérée au temps t , et m_0 est la quantité initiale de médicament encapsulée.

Si le pH était de 1.2, la libération de la metformine de 500mg était d'environ 10.1% pendant 55 minutes, et pour la metformine de 850mg était d'environ 10.47% pendant 40 minutes.

Et pour le pH 6.8, la libération de la metformine de 500mg était d'environ 23.5% pendant 45 minutes, et pour la metformine de 850mg était d'environ 14.88% pendant 40 minutes.

On remarque que la metformine a été libérée très rapidement, principalement en raison de sa nature hydrophile et aussi en raison de la faible stabilité des hydrogels. Ce qui rend ces stratégies de délivrance inappropriées pour une libération prolongée des médicaments. Par ce que la délivrance de la metformine peut durer jusqu'à 17 heures.

CONCLUSION GENERALE

Les ulvanes sont caractérisés par leur groupement sulfate important.

La recherche sur l'ulvane extrait d'algue vert marin *Ulva lactuca* en est encore à ses débuts par rapport à celles des autres dérivés marins polysaccharides sulfatés carraghénane et fucoïdane

Toutefois, ulvane a le potentiel de trouver une application généralisée, y compris dans l'agriculture, la santé humaine et les biomatériaux.

Le but essentiel était la formation d'un hydrogel à base d'un bio polymère pour la délivrance des médicaments pour améliorer la libération prolongé d'un principe actif dans l'organisme.

Pour cela on a fait l'extraction d'un polysaccharide sulfate « ulvane ».

Le procéder de l'extraction d'ulvane à partir d'algue vert *ulva lactuca* est un processus en quatre étapes impliquant l'extraction, purification, isolement et séchage.

➤ Notre étude a été menée en 5 étapes.

L'extraction à l'eau chaude de polysaccharide ulvane à partir d'algue verte *ulva lactuca* nous a permis de récupérer un rendement 12.4% équivalent à 5g.

On a constaté grâce au test de Molisch que l'extrait obtenu est un glucide.

Grace à l'analyse par ATR-FTIR, on a confirmé la présence du sulfate et les principaux sucres contenant dans l'ulvane (rhamnose, l'acide uronique).

Préparation des hydrogels à base d'ulvane par le chlorure de calcium permis une bonne réticulation de polysaccharide à cause des ions Ca^{2+} .

Nous avons tenté de mettre au point une nouvelle approche, qui pourrait simplifier le procédé d'encapsulation et de permettre la formulation d'un médicament pour l'administration par les différentes voies d'administrations. L'encapsulation du principe actif « metformine » par l'hydrogel à base de polysaccharide ulvane a pour l'objectif de protéger le principe actif, améliorer sa présentation et maîtriser son profil de libération.

L'étude a été consacrée à évaluer l'effet de l'association de biopolymère biodégradable et biocompatible ulvane réticulés par le CaCl₂, sur la libération de la metformine.

En conclusion, pour valider la formulation des hydrogels à base d'ulvane en vue de les appliquer pour la délivrance de la metformine, nous avons étudié la cinétique de libération par dissolution dans deux milieux physiologiques (gastrique et intestinal).

Cette libération du metformine est contrôlée par le phénomène de diffusion par UV-Visible, d'après les résultats obtenus on a constaté que la metformine donne une libération acceptable dans les deux milieux de dissolution pendant 5 à 50 min.

Les perspectives de développement d'hydrogels ulvane pour des applications biomédicales sont présentées avec de nombreux défis mais offrent également de nouvelles opportunités.

REFERENCES

- [1].Nasreddine, Fethi, Thèse de fin d'étude,Contribution à l'étude de quelques paramètres biochimiques et éco-toxicologiques d'une algue verte (*Ulva lactuca*), université de Mostaganem, 2018.
- [2].Ainane, Tarik. Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Diss. Faculté des Sciences Ben M'sik Université Hassan II Casablanca, 2011.
- [3].Arokiarajan, Mary Shamy, et al. "Advance research in biomedical applications on marine sulfated polysaccharide." *International Journal of Biological Macromolecules* 194 (2022): 870-881.
- [4].Chaves Filho, Gildacio Pereira, et al. "Role of sulfated polysaccharides from seaweeds in bone regeneration: A systematic review." *Carbohydrate Polymers* (2022): 119204.
- [5].Morelli, Andrea, and Federica Chiellini. "Ulvan as a new type of biomaterial from renewable resources: functionalization and hydrogel preparation." *Macromolecular Chemistry and Physics* 211.7 (2010): 821-832.
- [6].Beaumont, Marco, et al. "Hydrogel-forming algae polysaccharides: From seaweed to biomedical applications." *Biomacromolecules* 22.3 (2021): 1027-1052.
- [7].Sulastri, Evi, et al. "A comprehensive review on ulvan based hydrogel and its biomedical applications." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 69.5 (2021): 432-443.
- [8].Salim, Douaa. Formulations écocompatibles d'extraits de l'algue verte *Ulva Lactuca* pour la préservation des agrumes après récolte. Diss. 2019.
- [9].Loret, Elvonn, et al. "A marine virus controls the green algae *Ulva lactuca* proliferation in the bay of Marseille." (2020).
- [10].Dominguez, Herminia, and Erwann P. Loret. "Ulvalactuca, a source of troubles and potential riches." *Marine drugs* 17.6 (2019): 357.
- [11].Benhamouda, Samira, and M. EncadreurSebti. Etude de quelques espèces d'algues marines (*Ulvalactuca*, *Gelidium sesquipedale*, *Caulepraeformosa*) de la cote Jijelienne, en vue d'une valorisation. Diss. Université de Jijel, 2021.

- [12].Fotedar, Ravi. "Integration of western kingprawn (*Penaeuslatisulcatus*Kishinouye, 1896) and green seaweed (*Ulvalactuca* Linnaeus, 1753) in a closedrecirculating aquaculture system." *Aquaculture* 322 (2011): 201-209.
- [13].Sîrbu, Rodica, Ghergic DL SC, and N. Passy Mouima. "caracterisation de certains principes actifs de *ulva lactuca* et *ulvarigida*—algues vertes du littoral roumain de la mere noire." *Scientificstudy and research* 2 (2006).
- [14].Renoux, Hélène. "Ulva lactuca, l'algue verte, un médicament homéopathique en phase avec les questions environnementales.  tude à partir de l'histoire naturelle de l'algue, de sa pathog en sie et de cas cliniques." *La Revue d'Homéopathie* 11.3 (2020): 103-109.
- [15].Tang, Tiancheng, et al. "Ulvan polysaccharide-degrading enzymes: An updated and comprehensivereview of sources category, property, structure, and applications of ulvanlyases." *Algal Research* 60 (2021): 102477.
- [16].Kidgell, J. T., et al. "Ulvan:   systematicreview of extraction, composition and function. *Algal Res* 39: 101422." (2019).
- [17].Cardoso, Matias J., Rui R. Costa, and Jo o F. Mano. "Marine origin polysaccharides in drugdeliverysystems." *Marine drugs* 14.2 (2016): 34.
- [18].Cunha, Ludmylla, and Ana Grenha. "Sulfatedseaweed polysaccharides as multifunctionalmaterials in drugdelivery applications." *Marine drugs* 14.3 (2016): 42.
- [19].Lakshmi, D. Shanthana, et al. "A short review on the valorization of green seaweeds and ulvan: Feedstock for chemicals and biomaterials." *Biomolecules* 10.7 (2020): 991.
- [20].Tziveleka, Leto-Aikaterini, EfstathiaIoannou, and VassiliosRoussis. "Ulvan, a bioactive marine sulphated polysaccharide as   key constituent of hybridbiomaterials: A review." *Carbohydrate polymers* 218 (2019): 355-370.
- [21].CindanaMo'o, FaradilaRatu, et al. "Ulvan, a polysaccharide frommacroalgaUlvasp: A review of chemistry, biologicalactivities and potential for food and biomedical applications." *Applied Sciences* 10.16 (2020): 5488.
- [22].Sulastri, Evi, et al. "A comprehensive review on ulvan based hydrogel and its biomedical applications." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 69.5 (2021): 432-443.

- [23]. Beaumont, Marco, et al. "Hydrogel-forming algae polysaccharides: From seaweed to biomedical applications." *Biomacromolecules* 22.3 (2021): 1027-1052.
- [24].Subramanian, KaliappaGounder, and VediappanVijayakumar. "Hydrogels: classification, synthesis, characterization, and applications." *Encyclopedia of Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials* 11 (2015): 3879-3892.
- [25].Morelli, Andrea, and Federica Chiellini. "Ulvan as a new type of biomaterial from renewable resources: functionalization and hydrogel preparation." *MacromolecularChemistry and Physics* 211.7 (2010) : 821-832.
- [26].BETTIOUI, Leila. Synthèse et caractérisation de copolymères et d'hydrogels de poly (N-vinylpyrrolidone-co-tétra (éthylène glycol) diméthacrylate). Diss. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella, 2011.
- [27].KilicBektas, Cemile, et al. "Engineered Hydrogels." *Biological Soft Matter: Fundamentals, Properties, and Applications* (2021): 89-114.
- [28].Nafo, Wanis. "Hydrogel Biomaterials for Drug Delivery: Mechanisms, Design, and Drugs." (2022).
- [29].Peppas, Nicholas A., and Allan S. Hoffman. "Hydrogels." *Biomaterials science*. Academic Press, 2020. 153-166.
- [30].Barbucci, Rolando, ed. *Hydrogels: Biological properties and applications*. Springer Science & Business Media, 2010.
- [31]. Thakur, Vijay Kumar, and ManjuKumari Thakur, eds. *Hydrogels: Recent Advances*. Springer, 2018.
- [32].Gulrez, Syed KH, Saphwan Al-Assaf, and Glyn O. Phillips. "Hydrogels: methods of preparation, characterisation and applications." *Progress in molecular and environmental bioengineering-from analysis and modeling to technology applications* 117150 (2011).
- [33].Merakchi, Akila, et al. "Cross-linking and modification of sodium alginate biopolymer for dye removal in aqueous solution." *Polymer Bulletin* 76.7 (2019): 3535-3554.
- [34].Boudendouna, Abdel Hakim. *Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée*. Diss. 2010.

- [35]. Jain, Kewal K., ed. Drug delivery systems. Vol. 251. Totowa, NJ: Humana press, 2008.
- [36].Pareek, ShraddhaPawan, et al. "Review on sustained release technology." *Int J Pharm Bio Sci Archive* 7.6 (2019) : 29-38.
- [37].GRERIFA, Bourkaib, thèse de fin d'étude, Formulation d'une suspension médicamenteuse à libération prolongée, université de Blida 1, 2016.
- [38].Soltani, Ekhamssa. Développement de nouveaux systèmes à base de polymères biodégradables pour la libération prolongée d'antiinflammatoires : cas de l'amidon et de l'acide niflumique. Diss. 2018.
- [39].Khaberazi, Mouna. Développement pharmaceutique de formes à libération prolongée de tramadol à base de matrice hydrophile : hydroxy propylmethyl cellulose et gomme guar. Diss. 2018.
- [40].Song, Anni, Chun Zhang, and XianfangMeng. "Mechanism and application of metformin in kidney diseases: An update." *Biomedicine & Pharmacotherapy* 138 (2021): 111454.
- [41].Sheleme, Tadesse. "Clinical Pharmacokinetics of Metformin." *Metformin-Pharmacology and Drug Interactions*. IntechOpen, 2021.
- [42].Sivadasan, Shalini, Muthukumar Subramanian, and RajasekaranAiyalu. "Metformin: Pros and Cons." *Metformin: Pharmacology and Drug Interactions* (2021): 49.
- [43].Klepser, Teresa B., and Michael W. Kelly. "Metformin hydrochloride: an antihyperglycemic agent." *American journal of health-system pharmacy* 54.8 (1997): 893-903.
- [44].Rizvi, Syed Mohd Danish, et al. "Role of anti-diabetic drugs as therapeutic agents in Alzheimer's disease." *EXCLI journal* 14 (2015): 684.
- [45]. Chen, Jieteng, et al. "Physicochemical properties and anti-oxidation activities of ulvan from *Ulva pertusa* Kjellm." *Algal Research* 55 (2021): 102269.
- [46].Thanh, Thi Thu Thuy, et al. "Structure and cytotoxic activity of ulvan extracted from green seaweed *Ulva lactuca*." *International journal of biologicalmacromolecules* 93 (2016): 695-702.
- [47].Ali O. Med Salem O. Boukhary, AhmedouOuldHoumeida, travaux pratiques de biochimie structurale, deuxième année biologie-géologie, université de Nouakchott facultés des sciences et technique département de biologie, 2007-2008.

- [48].Hussein, Mervat H., Ragaa A. Hamouda, and M. A. Karim-Eldeen. "CHARACTERIZATION, ANTIOXIDANT POTENTIALITY AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE POLYSACCHARIDE ULVAN EXTRACTED FROM THE MARINE MACROALGA *Ulva* SPP." *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 6.9 (2015): 373-392.
- [49].Zhao, Chao, et al. "The algal polysaccharide ulvan suppresses growth of hepatoma cells." *Food Frontiers* 1.1 (2020): 83-101.
- [50].Yaich, Hela, et al. "Effect of extraction procedures on structural, thermal and antioxidant properties of ulvan from *Ulvalactuca* collected in Monastir coast." *International Journal of Biological Macromolecules* 105 (2017): 1430-1439.
- [51]. Mishra, R. K., K. Ramasamy, and A. B. A. Majeed. "PH-responsive poly (DMAPMA-co-HEMA) -based hydrogels for prolonged release of 5-fluorouracil." *Journal of Applied Polymer Science* 126.S2 (2012) : E98-E107.