

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de DJILALI BOUNAAMA DE KHEMIS MILIANA



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Technologie

Mémoire du Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention de diplôme

Master

En

Sciences et de la Technologie

Option

Génie Pharmaceutique

**Préparation des microsphères à base de
chitosane modifié par phosphorylation**

Présenté par :

M^{lle}. BOUAZGHI Bouchra

M^{lle}. BENYUCEF MOSBAH Hadia

Membres de jury :

Président de jury : Mr. Touafri

Examinatrice : Mme. Hadj khelifa

Encadreur : Mr. Larbi Bouamrane.O

Co-encadreur : Mr. Hellel. A

Année Universitaire 2017/2018

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Remerciement

Dédicaces

Introduction générale 01

Chapitre I : Le chitosane.

I. 1. Historique. 04

I.2. Présentation du Chitosane. 04

I.2.1. Structure chimique de Chitosane. 04

I.2.2. Le procédé d'obtention de chitosane. 05

I.2.2.1. Isolement de la chitine et synthèse du chitosane. 05

I.3. Propriétés et applications de Chitosane. 08

I. 3.1. Propriétés du Chitosane. 08

I.3.1.1. Propriétés Antimicrobienne. 08

I.3.1.2. Propriétés biologique. 08

I.3.1.3. Propriétés physic-chimique. 08

I.3.2. Les applications du Chitosane. 09

I.4. Caractéristiques de chitosane. 10

I.4.1.Degré de désacétylation (DDA). 10

I.4.2. Viscosité. 10

I.4.3. Cristallinité et Taux gonflement. 11

I.4.4. Réactivité. 12

I.4.5.Solubilité. 12

I.4.6.Poids moléculaire.	12
--------------------------	----

Chapitre II : Modification de chitosane.

II.1. Historique.	14
II.2. les objectifs de la modification du chitosane.	14
II.3. La modification chimique de Chitosane.	15
II.3.1. Acétylation du chitosane.	15
II.3.2. Dépolymérisation du chitosane.	16
II.3.2.1. Différentes méthodes de griffages.	17
II.4. Le chitosane phosphorylé.	18
II.4.1. les différentes procédés de préparation de chitosane phosphorylé.	18
II.4.2. Application de chitosane phosphorylé.	23

Chapitre III : La théorie de la fonctionnelle de la densité.

III.1. Historique de la modélisation.	27
III.2.Méthodes de La modélisation.	27
III.2.1. Objectifs de la modélisation moléculaire.	29
III.2.2. Domaine d'application de la modélisation moléculaire.	29
III.2.3. Limitation de la modélisation Moléculaire.	30
III.3. La mécanique moléculaire.	30
III.4. Dynamique moléculaire (DM).	31
III.5. Mécanique quantique.	31
III.5.1. Méthodes ab-initio (Hartree-fock-roothann).	32
III.5.2. Méthodes semi-empiriques.	32

III.5.3. Théorie de la densité fonctionnelle (DFT).	32
III.5.3.1. Historique.	33
III .5 .3.2. Objectif de la DFT (le cadre de DFT).	33
III.5.3.3. Les principales méthodes de la DFT.	34
III .5.3.4 Théorie de DFT.	35
III.5.3.5. Les avantages de DFT	35
III.5 .3.6. Les limites de DFT.	36
III.6. La simulation moléculaire.	36
III.6.1. Les logiciels de modélisation et simulation moléculaire.	37

Chapitre IV: Etude expérimentale

Introduction	39
--------------	----

Partie 1 : La DFT

VI.1.1. Introduction.	40
IV.1.2. Description générale de la méthode (DFT).	40
IV.1.3. Méthode d'étude.	41
IV.1.4. Logiciel GAUSSIEN.	41
IV.1.5. Résultat et discusion.	42
IV.1.5.1. Etude géométrique.	42
IV.1.5.1.1. Optimisation de géométries des structures.	42
IV.1.5.2. Analyse des charges atomiques	45
IV.1.5.3. Les indice de réactivités	52
IV.1.5.4. Moment dipolaire	53
IV.1.6.Conclusion	56

Partie 2: Synthèse et encapsulation

IV.2.1. Introduction	57
IV.2.2. Matériel et Produits	57
IV.2.3. Méthodes	60
IV.2.3.1. Première étape : phosphorylation du chitosan	60
IV.2.3.2. Deuxième étape : encapsulation de la Spiramycine	60
IV.2.3. Resultat et discussion	61
IV.2.4.1. La synthèse	61
IV.2.4.2 Encapsulation	67
IV.2.4.2.1 méthode de préparation par émulsion	67
IV.2.4.2.2 méthode de gélification par goutte	68
IV.2.4.3. Détermination du taux d'encapsulation	74
IV.2.4.4. Gonflement et libération de Spiramycine et des microsphères dans les différents milieux physiologiques	77
IV.2.4.5. Le taux de libération dans le milieu gastrique et intestinal	83
IV.2.4.6. Test antimicrobiens	85
IV.2.4.7. Conclusion	85
Conclusion générale	86
Références bibliographique	89
Annexes	
Prescriptives	

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

CG : Chitosane gaz.

Chit : Chitosane.

CL : Chitosane liquide.

CN : chitosane natif.

CNL : Chitosan Natif Liquide

CNG : Chitosan Natif Gaz

CP : chitosan phosphorylé.

CPG : Chitosane phosphorylé gaz.

CPL : Chitosane phosphorylé liquide.

CS : Chitosane solution

DA : Le degré d'acétylation.

DDA : Le degré de désacétylation.

DFT : La théorie fonctionnelle de la densité.

DM : Dynamique moléculaire.

DMF : diméthylformamide.

DS : Le degré de substitution.

EDC : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide.

FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy (infrarouges à transformée de Fourier).

GGA : Les fonctionnelles à correction de gradient.

GICN : Glucosamine.

HMPS : Hexamétaphosphate de sodium.

HF-DFT : Les fonctionnels hybrides.

HOMO : Highest occupied molecular orbital (Haute Occupée).

LDA : Les fonctionnelles locales.

LUMO : Lowest unoccupied molecular orbital (Basse Vacante).

MM : Modélisation moléculaire.

MQ : Mécanique quantique.

NMPC : 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymère.

OM : Les orbitales moléculaires.

PA : Principe actif.

SGF : simulated gastrique fluide (Suc gastrique artificiel).

SIF : simulated intestinal fluide (Suc intestinal artificiel).

TPP : tripolyphosphate.

UV : Ultra violet.

Liste des figures

Figure I.1 : Formule chimique du chitosane.	04
Figure I.2 : Structure chimique de la chitine.	05
Figure I.3 : Réaction d'hydrolyse de la chitine.	06
Figure I.4: Procédé d'obtention de la chitine et du chitosane.	07
Figure II.1: Réaction déacétylation du chitosane par l'anhydride acétique en milieu hydro-alcoolique.	15
Figure II.2: Dépolymérisation du chitosane par désamination nitreuse.	16
Figure II.3 : Mécanisme impliqué dans l'hydrolyse du chitosane, formation d'un carbocation par attaque d'un cation nitrosonium.	17
Figure II.4 : Phosphorylation du chitine et chitosane par l'utilisation de P_2O_5/CH_3SO_3H .	19
Figure II.5 : Phosphorylation du chitine et chitosane par l'utilisation de H_3PO_4 / urée /DMF.	19
Figure II.6 : Synthèse de la chitine phosphorylée et du chitosan.e	20
Figure II.7 : Préparation de chitosane-o-ethyl phosphonate.	20
Figure II.8 : Préparation de chitosane alkyl de phosphate.	21
Figure II.9 : Préparation de chitosane phosphorylé en utilisant la méthode de greffage.	21
Figure II.10 : Préparation de chitosane phosphorylé en utilisant la méthode de greffage	22
Figure II.11 : Préparation de N-Méthylène phosphonique de chitosane.	22
Figure II.12 : Préparation de chitosane phosphorylé utilisant $H_3PO_4/EtPO_4/P_2O_5$.	23
Figure III.1: Diagramme de la modélisation moléculaire.	28
Figure IV.1.1 : Les représentations optimisées de la molécule Chitosane et chitosane phosphorylé.	42
Figure IV.1.2: Représentations HOMO/LUMO des molécules CL, CG, CPL, CPG.	48
Figure IV.1.3 : Le diagramme de l'énergie Gap (EHOMO-ELUMO) de Chitosane (liquide et gaz)	50
Figure IV.1.4 : Le diagramme de l'énergie Gap (EHOMO-ELUMO) de Chitosane phosphorylé (liquide et gaz)	50

Figure IV.1.5 : Moment dipolaire de chitosan natif à l'état liquide et gaz.	54
Figure IV.1.6 : Moment dipolaire de chitosan phosphorylé à l'état liquide et gaz.	54
Figure IV.2. 7: Spectre infrarouge du Chitosan.	61
Figure IV.2.8 : Produits obtenus par synthèse de phosphorylation	62
Figure IV.2.9 : Spectre infrarouge de Chitosan phosphorylé produit (a)	63
Figure IV.2.10 : Spectre infrarouge de Chitosan phosphorylé produit (b)	63
Figure IV.2.11 : Spectre IR-FT de chitosan phosphorylé (méthode a) avec le spectre de polymère	65
Figure IV.2.12: Spectre IR-FT de chitosan phosphorylé (méthode b) avec le spectre de polymère	66
Figure IV.2.13 : La solubilité de chitosane dans l'eau et dans l'acide acétique.	67
Figure IV.2.14 : particules obtenues par émulsion	67
Figure IV.2.15 : microsphères obtenues par égouttage.	68
Figure IV.2.16: Spectre IR de Spiramycine.	69
Figure IV.2.17: Spectre IR des microsphères chitosan.	70
Figure IV.2.18: Spectre IR des microsphères chito-phos + Chito avec Gluteraldehyde.	72
Figure IV.2.19 : Spectre IR des microsphères chitosan phosphorylé + chitosan acide	73
Figure IV.2.20 : Spectre d'absorption UV-Visible de Spiramycine dans l'eau distillé	74
Figure IV.2.21 : La courbe d'étalonnage de spiramycine dans l'eau distillée	75
Figure IV.2.22 : Comparaison des spectres IR des microparticules au spectre de Spiramycine seule.	76
Figure IV.2.23: Gonflement des microsphères dans le milieu gastrique.	77
Figure IV.3.24: Gonflement des microsphères dans le milieu intestinal.	78
Figure IV.2.25 : Spectre d'absorption UV-Visible de Spiramycine dans le milieu gastrique (pH=1,2)	79
Figure IV.2.26 : Spectre d'absorption UV-Visible de Spiramycine dans le	80

milieu intestinal (pH=6,8)	
Figure IV.2.27 : Courbe d'étalonnage de Spiramycine dans le milieu gastrique (pH =1,2)	81
Figure IV.2.28 : Courbe d'étalonnage de Spiramycine dans le milieu intestinal (pH =6,8)	81
Figure IV.2.29: Profil de libération de Spiramycine dans le milieu gastrique.	82
Figure IV.2.30: Profil de libération de Spiramycine dans le milieu intestinal.	82
Figure IV.2.31: Taux de libération dans un milieu gastrique.	83
Figure IV.2.32 : Taux de libération dans un milieu intestinal.	83
Figure IV.2.33 : sensibilité des bactéries (Escherichia coli et Staphylococcus aureus).	85

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Principale applications du chitosane.	09
Tableau III.1: Les divers logiciels de chimie quantique	37
Tableau IV.1.1 : Paramètres géométriques (Longueurs de liaison) relatifs au CNL CNG, CPL, CPG.	43
Tableau IV.1.2: Paramètres géométriques (Angles) relatifs au CNL, CNG, CPL, CPG	43
Tableau IV.1.3: Paramètres géométriques (Angles dièdre) relatifs au CNL, CNG, CPL, CPG.	44
Tableau IV.1.4 : Les Charges de Mulliken des molécules CNG, CNL, CPL et CPG	46
Tableau IV.1.5: Energies d'HOMO, LUMO, écarts énergétiques (HOMO/LUMO).	49
Tableau IV.1.6 : Les paramètres quantique de chitosane phosphorylé à l'état gazeux et liquide.	52
Tableau IV.1.7 : Les valeurs du moment dipolaire de CN, CP.	55
Tableau IV.2.8: Matériel.	57
Tableau IV.2.9 : produits.	58
Tableau IV.2.10 : les données de synthés.	60
Tableau IV.2.11 : Fréquences des principales bandes caractéristiques IR du Chitosane phosphorylé	64
Tableau IV.2.12 : La présence d'une bande qui attribue à la liaison P=O	64
Tableau IV.2.13 : Fréquences des principales bandes caractéristiques de spiramycine.	67
Tableau IV.2.14 : Fréquences des principales bandes caractéristiques des microsphères de chitosane	71
Tableau IV.2.015: Fréquences des principales bandes caractéristiques IR des microsphères chito-phos + Chito avec Gluteraldehyde.	71
Tableau IV.2.16: Fréquences des principales bandes caractéristiques IR des microsphères chito-phos+ chito sans Gluteraldehyde.	73

Tableau IV.2.17 : le pourcentage d'encapsulation.	76
Tableau IV.2.18 : La comparaison du paramètre pharmacocinétique de spiramycine avec celle obtenus du test in vitro	84



Remerciement

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Mr le professeur LARBI BOUAMRANE. O qui a proposé le thème de ce mémoire. Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port.

Nous remercions très chaleureusement M. HELLEL pour son aide précieuse et ces efforts déployés dans la partie simulation qui a enrichie notre travail.

Nous tenons également à remercier Mr. Touafri qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et de juger notre travail et Mme Hadj Khelifa d'avoir accepté d'évaluer le mémoire au sein du jury de soutenance.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire, et ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Hadia et Bouchra



Dédicace

Je dédie ce travail à :

*MA TRÈS CHÈRE MÈRE : **Belhasen Djamila***

J'ai de la chance d'avoir une mère aussi dévouée et attentionnée que toi, c'est un privilège plus rare qu'on ne le croit. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Par les inestimables sacrifices que tu as consentis pour moi, tu as tant souhaité que je parvienne à ce but.

je te serai reconnaissant toute ma vie, qu'Allah t'accorde longue vie dans la santé !

*MON TRÈS CHER PÈRE : **Bouazghi Abd El Kader***

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé.

*A mes Chers frères ; **Walid et Abd Raouf***

pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré, pour toute la spontanéité et l'amour que vous me le porter, Je vous dédie ce travail.

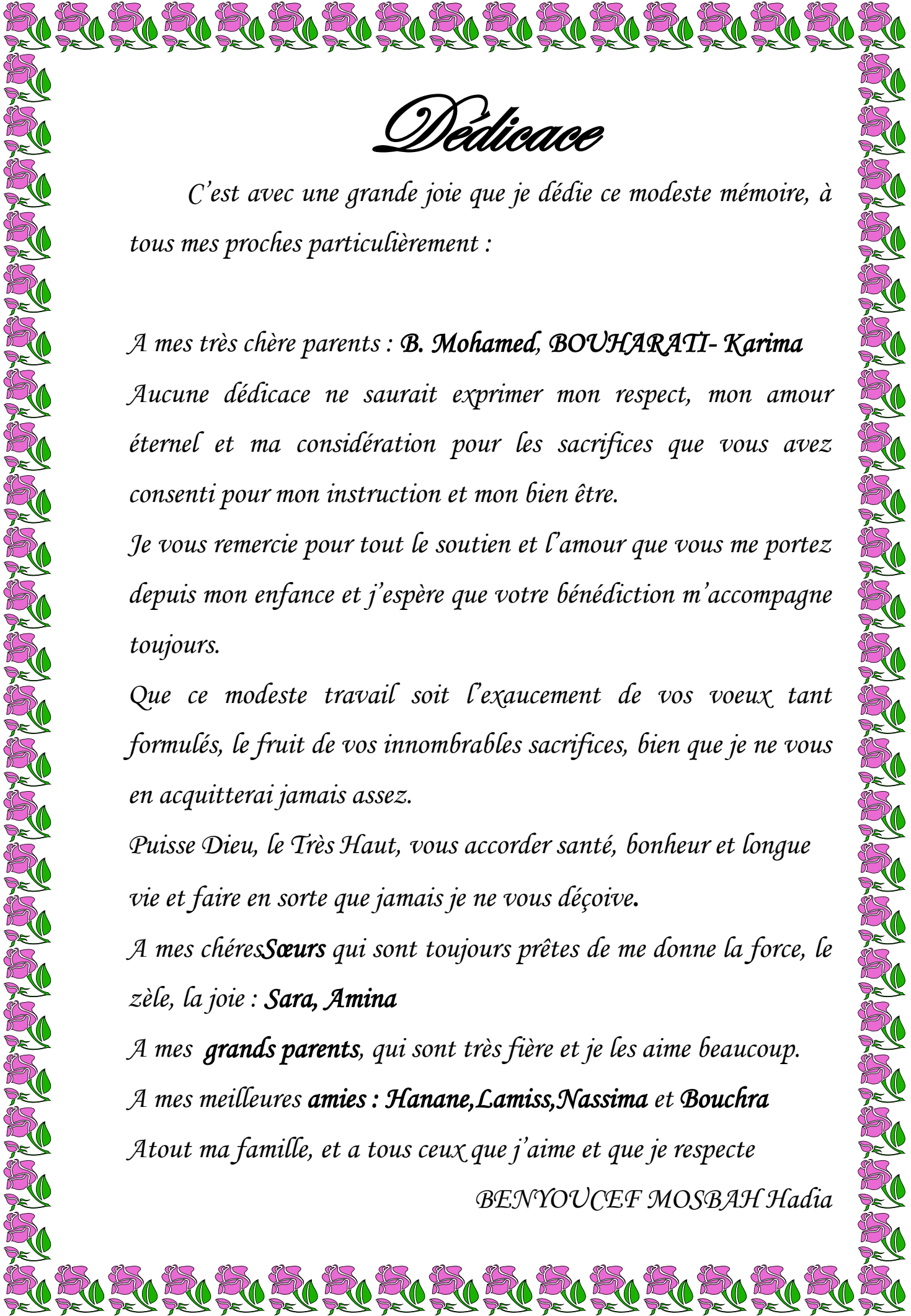
A mes Sœurs du cœurs ;

***Hiba, Khawla, hafsa** dieu ne m'a pas donné une mais trois sœurs vous avez toujours su me pousser à croire et aller de l'avant. Aujourd'hui aucun mot ne peut exprimer ma reconnaissance.*

A mes plus belles rencontres à l'université ;

***Nassima, Hadia, Hanane, Lamis** vous avez donnez un sens à ces années je me suis rendue compte à quel point, pour moi ce n'était pas seulement un diplôme que je récolterais à la fin, mais aussi des amies comme vous.*

BOUAZGHI Bouchra



Dédicace

C'est avec une grande joie que je dédie ce modeste mémoire, à tous mes proches particulièrement :

*A mes très chère parents : **B. Mohamed, BOUHARATI- Karima***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

*A mes chères **Sœurs** qui sont toujours prêtes de me donner la force, le zèle, la joie : **Sara, Amina***

*A mes **grands** parents, qui sont très fière et je les aime beaucoup.*

*A mes meilleures **amies** : **Hanane, Lamiss, Nassima et Bouchra***

A tout ma famille, et à tous ceux que j'aime et que je respecte

BENYOUCEF MOSBAH Hadia

الملخص:

تألف هذا العمل من ثلاث خطوات ، الأولى ، دراسة نظرية للشيتوزان ، والثانية هي فسفرة الشيتوزان ، والثالثة محاكاة كثافة النظرية الوظيفية التي تسمح لنا بتحديد الخصائص الهيكلية والحيوية لجزيئاتنا والصناعية كجزء من هذه الرسالة ، نحاول دراسة المعلومات المختلفة للشيتوزان الطبيعي والشيتوزان المفسفر ، من اجل تغليف سبيراميسين بواسطة الشيتوزان المفسفر هي طريقة تستخدم بشكل متزايد لأنها تحتوي على العديد من المزايا. أظهر تحليل الأشعة تحت الحمراء أيضا ظهور نطاقات حول 1350 سم⁻¹ ، مما يثبت فسفرة الشيتوزان ، بالإضافة إلى أن المحلول اللزج الذي تم الحصول عليه قابل للذوبان في الماء. التوليف نفذ بالطريقة الكيميائية وبالتالي كان مثمرة

الكلمات المفتاحية: الشيتوزان ، الشيتوزان المفسفر،التعديل الكيميائي،جزيئات مجهرية ، كثافة النظرية الوظيفية

Résumé :

Ce travail composé de trois étapes : la prédiction de l'interaction chitosane acide phosphoreux, la synthèse du chitosane phosphorylé, et enfin application de chitosane phosphorylé dans la préparation des microsphères de Spiramycine.

L'usage de la DFT dans la prédiction de l'interaction a montré à travers l'étude menée que la possibilité d'interaction entre le chitosan et l'acide phosphoreux est assurée, par le fait que des liaisons dans la structure du chitosan phosphorylé sont courtes par rapport à celle de chitosan natif. Ainsi, le chitosan phosphorylé peut être considéré comme le plus stable. Ceci est confirmé par les valeurs de la mollesse ($S_{\text{CNL}}=3.31829042 \text{ a.u.}$, $S_{\text{CPL}}= 3.39086501 \text{ a.u.}$) ainsi que les valeurs de l'écart énergétique ($\Delta E_{\text{CNL}}=0.18696 \text{ a.u.}$ et $\Delta E_{\text{CPL}}=0.29491 \text{ a.u.}$)

L'analyse par FTIR a également montré l'apparition des bandes P=O vers 1350 cm^{-1} qui corrobore que la phosphorylation du chitosan a eu lieu. De plus la solution visqueuse obtenue était soluble dans l'eau. La synthèse réalisée par la voie chimique est considérée donc comme fructueuse.

Par ailleurs, l'application de chitosane phosphorylé dans l'encapsulation de la spiramycine a permis d'obtenir des microsphères où il a été observé à partir des tests in vitro dans les milieux simulés une libération du PA.

Mots clés : Biopolymère, chitosan naturel, chitosan phosphorylé, modification chimique, phosphorylation, encapsulation, Microsphère, DFT.

Abstract :

This work consisted of three steps: the prediction of the phosphorous acitic chitosan interaction, the synthesis of phosphorylated chitosan, and finally the application of phosphorylated chitosan in the preparation of the microspheres of Spiramycin.

The use of the DFT in the prediction of the interaction has shown through the study conducted that the possibility of interaction between chitosan and phosphorous acid is ensured, by the fact of the phosphorylated chitosan bonds that they are short compared to those of native chitosan so phosphorylated chitosan is may be considered the most stable . This is confirmed by the values of softness ($SCNL = 3.31829042a .u$, $SCPL = 3.39086501a.u$) as well as the values of the energy gap ($\Delta ECNL = 0.18696a.u$ and $\Delta ECPL = 0.29491a.u$).

The FTIR analysis also showed the appearance of the $P = O$ bands around 1350 cm^{-1} , which proves the phosphorylation of chitosan, in addition the viscous solution obtained was soluble in water. The synthesis carried out by the chemical way and thus been fruitful.

Moreover, the application of phosphorylated chitosan in the encapsulation of spiramycin makes it possible to obtain microspheres.

Indeed, it was observed from the in vitro tests a release of the PA.

Key words : biopolymers, natural chitosan, phosphorylated chitosan, chemical modification, encapsulation, microspheres, DFT

Introduction générale

L'industrie pharmaceutique est un élément important des systèmes de santé. Elle comprend de nombreux services et entreprises qui s'occupe de la découverte, la fabrication et la commercialisation des médicaments.

L'objectif de l'industrie pharmaceutique est la recherche et le développement dont le rôle est la découverte des nouveaux principes actifs, formation des médicaments, connaissance toxicologique et expériences cliniques.

Le développement et la conception de nouvelles préparations médicamenteuses reposent principalement sur le choix de la matière active prenant en considération ces propriétés physico-chimique, sa comptabilité avec ces excipients, la forme galénique convenable qui confère au PA une libération maîtriser de sa forme galénique pour atteindre la cible.

Depuis, la pharmacie galénique moderne a développé des systèmes d'administration susceptibles d'améliorer le passage transmembranaire et/ou intracellulaire vers la cible souhaitée, tout en protégeant le principe actif de la dégradation par les enzymes.

L'encapsulation est parmi les préparations pharmaceutiques en cours d'élaboration par les grandes firmes médicamenteuses[1,2]. Les molécules encapsulées sont alors protégées de l'environnement par des matériaux enrobants à base des polymères d'origine naturelle ou synthétique. Les substances actives emprisonnées peuvent être libérées hors des microsphères biodégradables dans les milieux biologiques. Celles ci peuvent être utilisées comme systèmes à libération contrôlée.

La cinétique de libération de ces systèmes peut résulter après un temps plus ou moins long variant de quelques heures à plusieurs mois, dans des conditions précises de pH, de température, de concentration des polymères et de principes actifs. [3, 4, 5]

.

Les hydrocolloïdes de type polysaccharide ont largement fait leur preuve dans le domaine de la micro encapsulation [6] dont le chitosane qui présente une grande capacité au transport cellulaire. En étudiant les systèmes de relargage contrôlé à base de chitosane, il a été prouvé qu'en plus de sa biocompatibilité, biodégradabilité et sa faible toxicité, le chitosane excellait à améliorer le transport de produit chimiques [7].

Introduction générale

Cependant ; l'inconvénient majeur que présente le chitosan est la solubilité très limitée dans l'eau. Afin de promouvoir cette dernière ; une modification chimique au niveau des groupements amine et hydroxyle par la phosphorylation a permis l'obtention de plusieurs dérivés. L'un des dérivés solubles dans l'eau du chitosan est le chitosan phosphorylé, qui présente une importance significative dans le domaine pharmaceutique[8]

Par ailleurs, la connaissance des propriétés physico-chimiques du chitosan et son comportement dans un milieu acide permet d'une part, le choix d'agent de phosphorylation et d'autre part, les catalyseurs qui donnent un meilleur greffage.

Afin de réduire la panoplie des choix de la meilleure synthèse et le temps consacré , un nouvel outil est apparu permettant à tout chimiste de mieux appréhender les problèmes liés au domaine moléculaire. "La Modélisation moléculaire" (MO) permet de donner des représentations visuelles étonnantes des molécules (drug design), et de calculer les valeurs de certaines propriétés physico-chimiques, de déterminer précisément sa géométrie et de prévoir ses propriétés pharmacologiques ou toxiques[9]. La MO implique l'utilisation de méthodes de calculs théoriques tels que la théorie de la densité fonctionnelle (DFT) qui nous a permis de tirer quelques enseignements sur les parties de la molécule à modifier et l'impact de ces modifications. Les pharmaco-chimistes délimitent les parties de la molécule responsable de l'activité (ou pharmacophore) et prévoient les types de modifications qui entraîneraient les effets les plus favorables. Cette simulation est utilisée pour interpréter les phénomènes des molécules étudiées et d'analyser également les résultats d'une façon plus critique que les expériences classiques. Elle est donc considérée comme complémentaire à l'expérience, parfois elle peut remplacer des expériences très coûteuses ou même difficiles au laboratoire.[10, 11, 12]

Dans le contexte où s'inscrit ce travail, nous avons tenté d'atteindre l'objectif, qui consiste à améliorer la solubilité de chitosan par sa modification chimique pour ensuite l'appliquer dans le procédé d'encapsulation.

Introduction générale

A cet effet, l'élaboration de ce mémoire est structuré en deux parties :

Une partie théorique composée de trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique où nous nous attacherons à décrire le chitosane et ses propriétés physico-chimiques ainsi que ses principales applications.

Nous exposons dans le deuxième chapitre, les différentes méthodes de phosphorylation de chitosane faite par Jayakumar et al, Kim et al qui ont, par des modifications chimiques, arrivé à améliorer les propriétés de chitosane. Également, les applications intéressantes du chitosane phosphorylé dans plusieurs domaines dont la libération contrôlée comme matériau d'encapsulation.

Dans le troisième chapitre nous exposerons la méthode DFT en utilisant logiciel Gaussien qui nous a aidé à aboutir à la connaissance, par simulation, les propriétés structurale et thermodynamiques des molécules (chitosane, chitosane phosphorylé) , ainsi que les indices de leurs réactivités chimiques.

Une partie expérimentale qui, elle-même divisée en deux étapes :

- La première étape dans laquelle nous présentons les méthodes utilisées dans la synthèse de chitosane par l'acide phosphoreux en étudiant, par la méthode DFT, les différentes interactions possibles entre les deux composés .
- Une deuxième étape qui est consacrée à l'élaboration des microsphères en utilisant le chitosan synthétisé.

Et enfin une conclusion générale où les différents résultats intéressants sont récapitulés.

I.1. Historique

Le chitosane est en fait le dérivé le plus important de la chitine qui est le polysaccharide le plus abondant sur Terre après la cellulose [13], leurs découverte date du 18^{ème} siècle par Braconnot un botaniste français en isolant la chitine à partir des champignons et a été nommer « fungine ». [14]

Mais ce n'est pas que dans les années 1970 que ces polymères ont suscitées un réel intérêt. En effet, les conserveries de crustacés produisaient de grande quantité de déchets, plusieurs pays ont pensé à revalorisé ces déchets, parmi eux le USA, le japon, l'inde etc. [15]

Le chitosane est une substance peu répandu dans la nature .il est présent uniquement dans les parois cellulaires de certains micro-organismes fongiques (champignons zygomycètes) et dans mycélium, il n'est signalé que dans les exosquelettes de certains insectes (par exemples la paroi abdominale des reins de termites), ce qui explique qu'il n'ya pas de sources primaires exploitable. Sa production sera systématiquement assurée à partir de la transformation de la chitine en chitosane. [16]

I.2. Présentation du Chitosane

I.2.1. Structure chimique de Chitosane

Le chitosane est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy-β-D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy-β-D-glucopyranose liés en β (1-4). [17]

Un polymère semi-cristallin du type polysaccharide obtenu par la désacétylation de la chitine. [13]

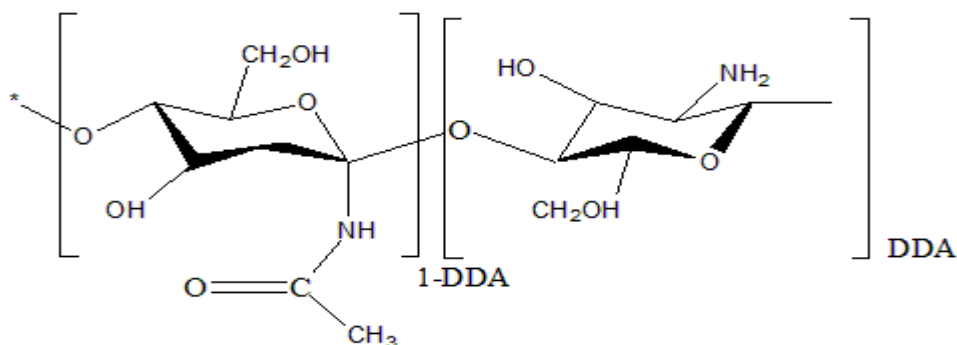


Figure I.1 : Formule chimique du chitosane.

I.2.2. Le procédé d'obtention de chitosane

I.2.2.1. Isolement de la chitine et synthèse du chitosane

La chitine est synthétisé par l'hydroxyde de sodium qui va permettre d'obtenir du chitosane de formule chimique poly (β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose présenté dans la Figure I-2. Le degré de déacétylation (DDA) va alors définir la proportion de groupements amines devant les groupements acétyles qui constituent les chaînes du chitosane. [17]

On pourra utiliser le terme de chitosane lorsque le DDA aura dépassé 50 %. [13]

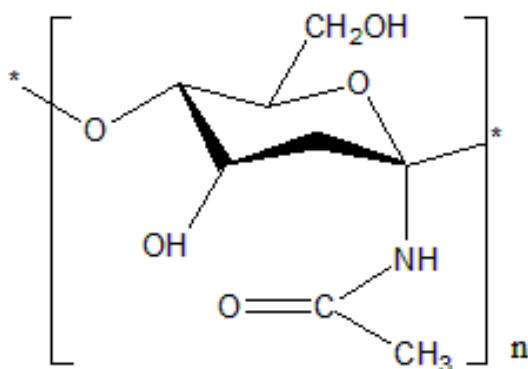


Figure I.2 : Structure chimique de la chitine. [13]

La chitine trouve associée aux protéines, à des pigments ainsi qu'à une phase minérale composé de carbonate de calcium (CaCO_3) et de phosphate de calcium ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). L'élimination de ces substances est une étape nécessaire pour obtenir un produit pur, et permettre ainsi l'accessibilité au polymère pour la N-désacétylation de la chitine.

La méthode d'extraction de la chitine la plus utilisée est basée sur un procédé chimique acido-basique en quatre étapes : [14]

1- Déminéralisation : c'est une étape qui consiste à éliminer la matière minérale liée à la chitine. Elle se fait par hydrolyse acide.

2- Déprotéinisation : c'est une étape qui consiste à éliminer les protéines liées à la chitine, elle se fait par hydrolyse basique. [16]

3-Décoloration ou blanchissement : c'est une étape qui comporte à éliminer les pigments qui sont liée à la chitine. [16]

4- Désacétylation

La désacétylation est une étape délicate .Les techniques de désacétylation font appel à des étapes d'hydrolyse basique d'où le chitosane est obtenu par traitement enzymatique ou chimique de la chitine. Il est bien reconnu que la méthode d'élaboration et de désacétylation déterminent les propriétés physiques, physico-chimiques et biologiques du polymère. [14, 7, 18]

a.Désacétylation chimique

La désacétylation chimique se fait par hydrolyse de la chitine en milieu fortement alcalin (l'hydrolyse de sodium ou de potassium concentré (40-50%) à une température supérieur a 100°C pendant au moins 30 min) pour enlever certains ou tous les groupements acétyle de la chitine . la désacétylation ne peut pas être réaliser avec un réactif acide. [18]

b.Désacétylation enzymatique

La méthode classique employée pour produire du chitosane à partir de la chitine implique l'utilisation de l'hydroxyde de sodium à haute température qui est un traitement chimique agressive. Ce procédé n'est pas reproductible et peut mener à l'hydrolyse excessive des chaines de polysaccharides de chitosane. La production de chitosane par voie enzymatique (les deacétylases de chitine) peut fournir une alternative au traitement thermochimique. [16]

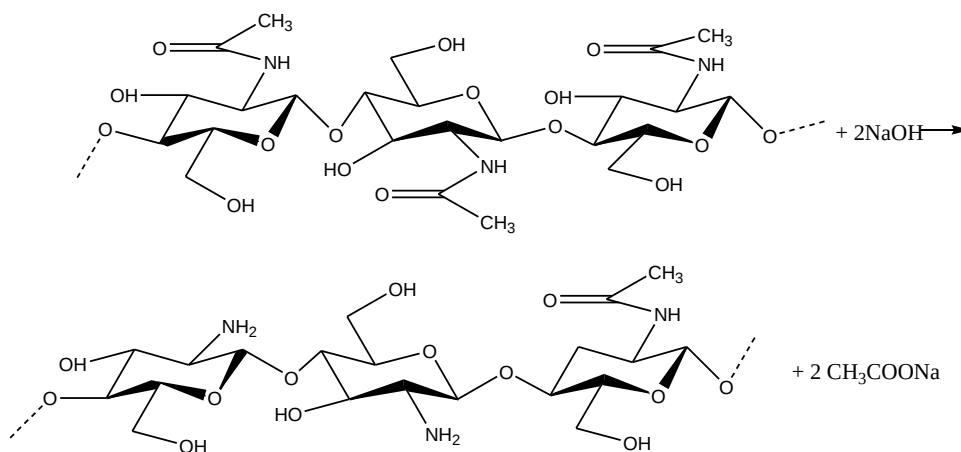


Figure I.3 : Réaction d'hydrolyse de la chitine.

La figure suivante résume les étapes d'obtention de la chitine et de chitosane.

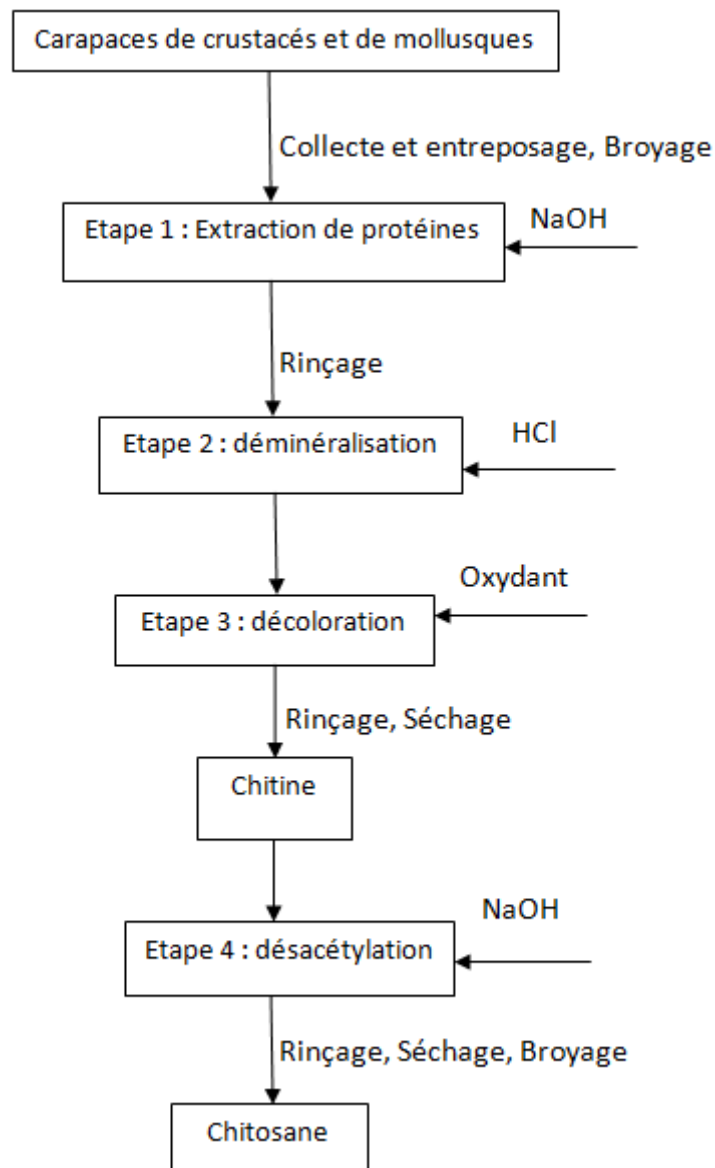


Figure I.4 : Procédé d'obtention de la chitine et du chitosane. [16]

I.3. Propriétés et applications de Chitosane

1.3.1. Propriétés du Chitosane

I.3.1.1. Propriétés Antimicrobiennes

Le chitosane est un matériau intéressant en vue de ces propriétés antibactériennes ainsi que sa possibilité de préparer des films polymères qui sont perméables aux substances physiologiquement actives et se résolvent dans un organisme vivant. [19]

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité antibactérienne du chitosane : l'aspect microbien (type de bactéries, l'âge des cellules), le chitosane lui-même (densité de charges positives, le poids moléculaire, le degré de déacétylation, la concentration, le caractère hydrophile ou hydrophobe ou la capacité de former des complexes), l'état physique (film, fibre, sphère ou hydrogel) et les facteurs environnementaux (le pH, la température, le temps ou la présence de cations métalliques).

I.3.1.2. Propriétés biologiques

Le chitosane a d'excellentes propriétés telles que la biocompatibilité, la biodégradabilité, la non-toxicité et les propriétés d'adsorption [20]. Il ne présente aucun comportement antigénique, mais possède un caractère antihrombogène et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes. Le chitosane a également des propriétés inhibitrices sur les croissances de nombreux parasites et infection .il a de plus des propriétés immunologique, anti tumorales. [15] Le chitosane s'avère être un bon support pour l'ingénierie tissulaire: il favorise la prolifération cellulaire (notamment des fibroblastes et chondrocytes) et encourage la formation de collagène. [21]

I.3.1.3. Propriétés Physico-chimiques

Le chitosane a propriété de se dégrader avant d'atteindre leur point de fusion, ce qui est caractéristique des polysaccharides formant des ponts hydrogènes. Pour rendre le chitosane utilisables sur le plan technique, il est nécessaire de les mettre en solution dans un solvant approprié (ex : acide acétique). Pour tous les systèmes de solvants, il est nécessaire de connaître les effets de la concentration du polymère, de la température et le pH. [22]

-à pH acide, ou il est soluble, le chitosane porte de nombreuses charges positives, il est donc un bon agent de floculation et un bon agent de coagulation .Il peut interagir avec des molécules chargées négativement (par exemple acides gras, protéines) et former ainsi des complexes polyanion-polycation.

-à pH plus élevé (>6,5), le chitosane perd ses charges positives, le doublet électronique de l'azote est libre. Ces doublets libres et la présence de nombreux atomes d'oxygènes dans le chitosane lui permettent de se comporter comme un excellent complexant.

I.3.2. Les applications du Chitosane

Le chitosane possède de nombreuses propriétés physico-chimiques et biologique intéressantes qui ont permis d'entrevoir de nombreuses application potentielles . Le chitosane a suscité un intérêt plus vif que la chitine. Les premières applications ont été développées en pharmacologie, cosmétologie et surtout en médecine, le tableau ci-joint montre les principales applications du chitosane. [7, 18]

Tableau I.1 : principale applications du chitosane.

Domaine d'application	Propriétés	Des exemples
Cosmétique	Le seul bipolymère cationique capable d'apporter de la viscosité aux produits cosmétique.	-Crèmes de traitement de l'acné . -Produits hydratants. -Formulation de dentifrices. -Formulation de shampoings.
Industrie alimentaire	Antimicrobienne – antifongiques – inhibe la métabolisation des graisses grâce aux interactions entre ces fonctions amines et les groupements carboxyliques des lipides – antioxydant.	-Agent de conservation -Stabilisateur. -Enrobage protecteur (fruits)
Traitement des eaux	-Propriétés chélatantes, les groupements amine libres sont capables de fixer tous les métaux de transition et les radionucléides.	-Diminution de la turbidité -Diminution des odeurs -Bactéricides
Agriculture	-Accélère la croissance des plantes et améliore le rendement des cultures	-Libération de fertilisants et nutriments.

Médecine	-Biocompatibilité avec les tissus du corps humain. -Antithrombogène – homéostatique - cicatrisantes remarquable. - un support -se lier aux molécules chargées négativement comme les lipides	-Peau artificielle – pansements cornées, fil de suture. -Médecine régénérative (les os) - transport et relargage lent de principes actifs médicamenteux. - Diminuer le taux de cholestérol
----------	---	---

I.4. Caractéristiques de chitosane

I.4.1.Degré de désacétylation(DDA)

Le degré de désacétylation représente la proportion d'unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Le paramètre DDA est extrême important car il influe directement sur le comportement de ce polymère en solution à savoir :

1. La solubilité du chitosane.
2. La flexibilité des chaînes macromoléculaires.
3. La conformation du polymère.
4. La viscosité des solutions. [18]

I.4.2. Viscosité

La viscosimètre est la méthode la plus employée pour connaître la viscosité de la solution du chitosane. Celle-ci nécessite la connaissance des paramètres K et a de la relation de Mark-Houwink et Sukurada :

$$\eta = K.M^a$$

où : η est la viscosité spécifique et M la masse moléculaire viscosimétrique.

Selon les solvants, K et a ont différentes valeurs et on se réfère en général à la loi de Roberts pour laquelle les valeurs des constantes K , a sont les suivantes :

$$K = 1,81 \cdot 10^{-3} \text{ (ml/g)} \text{ et } a = 0,93$$

Les méthodes permettant la mesure de la viscosité du chitosane présentent certains problèmes. En effet, la présence possible de microgels ou d'agrégats favorisés

par les liaisons hydrogène, le vieillissement des solutions et des effets électrostatiques (dus aux charges des groupes amines-amine protonés) peuvent induire des erreurs .

La viscosité du chitosane dépend de :

- Degré déacétylation : plus il est désacétylé , plus il y a des groupements amines libres , donc le chitosane est soluble et par conséquent sa viscosité est importante
- concentration : la viscosité augmente en fonction de la concentration
- La température : comme pour les autres polysaccharides, la viscosité chute lorsque la température augmente.
- Le pH : plus il est important plus la viscosité est forte. [23]

I.4.3. Cristallinité et Taux gonflement

Si le taux de désacétylation fixe la fraction de groupements aminés dans le nombre total d'unité sur la chaîne du polymère, il ne permet pas de connaître le nombre de groupes aminés réellement accessibles et disponibles. En effet, l'établissement des liaisons inter et intra-chaînes et la cristallinité intrinsèque du polymère limite respectivement la disponibilité et l'accessibilité des groupes aminés pour l'eau, ainsi que les ions métallique.

L'accessibilité de l'eau est limitée par des matériaux cristallins, ce qui limite également la capacité du polymère à gonfler. Cette cristallinité peut être évaluée par des techniques de diffraction de rayons X. Cette cristallinité influence également les propriétés diffusionnelles. [18]

La chitosane est également une substance semi- cristalline. Il cristallise dans le système orthorhombique et deux types de produits sont connus : le chitosane I (sous forme de sel) correspondant à un faible degré de désacétylation DD (60%). il est plus désordonné que le chitosane II (forme amine libre) qui possède un fort degré de désacétylation DD (90%). [24]

Les méthodes les plus simples pour la modification de la cristallinité impliquent dans un premier temps la solubilisation préalable du chitosane et dans un deuxième temps, la coagulation / neutralisation de la solution. Cette méthode permet d'obtenir des gels de faible cristallinité.

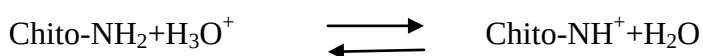
I.4.4. Réactivité

La présence des nombreux groupes hydroxyle confère un polymère un caractère hydrophile intéressant qui sera très utile pour des propriétés d'adsorption dans des solutions aqueuses et pour quelques réactions catalytique. Cependant, le groupe réactif le plus important pour la conception de catalyseurs supportés est le groupe amine porté par le chitosane. Ces groupes amine sont très réactifs pour la fixation des métaux et leur action peut passer par différents mécanismes.

Le pKa des groupes amine du chitosane dépend fortement du degré de désacétylation et du degré de neutralisation de ces groupes fonctionnels. Sorllier et coll ont trouvé que le pKa varie entre 6,4 et 7,2. Il augment en fonction du degré d'acétylation ; pour un chitosane faiblement acétylé le pKa est voisin de 6,4. En général, en milieu acide, la plus part des groupes aminés sont protonés, ce caractère cationique est à l'origine de la fixation de différents anions tels que les colorants anionique et les complexes d'anions métalliques. [18]

I.4.5.Solubilité

Le chitosane est insoluble dans les solvants organiques, ainsi que dans l'eau à pH neutre et basique en raison des nombreuses liaisons hydrogène entre les fonctions hydroxyle, amine, acétamide et éther. [21] En revanche, sa désacétylation partielle par voie chimique ou enzymatique permet d'obtenir le chitosane qui est soluble en milieu aqueux d'acide dilué grâce à la protonation de ces fonctions amines selon l'équilibre suivant :



La solubilité de chitosane donc dépend de son DAA. (16) la distribution des groupes N-acétyle sur la chaîne polymérique peut contrôler aussi la solubilité. [24]

I.4.6.Poids moléculaire:

Le poids moléculaire(PM) d'un polymère est une caractéristique très importante. Elle dépend essentiellement de la masse de son monomère et de nombre de monomère que constitue le polymère. La détermination du (PM) d'un chitosane se fait par la relation de Mark-Houwink Sakurada

$$[\eta] = K \cdot (PM)^a$$

Ou :

$[\eta]$: viscosité intrinsèque.

PM : poids moléculaire moyen.

a et K : constantes dépendantes du système solvant soluté et de sa température. **[16]**

Tous ces paramètres donc ont une forte relation entre eux ; la solubilité en milieu acide du chitosane s'explique par le caractère cationique de ses fonctions amine lorsqu'elles sont protonées, il est impossible de solubiliser directement un chitosane de faible degré d'acétylation (DA 50-60 %) dans des solutions neutres ou basiques, une pré-étape de dissolution en milieu acide est nécessaire afin de protoner les amines.

Il est signalé aussi que la fourchette de pH dans laquelle le chitosane est soluble augmente lorsque sa masse moléculaire diminue. Ainsi, un échantillon de haute masse qui n'était pas soluble à un certain pH peut le devenir suite à une dépolymérisation.

Les études profondes des caractéristiques de chitosane ont ouvert la porte aux chercheurs pour les modifications chimiques afin d'améliorer ces propriétés et réduire ces inconvénients comme l'insolubilité dans l'eau.

II.1 Historique

Récemment, il y a eu un intérêt croissant dans la modification chimique du chitosane pour améliorer sa solubilité et élargir ces applications. Parmi eux, la chitine phosphorylée et le chitosane phosphorylé qui ont suscité un intérêt considérable en raison de leurs divers avantages. [20]

En 1986 Nishi et al avaient atteint la phosphorylation du chitosane par réaction avec le pentoxyde de phosphore dans l'acide méthanesulfonique. En 2004, Kim et al ont étudié la phosphorylation du chitosan en utilisant de l'urée et de l'acide phosphorique, cette méthode était également mentionnée dans la revue écrite par Varma. [25]

Il a été observé par Jayakumar et al en 2006 que l'introduction de groupes tels que l'acide phosphonique ou le phosphonate sur le chitosane par réaction de l'agent de phosphorylation sur les groupes amino augmente les propriétés chélatrices du chitosane et modifier sa solubilité. [20]

II.2. les objectifs de la modification du chitosane

Le chitosane est un matériau qui peut être modifié de manière relativement facile par voie physique ou par voie chimique (greffage de groupement fonctionnel spécifique).

Ces modifications ont pour but ;

- d'augmenter les performances de fixation (augmenter les sites fonctionnels)
- d'améliorer la sélectivité (en apportant des groupements spécifiques qui conduisent éventuellement à changer le mécanisme de fixation).
- D'accélérer le mécanisme de transfert (en minimisant la résistance au mécanisme de transfert)
- stabiliser le matériau (en limitant la dégradation ou la solubilisation du polymère).
- étendre le champ d'application du bioadsorbant (en modifiant en particulier la plage de pH).

II.3. La modification chimique de Chitosane

La présence des fonctions OH et NH₂ dans le chitosane permet sa modification chimique et l'obtention d'une diversité de dérivés.

Les développements ci-après ne porteront que sur deux modifications chimiques du chitosane, l'acétylation et la dépolymérisation, sur lesquelles se sont concentrés les présents travaux. De nombreuses autres modifications sont en effet possibles, notamment le greffage sur la fonction amine de divers groupements chimiques. [26]

II.3.1. Acétylation du chitosane

Cette réaction permet d'obtenir un chitosane de DA supérieur à celui de départ ("réacétylation" du chitosane). Pour cela, plusieurs techniques ont été développées, comme des méthodes de réacétylation hétérogènes [27], mais cette réaction est généralement réalisée en milieu homogène. Celle développée par Vachoud et coll. (Figure II.1) en employant de l'anhydride acétique dans un milieu hydroalcoolique (mélange d'eau et de 1,2-propanediol). Grâce à sa viscosité élevée, le propanediol limite la réaction d'hydrolyse de l'anhydride par l'eau et permet un meilleur contrôle de la réaction. [28]

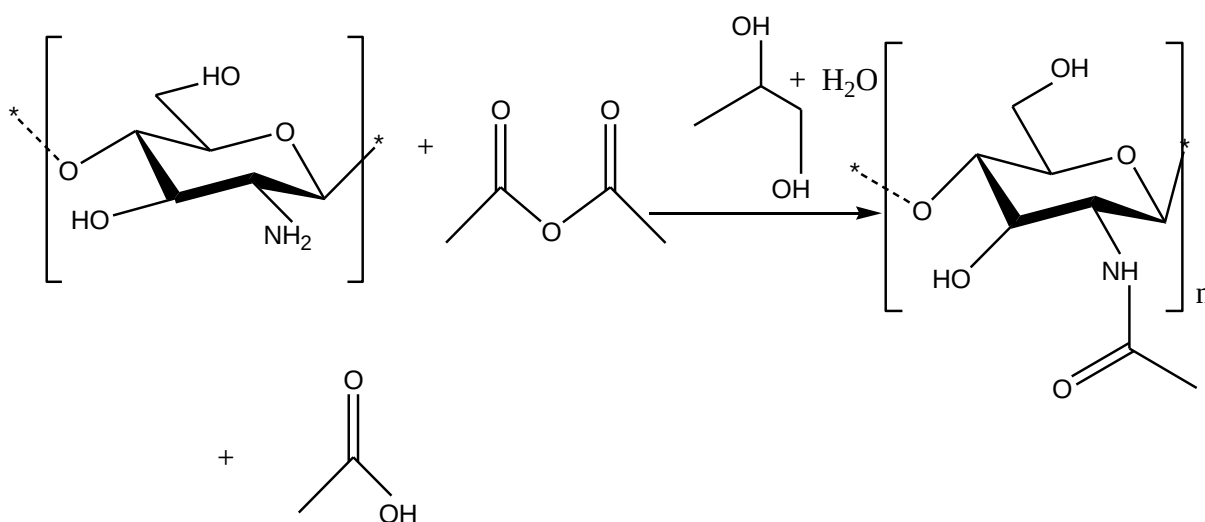


Figure II.1 : réaction d'acétylation du chitosane par l'anhydride acétique en milieu hydro-alcoolique. [28]

II.3.2. Dépolymérisation du chitosane

La dépolymérisation du chitosane est effectuée par rupture de la liaison glycosidique. Pour cela, de nombreuses voies sont possibles, parmi lesquelles l'hydrolyse acide (acide chlorhydrique, phosphorique) la dégradation sous ultrasons, l'irradiation γ ou la dépolymérisation enzymatique. Dans la (figure II.2) la méthode retenue est la désamination nitreuse par l'acide nitreux. Ce procédé étudié en détail par Allan et Peron repose sur un mécanisme complexe, l'acide nitreux sous sa forme cation nitrosonium conduit à la nitrosation de la fonction amine, suivie d'un réarrangement en diazonium. Ce dernier se décompose pour former de l'azote et un carbocation en C2.

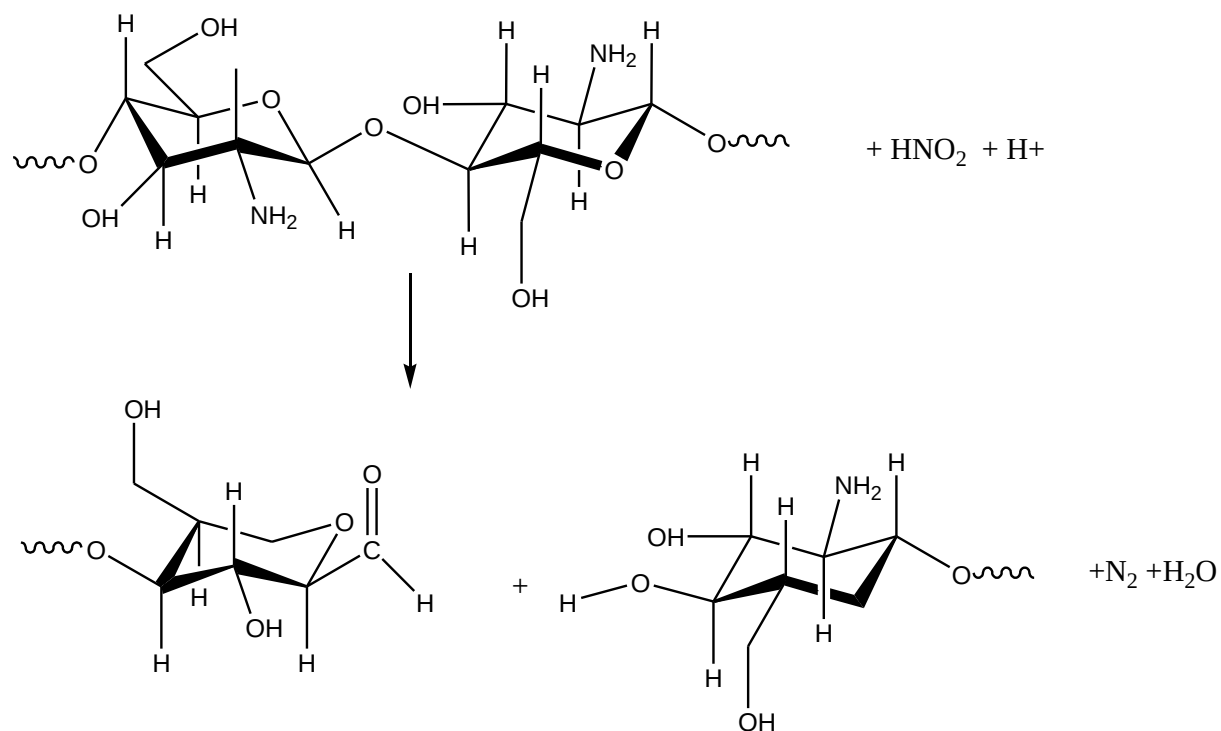


Figure II.2 : dépolymérisation du chitosane par désamination nitreuse [21]

Ce carbocation entraîne un réarrangement dans le squelette du sucre, conduisant à la rupture de la liaison glycosidique avec réduction du cycle en mannose, doté d'une fonction aldéhyde en C5. Cette réaction ne peut avoir lieu que sur les groupements GlcN. [21]

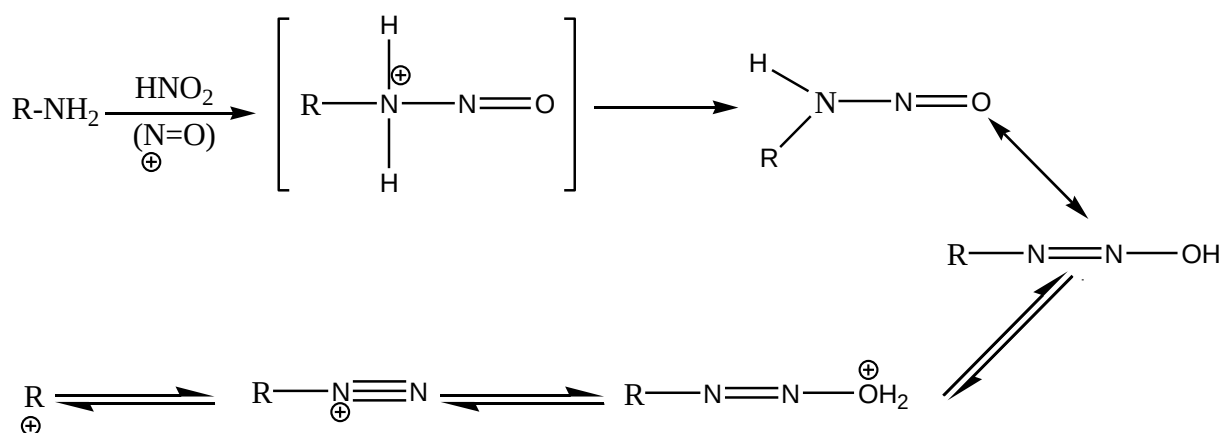


Figure II.3 : mécanisme impliqué dans l'hydrolyse du chitosane, formation d'un carbocation par attaque d'un d'un cation nitrosonium. [21]

II.3.2.1. Différentes méthodes de greffages

a. Greffage par copolymérisation

Il nécessite l'utilisation d'un initiateur de la réaction. A l'heure actuelle, il existe plusieurs initiateurs tels que le persulfate d'ammonium, le persulfate de potassium, le nitrate d'ammonium citrique, le bromate de thiocarbonate de potassium, le dipériodatocupérate (III) de potassium.

Les facteurs qui peuvent influencer le greffage par copolymérisation sont :

1. La concentration en initiateur de la réaction.
2. La concentration en monomère.
3. Température de la réaction.
4. Le temps de réaction.

b. Greffage par Irradiation

Une attention particulière et accordée aux polymères d'origine naturelle en vue de remplacer les polymères issus des huiles industrielles avec un meilleur respect de l'environnement et une gestion améliorée la ressource naturelle. La technique radiochimique est une technique utilisée, récemment pour le greffage de chitosane. Elle repose sur l'utilisation d'une source d'irradiation (alpha irradiation, ou micro-ondes). Les paramètres qui influent sur le taux de greffage par irradiation sont :

La composition du solvant, la concentration en monomère à greffer, le taux de la dose de radiation et le temps de la radiation. [16]

c. Greffage enzymatique

L'utilisation d'enzyme pour le greffage de chitosane est une méthode avantageuse, Car les enzymes sont moins agressives contrairement aux réactifs chimique . [16]

II.4. Le chitosane phosphorylé

La modification chimique de chitosane a pour but de générer de nouveaux matériaux biofonctionnels car une telle procédure ne changerait pas le squelette fondamental de la chitosane et garderait les propriétés physico-chimique et biochimique selon la nature du groupe introduit. [20]

Récemment, des dérivés phosphorylés de chitosane a été préparé en utilisant des méthodes différentes .La présence de groupes amine et de groupes hydroxyle dans le chitosane est très avantageuse pour conduire des réactions de modification. La structure et la voie de réaction des produits de chitosane phosphorylé dépendent de la nature des agents de phosphorylation, du rapport des réactifs et des conditions de réaction. Il existe plusieurs méthodes différentes pour former le chitosane phosphorylé, en utilisant différents catalyseurs et différentes conditions de réaction. [8]

II.4.1. Les différents procédés de préparation de chitosane phosphorylé

Il existe plusieurs méthodes différentes pour former de le chitosane phosphorylé, en utilisant différents catalyseurs et différentes conditions de réaction :

- Le pentoxyde de phosphore dans l'acide méthanesulfonique peut être utilisé pour effectuer la phosphorylation dans le chitosane à basse température. Des produits hydrosolubles à haut degré de substitution (DS) ont été obtenus. L'acide méthanesulfonique agit à la fois comme un solvant parfait pour le chitosane et comme catalyseur. [8]

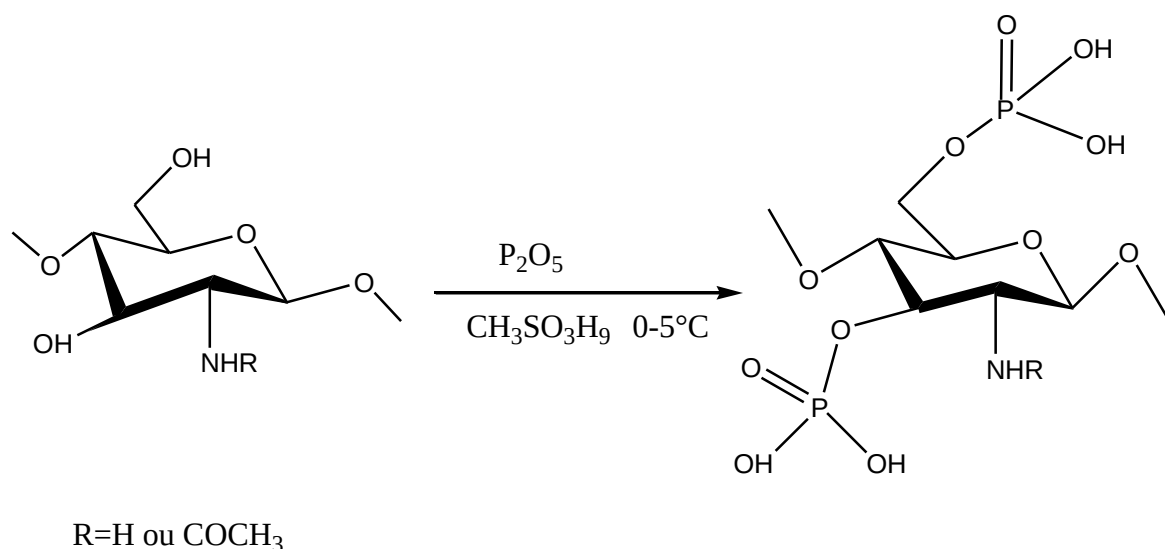


Figure II.4 : phosphorylation du chitine et chitosane par l'utilisation de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ [8]

- le chitosane phosphorylés peut être préparé en chauffant (150°C) le chitosane avec l'acide orthophosphorique et l'urée dans (DMF), l'urée agit comme réaction promoteur. [20]

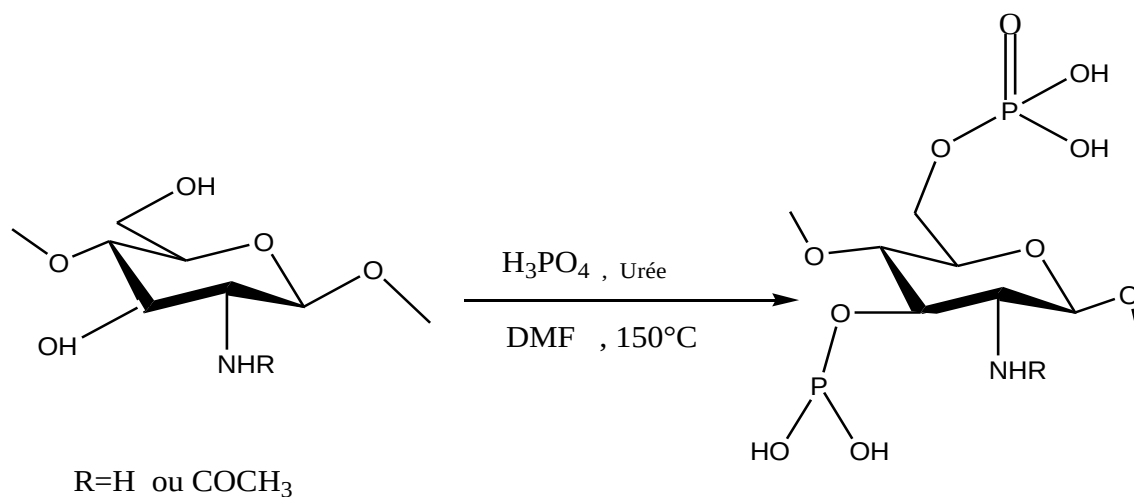


Figure II.5 : phosphorylation de la chitine et chitosane par l'utilisation de H_3PO_4 / urée /DMF. [20]

L'acide méthanesulfonique a fonctionné comme un catalyseur efficace pour l'estérification réaction. Il a été signalé que DS des produits augmentait avec l'augmentation quantité de pentoxyde de phosphore, et les produits sont devenus presque entièrement phosphorylé avec 4,0 mol. [20]

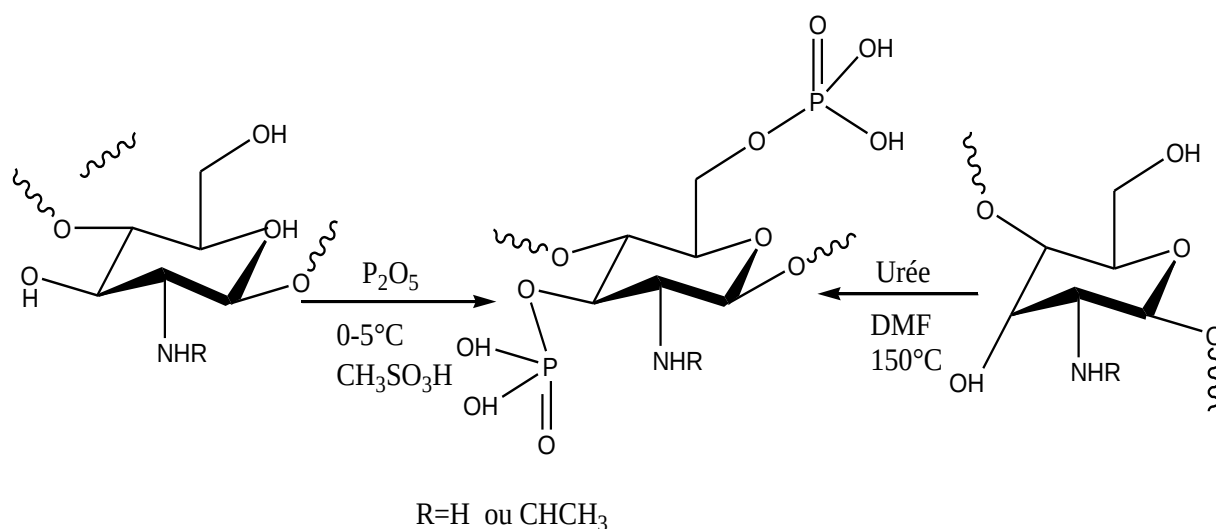


Figure II.6 : Synthèse de la chitine phosphorylée et du chitosane. [20]

Cependant, le P-chitosane de DS élevé était insoluble dans l'eau alors que celui de DS faible étaient solubles. Le caractère insoluble du P-chitosane de DS élevé peut être attribué à la formation d'une liaison saline inter ou intramoléculaire entre les groupes de phosphate en raison de la formation du complexe poly-ion comme on le voit généralement dans polyampholites. Nishi et ses collègues ont préparé le P-chitosane la réaction de réticulation avec le chlorure d'adipoyle dans l'acide méthanesulfonique avec pentoxyde de phosphore pour l'adsorption d'ions métalliques.

- Le chitosane-O-éthyl phosphonate peut être préparé en utilisant KOH / CH₃OH et ClCH₂CH₂P(O)(OH)₂ dans des conditions modérées.

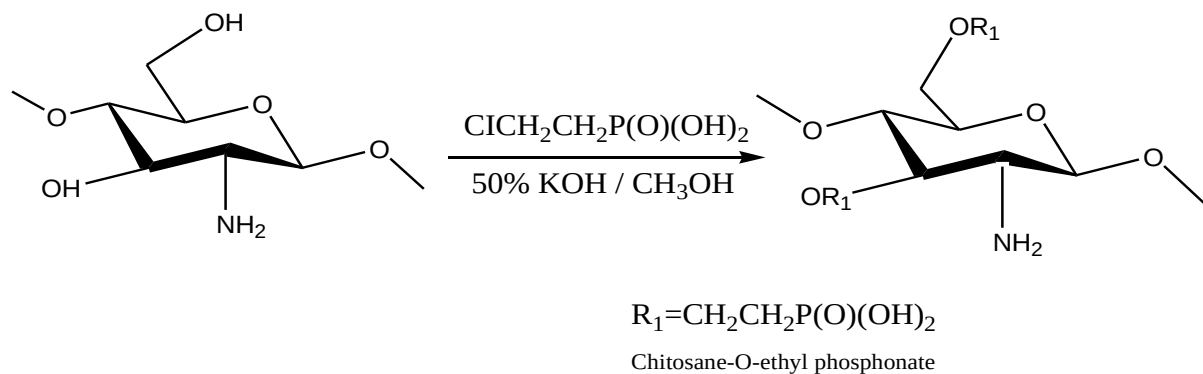


Figure II.7 : préparation de chitosane-o-ethyl phosphonate. [20]

- Le chitosane alcalin a été utilisé pour préparer le chitosane alkylphosphate / chitosane-Oéthyle phosphonate, en vue de rendre les groupes hydroxyles plus actifs et de permettre la réaction de couplage avec le chlorophosphate de diéthyle / l'acide 2-chloroéthylphosphonique.

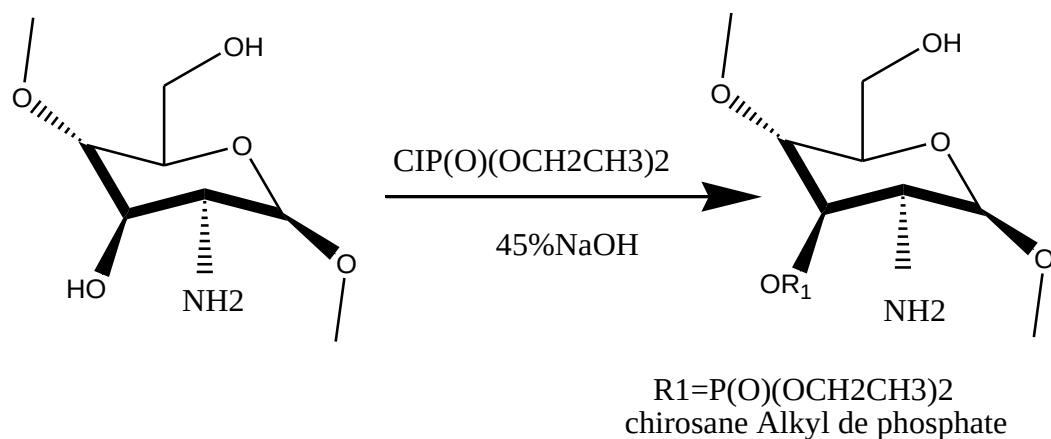


Figure II.8 : Préparation de chitosane alkyl de phosphate. [20]

- Le chitosane phosphorylé a également été préparé par une méthode de copolymérisation greffée, en utilisant du phosphate de mono (2-méthacryloyloxyéthyl) acide. Le chitosane phosphorylé a été observé pour avoir un caractère ionique zwitter et pour avoir amélioré les propriétés antimicrobiennes.

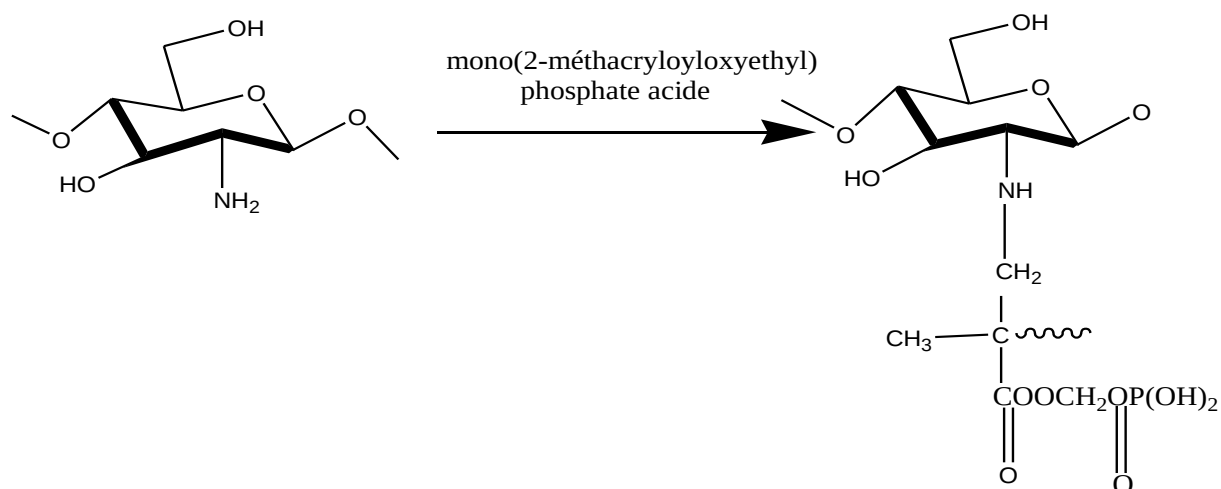


Figure II.9 : Préparation de chitosane phosphorylé en utilisant la méthode de greffage

- Le chitosane phosphorylé peut être préparé par une technique de copolymérisation par greffage en utilisant de l'acide 2-carboxéthylphosphonique, du chitosane avec du 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) comme catalyseur à (70 ° C)

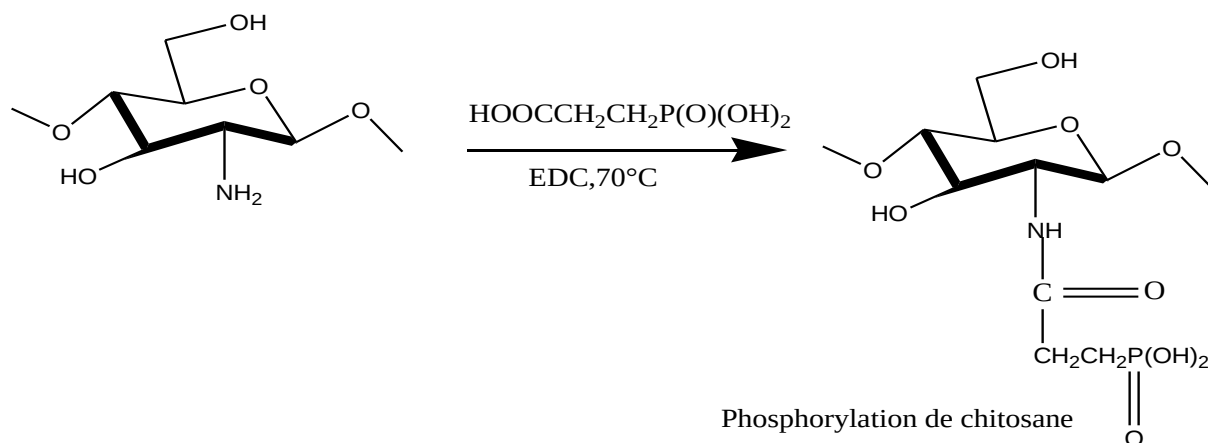


Figure II.10 : Préparation de chitosane phosphorylé en utilisant la méthode de greffage.

- Un nouveau chitosane N-méthylène phosphonique peut être synthétisé en utilisant du chitosane, H₃PO₄ et HCHO. La combinaison de groupes méthylène phosphoniques dans le chitosane permet la solubilité dans l'eau dans des conditions douces tout en conservant ses propriétés filmogènes.

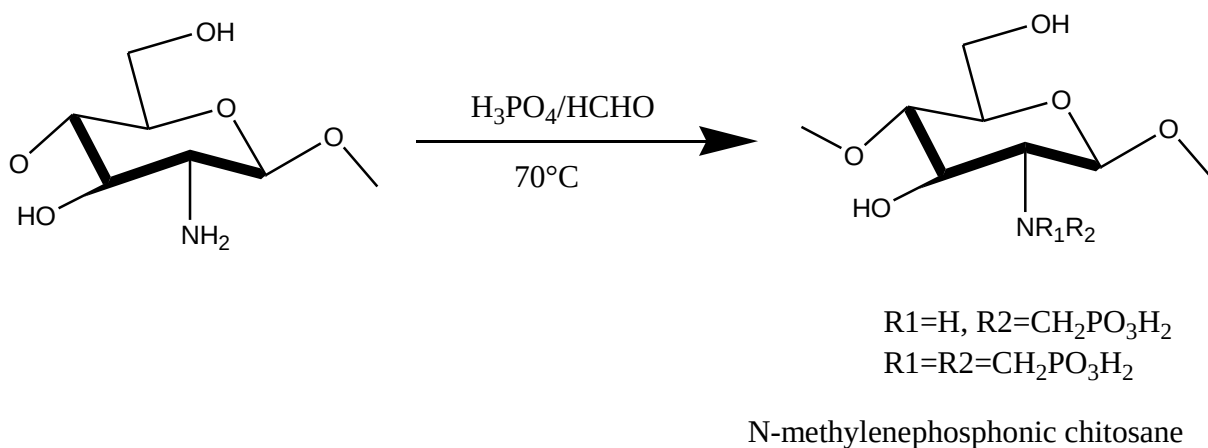


Figure II.11 : Préparation de N-Méthylène phosphonique de chitosane.

- La phosphorylation de chitosane, en utilisant H₃PO₄ / Et₃PO₄ / P₂O₅, chitosane phosphorylé peut également être préparé par le chitosane avec H₃PO₄ / Et₃PO₄ / P₂O₅ / hexanol.

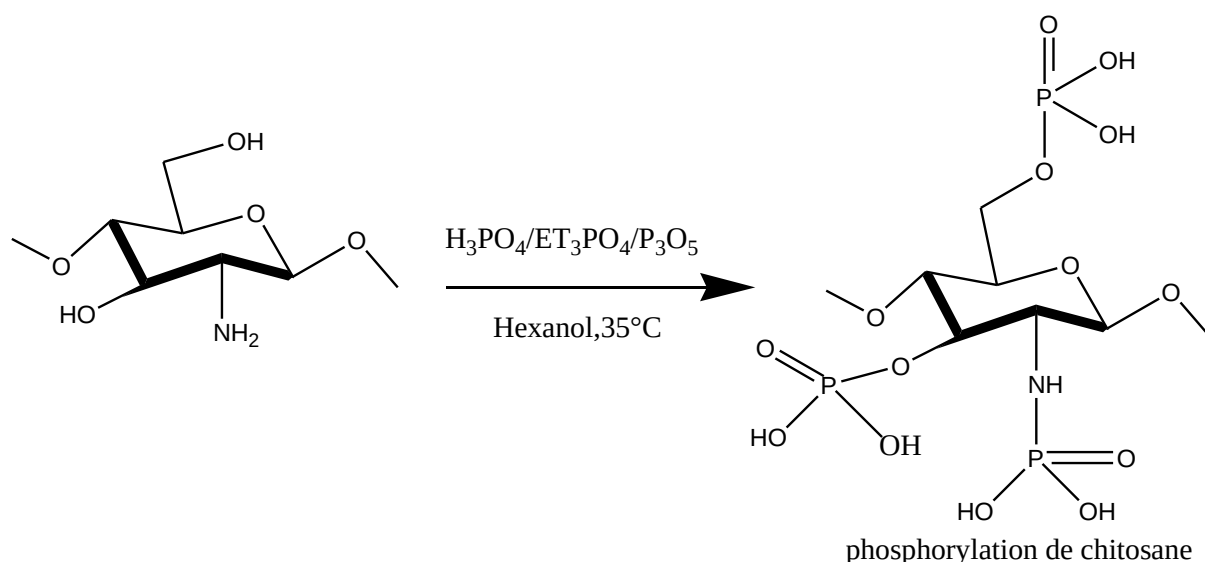


Figure II.12 : Préparation de chitosane phosphorylé utilisant $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{Et}_3\text{PO}_4/\text{P}_2\text{O}_5$. [8]

II.4.2. Les applications de chitosane phosphorylé

Plusieurs recherches ont étudié les effets de modification chimique de chitosane sur sa solubilité et les applications de ces dérivés dans différents domaines tels que l'adsorption des ions métalliques, des applications alimentaires, applications pour la pile à combustible, la libération contrôlée des médicaments en l'utilisant comme matériau d'encapsulation.

1- Adsorption des ions métalliques

Le chitosane a la capacité de lier les métaux. [20] En particulier, sa capacité d'adsorption pour l'uranium est plus élevée que celle de l'autre métal lourd ion. La modification chimique de chitosane par le phosphore augmente la capacité de liaison à tous les ions métalliques en jouant sur des paramètres importants comme le pH de la solution et le degré d'acétylation.

Cependant, les métaux de transition à l'exception de Mn^{2+} pourraient être adsorbés fortement à chitosane phosphorylé que la chitine phosphorylée.

Le chitosane phosphorylé insoluble (97% désacétylé) est moins performant que le chitosane phosphorylé insoluble (45% désacétylé) pour la liaison à Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} et Mn^{2+} ce qui détermine la capacité de liaison des métaux. [29]

Tous les chercheurs mentionnent dans leur travail que le pH de la solution aqueuse est un paramètre important dans le processus d'adsorption des ions métalliques.

Dans les études sur l'élimination du plomb des solutions aqueuses par adsorption sur la chitine phosphorylée et le chitosane, ils ont toujours utilisé des valeurs de pH d'environ 5, car à pH élevé, les ions plomb précipitent graduellement.

d'autres chercheurs ont déclaré que le pH optimal pour Cu^{2+} était de près de 6 . Dans le cas de l'élimination des ions Cd^{2+} , Laus et al ont trouvé que la valeur pH optimale était de 7, idem pour les ions Ni^{2+} et Cu^{2+} qui ont été étudié par Jayakumar et al . [25]

2- Applications alimentaire

NMPC et LMPC sont des polymères biosourcés qui ont montrés une large gamme d'applications, y compris la formation de film biodégradable, l'immobilisation d'enzymes et la protection des aliments contre l'altération microbienne (comme la désacidification des fruits et la stabilisation de la couleur). La phosphorylation a fourni au chitosane une solubilité dans l'eau et une capacité d'émulsification pour des applications alimentaires. [29,30]

3- Applications pour la pile à combustible

Les membranes du chitosane phosphorylé à l'état sec ne sont pas conductrices, tandis que les propriétés conductrices ioniques ont été démontrées par des membranes hydratées de chitosane phosphorylé. Le chitosan phosphorylé présente une conductivité ionique supérieure d'un ordre de grandeur aux membranes de chitosane qui ne sont pas modifiées. D'autre part, la cristallinité des films de chitosane modifiés et le comportement de gonflement a considérablement changé, alors qu'ils ont presque gardé leur thermique, la stabilité et la résistance par rapport aux films de chitosane non modifiés. [20]

Selon ces résultats, les membranes de chitosane phosphorylé pourraient avoir une chance d'être appliquées dans des piles à combustible à électrolyte polymère

alcalin. Des membranes anhydres conductrices de protons ont été préparées par Yamada et Honma en utilisant un composite de chitine imidazole phosphorylée [31]

L'utilisation d'un biopolymère tel que la chitosan phosphorylée pour les technologies des piles à combustible à membrane électrolyte polymère est nouvelle, stimulante, peu coûteuse et respectueuse de l'environnement. [29]

4- La régénération osseuse

Le chitosane n'est pas suffisamment ostéogénique pour induire la régénération osseuse rapide souhaitée au stade initial de la cicatrisation osseuse. Ainsi, le chitosane a été fréquemment associé aux phosphates de calcium, non seulement en raison de l'ostéoconduction bien établie des phosphates de calcium, mais aussi en raison de son analogie avec le collagène, la matrice organique de l'os sur laquelle la phase inorganique se minéralise. [34]

La phosphorylation du chitosane semble être d'un intérêt particulier pour les applications orthopédique, en raison des propriétés d'échange cationique des fonctionnalités phosphates. Les groupes phosphates lient les ions calcium, qui peuvent alors induire la formation d'une couche de phosphate de calcium connue pour favoriser l'ostéoconduction de polymère les implants. [34]

5- Application de chitosane phosphorylé dans l'encapsulation

5.1. Libération contrôlée

Des perles de gel peuvent être préparées à partir de chitosane phosphorylé en utilisant du TPP pour améliorer le système de libération contrôlée dans un fluide gastro intestinal. [8]

L'ibuprofène en tant que médicament modèle a été utilisé dans un travail qui inclut les profils de libération de médicaments in vitro contrôlés à différents milieux de pH à (37 ° C). Des quantités libérées d'ibuprofène à partir de billes de gel de chitosane phosphorylé ont été trouvées pour diminuer avec la diminution du pH du milieu de dissolution.

De cette façon, il a été montré que le pH est l'un des facteurs qui affectent la libération du médicament, ainsi que la différence électrostatique entre l'ion négatif des groupes phosphate de chitosane phosphorylé et carboxyle de l'ibuprofène.

Par exemple, taux de libération en simulation le liquide gastrique (pH = 1,4) est plus bas que celui du fluide intestinal simulé (pH = 7,4) [32,33], permettant l'administration ou la libération du médicament préférentiellement dans l'intestin avec prévenir simultanément la décharge de médicament dans l'estomac. Toutes ces caractéristiques bénéfiques démontrent que des billes de gel de chitosane modifié pourraient être utilisées comme support de médicament pour l'administration contrôlée de médicaments dans l'administration orale.

Pour minimiser la dégradabilité enzymatique et améliorer la propriété de libération prolongée, ils ont développé et caractérisé des microsphères de complexe polyélectrolytique à base de chitosane phosphorylé à l'aide de tripolyphosphate (TPP). L'ibuprofène libéré par les microsphères de chitosane phosphorylé est plus efficace que celui des microsphères CS dans le milieu des enzymes protéolytiques telles que la pepsine et la trypsine, respectivement. [20] Ces microsphères de chitosane phosphorylé pourraient constituer un bon indicateur pour les systèmes de délivrance de médicaments par voie orale ayant des propriétés de libération prolongée en raison de leur plus grande stabilité dans les enzymes hydrolytiques contenant des SGF et des SIF. [29]

Récemment et avec le développement technologique et l'apparitions de la simulation, la synthèse de nouveaux composés chimiques sont maintenant associées à une étude par modélisation moléculaire qui permet, non seulement de représenter les propriétés et les réactions chimiques mais aussi de manipuler les modèles des structures en deux ou trois dimensions ce qui a facilité la tâche des chercheurs pour l'interprétation des phénomènes physico-chimiques, de suggérer des nouvelles expériences et d'analyser ainsi des résultats d'une façon plus critique que les expériences classiquement utilisées.

III.1. Historique de modélisation

Les fondements de la Chimie Quantique sont apparus et se sont beaucoup développés dans les années 1920 grâce à des scientifiques comme Bohr, Schrödinger, Born, Oppenheimer, Hartree ou encore Slater. En 1930, Hartree et Fock développèrent la méthode du champ autocohérent qui permit d'effectuer les premiers calculs ab initio sur des systèmes diatomiques. Il fallut attendre les années 1950 pour que l'ordinateur fasse son apparition. En 1964, Hohenberg et Kohn ont défini un théorème, la théorie fonctionnelle de la densité (DFT). En 1970, Pople créa Gaussian qui est aujourd'hui le logiciel de modélisation de très loin le plus utilisé. Les méthodes semi-empiriques et l'utilisation des bases de fonction gaussiennes se sont particulièrement développées dans les années 1970 et 1980. Avec la forte augmentation de la puissance de calcul, la modélisation s'est invitée dans nos ordinateurs à partir des années 1990.

En 1993 apparaît la méthode B3LYP, méthode hybride qui permet d'effectuer des calculs DFT. En 1998, le prix Nobel de chimie a été décerné à John. A. Pople et Walter Kohn pour leurs travaux dans le domaine de la chimie informatique et la modélisation moléculaire (chimie quantique). [35,36]

III.2.Méthodes de La modélisation

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules. La taille du système étudié peut aller d'une simple molécule diatomique jusqu'à des macromolécules biologiques de plusieurs dizaines de milliers d'atomes. [37]

Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en trois catégories :

Les méthodes quantiques.

La mécanique moléculaire.

La dynamique moléculaire. [38]

Celle-ci permet de fournir des informations qui ne sont pas disponibles par l'expérience et joue donc un rôle complémentaire à celui de la chimie expérimentale. [39]

Elles reposent sur l'emploi de différents logiciels permettant de faire des calculs d'énergie, des optimisations, des simulations de mouvements moléculaires, à l'aide d'ordinateurs.

La stabilité de la structure tridimensionnelle d'une molécule est déterminée par les interactions intramoléculaires et les interactions avec le milieu extérieur. La recherche des conformations stables d'une molécule consiste à déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction. Cette énergie peut être calculée par des méthodes quantiques généralement longues et onéreuses. Pour faciliter les calculs, on considère généralement que le terme variable de cette énergie dépend de la construction de la molécule et de l'arrangement de ses atomes : c'est le principe des méthodes empiriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire). [38]

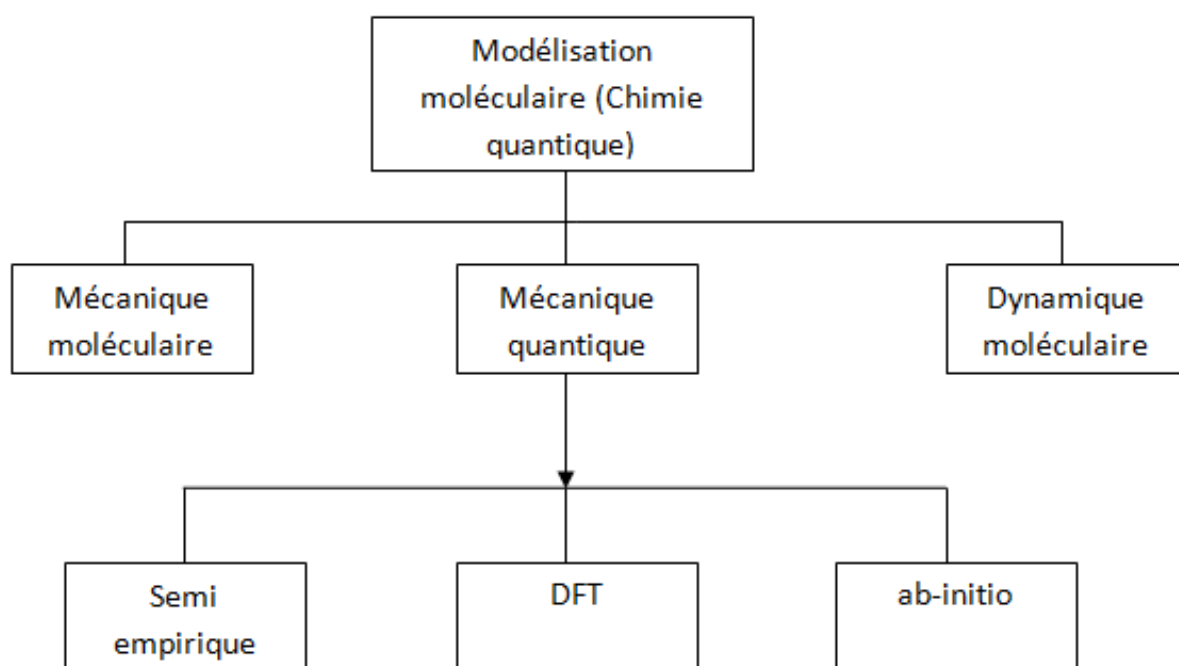


Figure III.1 : organigramme de la modélisation moléculaire.

III.2.1. Objectifs de la modélisation moléculaire

Les principaux objectifs de la chimie théorique :

- ✓ Visualisation et dessin des molécules à partir de données structurales.
- ✓ Utilisation de banques de données pour identifier les systèmes moléculaire ;
Obtention d'informations sur les mouvements dynamiques des molécules et sur leurs énergies.
- ✓ Déterminer les propriétés moléculaires et les distances interatomiques.
- ✓ Reproduction et prédiction qualitative des propriétés des molécules et des macromolécules.
- ✓ Corrélation entre des propriétés moléculaires et une structure moléculaire donnée
- ✓ Évaluation de la validité d'une structure moléculaire. [40]

III.2.2. Domaine d'application de la modélisation moléculaire

On peut diviser les applications de la MM en plusieurs catégories selon les différentes informations obtenues

a. Etude de structures

Très souvent la Mécanique Moléculaire est utilisée pour obtenir une géométrie à laquelle on attache de l'intérêt. Elle peut en particulier guider l'interprétation des résultats provenant des études de structures par rayons X et diffraction électronique ou bien de les raffiner. Elle est prête aussi à servir et à modéliser une molécule pour les besoins de l'infographie [40]

b. interprétation de la réactivité

La MM peut permettre l'interprétation des effets stériques sur la réactivité. On peut distinguer dans ce cas deux méthodes d'exploitation ;

- Les comparaisons dans un ensemble de molécules similaires pour caractériser des relations entre les changements de structure ou des substituants et la réactivité.
- Les comparaisons intramoléculaires pour prévoir une voie de réarrangement, une régiosélectivité ou une stéréosélectivité.

c. Analyse conformationnelle

Quand aucune liaison n'est rompue, ni formée et qu'aucun intermédiaire chargé n'intervient, l'interconversion conformationnelle se prête particulièrement bien à une description par la MM. On peut obtenir grâce à cette analyse des informations structurales sous formes d'un profil énergétique (en fonction d'un angle dièdre par exemple) ou des cartes énergétique 3D. [40, 41]

III.2.3.Limitation de la modélisation moléculaire

La Modélisation Moléculaire s'adresse surtout à des organiciens intéressés par des problèmes de réactivité et de structure de molécules comportant déjà un nombre significatif d'atomes, elle s'adresse aussi au biochimistes et pharmaciens préoccupés par la relation structure activité. Si l'on veut exploiter intelligemment les programmes disponibles pour le calcul et la visualisation, certains principes de base doivent être retenus, il est nécessaire de connaître les origines de la méthode, ses potentialités et ses limites.

Cette méthode empirique, ne s'applique bien que lorsqu'on étudie des molécules voisines de celles qui ont servi à établir le champ de force. Plus on sophistique le champ de force de la mécanique moléculaire (MM₂–MM₃) plus on a besoin de paramètres ; il est spécifiques, sur les hydrocarbures conjugués, les protéines, les peptides et les polymères,... etc. Enfin il faut toujours valider une étude en Modélisation Moléculaire par confrontation avec l'expérience (RX, RMN,...) sur des molécules types. [39, 41]

III.3. La mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est la méthode base pour les calculs de modélisation moléculaire destinée aux grosses molécules, elle s'est largement développée pour permettre de déterminer la conformation des molécules, leurs propriétés thermodynamique et leurs spectres vibrationnels. [40]

Pour des systèmes de taille importante ou lorsqu'une étude dynamique d'un système moléculaire est envisagée, l'utilisation de méthodes de la chimie quantique peut s'avérer trop coûteuse en temps de calcul. Les méthodes de mécanique moléculaire utilisent un potentiel d'interaction simplifié appelé champ de force, et conduisent à une expression de l'énergie total dépendante des coordonnées nucléaires. Les paramètres du

champ de force sont optimisés sur des données expérimentales ou de calculs de niveau très élevés sur des fragments de molécules.

Typiquement, les modèles de mécanique moléculaire consistent en des atomes sphériques reliés par des ressorts qui représentent les liaisons. Les forces internes considérées dans la Structure modélisée sont décrites en utilisant de simples fonctions mathématiques. La loi De Hooke est généralement employée pour décrire les interactions de liaison. [42]

III.4. Dynamique moléculaire (DM)

La dynamique moléculaire (DM) est une méthode de simulation du mouvement des atomes et des molécules en calculant leurs déplacements. Cette technique est largement utilisée pour simuler les propriétés des solides, des liquides, et des gaz. Permet de calculer physico-chimiques d'un système admettons que le potentiel d'interaction est connu. [40]

La dynamique moléculaire utilise la seconde loi de Newton pour décrire le mouvement d'une molécule en fonction du temps.

$$F_i = m_i a_i$$

F : est le vecteur force agissant sur l'atome i

m : est la masse de l'atome i

a : est le vecteur d'accélération de l'atome i

Cette équation montre que la vitesse et le sens du mouvement atomique dépendent des forces qui s'exercent entre les atomes. [40]

III.5. Mécanique quantique

D'après le premier postulat de mécanique quantique la connaissance d'un système atomique, moléculaire ou solide peut s'obtenir au moyen d'une fonction d'onde déterminée par la résolution de l'équation de Schrödinger d'un système complet multiélectronique.

L'équation de Schrödinger non relativiste et indépendante du temps est la forme la plus utilisée en modélisation moléculaire. [43]

Ces méthodes sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM). Leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons. [39]

III.5.1. Méthodes ab-initio (Hartree-fock-roothann)

Elles ne font appel à aucun paramètre ajusté à l'expérience. Les calculs sont Généralement plus complexes mais cette complexité ne signifie pas que les résultats soient exacts et non critiquables. En effet, ces méthodes utilisent toutes des approximations. Les calculs ab initio proviennent soit des méthodes d'Hartree Fock (et post Hartree Fock) soit de celles de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). Contrairement à la méthode d'Hartree Fock, la description du système quantique dans le cadre de la théorie de la fonctionnelle de la densité est basée non pas sur la fonction d'onde mais sur la densité électronique. [39]

III.5.2. Méthodes semi-empiriques

Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales.

Les méthodes semi-empiriques ne considérant que les électrons de la couche de valence ; les électrons des couches internes sont inclus dans le coeur nucléaire. [44]

III.5.3 Théorie de la densité fonctionnelle (DFT)

La DFT est une reformulation du problème quantique à N corps et comme son nom l'indique, c'est une théorie qui utilise uniquement la densité électronique en tant que la fonction fondamentale au lieu de la fonction d'onde [12].

- **La Densité Electronique**

Les électrons sont définis comme étant des particules indissociables et indiscernables. En effet, un électron ne peut être localisé en tant que particule individuelle, par contre sa probabilité de présence dans un élément de volume peut être estimée et correspond à la densité électronique (ρ). Les électrons doivent donc être

considérés dans leur aspect collectif (nuage électronique) et la densité électronique permet de connaître les régions de l'espace où les électrons séjournent le plus souvent. L'étude détaillée des propriétés électroniques d'un système moléculaire nécessite la prise en compte des effets de corrélation électronique (la différence entre l'énergie cinétique exacte des électrons corrélés avec l'énergie cinétique exacte d'un système d'électrons n'interagissant pas) et ce, tout particulièrement, si celui-ci contient des métaux. les méthodes Post Hartree-Fock permettent d'intégrer ces effets mais sont souvent lourdes et limitantes quant à la taille de systèmes étudiés. C'est pourquoi, la fonctionnelle de la densité DFT de son acronyme anglais 'Density Functional Theory, est devenue l'une des méthodes les plus utilisées, pour le calcul de la structure électronique et la prédiction des propriétés physicochimiques des atomes, des molécules et même conçue et appliquée aux problèmes de l'état solide. [38]

III.5.3.1. Historique

La théorie fonctionnelle de la densité (DFT) est progressivement apparue au cours des 40 dernières années comme une méthodologie de pointe pour la modélisation et la simulation de systèmes chimiques. [12]

Les premiers à avoir exprimé l'énergie en fonction de la densité furent L. H. Thomas et E. Fermi en 1927 [12]. Dans leur modèle, les interactions électroniques sont traitées classiquement et l'énergie cinétique est calculée en supposant la densité électronique homogène. Ce modèle a été amélioré par P. A. Dirac en 1930 avec un terme d'échange.

Au milieu des années 90, la DFT a connu sa véritable ascension et plusieurs applications dans le domaine de la chimie bio-inorganique ont vu le jour. en 1951 J. C. Slater proposa un modèle basé sur l'étude d'un gaz uniforme améliorée avec un potentiel local.[45] Cette méthode, appelée Hartree-Fock-Slater ou $X\alpha$, fut essentiellement utilisée en physique du solide dans les années 70.

Mais la DFT a véritablement établi une relation fonctionnelle entre l'énergie de l'état fondamental et sa densité. [45]

En 1998 W. Kohn ayant obtenu le Prix Nobel pour ses travaux sur la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité.

Dans les années 2000, les calculs DFT sur des systèmes possédant des métaux de transition ont régné en maître notamment dans les journaux à publications

scientifiques tels que les très connus Journal of the American Chemical Society, Angewandte Chemie et bien d'autres encore. Très peu de temps après, un certain nombre de groupes de chercheurs expérimentaux se sont intéressés de près aux possibilités que pouvaient représenter les calculs théoriques de type DFT et se sont investis dans des collaborations en ce sens. De nos jours, l'approche DFT s'est notablement démocratisée et elle est maintenant perçue comme un outil performant accessible à tous. Cependant, aux yeux de certains puristes, la DFT, étant une méthode dite "monodéterminante". [46]

III .5 .3.2. Objectif de la DFT(le cadre de DFT)

L'objectif principal de DFT est de remplacer la fonction d'onde multiélectronique par la densité électronique en tant que quantité de base pour les calculs. Alors que la fonction d'onde multiélectronique dépend de $3N$ variables (où N est le nombre total de particules du système), la densité est en fonction de trois variables qu'elle s'agit d'une quantité plus facile à traiter tant que mathématiquement que conceptuellement.

La DFT nous permet de résoudre l'équation de Schrödinger à N corps en ne faisant intervenir que l'observable définie dans l'espace physique R^3 qui se substitue à un espace de configurations à $3N$ variables dans lequel est définie la fonction d'onde (Hartree-Fock).

Le formalisme de la DFT est basé sur le théorème de Hohenberg et Kohn. [47] Aujourd'hui, la DFT constitue l'une des méthodes les plus utilisées pour les calculs quantiques de structure électronique en chimie quantique et en physique de la matière condensée. La DFT a été étendue au domaine de la mécanique quantique dépendante du temps et au domaine relativiste. Elle est également utilisée pour la description thermodynamique des fluides classiques. Elle est capable de déterminer avec précision les propriétés moléculaires géométriques, les énergies de liaisons et différents types de spectre pour des molécules aussi complexes que des composés de coordination. Elles sont moins coûteux en temps de calcul que les méthodes postHF et peuvent apporter une très bonne fiabilité pour certains systèmes moléculaires. [39]

III.5.3.3. Les principales méthodes de la DFT

La précision de la méthode réside donc dans le choix des fonctionnelles. Trois principaux types de fonctionnelles existent :

- Les fonctionnelles locales (LDA) qui dépendent uniquement de la densité électronique en chaque point du système et négligent toute influence de l'inhomogénéité du système. Cette approximation est correcte lorsque la densité varie suffisamment lentement.
- Les fonctionnelles à correction de gradient (GGA) qui introduisent dans leur expression le gradient de la densité permettent de tenir compte de l'inhomogénéité de la distribution électronique.
- Les fonctionnelles hybrides HF-DFT, apparues récemment, qui incluent pour l'énergie d'échange un mélange Hartree-Fock et DFT. Ces fonctionnelles apparaissent comme étant les plus fiables du moment. [38]

III.5.3.5. Les avantages de DFT

La DFT permet souvent d'obtenir, à plus faible coût, des résultats d'une précision proche de celle obtenue avec des calculs post-Hartree-Fock. De plus, elle peut être utilisée pour étudier des systèmes relativement gros, contenant jusqu'à plusieurs centaines d'électrons, que les calculs post-Hartree-Fock ne peuvent pas traiter. Ceci explique que la DFT soit aujourd'hui très utilisée pour étudier les propriétés des systèmes moléculaires ou même biologiques. [48]

Les nombreux travaux effectués ces dernières années montrent que les calculs DFT donnent de bons résultats sur des systèmes très divers (métalliques, ioniques, organométalliques, ...) pour de nombreuses propriétés (les structures moléculaires, les fréquences de vibration, les potentiels d'ionisation, ...) [48,49]

L'approche DFT possède l'avantage d'introduire les effets de corrélation électronique à un coût moindre par rapport aux méthodes ab initio traditionnelles. [42]

III.5.3.6. Les Limites de DFT

Ces méthodes souffrent encore de plusieurs défauts. Et par ailleurs, on ne comprend pas toujours les bons ou les mauvais résultats de la DFT sur certains systèmes, et il n'existe aucun véritable critère pour choisir une fonctionnelle plutôt

qu'une autre. Il est en outre difficile de trouver des critères permettant d'améliorer un fonctionnelle donné, ce qui rend parfois l'utilisation de la DFT délicate. De plus, les états excités ne sont pas accessibles dans le formalisme développé.

Cependant, des développements récents en utilisant un formalisme dépendant du temps pour une description des états excités ont été faits. [50]

III.6 Le simulation moléculaire

Parmi ces nouveaux outils, la simulation moléculaire a émergé comme un outil complémentaire pour construire les passerelles entre les détails microscopiques d'un système (atomes, interactions énergétiques, distribution des molécules, etc.) et les propriétés macroscopiques d'intérêt pour le Génie des Procédés (état physique, coefficients de transfert, propriétés d'équilibre, etc.)

La simulation moléculaire peut être un outil très pratique pour évaluer la réactivité ou les propriétés chimiques de molécules telles que les charges partielles, les orbitales HOMO et LUMO, les effets de solvants et même prédire une réaction chimique entre deux réactifs. [39]

La simulation moléculaire nous permet de déterminer un très grand nombre de grandeurs caractéristiques des systèmes atomiques ou moléculaires et de simuler une grande variété de processus réactionnels.

Parmi les propriétés moléculaires accessibles actuellement par le calcul, on peut citer :

- les grandeurs énergétiques : l'énergie totale d'un système moléculaire, son énergie d'ionisation et son affinité électronique ;
- les grandeurs géométriques : longueurs et angles de liaison, conformations ;
- les propriétés spectroscopiques : spectres UV-visible, IR et micro-onde ;
- les propriétés électriques : moments dipolaires, multipolaires, polarisabilités et hyperpolarisabilités ;
- les propriétés magnétiques : déplacements chimiques et constantes de couplage de RMN ;
- la réactivité chimique. [39]

III.6.1. Les logiciels de modélisation et simulation moléculaire

La visualisation tridimensionnelle des molécules sur un écran d'ordinateur ou infographie moléculaire permet de représenter l'image dans l'espace d'un modèle moléculaire. Pour cela, chaque atome constituant la molécule est identifié par ses coordonnées spatiales. Un logiciel de modélisation et simulation moléculaire comprend de manière générale les modules suivants

- Représentation des molécules en 3 dimensions
- Calculs
- Analyse des résultats

Il existe d'autres logiciels de chimie quantique, utilisés pour les calculs DFT comme présenté dans le tableau ci-dessous

Tableau III.1 : Les divers logiciels de chimie quantique [47]

Logiciel	Provenance	Base	Fonctionnalités
Gaussian (35)	USA	Gaussienne	• Le plus populaire et le plus usité • Ideal pour les systems couches fermés • Plusieurs méthodes disponibles • (DFT, HF, CI, RHF, UHF)
Orea	Allemagne	Gaussienne	• Plusieurs méthodes disponibles (HF, DFT, CI) • Prédiction des propriétés moléculaire ,electroniues et magnetique d'atome.
demon (37)	Canada	Gaussienne	• Calcul précis et rapide des systems de grande taille
DGauss(37)	USA		• Prédiction des propriétés moléculaires ,électronique et magnétique d'atomes
Dmol (38)	Suisse	Gaussienne	• Code utilisé en recherche dans l'industrie pharmaceutique.

Tous les secteurs de la chimie sont concernés par cette avancée des outils informatiques. Aux premières loges, la recherche pharmaceutique, qui intègre aujourd'hui dans ses laboratoires des équipes dédiées à la modélisation.

Introduction

Le chitosan est un polysaccharide très abondant dans la nature, il est considéré comme deuxième biopolymère après la cellulose. Il possède des propriétés très intéressantes, particulièrement sa biocompatibilité et sa biodégradabilité lui permettant une large utilisation dans divers domaines. Cependant sa non solubilité dans les solutions aqueuses constitue un inconvénient pour certaines applications. A cet effet, sa modification chimique a attiré plusieurs chercheurs dans un but de le transformer en une substance soluble dans l'eau. Ainsi, nous avons envisagé l'option de phosphorylation du chitosan, une des modifications chimiques conduisant au changement de sa solubilité. Dans cette optique, notre travail a été subdivisé en deux parties : la première constitue une étude théorique relative à l'usage de la densité fonctionnelle afin de prédire la possibilité réactionnelle de phosphorylation du chitosan. Dans une deuxième partie, qui est scindée en deux étapes : dans la première étape, nous nous sommes penchées, sur la synthèse de phosphorylation par l'usage de l'acide phosphoreux. Alors que la deuxième étape est consacrée à l'encapsulation qui constitue une technique la plus étudiée actuellement dans le domaine pharmaceutique. Elle peut non seulement protéger le principe actif mais elle intervient dans le contrôle de libération de la substance médicamenteuse au sein des milieux biologiques. Dans cette technique, les matériaux d'encapsulation sont d'une grande importance, ils constituent la matrice de protection. Cette matrice doit non seulement jouer le rôle de barrière vis-à-vis des facteurs d'humidité, de lumière et d'oxygène mais également un moyen pour la diffusion contrôlée des principes actifs dans l'organisme. Plusieurs matériaux sont utilisés pour atteindre ces objectifs .A cet effet et en vue de corroborer la réussite de la synthèse du chitosan phosphorylé, nous avons envisagé la préparation des microsphères de la spiramycine en utilisant le produit obtenu précédemment.

IV.1. Etude de Théorie Fonctionnelle de la Densité

IV.1.1.Introduction

Les études théoriques constituent des approches très intéressantes dans le domaine chimique, elles ont devenues indispensables pour la recherche et la synthèse des nouveaux composés chimiques pour but de minimiser le parcours long (choix des quantités et conditions adaptables) et coûteux.

Les méthodes de simulation ont joué un rôle très important pour la détermination des différents propriétés; elles ont, en effet, donné une nouvelle dimension à l'investigation scientifique de nombreux phénomènes physiques et chimiques.

Dans cette optique, notre choix est orienté vers l'usage de l'une des méthodes récentes, à savoir la densité fonctionnelle théorique qui a connu de nombreuses réussites dans le domaine de la prédiction des propriétés structurales, magnétiques, électroniques, élastiques, thermodynamiques et optiques ainsi que l'interaction possible dans notre cas c'est le chitosan avec l'un des réactifs de phosphorylation (l'acide phosphorique).

IV.1.2. Description générale de la méthode (DFT)

La Théorie de la fonctionnelle de la Densité (que l'on appellera en anglais Density Functional Theory) est devenue parmi les méthodes utilisées pour la description et l'analyse des propriétés physiques et chimiques pour les systèmes complexes, particulièrement pour les systèmes contenant un grand nombre d'électrons. [12]

La densité électronique permet de connaître les régions de l'espace où les électrons séjournent le plus souvent. [47, 48]

Le choix de la base d'orbitales est aussi un critère très important pour une bonne Estimation des données, bien qu'il soit moins important pour la DFT que pour les autres méthodes *ab initio*, en particulier *post Hartree Fock*, la base représente la description des orbitales atomiques. Les premières conduisent à des intégrales biélectroniques difficiles à calculer et sont souvent remplacées par une combinaison linéaire de plusieurs fonctions gaussiennes. Une autre amélioration consiste en l'utilisation de bases à valence découplée décrivant différemment les orbitales de cœur et les orbitales de valence.

Nous avons choisi la base 6-31 G qui décrit une orbitale atomique par la combinaison de six fonctions gaussiennes par orbitale de cœur, de trois autres pour la

description des électrons de valence et d'une dernière pour description des électrons de valence les plus éloignés du noyau (externe). L'astérisque signifie l'utilisation d'orbitales de polarisation pour les atomes lourds c'est à dire 'd' pour les orbitales 'p, f' pour les orbitales d, etc. [9]

IV.1.3. Méthode d'étude

Nous avons utilisées la méthode DFT (Density Functional Theory), avec la fonctionnelle B3LYP et une base de fonctions atomique 6-31++G (d,p).

Les géométries optimisées ont été visualisées à l'aide du programme GAUSS VIEW0.5 qui exécute des calculs de structure électronique basés sur la "Density Functional Theory" [9]. Les calculs visent les caractéristiques suivantes :

- Les longueurs des liaisons
- Les angles de valence formée par trois atomes liés.
- Les angles dièdres formés par quatre atomes successifs.
- Les paramètres électroniques et énergétiques.

IV.1.4. Logiciel GAUSSIEN

GAUSSIAN est un logiciel de chimie quantique, créé à l'origine par John Pople et sorti en 1970 (Gaussian 70). Il a été depuis plusieurs fois mis à jour. Gaussian 09 est la dernière version de la série. Il fournit des capacités de pointe pour la modélisation de structure électronique. [49]

Gaussien 09 prévoit les énergies, structures moléculaires, les fréquences de vibration et propriétés moléculaires des molécules et des réactions dans une grande variété d'environnements chimiques. [38]

Par ailleurs Gaussian09 permet également d'étudier des composants et des réactions en phase gazeuse, en solution et en phase solide. D'autre part les états excités peuvent être également analysés.

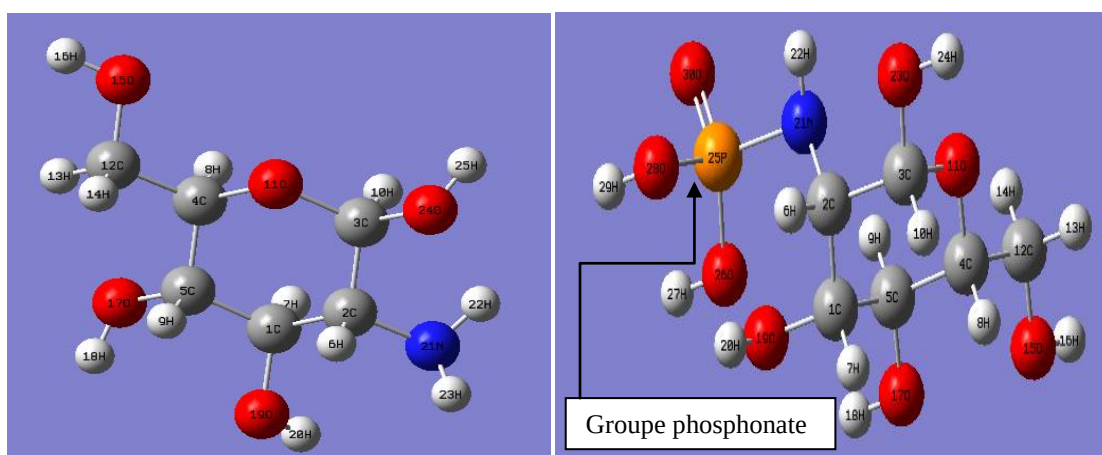
IV.1.5. Résultats et discussions

Afin de comprendre de manière approfondie les caractères des molécules de chitosane et le chitosane synthétisé par phosphorylation, il nous a semblé nécessaire de comprendre tout d'abord leurs propriétés physico-chimiques, structurales et énergétique pour pouvoir les encapsuler, nous nous sommes orientés alors vers les approches de chimie quantique en utilisant logiciel d'optimisations des géométries des différentes structures qui est le programme GAUSSIAN 09.

IV.1.5.1. Etude géométrique

IV.1.5. 1.1. Optimisation de géométries des structures

Dans cette étude, on a commencé par l'optimisation des géométries des molécules. Pour réaliser les différents calculs des paramètres des géométries optimisés (longueurs des liaisons, les angles), en utilisant la méthode DFT/B3LYP/6-31G (d, p). L'optimisation de la géométrie des deux molécules a été réalisée par la minimisation de l'énergie (Les structures les plus stables correspondent à l'énergie la plus faible). La construction des différentes configurations des 2 molécules à l'aide de logiciel **GAUSSIANVIEW** comme montre la figure IV.1.1.



Chitosan (CN)

Chitosane phosphorylé (CP)

Figure IV.1.1 : Les représentations optimisées de la molécule Chitosane et chitosane phosphorylé.

Cette étude nous a permis d'apporter des résultats sur des paramètres structuraux optimisés, de donner des résultats sur les différentes distances interatomiques exprimées (en Å), les angles entre trois et quatre atomes (Angles diédral en °). Ces derniers ont été mesurés dans leurs états fondamentaux ainsi que leurs énergies minimales.

Les tableaux (IV.1.1, IV.1.2 et IV.1.3) respectivement calculés par Gaussian09 nous présentent les principales distances interatomiques des différentes fonctions des deux molécules CN et CP dans deux phases distinctes (gaz et liquide), afin de mettre en exergue les différences entre ces derniers.

Tableau IV.1.1 : Paramètres géométriques (Longueurs de liaison) relatifs au CNL, CNG, CPL, CPG.

CNL		CNG		CPL		CPG	
Liaison	Longueur (Å)	Liaison	longueur (Å)	Liaison	Longueur (Å)	Liaison	Longueur (Å)
C1-C5	1.5277	C1-C5	1.5283	C1-C5	1.5305	C1-C5	1.5293
C1-O19	1.4338	C1-O19	1.4359	N21-P25	1.6584	N21-P25	1.6744
C3-O11	1.4243	C3-O11	1.4199	P25-O26	1.6225	P25-O26	1.6111
C4-H8	1.1024	C4-H8	1.5381	P25-O28	1.6165	P25-O28	1.6489
O15-H16	0.966	O15-H16	1.428	P25-O30	1.4898	P25-O30	1.4798
O19-H20	0.9657	O19-H20	0.9687	O19-H20	0.9674	O19-H20	0.9691

Tableau IV.1.2: Paramètres géométriques (Angles) relatifs au CNL, CNG, CPL, CPG

CNL		CNG		CPL		CPG	
Liaison	Angle °	Liaison	angle (°)	Liaison	Angle °	Liaison	Angle °
C2-C1-C5	111.3743	C2-C1-C5	111.3405	C2-C1-C5	112.2371	C2-C1-C5	112.5868
C2-C1-O19	112.3159	C2-C1-O19	112.2908	C2-N21-H22	111.3519	C2-N21-H22	109.6053
O11-C4-C12	108.1484	O11-C4-C12	108.1334	C2-N21-P25	127.1923	C2-N21-P25	111.7133
C4-C5-H9	108.4992	C4-C5-H9	108.9521	H22-N21-P25	110.6	H22-N12-P25	125.6373
C3-O11-C4	113.5556	C3-O11-C4	113.6286	N21-P25-O26	110.8062	N21-P25-O26	108.0066
H13-C12-H14	108.1992	H13-C12-H14	109.202	N21-P25-O28	102.674	N12-P25-O28	107.3958
H13-C12-O15	111.7192	H13-C12-O15	111.1787	N21-P25-O30	111.9931	N21-P25-O30	102.0032
C1-O19-H20	108.1603	C1-O19-H20	108.6334	O28-P25-O30	118.283	O28-P25-O30	112.7463

Tableau IV.1.3 : Paramètres géométriques (Angles **dièdre**) relatifs au CNL, CNG, CPL, CPG.

CNL		CNG		CPL		CPG	
Liaison	Angle dihedral (°)	Liaison	Angle dihedrale (°)	Liaison	Angle dihedral (°)	Liaison	dihedral (°)
C5-C1-C2-C3	-54.2896	C5-C1-C2-C3	-55.2243	C5-C1-C2-C3	-52.9669	C5-C1-C2-C3	-53.2705
C5-C1-C2-N21	-174.5209	C5-C1-C2-N23	-175.6239	O19-C1-C2-N21	-53.7161	O19-C1-C2-N21	-53.9395
O19-C1-C2-C3	-174.0845	O19-C1-C2-C3	-175.247	C1-C2-N21-H22	51.037	C1-C2-N21-H22	173.0547
C2-C1-C5-O17	175.1419	C2-C1-C5-O17	175.0431	C1-C2-N21-P25	-140.3445	C1-C2-N21-P25	-66.5225
H7-C1-C5-C4	-64.4523	H7-C1-C5-C4	-64.1954	C3-C2-N21-P25	-21.5052	C3-C2-N21-P25	-146.5719
H7-C1-C5-O17	55.9623	H7-C1-C5-O17	55.6325	H6-C2-N21-P25	96.5193	H6-C2-N21-P25	-27.9468
O19-C1-C5-H9	59.4955	O19-C1-C5-H9	59.4735	H22-N21-P25-O28	125.6975	H22-N21-P25-O28	-176.811
O19-C1-C5-O17	-61.8692	O19-C1-C5-O17	-61.8806	O28-P25-O26-H27	-59.7775	O28-P25-O26-H27	-86.8659
H9-C5-O17-H18	-72.9828	H9-C5-O17-H18	-70.9449	N21-P25-O28-H29	19.7165	N21-P25-O28-H29	146.8667
C4-C12-O15-H16	179.7707	C4-C12-O15-H16	-178.2007	O30-P25-O28-H29	-41.8	O30-P25-O28-H29	-117.8379

- ✓ Les différentes distances interatomiques calculées pour les deux molécules sont très proches. Nous notons que les distances des liaisons au niveau du carbone asymétrique C2 sont très proches, ce qui signifie que la chiralité n'influe pas sur la structure de la molécule.
- ✓ Pour le groupement phosphonate, la liaison P-O est de : (1.6111-1.6225Å), (1.6489-1.6175Å) et (1.4798-1.4898Å) pour les liaisons (P25-O26), (P25-O28) et (P25-O30), respectivement à l'état gaz et liquide. On remarque que la liaison P25-O30 est courte par rapport aux molécules aux autres liaisons.
- ✓ En ce qui concerne la liaison C2-N21-P25 de CP dans l'état gaz est de (125.6373°), elle est plus petite que dans le CP liquide (127.1923°)
- ✓ - Une petite différence est également notée au niveau des angles de liaison où le carbone C2 est considéré comme asymétrique.
- ✓ Pour les valeurs des angles diédrales, on peut constater une différence visible entre les différents angles : l'angle entre H7-C1-C2-N21 (-175.4562° (liq) ; -174.1629° (gaz)) et l'angle C3-C2-N21-P25 (-161.9374 °liq ; -166.7686 ° gaz) dans le 'CPG,CPL' sont les plus petits en considérant les liaisons de 'CNG, CNL'. De plus les liaisons sont

courtes, ce qui conduit à dire qu'elles sont fortes et par conséquent, on peut déduire que le chitosan phosphorylé présente une stabilité appréciable.

Globalement, on peut dire que le changement de phase a provoqué des modifications dans les structures. Par ailleurs, la phosphorylation présente également un effet remarquable sur la géométrie.

VI.1.5.1.2. Analyse des charges atomiques

a. Les Charges de Mulliken

La première méthode proposée pour évaluer la charge atomique est l'approche Mulliken c'est la plus simple qui est fréquemment utilisée. L'analyse de population de Mulliken, présente une simplicité dans l'analyse où elle se trouve disponible dans tous les logiciels. Elle constitue un moyen de décrire la distribution électronique dans une molécule [53]. Les charges atomiques Mulliken pour notre étude sont déterminées par la méthode DFT/B3LYP / (d, p) et sont rassemblés dans le Tableau IV.1.4 ci-dessous.

Il est primordial de mentionner que :

- Les atomes C1/C4/C5/C12 possèdent une charge positive dans les molécules CNL, CPL.
- L'atome C2 présent une charge négative pour les deux molécules CNL et CPG par contre présente une charge négative pour la molécule CPL, CNG.
- L'atome de phosphore(P), dans les trois molécules présente la charge positive la plus **élevée**.
- Les atomes d'oxygène dans les trois molécules ont une valeur de charge négative dans les groupes P-O-C, P=O et OH. Ces résultats ont clairement indiqué que ces atomes sont les sites les plus réactifs vis-à-vis des réactions.
- La présence d'une charge négative importante sur l'atome d'O et la charge positive nette sur l'atome d'H peut suggérer la formation d'une interaction intermoléculaire sous forme solide.
- Cependant, tous les atomes d'hydrogène présentent des charges positives nettes, mais dans des valeurs différentes.

On peut déduire que les atomes de phosphore avaient la charge électrique positive la plus élevée. Il est également remarquable que les atomes d'oxygène

possèdent toutes des charges négatives. Cependant, tous les atomes d'hydrogène présentent des charges nettes positives avec des valeurs différentes.

Il est intéressant de noter d'après les résultats que le changement de phase, d'une part et l'introduction du groupement phosphorylé d'autre part ont eu une incidence sur les valeurs des charges des molécules.

Tableau IV.1.4 : Les Charges de Mulliken des molécules CNG, CNL, CPL et CPG

CNL		CNG		CPL		CPG	
Atome	La charge	Atome	La charge	Atome	La charge	Atome	La charge
C1	0.183582	C1	-0.000436	C1	0.095723	C1	-0.123955
C2	0.04153	C2	-0.273926	C2	-0.041131	C2	0.304852
C3	0.367829	C3	0.229568	C3	0.405544	C3	0.368638
C4	0.150713	C4	-0.298852	C4	0.152438	C4	-0.158708
C5	0.163843	C5	-0.033491	C5	0.205501	C5	0.216806
H6	0.105246	H6	0.180249	H6	0.135901	O11	-0.280868
H7	0.085002	H7	0.161222	H7	0.102554	C12	0.262417
H8	0.103131	H8	0.129017	H8	0.106614	O15	-0.123535
H9	0.096359	H9	0.138697	H9	0.106639	O17	-0.068919
H10	0.096927	H10	0.160391	H10	0.113341	O19	-0.080036
O11	-0.55085	O11	-0.326533	O11	-0.535597	N21	-0.491702
C12	0.058778	C12	-0.05249	C12	0.049143	O23	-0.117246
H13	0.117236	H13	0.171422	H13	0.102012	P25	1.557297
H14	0.097723	H14	0.143178	H14	0.103089	O26	-0.168577
O15	-0.578888	O15	-0.497519	O15	-0.560697	O28	-0.254211
H16	0.322472	H16	0.371524	H16	0.324473	O30	-0.842252
O17	-0.579354	O17	-0.479529	O17	-0.575708	O30	-0.842252
H18	0.330352	H18	0.396682	H18	0.321797		
O19	-0.589698	O19	-0.506318	O19	-0.474818		
H20	0.326318	H20	0.369146	H20	0.301792		
N21	-0.642482	O21	-0.459007	N21	-0.608426		
H22	0.24982	H22	0.357994	H22	0.314086		
H23	0.263277	N23	-0.424236	O23	-0.578208		
O24	-0.556888	H24	0.275953	H24	0.34038		
H25	0.338023	H25	0.267297	P25	1.154437		
				O26	-0.51083		
				H27	0.291201		
				O28	-0.607429		
				H29	0.368574		
				O30	-0.602395		

b. Analyse des orbitales moléculaires

Il est logique que les HOMO et LUMO soient les orbitales les plus susceptibles d'être impliqué dans la réactivité chimique. Les réactions chimiques impliquent la redistribution des électrons (création et destruction de liaisons, oxydation, réduction, ...)

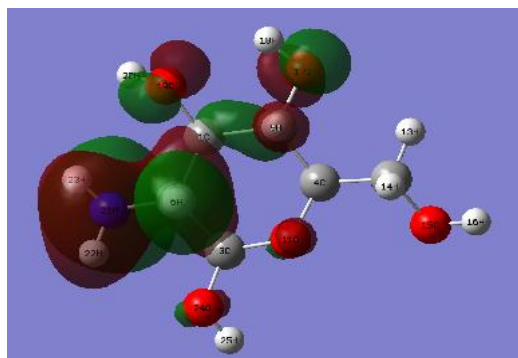
L'HOMO est l'orbite de la plus haute énergie encore occupée, donc énergétiquement, il est le plus facile d'enlever les électrons de cette orbitale. Cela pourrait être simplement donné la densité électronique pour former un lien. Il traduit le caractère électro-donneur (nucléophile) de la molécule. Plus l'énergie de cette OM est élevée, plus la molécule cédera facilement des électrons,

Le LUMO est l'orbite la plus basse qui est vide, donc énergiquement c'est le plus facile d'ajouter plus d'électrons dans cette orbitale. Il traduit le caractère électro-accepteur (électrophile) de la molécule. Plus l'énergie de cette OM est faible, plus la molécule acceptera facilement des électrons.

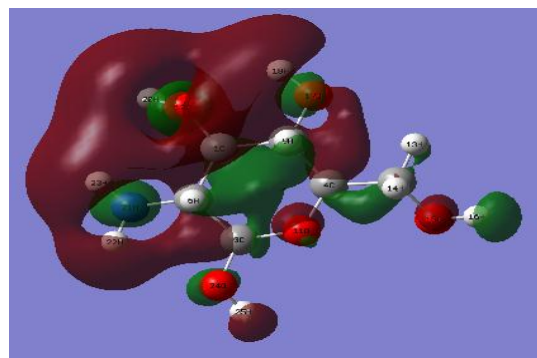
Ces deux orbitales jouent un rôle particulier dans les mécanismes réactionnels. Dans des réactions polaires ou ioniques, l'interaction principale se produit entre la HOMO du donneur (nucléophile) et LUMO de l'accepteur (électrophile)

Les orbitales moléculaires (HOMO-LUMO) et leurs propriétés telles que E_{HOMO} , E_{LUMO} et l'énergie gap (ΔE) qui est un paramètre important déterminant la réactivité et la stabilité des structures. La réaction la plus probable est celle qui correspond à la plus faible différence d'énergie entre HOMO et LUMO.

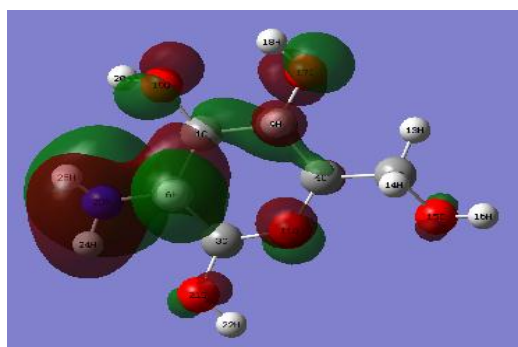
Sur la figure IV.1.2, les orbitales HOMO et LUMO des structures optimisées de Chitosane et Chitosane phosphorylé calculées par la méthode DFT à base 6-31G++ (d, p) sont illustrées.



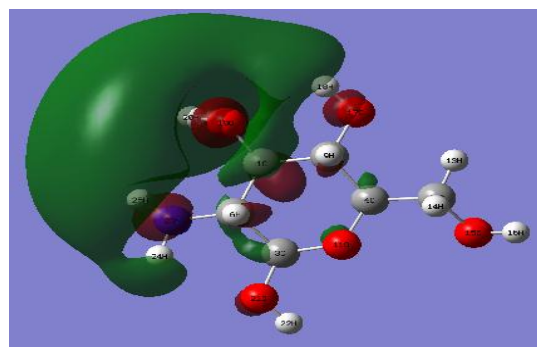
HOMO CNL



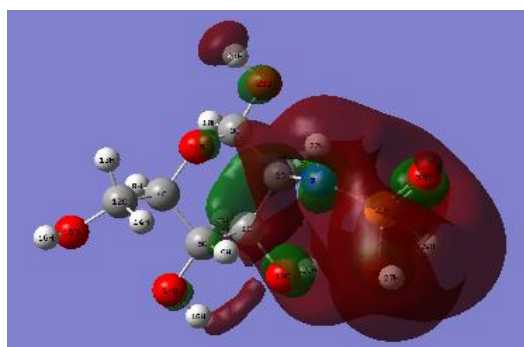
LUMO CNL



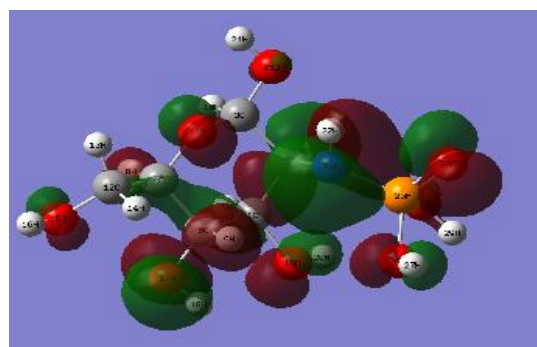
HOMO CNG



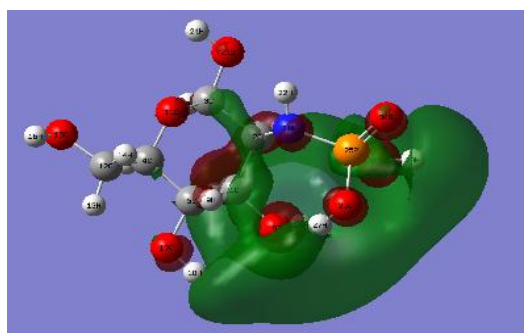
LUMO CNG



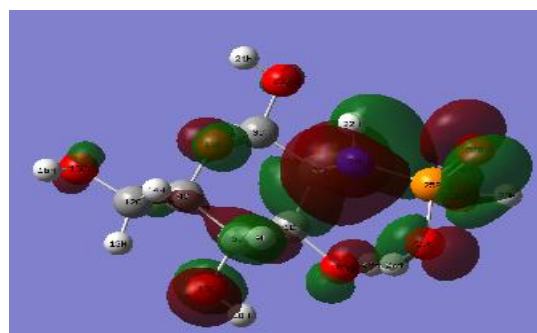
HOMO CPL



LUMO CPL



HOMO CPG



LUMO CPG

Figure IV.1.2 : Représentations HOMO/LUMO des molécules CNL, CNG, CPL, CPG.

Cette étude électronique et énergétique de ces orbitales permet de focaliser les sites électrophiles et les sites nucléophiles, ainsi une représentation graphique de la différence énergétique entre l'orbitale HOMO et orbitale LUMO (le Gap) obtenue par la méthode DFT pour les géométries optimisées des molécules étudiées. La phase positive de la molécule est représentée en couleur rouge et phase négative en couleur verte.

- Les orbitales HOMO des deux composés est principalement délocalisée sur le cycle aromatique du chitosan en solution la molécule ainsi que sur les atomes d'oxygène O11, O17, O19, et l'atome de l'azote N-P, P=O pour la molécule de chitosan phosphorylé. Ceci présentent les sites électrophiles de la molécule;
- Les orbitales LUMO sont localisées principalement sur les mêmes atomes que les orbital HOMO les oxygènes O15, O11, O18, O17 ainsi sur l'atome d'azote N21 ; c.-à-d, Ce sont les sites d'interaction et de réactivité à des molécules électrophiles. . Ainsi, on peut conclure que le chitosan phosphorylé présente un caractère amphotère qui est en accordance avec la littérature. On peut dire donc que le choix de la méthode (la base 6-31G (d, p) est justifié. Cependant à l'état idéal (chitosane gaz), les sites sont nucléophiles.

b.1. Diagramme énergétique

Les valeurs de l'écart énergétique (exprimé en ua) portées sur le tableau IV.1.5 sont utilisées pour l'établissement des diagrammes énergétiques pour chaque molécule.

Tableau IV.1.5: Energies d'HOMO, LUMO, écarts énergétiques (HOMO/LUMO).

Energie moléculaire	CNG	CNL	CPL	CPG
E_{LUMO}	-0.0202	0.05720	0.04214	-0.03297
E_{HOMO}	-0.25653	- 0.24416	-0.25277	-0.27021
Energie gap (Δ)	0.23633	0.18696	0.29491	0.23724

Ceci permettra de déduire les données thermodynamiques. Il est établi que l'écart HOMO/LUMO est une donnée importante pour garantir la stabilité thermodynamique de la molécule.

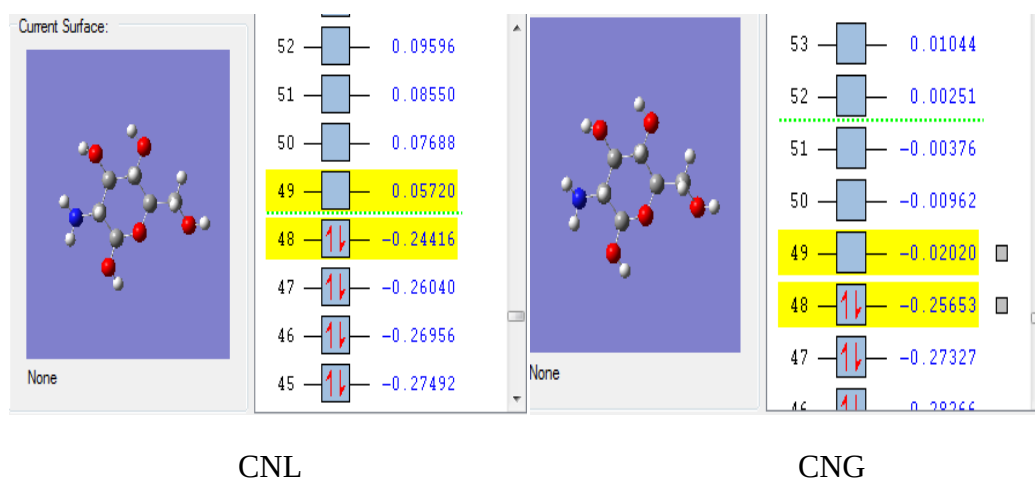


Figure IV.1.3 : Le diagramme de l'énergie Gap (EHOMO-ELUMO) de Chitosane (liquide et gaz)

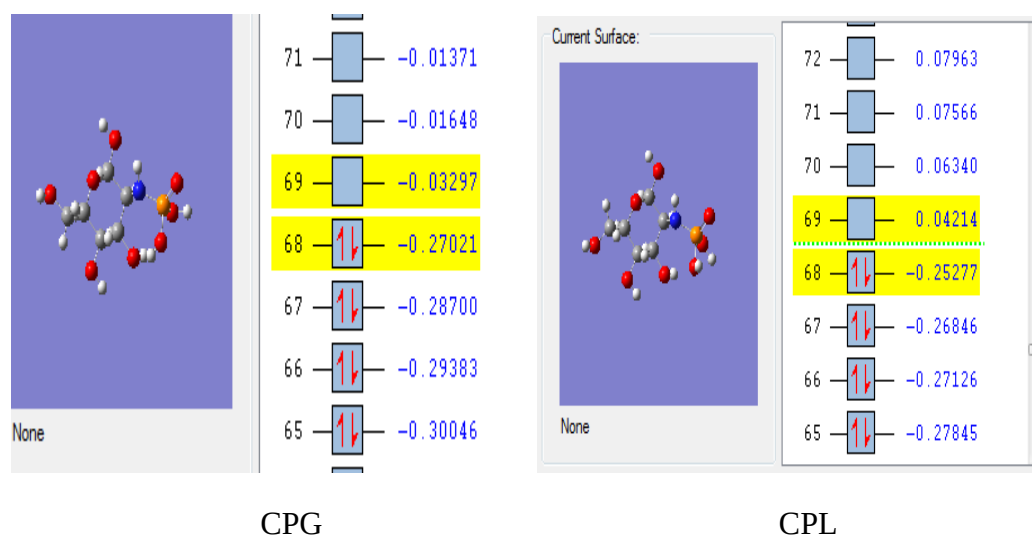


Figure IV.1.4 : Le diagramme de l'énergie Gap (EHOMO-ELUMO) de Chitosane phosphorylé (liquide et gaz)

On peut déduire à partir des diagrammes présentés les conclusions suivantes

- ✓ La molécule CNL a une énergie HOMO la plus importante ($E_{\text{HOMO}} = -0.24416 \text{ ua}$), donc elle est la plus réactive.
- ✓ La molécule CPG a une énergie LUMO la plus basse avec une valeur de $E_{\text{LUMO}} = -0.03297 \text{ ua}$, donc elle est la moins réactive.
- ✓ Les Orbitales moléculaires (HOMO et LUMO) sont des termes très importants dans la chimie quantique et leurs énergies sont très utiles pour les physiciens et les chimistes. HOMO et LUMO jouent un rôle prédominant dans les réactions chimiques.
- ✓ Une valeur élevée de l'énergie HOMO indique que la molécule est réactive, tandis qu'une valeur basse de l'énergie LUMO indique que la molécule est moins réactive.

Les Orbitales moléculaires (HOMO et LUMO) sont des termes très importants dans la chimie quantique et leurs énergies sont très utiles pour les physiciens et les chimistes. HOMO et LUMO jouent un rôle prédominant dans les réactions chimiques.

Une valeur élevée de l'énergie HOMO indique que la molécule est réactive, tandis qu'une valeur basse de l'énergie LUMO indique que la molécule est moins réactive.

La différence d'énergie entre l'orbitale HOMO et LUMO s'appelle l'écart d'énergie, ce qui est un indice de la stabilité important pour les structures. Un petit écart HOMO-LUMO implique une faible stabilité cinétique, car il est énergétiquement favorable pour ajouter des électrons à une LUMO et / ou pour extraire des électrons d'un HOMO.

Il est à constater que l'écart d'énergie le plus grande est présenté par la molécule CPG avec une valeur de **0.23724** a.u. Ceci nous permet de dire que cette molécule est la plus stable et la moins réactive par rapport aux autres cas.

L'écart ΔE avec une valeur de **0.18696** a.u. relatif à la molécule CNL conduit à dire qu'elle est moins stable et plus réactive. A travers les valeurs obtenues, on peut établir l'ordre de réactivité des molécules suivant :



IV.1.5.1.3. Les indice de réactivités

La théorie de la densité fonctionnelle (DFT) constitue actuellement une vraie source de concepts chimiques, Il existe nombreux paramètres qui sont considérés comme descripteurs de réactivité dans les réactions chimiques, le potentiel chimique (μ), l'affinité électronique (A), le potentiel d'ionisation I et la dureté (η). Parmi eux, les deux descripteurs globaux le potentiel d'ionisation I et la dureté (η), à partir desquels peuvent être déduits d'autres indices globaux comme la mollesse globale (σ), l'indice global d'électrophilie (ω) l'électronégativité (χ).

Dans le tableau IV.1.6, on a récapitulé les valeurs de la dureté, du potentiel chimique, du pouvoir électrophile et de la mollesse globale.

Tableau IV.1.6 : Les paramètres quantique de chitosane phosphorylé à l'état gazeux et liquide

Energie moléculaire	CNG	CNL	CPL	CPG
Potentiel d'ionisation (I)	0.25653	0.24416	0.25277	0.27021
Affinité électronique (A)	0.0202	-0.0572	-0.04214	0.03297
Dureté global (η)	0.118165	0.15068	0.147455	0.11862
Mollesse (S)	4.23137139	3.31829042	3.39086501	4.21514079
Potentiel chimique (μ)	-0.138365	-0.09348	-0.105315	-0.15159
Electronégativité (χ)	0.138365	0.09348	0.105315	0.15159

a. Le potentiel d'ionisation I

Le potentiel d'ionisation (I) est défini comme la quantité d'énergie nécessaire pour arracher un électron d'une molécule [54]. Il est lié à l'énergie de l'HOMO par l'équation :

$$I = -E_{\text{HOMO}} \dots \dots \dots (VI.3)$$

A partir des résultats des calculs, on constate que la molécule CNL (0.09348a.u) nécessite moins d'énergie pour être ionisées par rapport aux autres cas. Donc, de point de vue énergie d'ionisation, la molécule CPG peut être considérée comme la plus stable.

b. L'affinité électronique (A)

L'affinité d'électrons (A) est définie comme l'énergie libérée quand un proton est ajouté à un système [54]. Elle est liée à ELUMO par l'équation :

$$c. A = -E_{LUMO} \dots \dots \dots (VI.4)$$

D'après les valeurs mentionnées dans le Tableau IV.1.6, on peut conclure que la molécule de chitosan phosphorylé et chitosan dans la phase gaz présentent une affinité plus importante pour capter les électrons.

d. L'électronégativité (χ)

L'électronégativité permet de mesurer l'aptitude d'un atome d'une molécule à attirer des électrons. Il existe plusieurs échelles d'électronégativité: Pauling, Mulliken, Gordi...etc, toutes basées, selon différents critères, sur l'énergie de liaison. L'électronégativité, exprimée en eV, est définie comme l'écart entre l'énergie d'ionisation I et l'affinité électronique A, toutes deux exprimées aussi en eV est calculée par la formule (VI.5) [55].

$$e. \chi = \frac{(I+A)}{2} \dots \dots \dots (VI.5)$$

I: potentiel d'ionisation de la molécule et A : affinité électronique de la molécule

Les valeurs d'électronégativité (χ) indiquent que les composés CPL, CPG, CNL et CNG présentent une accordance avec les valeurs du potentiel d'ionisation (I). On peut conclure donc que le composé CPG présente la meilleure Electronégativité (χ).

d. La mollesse (S) et la dureté η

La dureté globale (η) est définie comme la dérivé seconde de l'énergie totale par rapport au nombre d'électrons. Koopmans propose une formule qui est plus utilisée pour calculer la dureté à partir des énergies des orbitales moléculaires précisément les énergies des orbitales moléculaires frontières, qui s'écrit sous la forme [56]

$$\eta = (E_{LUMO} - E_{HOMO})/2 \dots \dots \dots (VI.7)$$

D'après les valeurs relatives à la dureté chimique déterminées, le composé CNL est considéré comme le plus dur. Ce qui confirme sa stabilité.

Par ailleurs, on constate que pour **la mollesse** (S) ; la molécule CNG est très molle et réactive. Ces déductions corroborent les conclusions relatives à la dureté et au potentiel chimique électronique obtenues.

f. Le potentiel chimique électronique μ

Le potentiel chimique électronique est défini comme le négatif de l'électronégativité d'une molécule [57] et déterminée en utilisant l'équation (VI.6).

$$g.\mu = (E_{HOMO} + E_{LUMO}) / 2 \dots \dots \dots (VI.6)$$

En examinant les valeurs de μ mentionnées dans le tableau IV.1.6., on peut constater la stabilité est réduite et la réactivité est augmentée lorsque le potentiel chimique électronique de la molécule augmente. On peut donc conclure que le composé CNG est moins stable que la molécule de CPL.

VI.1.5.1.4. Moment dipolaire

Le moment dipolaire dans une molécule est une propriété électronique importante qui résulte de la répartition non uniforme des charges sur les différents atomes dans une molécule, Il est principalement utilisé pour étudier les interactions intermoléculaires impliquant des forces dipôle-dipôle de type Vander Waals, etc., parce que plus le moment dipolaire est important, plus les interactions intermoléculaires seront fortes.

La polarité d'une liaison ou d'une molécule est due à la différence d'électronégativité entre les éléments chimiques qui la composent, Plus les charges sont réparties de façon asymétrique, plus une liaison ou molécule sera polaire, et au contraire, si les charges sont réparties de façon totalement symétrique, elle sera apolaire, c'est-à-dire non polaire.

Il est admis que la polarité d'une molécule influe sur ses propriétés physiques ou chimiques. Les composés apolaires se dissolvent en général mal dans les solvants polaires (en particulier les hydrocarbures qui sont apolaires ne se dissolvent pas en général dans l'eau connu comme solvant polaire), contrairement aux composés polaires.

Le moment total de dipôle dans un repère cartésien est défini par:

$$\mu = (\mu_x^2 + \mu_y^2 + \mu_z^2)^{1/2}$$

L'étude considérée dans ce travail nous a permis d'obtenir la configuration spatiale du dipôle des deux composés considérés, le chitosan natif et le chitosan phosphorylé (Figures IV.1.5 et IV.1.6)

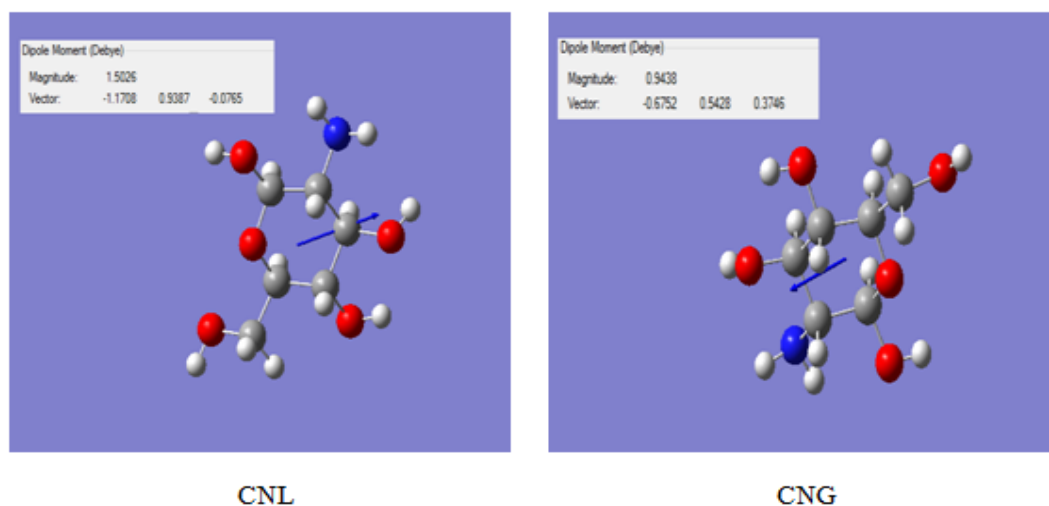


Figure IV.1.5 : Moment dipolaire de chitosan natif à l'état liquide et gaz

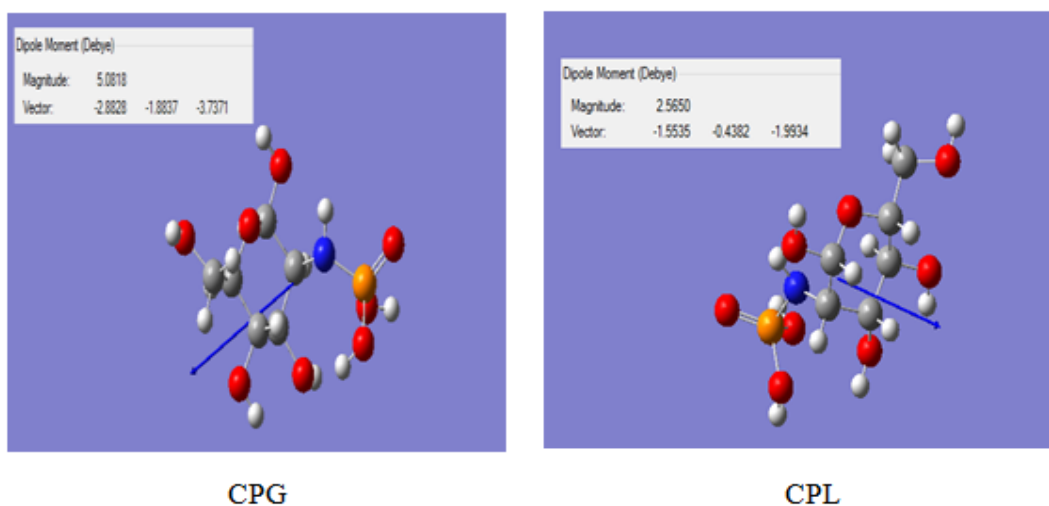


Figure IV.1.6 : Moment dipolaire de chitosan phosphorylé à l'état liquide et gaz

En vue de visualiser la différence entre les deux composés, le chitosan natif et le chitosan phosphorylé, nous avons déterminé les valeurs du moment dipolaires respectifs dans leurs états liquides et gazeux et qui sont portées dans le tableau IV.1.7.

Tableau IV.1.7 : Les valeurs du moment dipolaire de CN, CP

Molécule	CNG	CNL	CPG	CPL
Moment dipolaire (debye)	0,9428	1,5026	5,0818	2,5650

A Les valeurs indiquées dans le tableau nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

- ✓ Le moment dipolaire est plus important dans le cas de CPG, cela est expliqué par la différence d'électronégativité provoquée par la molécule qui comporte plus d'atomes d'oxygènes et d'hydrogènes. La valeur la plus élevée des moments est principalement est attribuée à un déséquilibre global de la charge de la molécule.
- ✓ Le moment dipolaire dans le cas de CNG gaz est le plus faible à cause de la symétrie et de la charge globale (nulle).
- ✓ Il est établi que plus le moment dipolaire est grand, plus la molécule est polaire. Ainsi, on peut déduire l'ordre de polarité suivant :

CPG>CPL>CNL>CNG

IV.1.6. Conclusion

A travers les différents résultats obtenus dans cette partie d'étude en utilisant le logiciel **GAUSSIAN 09** comme outil puissant pour l'étude des molécules avec la méthode DFT (DensityFunctionalTheory), la fonctionnelle B3LYP et la base de fonctions atomique 6-31++G (d,p), nous avons pu arriver aux conclusions suivantes :

En premier lieu, suite à l'optimisation des structures de Chitosane Natif et du Chitosane modifié par phosphorylation, on a constaté que les liaisons de CP sont courtes par rapport à celles de CN, ce qui nous permet de déduire que le chitosan phosphorylé peut être considéré comme le plus stable.

Considérant les paramètres énergétiques et la distribution électronique dans les molécules étudiées, conduit aux mêmes constatations

Selon les orbitales frontières, la molécule de chitosan phosphorylé présente également des fortes valeurs d'écart d'énergie ($\Delta E_{\text{gaz}}=0.23724$ au et $\Delta E_{\text{liquide}}=0.29491\text{au}$) qui corroborent la stabilité du chitosan phosphorylé.

Par ailleurs, un autre paramètre important ‘ le moment dipolaire’ où les valeurs déterminées (5.0818D pour CPG et 2.5650D pour CPL) confirment la solubilité du chitosan phosphorylé par rapport à celle du chitosan natif (0.9428D pour CNG, 1.5026 CNL). Ces conclusions sont en concordance avec la bibliographie où il a été décrit que le composé ayant le moment dipolaire faible qui correspond à une solubilité dans l’eau réduite par rapport à un composé de moment dipolaire élevé où sa solubilité dans l’eau est plus importante. Cette solubilité déduite pour le chitosan phosphorylé est due à sa stabilité en tant que composé à part entière.

IV.2. Synthèse et encapsulation

IV.2.1. Introduction

La modification chimique du chitosan est l'une des voies utilisées pour améliorer les propriétés de ce biopolymère dans les domaines divers. Dans notre travail, la modification de ce polysaccharide est axée sur l'amélioration de sa solubilité dans les solutions aqueuses en vue de son utilisation dans le domaine pharmaceutique. Pour ce faire, une méthode chimique inspirée de la méthode d'Irani est établie en premier lieu qui a permis d'obtenir le chitosan phosphorylé. En deuxième lieu, pour consolider le résultat de la synthèse, le chitosan phosphorylé obtenu est utilisé pour l'encapsulation d'un principe actif en l'occurrence la spiramycine dans notre cas.

Les travaux qui font l'objet de ce travail ont été réalisés au sein de laboratoire de Génie des procédés de l'université de DJILALI BOUNAAMA –KHEMIS MILIANA - et le département de contrôle de qualité au niveau de groupe SAIDAL –MEDEA-

IV.2.2. Matériel et produits

IV. 2.2.1 Matériel

Les différents matériels utilisés dans notre travail sont rassemblés dans le tableau IV.2.8 ci-après

Tableau IV.2.8 : Matériel

Matériel	Type	Etendue de mesure
Balance analytique	Denver instrument	0 à 200mg
pH-mètre	(CRISON) BasiC 20	0 à 14PH
Centrifugeuse de 6000 tr/min	VWR	Vitesse max (min ⁻¹) 6000
Spectrophotométrie UV-visible	UV-2005	400 $\geq \lambda \geq$ 200 nm
Spectrophotométrie FTIR	Perkin Elmer	0,8 μ m $\geq \lambda \geq$ 1000 μ m
Plaque agitation magnétique avec chauffage	IKA	vitesse variable de 100 à 1100 tours/min

		capacité d'agitation maximale: 5 L environ
--	--	---

IV.2.2.2. Produits

Différents produits nécessaires pour l'accomplissement de l'objectif de notre travail sont rassemblés dans le tableau IV.2.9 suivant

Tableau IV.2.9 : produits

Produit	Caractéristiques principales	Solubilité, Tf, Te, Densité	stabilité
Hexaméthaphosphate de sodium (HMPS) (NaPO_3) ₆	-Forme : poudre -Couleur : blanc -pH : 7 (solution aqueuse à 1%)	-Soluble dans, les solvants organiques Non déterminée, Produit hygroscopique -Tf : 628 °C -Te : 1 500 °C	Stable à température ambiante et dans les conditions normales d'emploi.
Hexane $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	-Forme liquide -Couleur : transparent -Odeur : désagréable -M : 86,18 g/mo	-insoluble dans l'eau , Miscible dans les solvants organiques -Tf : 69°C -Te : -95°C -d : 0,66 g/ml	Stable dans les conditions normales d'emploi
Acide acétique CH_3COOH	-Forme : liquide -Couleur : transparent -Odeur vinaigre -M : 60,05 g/mole	-Miscible avec l'eau en toutes proportions. -Tf : 16,6 °C -Te : 117,9 °C -d : 1,054 g/cm ³	
Huile de vaseline $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$ (n=15-50)	-Forme : liquide huileux -Couleur : transparent -Fluorescence : Pas de fluorescence	-Pratiquement immiscible dans l'eau.	stable aux conditions de manipulation et de stockage usuelles

	-Odeur : sans odeur -Gout : Insipide		
Tween $C_{64}H_{124}O_{26}$	-Forme : liquide -Couleur : jaune -Odeur : inodore	-miscible dans l'eau à 20°C, dans l'éthanol à 20°C -Tf : Non disponible -Te : >100 °c -d : 1,07 g/cm ³	stable dans conditions ambiantes standard (température ambiante).
Acétone C_3H_6O	-Forme : liquide -Couleur : transparent -Odeur : -M : 58,0791 ± 0,0031 g/mol -Pka : 20	-miscible avec l'eau, l'éthanol, l'oxyde de diéthyle, les esters, le benzène, le diméthylformamide, chloroforme, la plupart des huiles -Tf : -94.6°C -Te : 56,05 °C (760 mm Hg)	Stable dans les conditions normales d'emploi
Glutaraldéhyde $C_5H_8O_2$	-Forme : liquide -Couleur : transparent -M : 100,1158 ± 0,0052 g/mol	-miscible dans l'eau, l'éthanol, le benzène -Tf : -14°C -Te : 187 à 189 °C -d : 1,13 g /cm ³ à 20 °C	stable dans les conditions ambiantes normales et prévisibles de stockage et de manipulation
Formaldéhyde CH_2O	-Forme : liquide -Couleur : transparent -M : 30,026 ± 0,0012 g/mol -Pka : 13,27 à 25 °C	-soluble dans l'alcool, l'éther diéthylique, l'acétone, le benzène -Tf : -92 °C -Te : 90-100°C -d : 1.0925 - 1.0960	Habituellement stable
Acide phosphoreux H_3PO_4	-Forme : liquide -Couleur : transparent -Pka : 2,0 ; 6,7 -M : 81,9958 ± 0,0011 g·mol	-Miscible dans l'eau	Habituellement stable
Ethanol CH_3-CH_2-OH	-Forme : liquide -Couleur :	-Tf : 78,5 °C -Te : -114,5 °C -d : 0,79 g/ml à 20	

	incolore -Odeur : Caractéristique -M : 46,07 g /mol	° C	
--	---	-----	--

IV.2.3 Méthodes

IV.2.3.1. Première étape : phosphorylation du chitosan

La méthode de phosphorylation utilisée est inspirée de la synthèse utilisée par Irani, la procédure de Moedritzer-Irani permet à la réaction d'être effectuée sans addition continue de formaldéhyde au mélange réactionnel bouillant. [58]

La synthèse est réalisée en utilisant une solution aqueuse acide de chitosane avec l'acide phosphoreux en présence du formaldéhyde en faisant varier les rapports molaires pour chaque essai effectué. Le produit résultant de la synthèse est filtré ensuite séché.

Tableau IV.2.10. : Les données de synthèse

Tests	Rapports molaires			T (°C)	Temps(h)
	Solution chitosane	Formaldéhyde	Acide phosphoreux		
A	2	1	4	60	6
B	2	37	2	70	3
C	2	20	1	100	3
D	2	10	2	90	6
E	2	10	6	100	5
F	2	10	6	100	4

IV.2.3.2. Deuxième étape : encapsulation de la Spiramycine

Dans cette partie nous allons détailler les différentes étapes du procédé de préparation des encapsulations ou on a utilisé deux méthodes :

- Une méthode simple gélification de goutte qui consiste à faire encapsuler le SPIRAMICYNE dans la solution de chitosane phosphorylé en l'injectant dans une solution de HPMS à des conditions opératoire précises de pH et température. Suivis d'une filtration, pour ensuite récupérer les microsphères de Spiramycine

Les mêmes étapes ont suivi sauf que la solution de chitosane acide est mélangé avec chitosane phosphorylé est injecté dans HPMS avec variation de Glutaraldhyde.

- La deuxième méthode de double émulsion H/E/H avec réticulation par HMPS. Une phase interne de principe actif est émulsionnée dans une phase aqueuse acide de chitosane phosphorylé (phase dispersée, E). L'émulsion huile dans eau obtenue est à son tour émulsionnée dans la phase huile (huile de vaseline) externe (continue) contenant l'agent tensio-actif (Tween 80) et entraîne la formation de la deuxième émulsion eau dans huile.

IV.2.4.Résultats et discussions

IV.2.4.1.La synthèse

a. Caractérisation par FTIR

❖ Chitosan

Avant d'avoir des données relatives au chitosan avant sa phosphorylation, une analyse par la méthode spectroscopique infra rouge est effectuée. Le spectre IRTF représenté sur la figure IV.2.7 donne les principales bandes caractéristiques du chitosan natif.

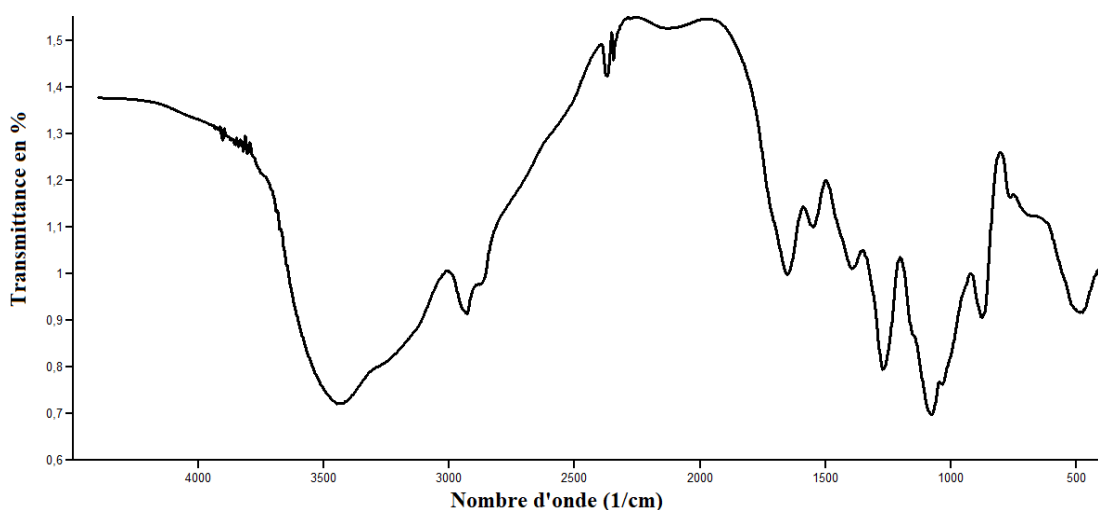


Figure IV.2.7 : Spectre infrarouge du Chitosan

En analysant le spectre du chitosan, on peut observer un ensemble de bandes caractéristiques de la structure saccharidique du chitosan. En effet, on constate une

bande large vers 3438 cm^{-1} qui correspond à l'élongation forte et large des groupements hydroxyles -OH , masquant celles des liaisons amino des amines primaires -NH_2 . Une autre bande est observée vers 2928 cm^{-1} correspondant aux groupes méthyles CH_2 primaires. Vers 1150 cm^{-1} , on peut voir une bande qui peut être attribuée à l'élongation antisymétrique de la liaison COC du groupe étherique. Deux autres bandes intéressantes se trouvent vers 1076 et 1032 cm^{-1} qui correspondent à la structure saccharidique.

❖ Chitosan phosphorylé

La synthèse chimique correspondant à la phosphorylation du chitosan, par deux méthodes différentes nous a permis d'obtenir les produits présentés par la figure IV.2.8 ci dessous



Figure IV.2.8 : Produits obtenus par synthèse de phosphorylation

- a. produit obtenu avant séchage de méthode B (un excès d'éthanol).
- b. produit obtenu après séchage dans l'étuve par la méthode (A).

Les deux produits présentent deux aspects différents. Avant séchage le produit(a) paraît très visqueux gélatinisé alors que le deuxième (b) présente une forme poudreuse.

- **Caractérisation par FTIR**

Afin de vérifier la réussite de la synthèse, une analyse spectroscopique des produits obtenus est réalisée. Les spectres IRTF correspondant sont présentés sur les figure IV.2.9, et IV.2.9.

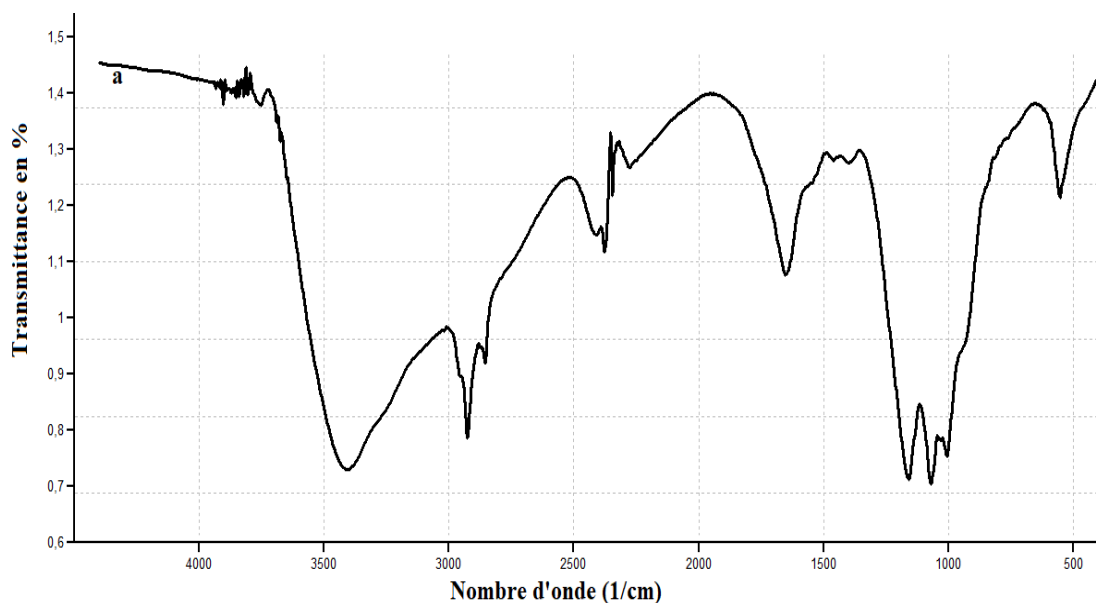


Figure : IV.2.9: Spectre infrarouge de chitosan phosphorylé produit (a)

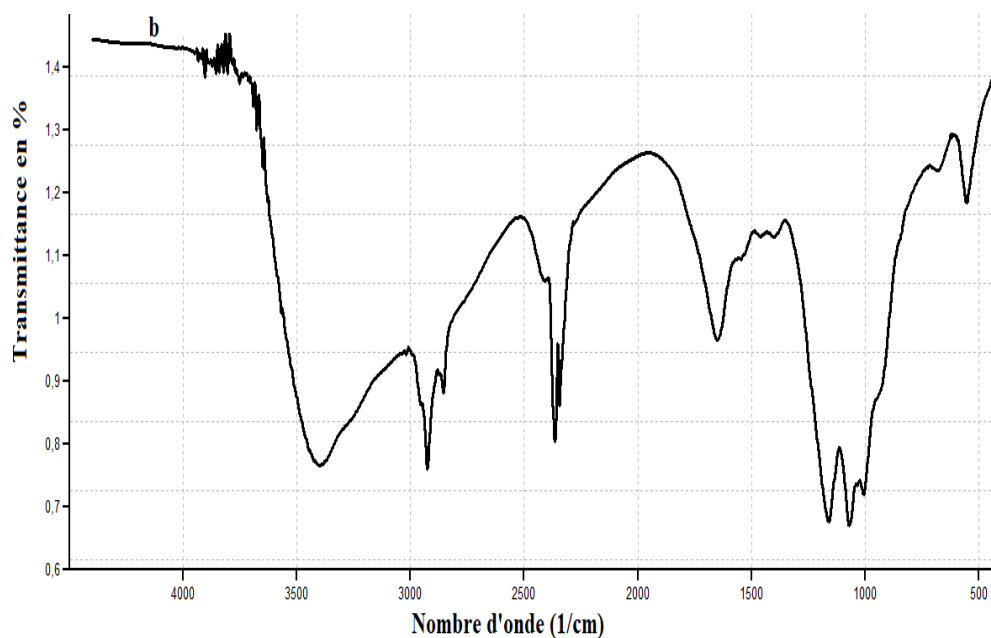


Figure IV.2.10 : Spectre infrarouge de chitosan phosphorylé produit(b)

En observant les spectres présentés ci-dessus par les figures IV.2.9 et IV.2.10 on peut remarquer la présence d'un certain nombre de bandes qui sont récapitulées dans le tableau IV.2.11 ci-dessous

Tableau IV.2.11 : Fréquences des principales bandes caractéristiques IR du Chitosane Phosphorylé

Origine	Fréquences, (cm-1)	Attribution des groupements fonctionnels
N-H	3400-3380	Elongation forte et large des liaisons –OH liés par liaison amine primaire NH la fréquence de vibration de la liaison est affaiblie
P=O	1350-1250	Phosphates organique, Bandes fortes de O-P-O élongation
C-N	1090-1020	Amine primaire, élongation C-N, forte vibration
N-H	1650-1590	déformation dans le plan des groupements amine primaire
C-H	2800-3000	Elongation de liaison C-H asymétrique/symétrique
C-O	1660-1680	Ester ν_{C-O} forte Vibration de valence
C-H	900-670	Band faible de déformation de la liaison hors du plan

Dans la synthèse, la réaction de type mannich d'une amine, du formaldéhyde et de l'acide phosphoreux se déroule selon l'équation générale donnée ci-dessous [59]



D'où n= 1, 2,3

L'atome d'hydrogène directement lié au phosphore dans l'acide phosphoreux est l'hydrogène acide requis pour ce type de réaction. Bien que d'autres classes de composés du phosphore ayant des liaisons P-H aient subi des réactions de type Mannich, aucune référence antérieure n'est disponible pour la réaction en utilisant l'acide phosphoreux.

En vue de comparer entre les spectres obtenus , les figures IV.2.11 et IV.2.11 représentent le regroupement des spectres des deux méthodes de phosphorylation avec celui de polymère du départ (le chitosan) .

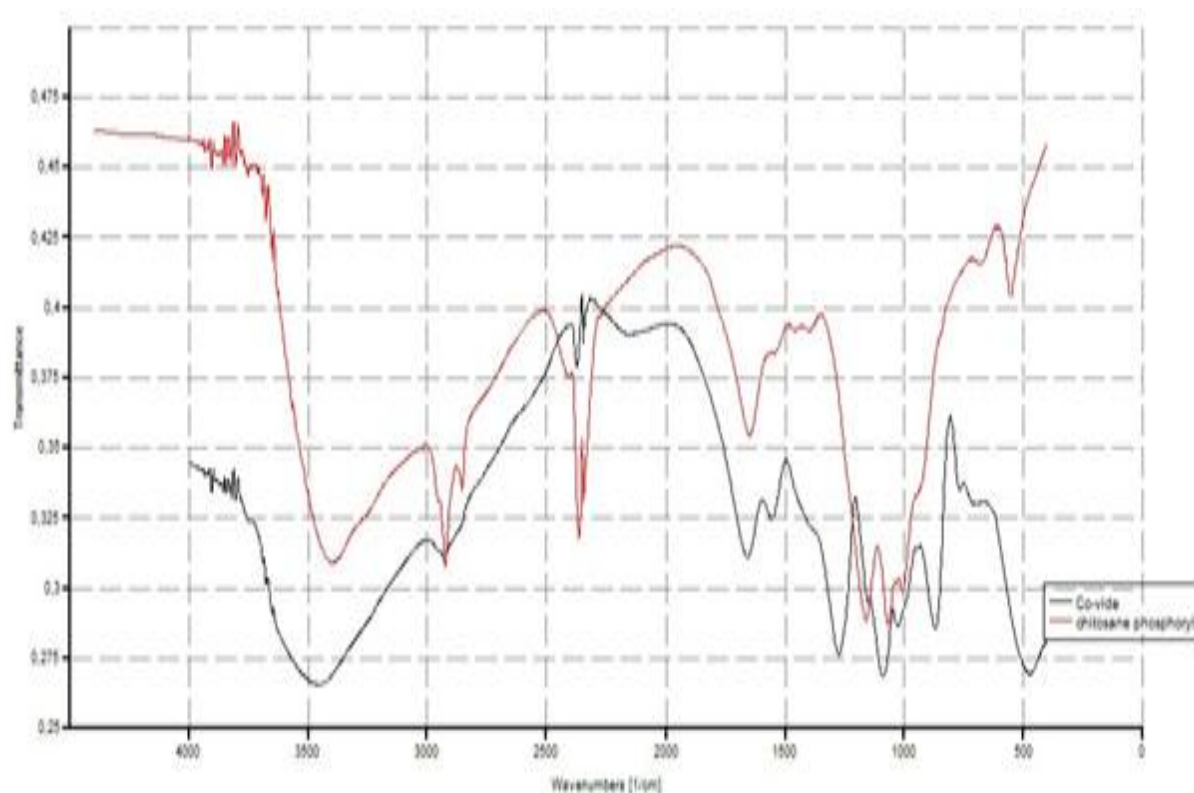


Figure IV.2.11 : Le spectre IR-FT de chitosan phosphorylé (méthode A) avec le spectre de polymère

En comparant les spectres de chitosan synthétisé avec le chitosan natif autant qu'une référence nous pouvons observer clairement la ressemblance. , avec une différence marquer qui confirme la modification opérée sur le chitosan natif à la longueur d'onde 1350 cm^{-1} , due à l'ajout d'acide phosphorique . On peut voir à partir du tableau la présence d'une bande qui peut être attribuée à la liaison $\text{P}=\text{O}$;

Tableau IV.2.12 : la présence d'une bande qui attribue à la liaison $\text{P}=\text{O}$;

$\text{P}=\text{O}$	1350-1250	Phosphates organique, Bandes fortes de O-P-O élongation
C-N	1090-1020	Amine primaire, élongation C-N, forte vibration

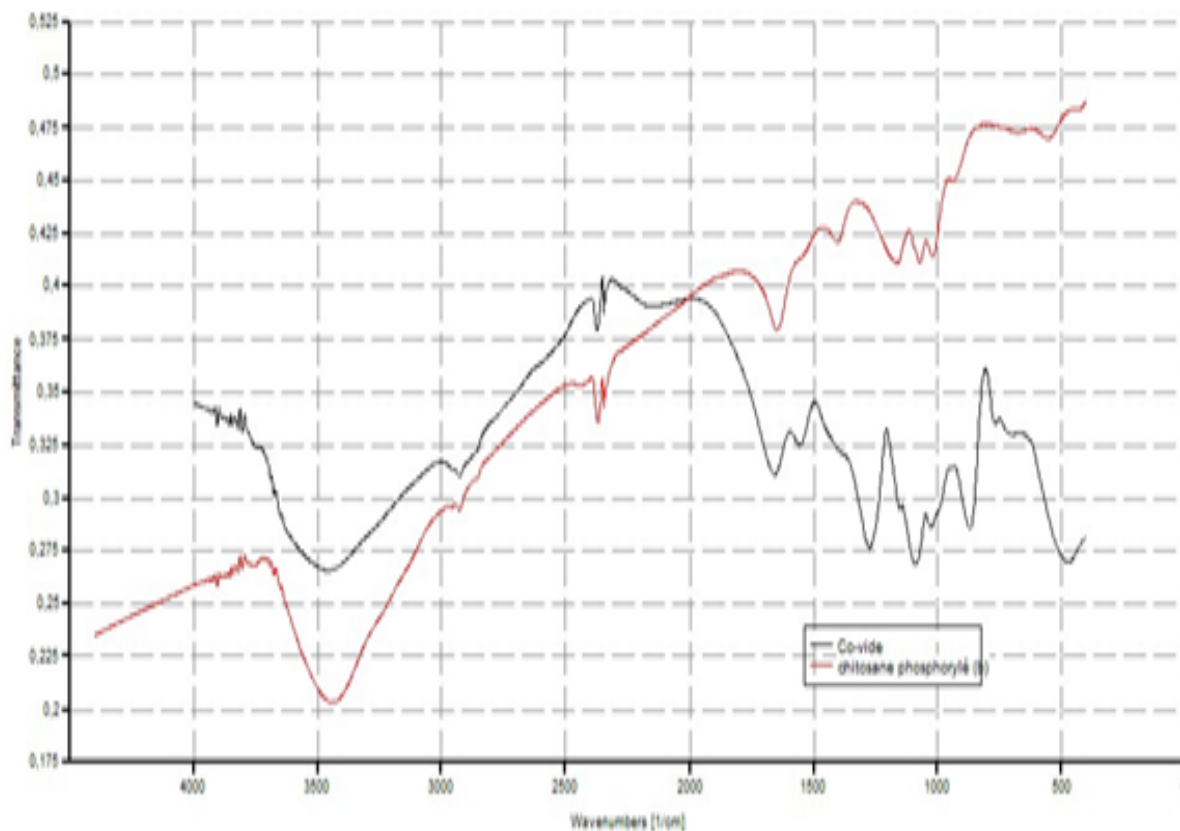


Figure IV.2.12 : Le spectre IR-FT de chitosan phosphorylé (méthode b) avec le spectre de polymère

En examinant le spectre de la méthode (B) figure IV.2.12 par rapport au chitosan natif, une nouvelle bande d'absorption à environ 2920 cm^{-1} est distingué qui est attribuée à une vibration d'élongation $\text{CH}_2\text{-O}$.

On observe également un pic d'absorption à 3344 cm^{-1} qui correspond à une vibration d'élongation forte et large de -OH .

b. Test de solubilité

La phosphorylation de chitosan est réalisée pour promouvoir sa solubilité qui est l'inconvénient majeur que présente le chitosan. La réussite de notre synthèse est confirmée par un test de solubilité illustré dans la figure IV.2.13.

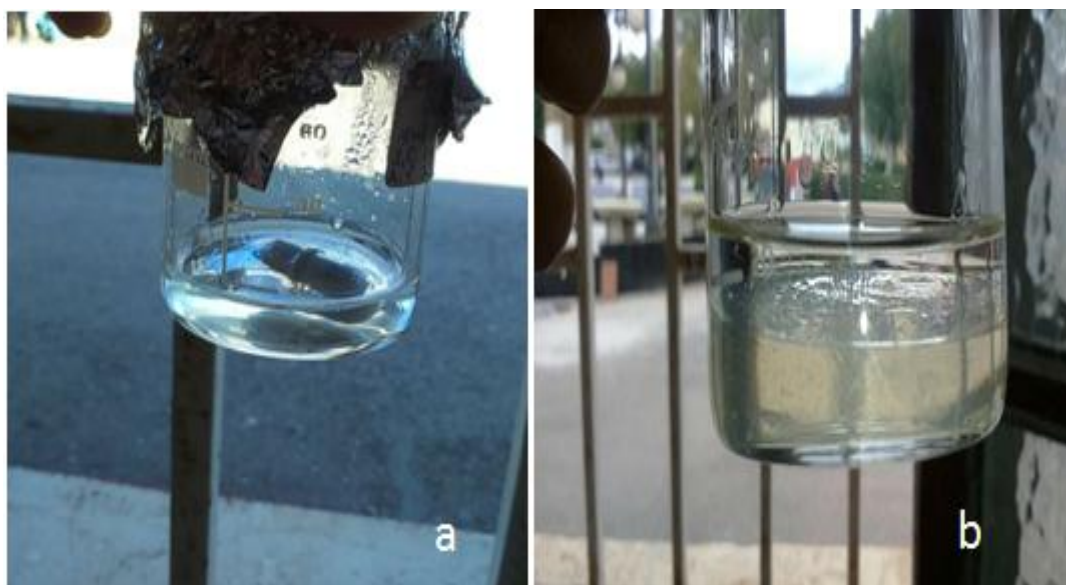


Figure IV.2.13 : La solubilité de chitosane dans l'eau et dans l'acide acétique.

a : Chitosan phosphorylé + eau.

b : Chitosan + eau.

IV.2.4.2. L'encapsulation

IV.2.4.2.1. méthode de préparation par émulsion

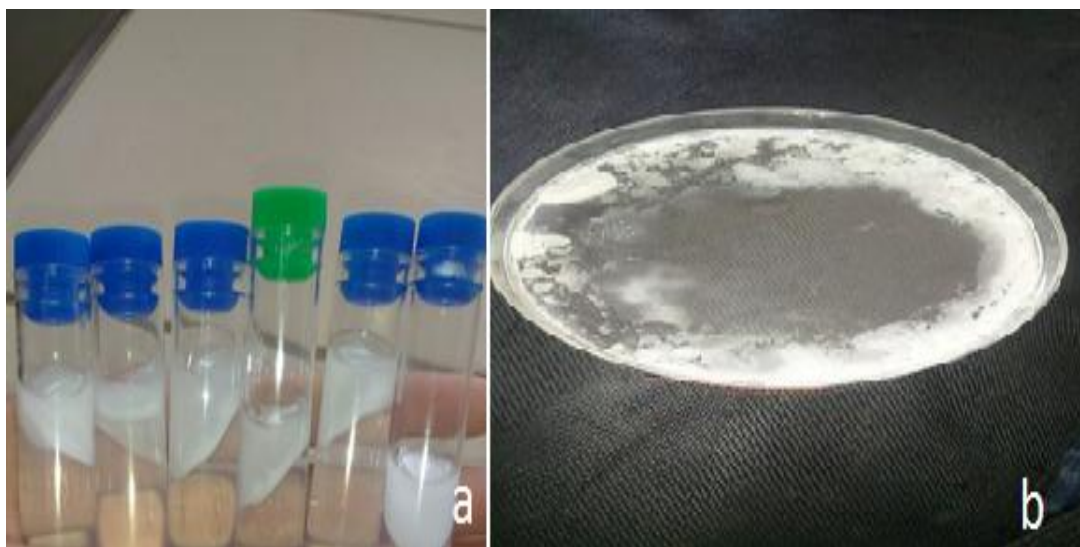


Figure IV.2.14 : particules obtenues par émulsion.

Les particules obtenues par cette méthode sont très petites d'aspect blanc.

IV.2.4.2.2. méthode de gélification par goutte

La méthode de préparation par égouttage nous a permis d'obtenir les microsphères présentées par la figure IV.2.15 ci dessous

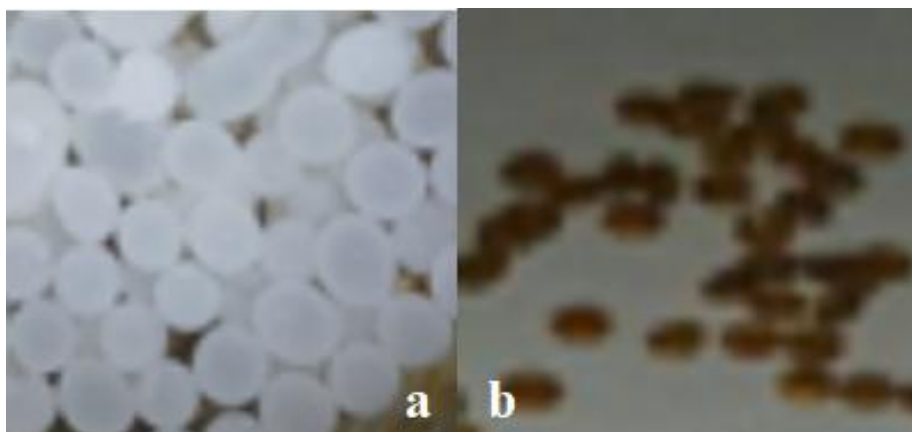


Figure IV.2.15 : microsphères obtenues par égouttage.

D'après la figure, on peut dire que les particules obtenues semblent avoir une morphologie sphérique. La taille des particules après leur séchage est de l'ordre de 500 micromètres

a. Caractérisation par FTIR

❖ Spiramycine

Le spectre IRTF représenté sur la figure IV.2.16, relève la présence d'un ensemble de groupements fonctionnels qui permettent l'identification de la structure de notre principe actif.

Les différentes bandes caractéristiques retrouvées sur le spectre sont rassemblés dans le tableau IV.2.13 Ci-dessous :

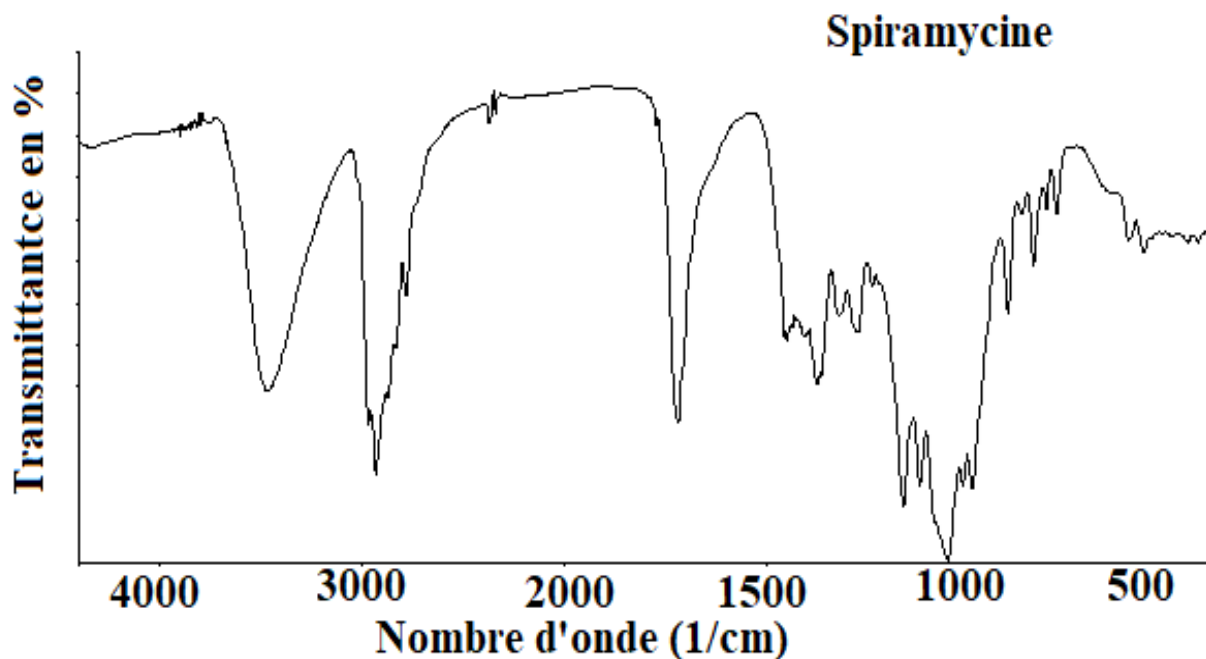


Figure IV.2.16 : Spectre IR de Spiramycine.

Tableau IV.2.13 : Fréquences des principales bandes caractéristiques de Spiramycine

Origine	Fréquences, Nombre d'ondes (cm ⁻¹)	Attribution des groupements fonctionnels
N-CH ₃	2890 – 2780	Methamino, élongation de N-CH ₃
C-H	1380-1370	Méthyle C-H élongation asymétrique /symétrique.
O H	3500-3700	Liaison OH lié, intensité forte et fine.
C-N	1350-1280	Elongation CN, amine secondaire aromatique
OH	720-590	Déformation hors du plan de liaison OH
C-H	1225 -950	Déformation dans le plan de liaison CH
C-H	900-760	Déformation C-H hors du plan
C=O	1650-1730	Liaison représente un aldéhyde

❖ Microsphères de chitosan

Les microsphères obtenues ont été analysées par FTIR. Le spectre obtenu est présenté par figure IV.2.17. En observant le spectre, on relève la présence de bandes caractérisant la matrice polymérique formée par le chitosan. Parmi elles celles qui se trouvent vers 1032 cm^{-1} et 1082 cm^{-1} qui sont attribuées à la structure saccharique du chitosan. D'autres bandes sont observées et qui sont rassemblées dans le tableau IV.2.14 .

Du tableau, on peut noter également que d'autres bandes relatives à la spiramycine sont présentes , à titre d'exemple, celles qui se trouvent vers $1350\text{--}1280\text{ cm}^{-1}$ qui sont attribuées au noyau aromatique. Ainsi, on peut confirmer l'encapsulation du principe actif dans les microsphères préparées.

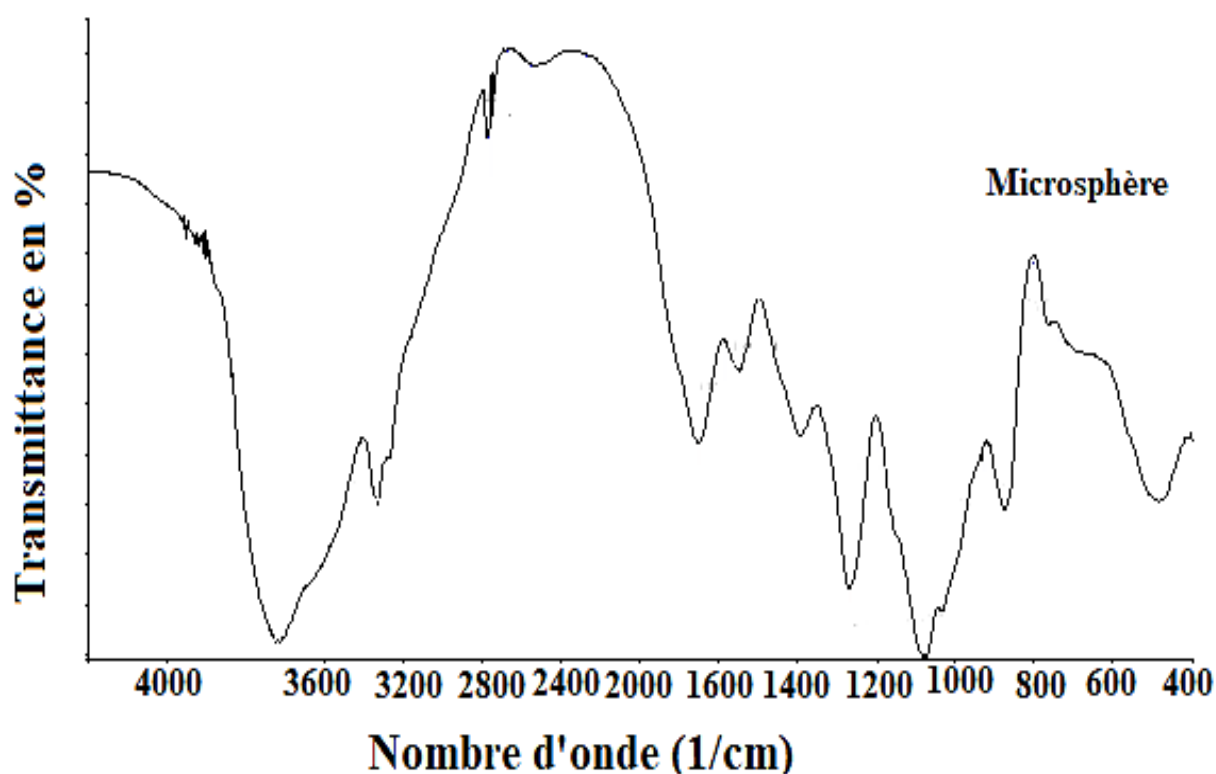


Figure IV.2.17 : Spectre IR des microsphères chitosan

Tableau IV.2.14 : Fréquences des principales bandes caractéristiques IR des microsphères chitosan

Origine	Fréquences, nombre d'ondes (cm-1)	Attribution des groupements fonctionnels
N-H	3490-3430	Elongation NH
C-H	900-670	Déformation dans le plan du groupement C-H (ce qui indique une disubstitution 1,2 (ortho))
C-H	860-800	disubstitution 1,4 para
C-O	1680-1630	Présence d'un amide
-CH ₃	2850-3000	Elongation des CH ₃
C-O	1650 -1740	Aldéhyde
O-CH ₂	1485-1445	Déformation C-H

❖ Microphères (chitosan et chitosan phosphorylé)

Dans cette partie, on présentera le spectre obtenu avec un mélange des deux polymères, le chitosan natif et le chitosan phosphorylé avec l'usage de glutaraldéhyde comme réticulant . On peut voir des modifications sur le spectre relatif aux microsphères obtenues et l' impact de réticulant sur la structure de la matrice.

Le spectre dans la figure IV.2.18 fait apparaitre les groupement fonctionnels des microsphères de chitosan phosphorylé + chitosan natif en présence de glutaraldéhyde dans le milieu et illustrés dans le tabelau IV.2.15 .

Tableau IV.2.15 : Fréquences des principales bandes caractéristiques IR des microsphères chito-phos + Chito avec Glutaraldhyde.

Origine	Fréquences, nombre d'ondes (cm-1)	Attribution des groupements fonctionnels
-OH	3932	Elongation –OH liés avec des groupements amine – NH primaire.
C=O	1740-1725	Vibration d'élongation carbonyle d'aldéhydes
C-O	1680-1630	Présence d'un amide
C-N	1350-1280	C-N, élongation, amine aromatique
P-O	1272	élongation (P-O) symétrique
P-O	1096	élongation (P-O) asymétrique
O-H	720-590	Dèformation de liaison OH hors du plan

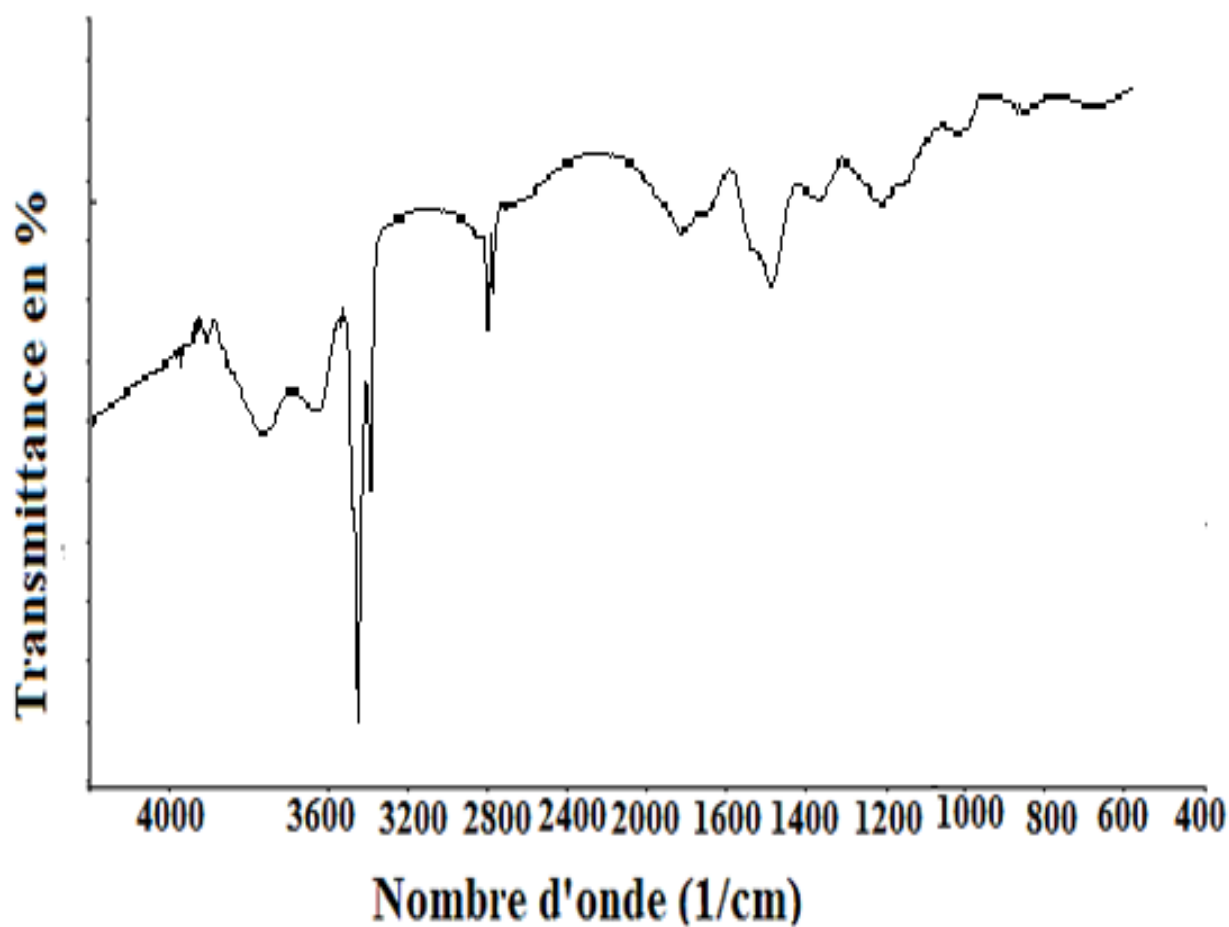


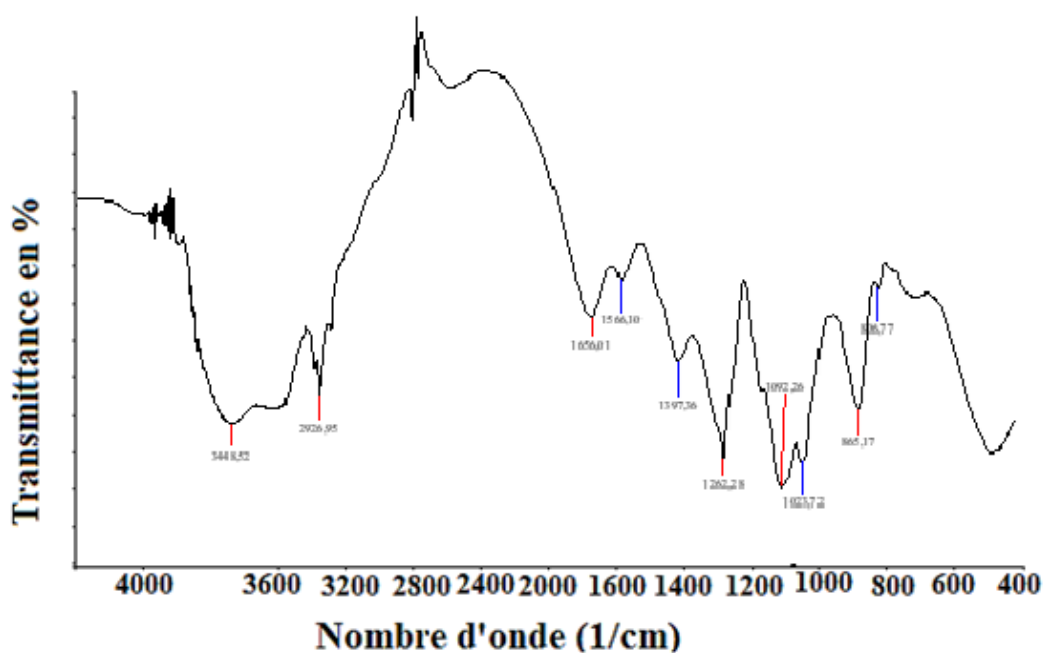
Figure IV.18 : Spectre IR des microsphères chito-phos + Chito avec Glutaraldhyde.

❖ Microsphères sans glutaraldéhyde

Le spectre des microsphères chitosan phosphorylé + chitosan acide est représenté dans la figure VI.2.19 qui relève l'existence des groupements fonctionnels dans le tableau VI.2.16

Tableau IV.2.16 : Fréquences des principales bandes caractéristiques IR des microsphères chito-phos+ chito sans Glutaraldhyde.

Origine	Fréquences, nombre d'ondes (cm ⁻¹)	Attribution des groupements fonctionnels
-OH	3570-3200	Elongation forte et large des-OH liés par des liaisons hydrogène dissimule les liaisons -NH des groupements amine primaire.
C-H	2856	Elongation C-H (CH ₂ -O)
N-H	1640-1560	N-H déformation dans le plan des groupements amino
CH ₃	1463-1381	Déformation symétrique et asymétrique de CH ₃
P-O	1397	Bande de faible élongation P O
P-O	1262	Bande forte (P-O) élongation asymétrique
P-O	1092	Bande forte (P-O) élongation symétrique
C-N	1220-1020	C-N, élongation, amine aliphatique
C-O	1050-1000	C-O Elongation
C-H	860-800	C-H déformation hors du plan

**Figure IV.2.19** : Spectre IR des microsphères chitosan phosphorylé + chitosan acide

Sur la figure IV.2.22, nous avons tenté de regrouper les spectres des différentes microparticules en les comparant avec le spectre de Spiramycine en tant que référence, dans le but de mettre en évidence les bandes du principe actif dans les microparticules.

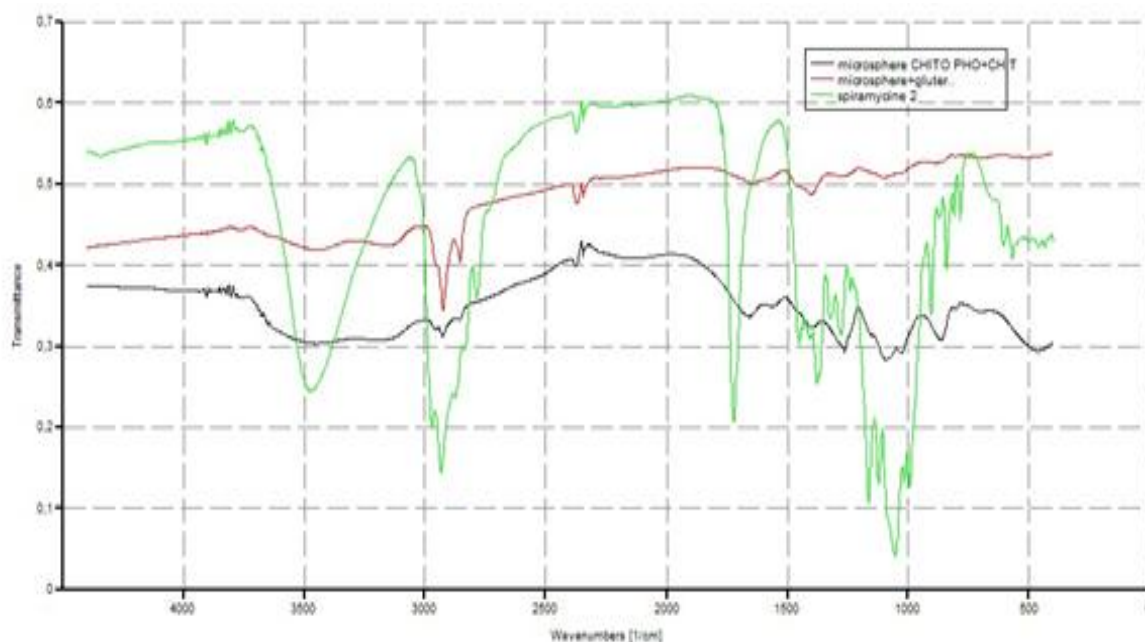


Figure IV.2.22 : Comparaison des spectres IR des microparticules au spectre de Spiramycine seule.

En analysant les spectres IR, nous avons remarqué un décalage des différentes bandes caractéristiques de Spiramycine, également disparitions des bandes, probablement due aux différentes interactions. Ceci prouve que notre antibiotique a probablement était encapsulée dans la matrice Chit-Phos/HPMS.

Nous pouvons donc dire qu'il ya la présence des groupements fonctionnelles de spiramycine dans les microsphères :

- 3000 qui représentent une bande de liaison OH lié avec un amine primaire.
- 2400 (C=O) élongation asymétrique (moyenne)
- 1200 élongations de liaison C-N
- 1092 élongations symétriques et asymétriques de liaison P-O

IV.2.4.3.Détermination du taux d'encapsulation

le taux d'encapsulation est obtenus par une analyse UV-visible, le spectre obtenu sur la figure IV.2.20 montre que le Spiramycine possède une importante bande d'absorption UV entre 200 et 340 nm, avec une absorbance maximale située à une longueur d'onde maximale de 290 nm, et d'autre bande moins intense successivement à 250 nm, 350nm . Mais, la plus spécifique de ce principe actif est la bande située à 290 nm, puisqu'elle n'interfère pas en général avec les bandes du chitosane qui comporte une bande entre 200 et 211 nm) qui risquent de masquer celle du principe actif à 290 nm.

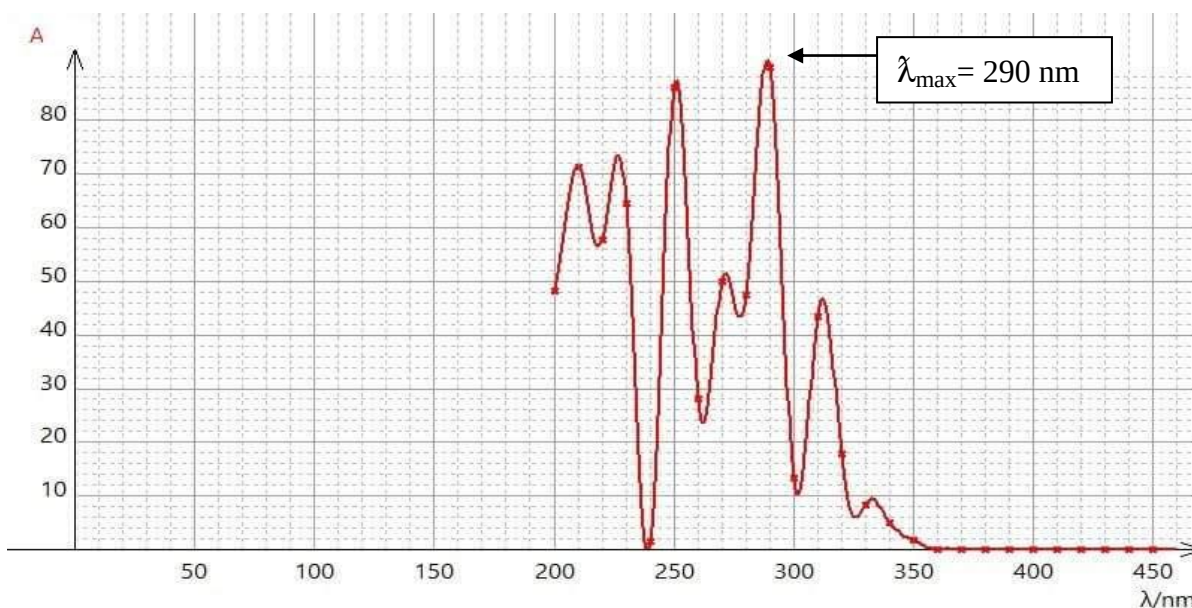


Figure IV.2.20 : Spectre d'absorption UV-Visible de Spiramycine dans l'eau distillé

La variation de l'absorbance pour une longueur d'onde maximale (290 nm), pour des solutions aqueuses de Spiramycine à différentes concentrations, sont résumés sur le tableau dans les Annexes (1). À partir de ces valeurs nous avons tracé la courbe d'étalonnage représenté sur la figure IV.2.21.

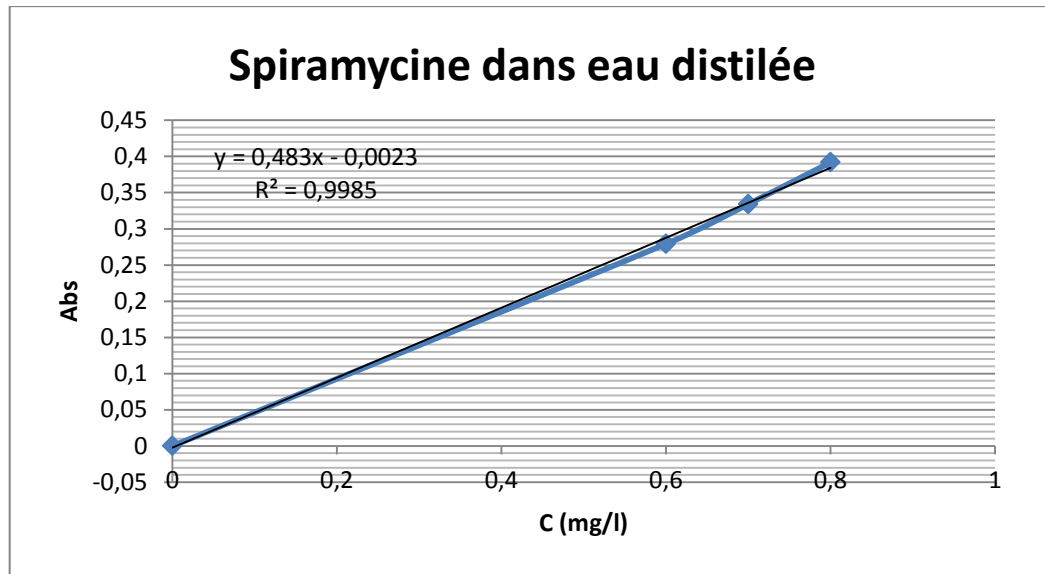


Figure IV.2.21 : La courbe d'étalonnage de spiramycine à $\lambda_{\text{max}} = 290 \text{ nm}$ dans l'eau distillée

La courbe d'étalonnage obtenue est une droite dont la pente égale à 0,483 avec un coefficient de corrélation $R = 0.998$. Par la comparaison avec la loi de BEER-LAMBERT, on trouve : La pente = a (absorptivité) = $0,483 \text{ g}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$

Les taux d'encapsulation ont été déterminés par rapport à la courbe d'étalonnage de principe actif dans l'eau distillée.

Le pourcentage d'encapsulation est défini par la proportion de molécule associée aux véhicules par rapport à la quantité initialement présente. Il est exprimé par la relation suivante :

$$E (\%) = \frac{Ci - C(ms)}{Ci} \times 100$$

C_i (mg/l): est la concentration initiale de Spiramycine introduite au départ.

C (ms) (mg/l) : est la concentration de Spiramycine dans les microsphères à la fin du process.

Une autre formulation du taux d'encapsulation peut être faite en fonction des masses de Spiramycine. Pour cela, nous pouvons écrire (équation IV.2.2) :

$$E (\%) = \frac{m_i - m(ms)}{m_i} \times 100$$

m_i (mg): est la masse ou dose (100mg) initiale de Spiramycine introduite au départ.

m (ms) (mg) : est la masse de Spiramycine dans les microsphères à la fin du process.

Tableau IV.2.17 : le pourcentage d'encapsulation

Microsphères	Chitosan phosphorylé avec Glutaraldhyde	Chitosan phosphorylé sans Glutaraldhyde	Chitosan phosphorylé +chitosan avec Glutaraldhyde	Chitosan phosphorylé +chitosan avec Glutaraldhyde	Chitosan natif
E (%)	50%	20%	98%	81 %	51%

A partir des résultats obtenus ,on peut déduire que les microsphères à base de chitosan phosphorylé et chitosan en présence du réticulant le glutaraldéhyde ont une meilleure encapsulation 98 %, c'est pourquoi nous les avons utiliser dans les tests in vitro et l'anti bactérien .

IV.2.4.4. Gonflement et libération de Spiramycine et des microsphères dans les différents milieux physiologiques

a.Test de gonflement

Afin d'évaluer la capacité de résistance des matrices élaborées vis-à-vis des milieux gastrique et intestinal, des test de gonflement sont réalisés.

Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous

- Dans le milieu Gastrique (pH= 1,2)

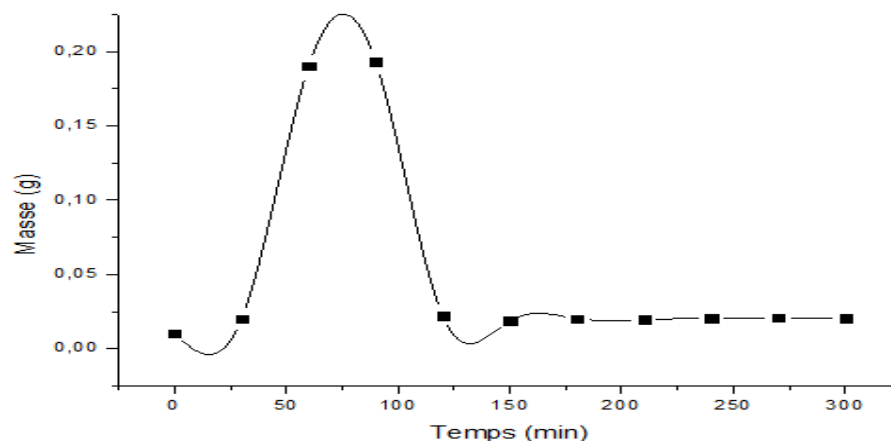
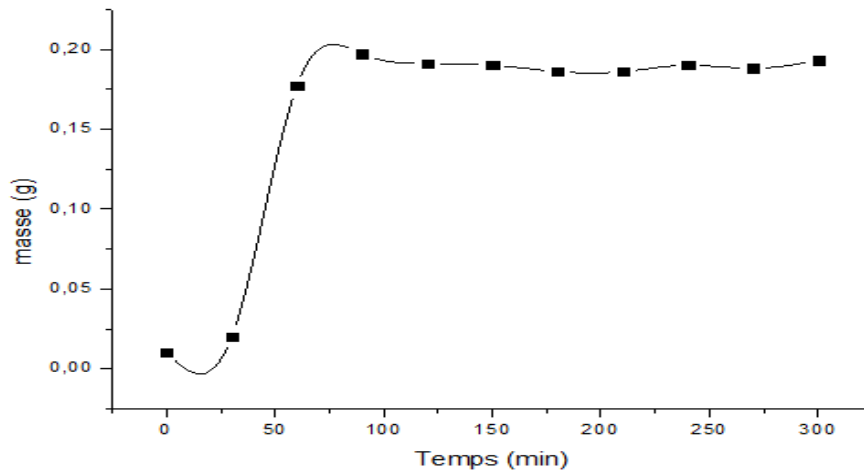


Figure IV.2.23 : Gonflement des microsphères dans le milieu gastrique,

- **Dans le milieu intestinal (pH=6,8)**

**Figure IV.2.24 :** Gonflement des microsphères dans le milieu intestinal

D'après les résultats, on peut observer que les courbes comprennent trois grandes parties :

-une première partie où on remarque une forte augmentation de la masse des microsphères ($m = 0,190$ g pour le milieu gastrique) et ($m = 0,177$ g pour le milieu intestinal) comparant avec la masse du départ ($m = 0,010$ g) entre 30-90 mn ; due à la diffusion de HCl et NaOH à l'intérieure de la matrice .

-Dans la deuxième partie on observe une diminution remarquable dans le milieu gastrique en 120mn cela signifie que le Spiramycine est entrain de se libéré dans le milieu .

-Troisième partie, la masse se fixe à 0,19 g dans le milieu intestinal ce qui implique que toute la quantité de Spiramycine est libérée des microsphères où le milieu est saturé idem pour le milieu gastrique $m = 0,02$ g .

Suite à ces résultats on peut dire que le principe actif est dissous ou dispersé au sein de la matrice polymère sans être capable d'en sortir dans les premières minutes. Avec l'entrée du solvant, le polymère solide à l'état vitreux, gonfle.

b. Test de libération.

Ce test est réalisée pour évaluer la cinétique de libération de Spiramycine dans les milieux simulés gastrique et intestinal à travers les matrices élaborées.

Le Spiramycine a généralement une concentration maximale entre 0,4 et 1,4 mg / L et un volume de distribution supérieur à 300L . Les concentrations atteintes dans les os, les muscles, les voies respiratoires et la salive dépassent ceux trouvés dans sérum. La pénétration intracellulaire de la spiramycine est également rapide et étendue, avec les concentrations dans les macrophages alvéolaires 10 à 20 fois plus concentrations sériques simultanées. [60,61]

Pour faire cette étude , nous avons tout d'abord déterminé la longueur d'onde maximale d'absorption de la spiramycine dans le milieu à pH= 1,2 et pH=6,8 .

b.1. Détermination de la longueur d'onde

Cette donnée est obtenue par la méthode de balayage et les résultats sont présentés par les figures (Fig.IV.2.25) et (Fig.IV.2.26) ci après

- Dans le milieu gastrique à pH=1,2

On remarque que la bande la plus caractéristique de Spiramycine est située pratiquement à la même valeur 270nm. Ces résultats montrent que le pH à peu d'influence sur la structure chimique de Spiramycine, qui subit peu de réarrangement des principaux groupements fonctionnels en milieu fortement acide (Voir figure IV.2.25).

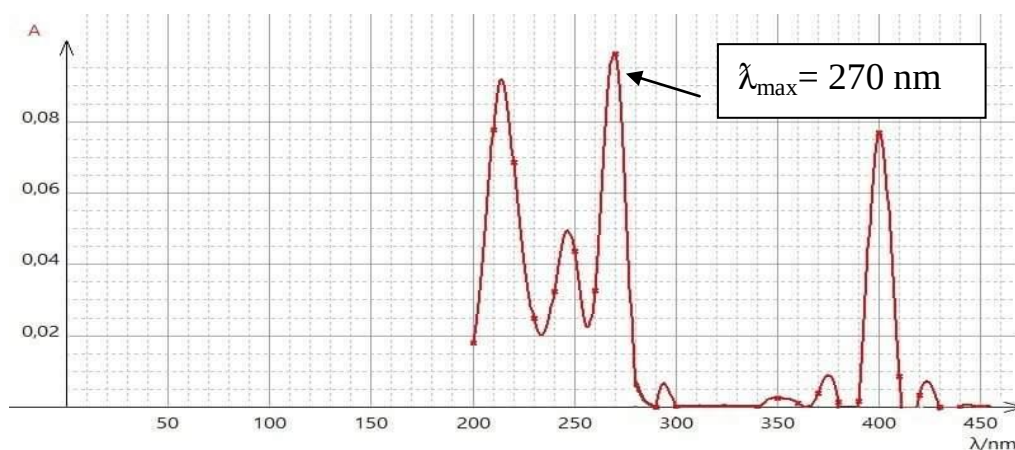


Figure IV.2.25 : Spectre d'absorption UV-Visible de Spiramycine dans le milieu (gastrique pH=1,2)

- **Dans le milieu intestinal à pH=6,8**

L'examen du spectre UV montre qu'il existe peu d'écarts entre les bandes d'absorption dans le milieu tampon pH=6,8 et les autres milieux précédemment cités. On note cependant un léger déplacement de la principale bande d'absorption vers une longueur d'onde maximale estimée à 270nm. On conclut que les positions des bandes d'absorption UV de Spiramycine sont peu influencées par la valeur du pH

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

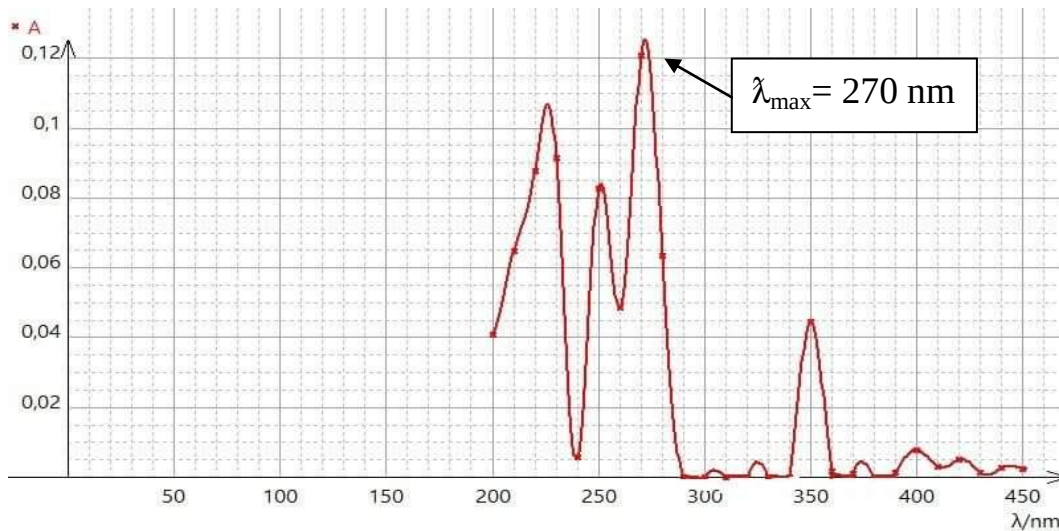


Figure IV.2.26 : Spectre d'absorption UV-Visible de Spiramycine dans le milieu (intestinal pH=6,8)

b.2.courbes d'étalonnages

L'étalonnage est réalisé en utilisant la méthode de dilutions.

Les résultats des courbes d'étalonnages de Spiramycine à $\lambda_{\max} = 290 \text{ nm}$ dans le milieu pH =1,2 et pH=6,8 sont représentés sur les figures IV.2.27 et IV.2.28

Ces figures présentent une droite dont l'équation est :

Pour le milieu gastrique :

$$y = 0,785 x \quad (\text{Équation VI.2.2})$$

pour le milieu intestinal :

$$y = 0,165 x + 0,002 \quad (\text{Équation VI.2.3})$$

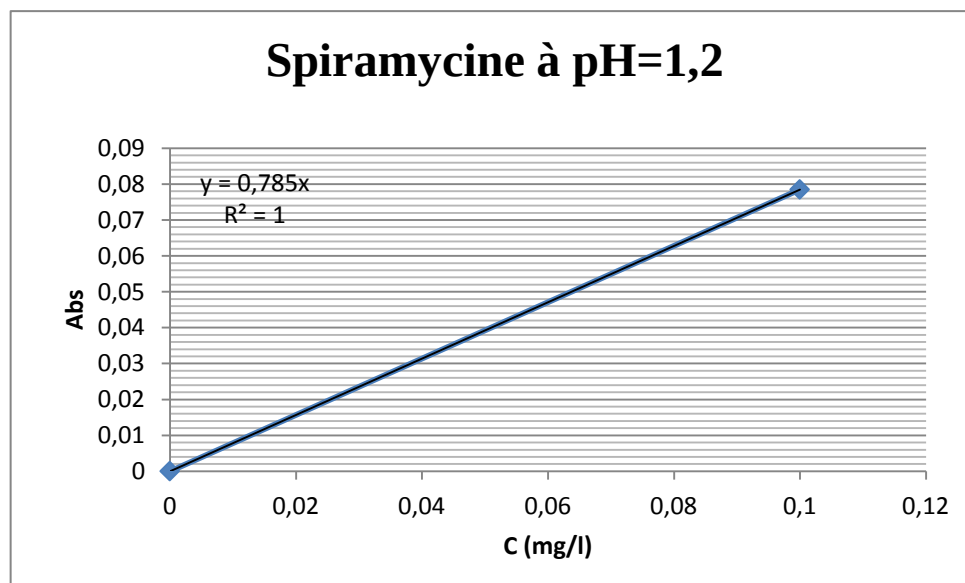


Figure IV.2.27 : Courbe d'étalonnage de Spiramycine à $\lambda_{\max} = 270$ nm dans le milieu gastrique (pH =1,2)

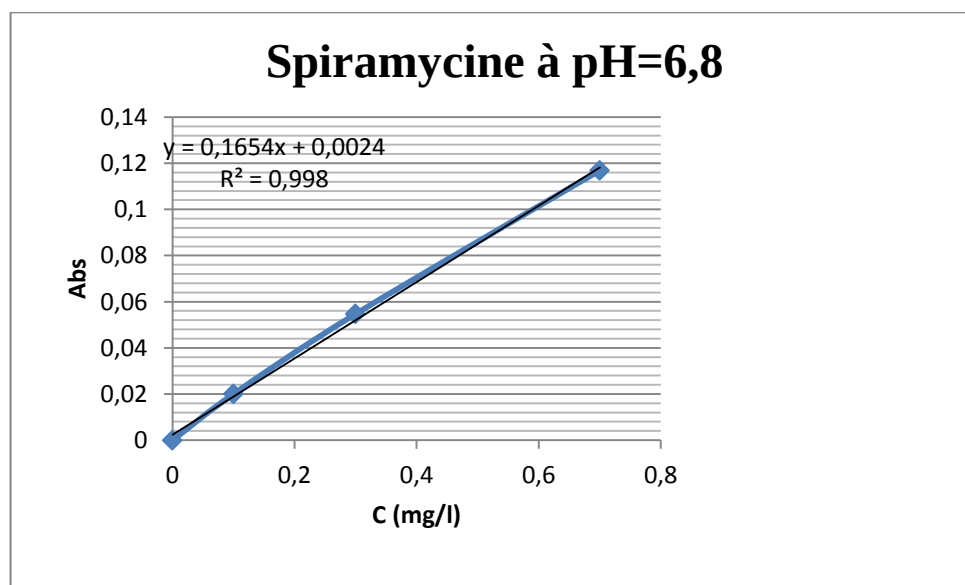


Figure IV .2.28 : Courbe d'étalonnage de Spiramycine à $\lambda_{\max} = 270$ nm dans le milieu intestinal (pH =6,8)

en utilisant la courbe d'étalonnage, les valeurs de libération sont représentées par la figure VI .2.27 et VI.2.28

- **Libération dans le milieu gastrique**

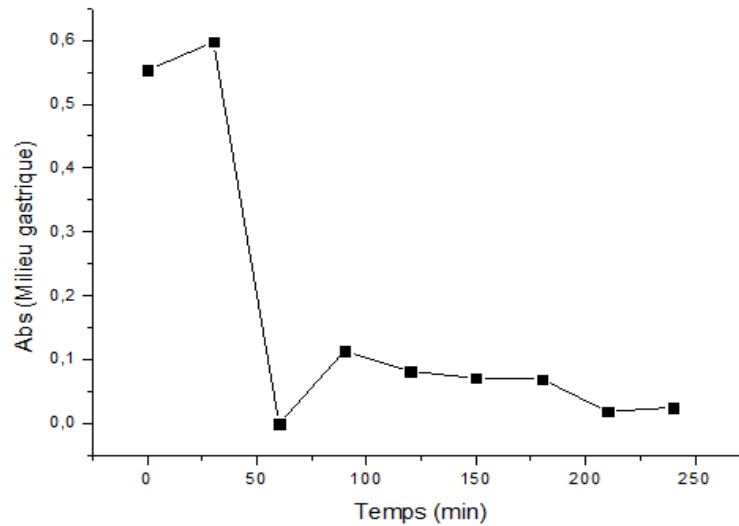


Figure IV.2.29 : Profil de libération de Spiramycine dans le milieu gastrique

- **Libération dans le milieu intestinal**

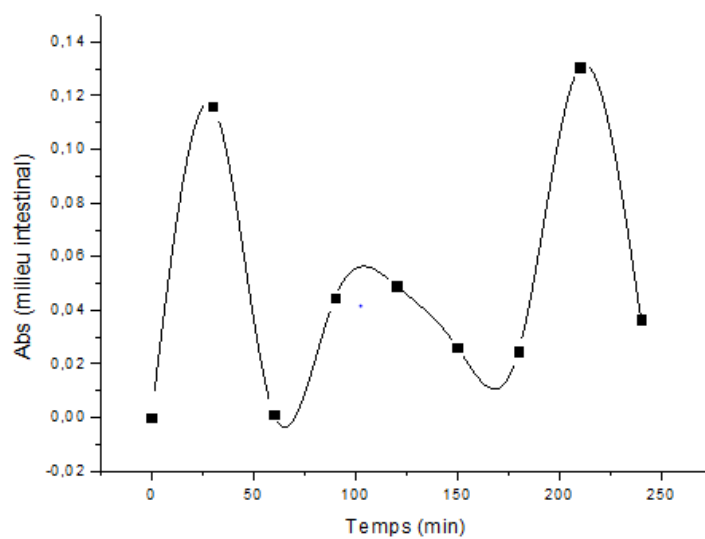


Figure IV.2.30 : Profil de libération de Spiramycine dans le milieu intestinal

IV.2.4.5 Le taux de libération dans le milieu gastrique et intestinal

- **Dans le milieu gastrique (pH=1,2)**

La figure IV.2.31 représente la concentration de Spiramycine libéré des microparticules dans le milieu gastrique en fonction du temps.

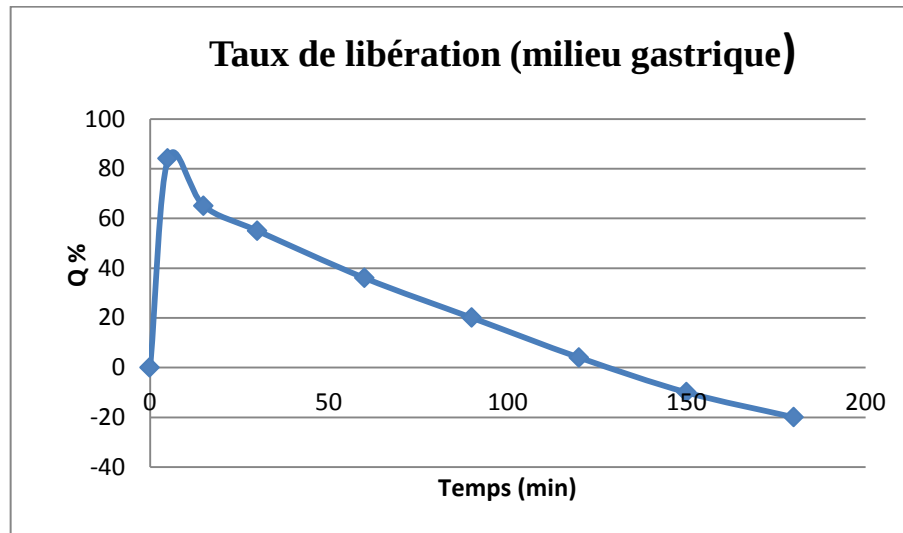


Figure IV.2.31: Taux de libération de Spiramycine dans un milieu gastrique.

- **Dans le milieu intestinal (pH=6,8)**

Le taux de libération du Spiramycine dans le milieu intestinal est exprimé dans la figure IV.2.32.

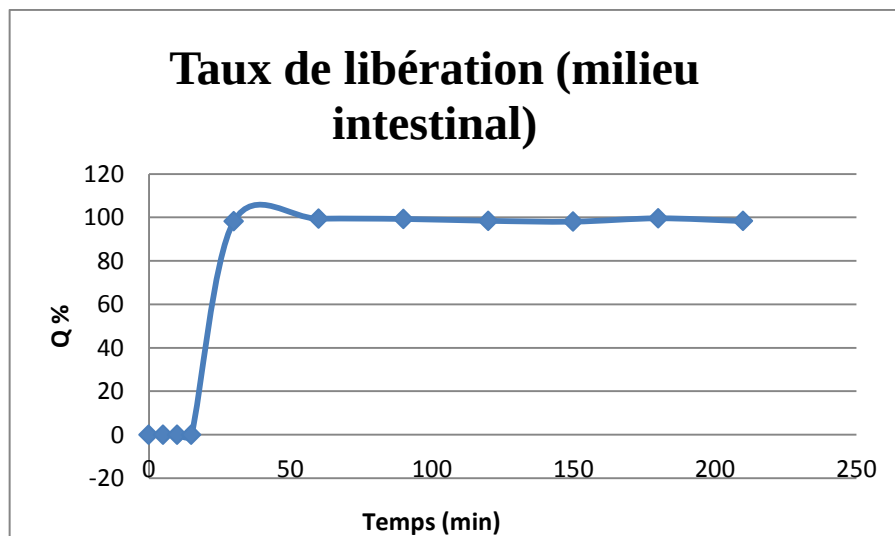


Figure IV.2.32 : Taux de libération dans un milieu intestinal.

Nous pouvons diviser aussi les courbes de libération en trois parties:

- La première partie, on remarque que la libération est importante dans le milieu gastrique .

Dans ce cas la libération est favorisée par la différence de concentration en Spiramycine entre le solvant de dissolution (HCl) et le milieu interne (la matrice du polymère) ; par contre on note une absence totale de libération dans le milieu intestinal, due à une diffusion ralentie des molécules encapsulées du PA existant au sein de la matrice ;

- Dans la deuxième partie, la libération est plus faible que la première partie dans le milieu gastrique à partir de 30mn et qui arrive jusqu'à -20 % , ce qui implique l'abaissement de différence de concentration en PA entre les deux milieux ; contrairement au milieu intestinal où une libération très remarquable de Spiramycine est notée 98 % ;

- Dans la troisième partie on constate une élévation de quantité de Spiramycine libérée à partir de 3h dans le milieu gastrique et une libération presque constante dans le milieu intestinal ; due à la saturation de milieu, ce qui implique que la quantité encapsulée est presque absente dans les microsphères .

La comparaison des paramètres pharmacocinétiques de spiramycine avec ceux obtenus du test in vitro sont illustrés dans le tableau IV.2.18.

Tableau IV.2.18 : La comparaison des paramètres pharmacocinétiques de spiramycine avec ceux obtenus du test in vitro

Paramètres	Théorique	Gastrique	Intestinal
Concentration maximale mg/L	0,4 à 1,4	$9,6 \times 10^{-5}$	$2,3 \times 10^{-3}$

IV.2.4.6. Test antimicrobiens

Les test antibacteriens ont été effectués dans le but de confirmer d'une part l'encapsulation de spiramycine dans les microsphères et d'autre part connaitre la manière dont est lié le principe actif avec la membrane.

la résistance des bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) utilisées dans le test aux effets de Spiramycine est plus élevée . Ceci est expliqué par la faible concentration du principe actif libéré .



Figure IV.2.33 : sensibilité des bactéries (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

IV.2.4.7. Conclusion

La modification chimique de chitosan a été réalisée en utilisant un acide phosphorique et en étudiant l'influence des paramètres suivants: les proportions stœchiométriques, la température, le temps de réaction, le choix des solvants (acétone, formaldéhyde, éthanol). D'après les résultats tirés ; la phosphorylation dans les conditions de $T= 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t= 3\text{H}$ avec un excès d'éthanol semble la meilleure , ce qui nous a permis d'encapsuler notre antibiotique le Spiramycine .

Ce qu'on a pu conclure après l'étape d'encapsulation en utilisant le chitosan obtenus lors de synthèse que l' association des 2 biopolymères que sont la chitosan et le chitosan phosphorylé permettra non seulement de protéger le Spiramycine , mais aussi de prolonger le temps de résidence des particules dans l'intestin . Ceci due à l'utilisation de glutaraldéhyde pour consolider l'enrobage polymérique , et lui apporter de meilleures propriétés mécaniques dans le but de protéger les particules .

On peut également noter la vitesse de libération du principe actif est proportionnelle à celle de la pénétration du solvant dans la matrice à base de chitosan phosphorylé + chitosan natif .

Conclusion générale

Le développement des systèmes de libération contrôlée ou prolongée est un outil pour optimiser l'effet thérapeutique, en maximisant la biodisponibilité des médicaments classiques et réduire les effets secondaires. La recherche dans le domaine des systèmes à libération contrôlée, est en pleine effervescence. Les systèmes développés dans le futur répondront de plus en plus à la demande d'une libération constante de principe actif sur de longues périodes de temps.

Cependant, l'inconvénient que présente le matériau utilisé comme matière première dans notre étude d'encapsulation est la solubilité limitée dans l'eau. Cette dernière joue à ce niveau un rôle important, où la vitesse de libération d'une substance est directement proportionnelle à sa solubilité dans le milieu de dissolution.

A travers les résultats obtenus lors de cette modeste étude, il ressort que ce qui suit :

La phosphorylation du chitosan par l'acide phosphoreux en présence de formaldéhyde peut être confirmée. En effet, on a pu observer qu'à partir des analyses FTIR, l'apparition des bandes P=O vers 1350 cm^{-1} dans le spectre du produit obtenu, par synthèse, que la phosphorylation du chitosan a eu lieu. De plus la solution aqueuse résultante de la synthèse qui paraît visqueuse, confirme l'aboutissement de la synthèse.

Par ailleurs, l'usage du chitosan phosphorylé dans l'encapsulation de la spiramycine par deux méthodes : émulsion et gélification de goutte et qui a conduit aux microsphères a de plus, confirmé la réussite de la synthèse.

- L'analyse FTIR opérée sur les microparticules obtenues a montré l'apparition des nouvelles bandes appartenant à la structure saccharidique vers 1082 cm^{-1} . On a pu observer également des pics caractéristiques de la spiramycine confirmant ainsi la présence du principe actif dans les microparticules. D'autres résultats relatifs à l'encapsulation peuvent être notés.
- Un meilleur taux d'encapsulation (98 %) a été obtenu pour les microsphères obtenues par l'usage de quantités équimolaires des deux polymères, le chitosan

Conclusion générale et Perspectives

phosphorylé et lechitosan natif avec les deux réticulants l'héxamétaphosphate de sodium et le glutaraldéhyde.

- Des tests de gonflement des microsphères dans les milieux simulés gastrique et intestinal ont montré une capacité de résistance des microsphères in vitro. De plus les tests de libération des microsphères ont confirmé la diffusion de la spiramycine à travers la paroi polymérique formée.

En parallèle à cette étude expérimentale, le travail sur logiciel **GAUSSIAN 09** en utilisant la méthode DFT (DensityFunctional Theory), avec la fonctionnelle B3LYP et une base de fonctions atomique 6-31++G (d,p), il a été conclu

- L'optimisation de la structure de Chitosane et de Chitosane phosphorylé pour une conformation stable des molécules a pu être réalisée. Cette étude a permis d'obtenir un certain nombre de données intéressantes telles que les longueurs des liaisons, les angles de valence formés par trois atomes liés, les angles dièdres formés par quatre atomes successifs, les paramètres électroniques et énergétiques. En comparant les molécules étudiées dans les deux phases (liquide-gaz), on a pu constater qu'il existe une différence des longueurs des liaisons entre elles.
- La méthode DFT nous a permis également de connaître des différents paramètres physico-chimiques des molécules.
- La simulation nous a confirmé de plus que le chitosane modifié par phosphorylation a une meilleure solubilité dans l'eau par rapport au chitosan naturel en tenant compte des moments dipolaires les plus faibles (0,9428 CNG, 1,5026 CNL) obtenus, contrairement au chitosan synthétisé qui possède un moment dipolaire plus fort (5,0818 CPG, 2,5650 pour CPL).
- Il a été constaté également par l'estimation du paramètre que la molécule de chitosan phosphorylé présente une stabilité meilleure par rapport au chitosan natif.
- Enfin, on peut dire que les résultats de la méthode DFT confortent bien ceux obtenus dans l'étude expérimentale.

Perspectives

Ce mémoire , comme toutes les autres recherches, peut donner lieu à de nombreux autres travaux.

Un travail complémentaire permettrait d'aboutir à l'amélioration et à l'optimisation de la méthode de synthèse du chitosane phosphorylé.

Des analyses éventuelles donnant plus de détails sur le produit obtenu à savoir:

- ❖ Une analyse DRX (diffraction des rayons X) corroborera l'aboutissement de la synthèse et de s'informer sur les :
 - Structures.
 - les phases
 - les orientations privilégiées du cristal (texture)
 - la taille moyenne du grain, la cristallinité .
- ❖ une analyse MEB (le microscope électronique à balayage) est nécessaire . Elle permet révéler les informations relatives à la surface de la matrice et la porosité

Nous pensons qu'il reste encore des travaux ultérieurs indispensable afin d'arriver à appréhender les différents aspects relatifs à la structure et la composition de la matrice polymérique ainsi que le comportement des systèmes préparés à base du chitosan phosphorylé invitro et invivo en considérant l'influence de:

- la nature du principe actif
- la nature et concentration des réticulants
- des ratios polymère /PA

Annexes

1. Les tableaux des paramètres géométriques calculés par Gaussian09

Tableau IV.1.1 : Paramètres géométriques (Longueurs de liaison) relatifs au CNL
CNG, CPL, CPG.

Chitosane liquide		Chitosane gaz		Chito phosphorylé liquide		Chito phosphorylé gaz	
Liaison	Longueur (Å)	liaison	longueur (Å)	Liaison	Longueur (Å)	Liaison	Longueur (Å)
C1-C2	1.5306	C1-C2	1.5324	C1-C2	1.5374	C1-C2	1.5403
C1-C5	1.5277	C1-C5	1.5283	C1-C5	1.5305	C1-C5	1.5293
C1-H7	1.0993	C1-H7	1.0994	C1-H7	1.1016	C1-H7	1.0997
C1-O19	1.4338	C1-O19	1.4359	C1-O19	1.4223	C1-O19	1.4397
C2-C3	1.5308	C2-C3	1.5311	C2-C3	1.5384	C2-C3	1.5415
C2-H6	1.1029	C2-H6	1.1013	C2-H6	1.0977	C2-H6	1.1004
C2-N21	1.4641	C2-N23	1.4654	C2-N21	1.4687	C2-N21	1.4635
C3-O10	1.1046	C3-H10	1.105	C3-H10	1.103	C3-H10	1.105
C3-O11	1.4243	C3-O11	1.4199	C3-O11	1.4213	C3-O11	1.4139
C3-O24	1.3955	C3-O21	1.399	C3-O23	1.3945	C3-O23	1.3964
C4-C5	1.5359	C4-C5	1.5381	C4-C5	1.5362	C4-C5	1.5392
C4-H8	1.1024	C4-H8	1.1017	C4-H8	1.102	C4-H8	1.1019
C4-O11	1.4301	C4-O11	1.4321	C4-O11	1.4345	C4-O11	1.4314
C4-C12	1.5181	C4-C12	1.5175	C4-C12	1.5287	C4-C12	1.518
C5-H9	1.1024	C5-H9	1.1014	C5-H9	1.1003	C5-H9	1.0989
C5-O17	1.4204	C5-O17	1.4227	C5-O17	1.4204	C5-O17	1.4237
C12-H13	1.0979	C12-H13	1.0967	C12-H13	1.0994	C2-H13	1.0966
C12-H14	1.1005	C12-H14	1.0994	C12-H14	1.0999	C12-H14	1.0991
C12-O15	1.4233	C12-O15	1.428	C12-O15	1.4214	C12-O15	1.4269
O15-H16	0.966	O15-H16	0.9649	O15-H16	0.9662	O15-H16	0.965
O17-H18	0.97	O17-H18	0.9687	O17-H18	0.9698	O17-H18	0.9676
O19-H20	0.9657	O19-H20	0.9656	O9-H20	0.9674	O19-H20	0.9691
N21-H22	1.0179	O21-H22	0.9676	O19-O26	3.097	N21-H22	1.0173
N21-H23	1.0178	N23-H24	1.0175	N12-H22	1.0158	N21-P25	1.6744
O24-H25	0.9676	N23-H25	1.0167	N21-P25	1.6584	O23-H24	0.9684
				O23-H24	0.9686	P25-O26	1.6111
				P25-O26	1.6225	P25-O28	1.6489
				P25-O28	1.6165	P25-O30	1.4798
				P25-O30	1.4898	O26-H27	0.9785
				O26-H27	0.9693	O28-H29	0.9684
				O28-H29	0.9698		

Annexes

Tableau IV.1.2 : Paramètres géométriques (Angles) relatifs au CNL, CNG,CPL,CPG

Chitosane liquide		Chitosane gaz		Chito phosphorylé liquide		Chito phosphorylé gaz	
Liaison	Angle °	Liaison	angle (°)	Liaison	Angle °	Liaison	Angle °
C2-C1-C5	111.3743	C2-C1-C5	111.3405	C2-C1-C5	112.2371	C2-C1-C5	112.5868
C2-C1-H7	108.5737	C2-C1-H7	108.6388	C2-C1-H7	107.2406	C2-C1-H7	108.2809
C2-C1-O19	112.3159	C2-C1-O19	112.2908	C2-C1-O19	113.6564	C2-C1-O19	113.0329
C5-C1-H7	108.0759	C5-C1-H7	108.3465	C5-C1-H7	107.6259	C5-C1-H7	107.7084
C5-C1-O19	106.8384	C5-C1-O19	107.0482	C5-C1-O19	105.9894	C5-C1-O19	106.551
H7-C1-O19	109.5679	H7-C1-O19	109.0821	H7-C1-O19	109.9552	H7-C1-O19	108.4899
C1-C2-C3	107.9459	C1-C2-C3	107.4023	C1-C2-C3	106.9999	C1-C2-C3	106.5838
C1-C2-H6	108.3516	C1-C2-H6	108.8659	C1-C2-H6	108.8084	C1-C2-H6	108.7942
C1-C2-N21	110.201	C1-C2-N23	110.2243	C1-C2-N21	113.9136	C1-C2-N21	113.2853
C3-C2-H6	106.3475	C3-C2-H6	106.4595	C3-C2-H6	107.8054	C3-C2-H6	107.5683
C3-C2-N21	110.0679	C3-C2-N23	110.4693	C3-C2-N21	108.1902	C3-C2-N21	109.2172
H6-C2-N21	113.706	H6-C2-N23	113.1928	H6-C2-N21	110.8811	H6-C2-N21	111.1412
C2-C3-O10	109.7322	C2-C3-H10	110.234	C2-C3-H10	108.9407	C2-C3-H10	108.7722
C2-C3-O11	110.46	C2-C3-O11	110.2938	C2-C3-O11	111.3137	C2-C3-O11	111.7331
C2-C3-O24	108.1058	C2-C3-O21	108.2592	C2-C3-O23	108.3287	C2-C3-O23	108.3763
O10-C3-O11	109.1116	H10-C3-O11	109.0485	H10-C3-O11	108.9482	H10-C3-O11	109.0384
O10-C3-O24	111.2717	H10-C3-O21	110.7816	H10-C3-O23	111.7357	H10-C3-O23	111.1631
O11-C3-O24	108.1454	O11-C3-O21	108.199	O11-C3-O23	107.5893	O11-C3-O23	107.7731
C5-C4-H8	108.6888	C5-C4-H8	108.9167	C5-C4-H8	109.2414	C5-C4-H8	108.8858
C5-C4-O11	108.9629	C5-C4-O11	108.861	C5-C4-O11	108.3862	C5-C4-O11	109.2953
C5-C4-C12	112.4292	C5-C4-C12	112.6596	C5-C4-C12	115.1741	C5-C4-C12	112.5287
H8-C4-O11	110.17	H8-C4-O11	109.9943	H8-C4-O11	110.1902	H8-C4-O11	109.8729
H8-C4-C12	108.4336	H8-C4-C12	108.2574	H8-C4-C12	108.0948	H8-C4-C12	108.2848
O11-C4-C12	108.1484	O11-C4-C12	108.1334	O11-C4-C12	105.6674	O1-C4-C12	107.9475
C1-C5-C4	109.4685	C1-C5-C4	109.2247	C1-C5-C4	109.8935	C1-C5-C4	109.4219
C1-C5-H9	108.4686	C1-C5-H9	108.7968	C1-C5-H9	108.2332	C1-C5-H9	108.9566
C1-C5-O17	110.3324	C1-C5-O17	110.8695	C1-C5-O17	109.8393	C1-C5-O17	110.724
C4-C5-H9	108.4992	C4-C5-H9	108.9521	C4-C5-H9	108.128	C4-C5-H9	109.0886
C4-C5-O17	109.3757	C4-C5-O17	108.7564	C4-C5-O17	109.7952	C4-C5-O17	107.7229
H9-C5-O17	110.6615	H9-C5-O17	110.2108	H9-C5-O17	110.9172	H9-C5-O17	110.895
C3-O11-C4	113.5556	C3-O11-C4	113.6286	C3-O11-C4	113.7784	C3-O11-C4	113.8017
C4-C12-H13	108.0365	C4-C12-H13	108.225	C4-C12-H13	107.1619	C4-C12-H15	108.3065
C4-C12-H14	108.5814	C4-C12-H14	108.7473	C4-C12-H14	109.8065	C4-C12-H14	108.7079
C4-C12-O15	108.6068	C4-C12-O15	108.2565	C4-C12-O15	108.7802	C4-C12-O15	107.9635
H13-C12-H14	108.1992	H13-C12-H14	109.202	H13-C12-H14	107.7123	H13-C12-H14	109.2351
H13-C12-O15	111.7192	H13-C12-O15	111.1787	H13-C12-O15	111.4902	H3-C12-O15	111.2638
H14-C12-O15	111.5908	H14-C12-O15	111.1503	H14-C12-O15	111.7787	H14-C12-O15	111.2765
C12-O15-	107.4832	C12-O15-	8.8519	C12-O15-	107.3548	C12-O15-	108.9574

Annexes

H16		H16		H16		H16	
C5-O17-H18	105.0939	C5-O17-H18	106.7302	C5-O17-H18	105.2151	C5-O17-H18	107.9681
C1-O19-H20	108.1603	C1-O19-H20	108.6334	C1-O19-H20	108.8664	C1-O19-H20	109.6053
C2-N21-H22	108.2691	C3-O21-H22	108.3092	C1-O19-O26	109.349	C2-N21-H22	111.7133
C2-N21-H23	108.4873	C2-N23-H24	109.3926	H20-O19-O26	94.7295	C2-N21-P25	125.6373
H22-N21-H23	105.8839	C2-N23-H25	109.9136	C2-N21-H22	111.3519	H22-N2-P25	110.6553
C3-O24-H25	108.0477	H24-N23-H25	106.6279	C2-N21-P25	127.1923	C3-O23-H24	108.0066
				H22-N21-P25	110.6	N21-P25-O26	107.3958
				C3-O23-H24	107.8147	N12-P25-O28	102.0032
				N21-P25-O26	110.8062	N21-P25-O30	114.8432
				N21-P25-O28	102.674	O26-P25-O28	103.2649
				N21-P25-O30	111.9931	O26-P25-O30	112.7463
				O26-P25-o30	100.4337	O28-P25-O30	115.3662
				O26-P25-O30	111.7928	P25-O26-H27	109.8384
				O28-P25-O30	118.283	P25-O28-H29	110.8079
				O19-O26-P25	82.4353		
				O19-O26-H27	152.1206		
				P25-O26-H27	109.8567		
				P25-O28-H29	112.1318		

Annexes

Tableau IV.1.3 : Paramètres géométriques (Angles dièdre) relatifs au CNL, CNG, CPL, CPG

Chitosane liquide		Chitosane gaz		Chito phosphorylé liquide		Chito phosphorylé gaz	
Liaison	Angle dièdral	Liaison	Angle dièdral e (°)	Liaison	Angle dièdral	Liaison	dièdral
C5-C1-C2-C3	-54.2896	C5-C1-C2-C3	- 55.2243	C5-C1-C2-C3	-52.9669	C5-C1-C2-C3	- 53.2705
C5-C1-C2-H6	60.4911	C5-C1-C2-H6	- 59.6663	C5-C1-C2-H6	-169.1935	C5-C1-C2-H6	- 168.994
C5-C1-C2-N21	-174.5209	C5-C1-C2-N23	- 175.6239	C5-C1-C2-N21	66.5485	C5-C1-C2-N2	66.8656
H7-C1-C2-C3	64.5929	H7-C1-C2-C3	64.0124	H7-C1-C2-C3	65.0284	H7-C1-C2-C3	65.701
H7-C1-C2-H6	179.3736	H7-C1-C2-H6	178.9029	H7-C1-C2-H6	-51.1982	H7-C1-C2-H6	- 50.0226
H7-C1-C2-N21	-55.6384	H7-C1-C2-N23	- 56.3873	H7-C1-C2-N21	-175.4562	H7-C1-C2-N21	- 174.1629
O19-C1-C2-C3	-174.0845	O19-C1-C2-C3	- 175.247	O19-C1-C2-C3	-173.2315	O19-C1-C2-C3	- 174.0756
O19-C1-C2-C6	-59.3038	O19-C1-C2-H6	- 60.3565	O19-C1-C2-H6	70.5419	O9-C1-C2-H6	70.2009
O19-C1-C2-N21	65.6842	O1-C1-C2-N23	64.3533	O19-C1-C2-N21	-53.7161	O19-C1-C2-N21	- 53.9395
C2-C1-C5-C4	54.7273	C2-C1-C5-C4	55.2153	C2-C1-C5-C4	54.443	C2-C1-C5-C4	54.1771
C2-C1-C5-H9	-63.4934	C2-C1-C5-H9	- 63.6027	C2-C1-C5-H9	-63.4348	C2-C1-C5-H9	- 65.0159
C2-C1-C5-O17	175.1419	C2-C1-C5-O17	175.0431	C2-C1-C5-O17	175.3359	C2-C1-C5-O17	172.7653
H7-C1-C5-C4	-64.4523	H7-C1-C5-C4	- 64.1954	H7-C1-C5-C4	-63.3236	H7-C1-C5-C4	- 65.1279
H7-C1-C5-H9	177.327	H7-C1-C5-H9	176.9866	H7-C1-C5-H9	178.7987	H7-C1-C5-H9	175.679
H7-C1-C5-O17	55.9623	H7-C1-C5-O17	55.6325	H7-C1-C5-O17	57.5693	H7-C1-C5-O17	53.4603
O19-C1-C5-C4	177.7162	O19-C1-C5-C4	178.2915	O19-C4-C5-C4	179.0601	O19-C1-C5-C4	178.6283
O19-C1-C5-H9	59.4955	O19-C1-C5-H9	59.4735	O19-C1-C5-H9	61.1824	O19-C1-C5-H9	59.4353
O19-C1-C5-O17	-61.8692	O19-C1-C5-O17	- 61.8806	O19-C1-C5-O17	-60.0469	O19-C1-C5-O17	- 62.7835
C2-C1-O19-H20	-91.1545	C2-C1-O19-H20	- 84.6787	C2-C1-O19-H20	-61.9186	C2-C1-O19-H20	- 61.7472
C5-C1-O19-H20	146.4447	C5-C1-O19-H20	152.8358	C2-C1-O19-O26	40.3413	C5-C1-O19-H20	174.0764
H7-C1-O19-H20	29.5969	H7-C1-O19-H20	35.806	C5-C1-O19-H20	174.3494	H7-C1-O19-H20	58.3568

Annexes

		H20					
C1-C2-C3-O10	-63.4323	C1-C2-C3-H10	- 62.6657	C5-C1-O19-O26	-83.3907	C1-C2-C3-H10	- 64.2199
C1-C2-C3-O11	56.9041	C1-C2-C3-O11	57.809	H7-C1-O19-H20	58.2999	C1-C2-C3-O11	56.2029
C1-C2-C3-O24	175.0489	C1-C2-C3-O21	176.015 2	H7-C1-O19-O26	160.5598	C1-C2-C3-O23	174.802 3
H6-C2-C3-O10	-179.5293	H6-C2-C3-H10	- 179.149 5	C1-C2-C3-H10	-64.0818	H6-C2-C3-H10	52.3243
H6-C2-C3-O11	-59.1929	H6-C2-C3-O11	- 58.6748	C1-C2-C3-O11	56.0769	H6-C2-C3-O11	172.747 1
H6-C2-C3-O24	58.9519	H6-C2-C3-O21	59.5314	C1-C2-C3-O23	174.1737	H6-C2-C3-O23	- 68.6535
N21-C2-C3-O10	56.8826	N23-C2-C3-H10	57.5786	H6-C2-C3-H10	52.8087	N21-C2-C3-H10	173.054 7
N21-C2-C3-O11	177.219	N23-C2-C3-O11	178.053 3	H6-C2-C3-O11	172.9674	N2-C2-C3-O11	- 66.5225
N21-C2-C3-O24	-64.6362	N23-C2-C3-O21	- 63.7405	H6-C2-C3-O23	-68.9357	N21-C2-C3-O23	52.0769
C1-C2-N21-H22	177.0618	C1-C2-N23-H24	166.703 2	N21-C2-C3-H10	172.7815	C1-C2-N21-H22	- 146.571 9
C1-C2-N21-H23	-68.4645	C1-C2-N23-H25	- 76.5416	N2-C2-C3-O11	-67.0598	C1-C2-N21-P25	74.6063
C3-C2-N21-H22	58.1179	C3-C2-N23-H24	48.166	N21-C2-C3-O23	51.037	C3-C2-N21-H22	- 27.9468
C3-C2-N21-H23	172.5916	C3-C2-N23-H25	164.921 2	C1-C2-N21-H22	-140.3445	C3-C2-N21-P25	- 166.768 6
H6-C2-N21-H22	-61.0701	H6-C2-N23-H24	- 71.1058	C1-C2-N21-P25	79.2233	H6-C2-N21-H22	90.5763
H6-C2-N21-H23	53.4035	H6-C2-N23-H25	45.6494	C3-C2-N21-H22	-21.5052	H6-C2-N21-P25	- 48.2455
C2-C3-O11-C4	-63.2938	C2-C3-O11-C4	- 63.9206	C3-C2-N21-P25	-161.9374	C2-C3-O11-C4	- 63.2692
O10-C3-O11-C4	57.4138	H10-C3-O11-C4	57.263	H6-C2-N21-H22	96.5193	H10-C3-O11-C4	56.9979
O24-C3-O11-C4	178.5857	O21-C3-O11-C4	177.836 3	H6-C2-N21-P25	-43.9128	O23-C3-O11-C4	177.773
C2-C3-O24-H25	172.0261	C2-C3-O21-H22	- 176.670 9	C2-C3-O11-C4	-63.8113	C2-C3-O23-H24	- 167.638 7
O10-C3-O24-H25	51.4638	H10-C3-O21-H22	62.3489	H10-C3-O11-C4	56.343	H10-C3-O23-H24	72.8742
O11-C3-O24-H25	-68.3593	O11-C3-O21-H22	-57.138	O23-C3-O11-C4	177.6471	O1-C3-O23-H24	- 46.5597
H8-C4-C5-C1	63.9673	H8-C4-C5-C1	64.0668	C2-C3-O23-H24	-176.4347	H8-C4-C5-C1	65.0822
H8-C4-C5-H9	-177.8311	H8-C4-C5-H9	- 177.211 9	H0-C3-O23-H24	63.5536	H8-C4-C5-H9	- 175.806 3
H8-C4-C5-	-57.029	H8-C4-C5-O17	-	O11-C3-O23-	-55.9906	H8-C4-C5-	-

Annexes

O17			57.0549	H24		O17	55.3549
O11-C4-C5-C1	-56.1065	O11-C4-C5-C1	-55.8691	H8-C4-C5-C1	64.3686	O11-C4-C5-C1	-54.9461
O11-C4-C5-H9	62.0951	O11-C4-C5-H9	62.8522	H8-C4-C5-H9	-177.6885	O11-C4-C5-H9	64.1653
O11-C4-C5-O17	-177.1027	O11-C4-C5-O17	-176.9908	H8-C4-C5-O17	-56.551	O11-C4-C5-O17	-175.3833
C12-C4-C5-C1	-175.9833	C12-C4-C5-C1	-175.8042	O11-C4-C5-C1	-55.7136	C12-C4-C5-C1	-174.8589
C12-C4-C5-H9	-57.7816	C12-C4-C5-H9	-57.083	O11-C4-C5-H9	62.2293	C2-C4-C5-H9	-55.7474
C12-C4-C5-O17	63.0205	C12-C4-C5-O17	63.074	O11-C4-C5-O17	-176.6331	C12-C4-C5-O17	64.704
C5-C4-O11-C3	61.9767	C5-C4-O11-C3	61.962	C12-C4-C5-C1	-173.7916	C5-C4-O11-C3	61.1646
H8-C4-O11-C3	-57.1778	H8-C4-O11-C3	-57.3038	C12-C4-C5-H9	-55.8487	H8-C4-O11-C3	-58.2556
C12-C4-O11-C3	-175.531	C12-C4-O11-C3	-175.3359	C12-C4-C5-O17	65.2889	C12-C4-O11-C3	-176.144
C5-C4-C12-H13	-48.7855	C5-C4-C12-H13	-46.4034	C5-C4-O11-C3	61.9998	C5-C4-C12-H13	-46.7634
C5-C4-C12-H14	68.3434	C5-C4-C12-H14	72.1138	H8-C4-O11-C3	-57.4883	C5-C4-C12-H14	71.8176
C5-C4-C12-O15	-170.1362	C5-C4-C12-O15	-167.0098	C12-C4-O11-C3	-174.029	C5-C4-C12-O15	-167.3497
H8-C4-C12-H13	71.4117	H8-C4-C12-H13	74.1046	C5-C4-C12-H13	156.9029	H8-C4-C12-H13	73.6423
H8-C4-C12-H14	-171.4594	H8-C4-C12-H14	-167.3781	C5-C4-C12-H14	40.181	H8-C4-C12-H14	-167.7767
H8-C4-C12-O15	-49.939	H8-C4-C12-O15	-46.5017	C5-C4-C12-O15	-82.4341	H8-C4-C12-O15	-46.944
O11-C4-C12-H13	-169.1336	O11-C4-C12-H13	-166.7578	H8-C4-C12-H13	-80.6409	O11-C4-C12-H13	-167.4533
O11-C4-C12-H14	-52.0047	O11-C4-C12-H14	-48.2405	H8-C4-C12-H14	162.6373	O11-C4-C12-H14	-48.8723
O11-C4-C12-O15	69.5157	O11-C4-C12-O15	72.6359	H8-C4-C12-O15	40.0221	O11-C4-C12-O15	71.9604
C1-C5-O17-H18	47.0696	C1-C5-O17-H18	49.5736	O11-C4-C12-H13	37.3123	C1-C5-O17-H18	53.7639
C4-C5-O17-H18	167.5398	C4-C5-O17-H18	169.681	O11-C4-C12-H14	-79.4095	C4-C5-O18-H18	173.3777
H9-C5-O17-H18	-72.9828	H9-C5-O17-H18	-70.9449	O11-C4-C12-O15	157.9753	H9-C5-O17-H18	-67.3148
C4-C12-O15-H16	179.7707	C4-C12-O15-H16	-178.2007	C1-C5-O17-H18	45.9812	C4-C12-O15-H16	-176.811

Annexes

H13-C12-O15-H16	60.7076	H13-C12-O15-H16	63.0492	C4-C5-O17-H18	166.9334	H13-C12-O15-H16	64.4717
H14-C12-O15-H16	-60.5707	H14-C12-O15-H16	-58.8276	H9-C5-O17-H18	-73.6222	H14-C12-O15-H16	-57.5954
				C4-C12-O15-H16	-177.254	C2-N21-P25-O26	-86.8659
				H13-C12-O15-H16	-64.7875	C2-N21-P25-O28	21.3403
				H14-C12-O15-H16	55.8366	C2-N21-P25-O30	146.8667
				C1-O19-O26-P25	-45.232	H22-N21-P25-O26	133.9558
				C1-O19-O26-H27	73.5664	H22-N21-P25-O28	-117.8379
				H20-O19-O26-P25	66.6652	H22-N21-P25-O30	7.6884
				H20-O19-O26-H27	-174.5363	N21-P25-O26-H27	47.681
				C2-N21-P25-O26	-93.6331	O28-P25-O26-H27	-59.6425
				C2-N21-P25-O28	12.8673	O30-P25-O26-H27	175.1807
				C2-N21-P25-O30	140.7903	N21-P25-O28-H29	156.0973
				H22-N21-P25-O26	125.6975	O26-P25-O28-H29	-92.5472
				H22-N21-P25-O28	-127.8021	O30-P25-O28-H29	30.9163
				H22-N21-P25-O30	0.1209		
				N21-P25-O26-O19	48.199		
				N21-P25-O26-H27	-105.9724		
				O28-P25-O26-O19	-59.7775		
				O28-P25-O26-H27	146.0511		
				O30-P25-O26-O17	173.8878		
				O30-P25-O26-H27	19.7165		
				N21-P25-O28-H29	-156.106		
				O26-P25-O28-H29	-41.8		
				O30-P25-O28-H29	80.0534		

2. Analyse qualitative par UV-Visible de Spiramycine

✓ Analyse qualitative de Spiramycine dans l'eau distillée

λ (nm)	Abs
200	0,0483
210	0,0713
220	0,0578
230	0,0646
240	0,0014
250	0,0862
260	0,0282
270	0,0499
280	0,0475
290	0,0898
300	0,0134
320	0,0435
330	0,0179
340	0,0084
350	0,0050
360	0,0017
370	0

✓ Analyse qualitative de Spiramycine dans le milieu gastrique (pH=1,2)

λ (nm)	Abs
200	0,0179
210	0,0777
220	0,0687
230	0,0248
240	0,0323
250	0,0436
260	0,0327
270	0,0989
280	0,0051
290	0
300	0
340	0
350	0

Annexes

360	0,0011
370	0,0039
380	0,0013
390	0,0016
400	0,0768
410	0,0086
420	0,0034
430	0

✓ **Analyse qualitative de Spiramycine dans le milieu intestinal
(tampon pH=6,8)**

λ (nm)	Abs
200	0,0408
210	0,0648
220	0,0876
230	0,0914
240	0,0056
250	0,0826
260	0,0485
270	0,1207
280	0,0633
290	0
300	0
310	0
320	0
330	0
340	0
350	0,0447
360	0,0018
370	0,0011
380	0
390	0,0012
400	0,0079
410	0,0030
420	0,0051
430	0,0013

3. Analyse quantitative par UV-Visible de Spiramycine

✓ Analyse quantitative de Spiramycine dans l'eau distillée

C (mg/l)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Abs $\lambda_{\text{max}} =$ 290 nm	0,3743	0,3970	0,3879	0,3352	0,3545	0,32782	0,3342	0,398

✓ Analyse quantitative de Spiramycine à pH =6,8(milieu intestinal)

C(mg/l)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Abs ($\lambda_{\text{max}} =$ 270 nm)	0,0220	0,0938	0,0547	0,0278	0,0332	0,0184	0,01169	0,0376

✓ Analyse quantitative de Spiramycine à pH =1,2 (milieu gastrique)

C(mg/l)	0,	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Abs ($\lambda_{\text{max}} =$ 270 nm)	0,075	0,0323	0	0,0399	0	0,0525	0,0242	0

4. Gonflement

✓ Dans le milieu Gastrique (pH= 1,2)

Temps (min)	Masse (g)
0	0,01
30	0,02
60	0,190
90	0,193
120	0,0220
150	0,019
180	0,0203
210	0,0197
240	0,0204
270	0,0209
300	0,0205

✓ Dans le milieu intestinal (pH=6,8)

Temps (min)	Masse (g)
30	0,01
60	0,02
90	0,177
120	0,197
150	0,191
180	0,190
210	0,186
240	0,186
270	0,190
300	0,188
330	0,193

5. Libération

✓ Dans le milieu gastrique

Temps (mn)	Abs
0	0,5533
30	0,5947
60	0
90	0,1138
120	0,0823
150	0,0709

Annexes

180	0,0697
210	0,0190
240	0,0253

✓ **Dans le milieu intestinal**

Temps (mn)	Abs (nm)
0	0
30	0,1161
60	0,0123
90	0,0447
120	0,0447
150	0,0491
180	0,0262
210	0,0247
240	0,1307
270	0,0365

6. Matériels



Plaque d'agitation magnétique avec chauffage



pH metre



Balance électronique



Centrifugeuse

Annexes



Spectrophotomètre UV



Spectrophotomètre IR

Références bibliographiques

Références

- [1] Richard J, Benoit J.P, Microencapsulation. Techniques d'Ingénieur, J2 210, 1-20 , 2000.
- [2] Walter J, Salsac A.V, Barthès-Biesel D, Le Tallec P. Coupling of finite element and boundary integral methods for a capsule in a Stokes flow. International Journal for Numerical Methods in Engineering. 83, 829-850 , 2010.
- [3] Welling Peter, G, Absorption of Drugs, in Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Third Edition. p. 19-33.
- [4] Siepmann, J, Siepmann, F, and Florence Alexander T, Factors Influencing Oral Drug Absorption and Drug Availability, in Modern pharmaceuticals. p. 117-154. (Boudendouna)
- [5] Patricia B. Malafaya · Frank Stappers, Rui L. Reis; Starch-based microspheres produced by emulsion crosslinking with a potential media dependent responsive behavior to be used as drug delivery carriers; 17: 371–377, 2006.
- [6] Alla Nesterenko, Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en microencapsulation, thèse de doctorat, Université de Toulouse, 2012.
- [7] Badaoui Fouzia , Comportement rhéologique de solutions de biopolymère – Application au Chitosane , au Poly(vinyle alcool) et à leurs mélanges , mémoire de magister , Université de Mohamed Bouguara, Boumerdes, 2012 .
- [8] Biomater J, Sci. , Chemical modification of chitosan by phosphorylation: an XPS, FT-IR and SEM study ; Polymer Edn, Vol. 16, No. 12, pp. 1575–1593 , 2005.
- [9] Taib Nabila, Contribution théorique des bastadines: Molécules d'intérêt biologique, mémoire de magister, Université Mohamed Boudiaf, Oran; 2016.
- [10] Mireille Defranceschi, Modélisation et simulation numérique en chimie du solide, principes et applications, Techniques d'Ingénieur, réf AF6040 V1, 2013.
- [11] Tayeb Souad, Calcul computationnel des modes vibrationnels d'un dérivé de l'adénine, Adéninium hémi sulfate hydrate, mémoire magister, université des frères Mentour, Constantine, 2015

Références bibliographiques

- [12] Bahnes Aicha, Étude de deux méthodes de premier Principe appliquées aux Heuslers, mémoire de magister en physique, Université des sciences et de la technologie, Oran, 2014.
- [13] Matet Marie, préparation de films à base de chitosane par voie fondue, thèse de doctorat; Université de Montréal; Montréal, 2014.
- [14] Rivas Araiza Rocio Nohemi , Hydrogels physiques de chitosane sous forme de macro fibres creuses et multi-membranaires , Mise en œuvre et étude microstructurale , Thèse de doctorat ,Université Claude Bernard Lyon , 2006 .
- [15] Zemoul Farid, études des propriétés physico mécaniques et thermiques d'un blende chitosane/PVA vieilli par rayon UV, mémoire de magister, Université M'Hammed Bougarra, Boumerdes, 2009.
- [16] Kadouche Slimane, Utilisation des biomatériaux dans le traitement des eaux, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammer,Tizi ousou, 2013.
- [17] Payet Linda, Viscoelasticité et structure de gel à base de chitosane-avec les propriétés diffusionnelles de macromolécules dans ces biogels, thèse de doctorat, Université de Paris, juin 2005.
- [18] Djelad Amal , Préparation des matériaux composites Chitosane- Zéolithes– Application dans l'adsorption du cuivre , thèse de doctorat, département de chimie, Université d'Oran , 2011 .
- [19]. Matevosyan, G.L, Yukha, Yu. S., and Zavlin, P. M, Phosphorylation of Chitosan, Russian Journal of General Chemistry, Vol. 73, No. 11, 2003.
- [20] Jayakumar, R Reis,R. L,Mano, J. F; Chemistry and Applications of Phosphorylated Chitin and Chitosan; e-Polymers, no. 035; 2006.
- [21] Remi Roux, Elaboration d'assemblages colloïdaux à partir de nanoparticules de poly (acide lactique) et de chitosane, thèse de doctorat, Université Claude Bernard, Lyon, juin 2013.
- [22] Colin L, Julien F, Lynda K, Mourad K, évaluation d'un procédé de coagulation-floculation au chitosane pour l'enlèvement du phosphore dans les effluents

Références bibliographiques

- piscicoles , Document confidentiel , école de technologie supérieure , université de Québec , février 2008 .
- [23] Amiali Malek, caractérisation des films de chitosane par la perméabilité à vapeur d'eau et aux gaz (CO₂, O₂), thèse de doctorat, Université Laval, 1999
- [24] Ararem Faiza, synthèse et caractérisation de biopolymère: Application au piégeage de colorant, mémoire de magister, Université d'Oran Es- Sénia, Oran, 2011.
- [25] Sophie.M, Ghislain. D ; Phosphorus-Based Polymers from synthesis to applications, RSC Polymer Chemistry Series N°.11, Montpellier ,2013.
- [26] Sashiwa H, Aiba S, Chemically Modified Chitin and Chitosan as Biomaterials, Prog. Polym. Sci. 29 , 887–908,2004.
- [27] Hirano S, Zhang M, Chung B.G, Kim S.K, The N-acylation of Chitosan Fibre and the N-deacetylation of Chitin Fibre and Chitin-cellulose Blended Fibre at a Solid State, Carbohydr. Polym. 41 , 175–179,2000.
- [28] Vachoud L, Zydowicz N, Domard A, Formation and Characterisation of a Physical Chitin Gel, Carbohydr. Res. 302 ,169–177,1997.
- [29] Zirar Mohamed Taher Mizwari , Preparation and characterization of Phosphorylated Chitosan Films via Graft Copolymerization ; Eastern Mediterranean University , Gazimağusa, North Cyprus , 2013 .
- [30] Ramos .V, M,Rodriguez, N. M; Diaz, M. F, Rodriguez, M. S, Heras, A.; Agullo, E; Carbohydr.Polym. 52, 39 ; 2003.
- [31] Yamada, M; Honma, I, Angew. Chem. Int. Ed. 43, 3688 ; 2004.
- [32] Hadgraft, J, Valenta, C, Int. J. Pharm, 200, 243, 2000.
- [33] Sorlier.P, Denuziere.A, Viton.C; Domard, A.; Biomacromolecules,2, 765 ;2001.
- [34] Amaral I .F, Granja P. L, and M. A. Barbosa, “Chemical modification of chitosan by phosphorylation: an XPS, FT-IR and SEM study,” Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, vol. 16, no. 12, pp. 1575–1593, 2005.
- [35] G. Ohanessian, Applications de la Chimie Quantique en Chimie-Cours, École Polytechnique, Orsay, 2005.

Références bibliographiques

- [36] Pollet R, Méthodes de la Chimie Quantique, Cours de Master de Chimie– 2^{ème} année, Université Paris-Sud 11 et ENS Cachan, 2006.
- [37] Donald B, Boyd, K B. Lipkowitz, Molecular Mechanics. The Method and Its Inderlying Philosophy.J. Chem. Educ, 59, 269. 1982.
- [38] Fekih Hind, modélisation de la molécule Abamectine et effet de cette substance active sur le contrôle de certains ravageurs des cultures maraichères; mémoire de magister ,2016
- [39] Bouaiad Djazia, Modélisation moléculaire de différents sucres: étude de l'hydratation sur trois disaccharides tréhalose, sucrose et maltose, mémoire de magister,2013
- [40] Niazi, S,Preformulation K, Handbook of Chemical, Pharmaceutical Scientist Inc.,USA, 2007.
- [41] Mazri Radhia, Nouvelle approche des relations structures activités dans des molécules antibiotiques, thèse de doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra, 2015.
- [42] Harkati Dalal , Etude de la structure et des propriétés physico-chimiques associées, de quelques molécules bioactives à intérêt pharmaceutique Etude de la structure et des propriétés physico-chimiques associées, de quelques molécules bioactives à intérêt pharmaceutique ,Thèse de doctorat; université Mohamed Khider ,Biskra , 2015.
- [43] Benauda Mohamed Nazim; étude théorique des complexe organométalliques à base de ruthénium par des calculs de chimie quantique, mémoire de magister, Université d'Oran, Oran, 2012.
- [44] Benoit Minisini, Modélisation et simulation moléculaire d'un matériau nanocomposite à base de polypropylène chargé de nanoparticules lamellaire, these de doctorat, Université de Maine, 2004.
- [45] C. Corminboeuf, F.Tran, J.Weber, Journal of Molecular Structure: Theochem.762, 2006.
- [46] P. Hohenberg, W.Kohn, Phys, Rev, 136, 1964.
- [47] Leach, A.R, Empirical force field models: molecular mechanics, in Molecular modeling: principles and applications, Longman, A.W, Editor: Harlow, England. 1996.

Références bibliographiques

- [48] Maylis Orion, Etude par la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité des propriétés électroniques et magnétiques de complexe de fer : Application aux systèmes de types Catalase et Fer-Soufre , Thèse de doctorat , Université de Joseph Fourier , Grenoble I. 2007.
- [49] Kevin Mathivon, Etude théorique de l'interaction molécule-substrat, Université de Paris-Est, Paris, 2013.
- [50] Franck Rabilloud, thèse de doctorat, Etude théorique et expérimentale des agrégats de bromure d'argent, université de Paul Sabatier Toulouse III, 2000.
- [51] H. Chermette, Coordination Chemistry Reviews 178-180 , 699, 1998.
- [52] M. van Faassen, Burke K, Chemical Physics Letters 431, 410 , 2006
- [53] Boussouf Karim; Etude systématique des complexes $Znq+Imn$ (où $q = 0, 1, 2, n = 1 - 4$), thèse de doctorat , Université Paris-Est , Paris , 2016.
- [54] Parr R. G., Wang W., Density Theory for atoms and Molecules, Oxford University Press: Oxford, **1989**.
- [55] Frédéric E., « électronégativité des atomes », **2004**.
- [56] Pearson R. G., « Absolute electronegativity and hardness correlated with molecular orbital theory ». Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 8440–8441, **1986**.
- [57] Benallou A.B.H. , El Alaoui El Abdallaoui H., And Garmes H., International journal of innovation and applied studies , ISSN 2028-9324 Vol. 8 No. 2 Sep., pp. 685-696, **2014**
- [58] Cédric O , Aurélien H , Anne-Marie C , Application of the Kabachnik-Fields and Moedritzer-Irani Procedures for the preparation of Bis(phosphonomethyl)amino- and Bis(dimethoxyphosphoryl)-methylamino-Terminated Poly(ethylene glycol) , 44, 1628-1630 , 2012
- [59] Kurt Moedritzer and Riyad R. Irani ; The Direct Synthesis of α -Aminomethylphosphonic Acids. Mannich-Type Reactions with Orthophosphorous Acid , J. Org. Chem , 31(5) , 1603-1607, 1966 .
- [60] Reinstein E, and Keller N, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 572-576, 1998.
- [61] Itzhak Brook, Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Spiramycin and Their Clinical Significance, Clin Pharmacokinet, 303-310, 1998.