



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCEM

Mémoire

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

Master en Chimie

Spécialité: chimie des matériaux

Par :

Chekroun Nassima

Sur le thème

Élaboration d'un biocomposite à potentiel pharmacologique.

Soutenu le 10 octobre 2020 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr BENMANSOUR Kamel	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr ZIANI-CHERIF Hocine	MCA	Université de Tlemcen	Encadreur
Mme BENSMAIN Amel	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice

2019-2020

« La Vérité est parfaite, pour les Mathématiques, la Chimie, la Philosophie, mais pas pour la Vie. . . »

Ernesto Sabato

Remerciements

Tout d'abord,

Je tiens à remercier, tous mes enseignants qui m'ont donné le meilleur dans mon cursus universitaire ;

Ensuite,

Je tiens à remercier mon encadreur Monsieur Liani Cherif Hocine qui m'a guidé, dirigé, et soutenu pour l'accomplissement et la réalisation de ce modeste travail ;

Enfin,

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pendant mes années d'études.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail,

À mon cher Papa,

À ma chère Maman,

À mon Frère et sa femme,

À ma Sœur et son mari

*À mes Adorables Nièces et Neveu qui sont la joie
de notre famille . . .*

Et

À toutes les personnes Chères pour moi !

Table des matières

<i>Introduction Générale</i>	1
<i>Chapitre 1 : Coagulation et cicatrisation</i>	4
1.1. INTRODUCTION	4
1.2. HÉMORRAGIE – COAGULATION ET HÉMOSTASE	5
1.2.1. Hémorragie ou perte de sang	5
1.2.2. Processus de la coagulation	6
1.2.3. Mécanisme de la coagulation	7
1.3. CICATRISATION	8
1.3.1. Processus de la cicatrisation	8
1.3.2. Mécanisme de la cicatrisation	9
1.4. PROCÉDES HÉMOSTATIQUES	10
1.4.1. Procédés thermiques et mécaniques	10
1.4.2. Agents hémostatiques	11
1.5. PROCÉDES DE CICATRISATION	19
1.5.1. Cicatrisation par les plantes (achillée millefeuille, luzerne)	19
1.5.2. Pansements traditionnels	19
1.5.3. Pansements modernes	22
<i>Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux</i>	33
2.1. ALFALFA OU LA LUZERNE	33
2.1.2. Composition chimique	34
2.1.3. Composition phytochimique	35
2.2. CHITOSANE	39
2.2.1. Généralités	39
2.2.2. Propriétés structurales	41
2.2.3. Propriétés thermiques	41
2.2.4. Propriétés mécaniques	42
2.2.5. Solubilité et propriétés chimiques	43
2.2.6. Formes physiques et Applications du chitosane	45
2.2.7. Chitosane dans l'hémostase et la cicatrisation	47
2.3. HYDROXY ETHYLE CELLULOSE	50
2.3.1. Structure	50
2.3.2. Propriétés	51
2.3.3. Utilisation	53
<i>Chapitre 3 : Expériences et Résultats</i>	55

3.1.	MATERIELS.....	55
3.2.	LES REACTIFS	55
3.3.	LES SOLVANTS	55
3.4.	INSTRUMENTS ET TECHNIQUES D'ANALYSE	55
3.5.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL	56
3.5.1.	Préparation des mélanges	56
3.5.2.	Solubilité des feuilles de luzerne :.....	57
3.6.	RESULTATS ET DISCUSSION	57
3.6.1.	Spectre uv-visible :.....	58
3.6.2.	Spectres infrarouge :.....	59
	<i>Conclusion Générale</i>	61
	<i>Perspectives</i>	62
	Références bibliographiques	63

Liste des figures :

Figure 1 : Coagulation ^[7]	7
Figure 2: Représentation schématique de l'adhésion, de l'agrégation, de l'activation et de la formation de plaquettes hémostatiques stables ^[1]	8
Figure 3 : Cicatrisation ^[8]	9
Figure 4 : NOSOHAEM, un hydrogel à base d'hydroxyéthyle cellulose (HEC) utilisé pour arrêter les saignements de nez.....	11
Figure 5 : (A) Schéma du noyau PLGA-PLL avec des bras PEG terminés par un fragment RGD; (B) Micrographie SEM de nanoparticules (barre d'échelle: 1 µm); (C) modèle de lésion de l'artère fémorale pour les expériences in vivo, flèche indiquant la zone de lésion; (D) flèche montrant le maillage de caillot et de fibrine après administration de nanoparticules (barre d'échelle: 1 µm); (E) coupe transversale de nanoparticules marquées par coumarine de caillot sur une lésion de la lumière. PLGA-PLL, poly (acide lactique-co-glycolique) -poly-L-lysine; PEG, polyéthylène glycol; RGD, Arg-Gly-Asp ^[1]	18
Figure 6 : exemple de pansements classique. a) Tulle gras. b) Bande de gaze	22
Figure 7 : Un pansement hydrocolloïde typique (pansement hydrocolloïde mince TegaserbTM, 3M Healthcare, Loughborough, Royaume-Uni). Le pansement combine la perméabilité à la vapeur d'humidité avec l'absorbance et la conformabilité, et sa transparence permet d'observer les plaies ^[10]	24
Figure 8 : exemples de pansements hydrocolloïdes.	24
Figure 9 : représentation schématique de la structure chimique de l'alginate.	26
Figure 10 : pansements à l'alginate.....	26
Figure 11: Un exemple de pansement en feuille d'hydrogel polymère. Les feuilles d'hydrogel n'ont pas besoin d'un pansement secondaire et en raison de leur nature flexible, peuvent être coupées pour s'adapter à la plaie ^[10]	27
Figure 12 : propriétés exigées pour un pansement idéal ^[14]	31
Figure 13 : La luzerne cultivée.....	34
Figure 14 : structure chimique de la phylloquinone ou vitamine K ₁	36
Figure 15 : structure chimique de la génistéine.....	36
Figure 16 : structure chimique de la chlorophylle.....	37
Figure 17: structure chimique de l'apigénine.....	39
Figure 18 : a) Chitine, b) Chitosane ^[24]	40
Figure 19 : Empilement des chaînes du chitosane hydraté (a) selon l'axe a, (b) selon l'axe c. Les cercles gris indiquent un atome d'hydrogène ^[26]	41
Figure 20 : l'ATG du chitosane pour différentes vitesses de chauffe, ainsi que la dérivée du signal de 200 à 400 °C ^[26]	42
Figure 21 : structure chimique de l'hydroxyethyl cellulose.....	51
Figure 22 : film de CTS/HEC à 10% d'acide acétique.....	58
Figure 23 : spectre uv-visible du film contenant le chitosane et l'hydroxyethyl cellulose dans une solution à 10% d'acide acétique.....	58
Figure 24 : spectres infrarouge des réactifs et du film de chitosane et HEC dans une solution à 10% d'acide acétique superposés.	59

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Quelques dérivés de la chitine et leurs applications ^[28]	47
Tableau 2 : bandes caractéristiques et groupes fonctionnels correspondant au chitosane.	59
Tableau 3 : bandes caractéristiques et groupes fonctionnels correspondant à l'hydroxyethyl cellulose....	59
Tableau 4 : bandes caractéristiques et groupes fonctionnels correspondant au film CTS/HEC à 10% d'acide.....	60

Liste des abréviations

AT: Acide tranexamique.

CBP : Peptide de liaison au collagène

CMC : Carboxymethyl cellulose

cP : Centipoise

CTS : Chitosane

Da : Dalton

DDA : Degré de désacétylation

DMA : Analyseur mécanique dynamique

DRX : Diffraction de Rayon X

DSC : Calorimétrie différentielle à balayage

ES: Simulation électrique

FDA: Food and Drug delivery administration

FMP : Peptide mimétiques du fibrinogène

FTIR : Infrarouge à transformé de fourrier

HEC : Hydroxyethyl cellulose

IL-8 : Interleukine-8

IR : Infrarouge

LLLT: Thérapie au laser faible

MEB : microscope électronique à balayge

PEG : Polyéthylène glycol

PEMF: Thérapie électromagnétique pulsée

PLA : Poly (acide lactique)

PLGA-PLL: Poly (acide-lactique-glycol)-Poly-L-lysine

PLN : Nanoparticule plaquettaire

PTEF:polytétrafluoroéthylène

PVA : Poly alcool de vinyle

RMN : Résonance magnétique nucléaire

TGA : Thermogravimétrie

UV : uv-visible

VBP: Liposomes complexes avec des peptides de liaison vWF

Introduction

Générale

Introduction Générale

L'une des caractéristiques les plus fascinantes du corps humain est son aptitude à « réparer » les tissus endommagés. Ce processus physiologique peut idéalement être décrit comme un véritable état de mobilisation générale par lequel le corps humain remplace et restitue la fonction du tissu endommagé.

Lorsque la peau est atteinte et subit une blessure, une série d'évènements paraissant simples, mais qui en fait sont exceptionnellement complexes se met alors en place, et donne lieu à des réactions physiques, chimiques et cellulaires sur une période qui peut s'étendre jusqu'à 2 ans pour l'aboutissement de cette œuvre spectaculaire qu'est la cicatrisation.

Chaque année, un nombre croissant de personnes souffrent de blessures problématiques de la peau qui compromettent l'intégrité et la fonctionnalité de la barrière cutanée, et par suite, l'application de pansements constitue la principale intervention thérapeutique pour soigner ses blessures. Ces pansements -des plus anciens d'entre eux aux plus récents- représentent un marché commercial de plusieurs milliards de dollars avec une croissance estimée allant de 4 à 7% par an.

Les conflits armés, les accidents de travail ou de circulation, le vieillissement des populations et l'accroissement de l'espérance de vie, l'apparition de problèmes de santé chroniques tels que le diabète ou l'obésité sont autant de facteurs qui font du traitement des blessures cutanées un volet significatif de l'assistance et la prise en charge médicale dans le monde.

Deux aspects particulièrement importants sont à relever au cours des blessures de la peau, en l'occurrence, le saignement ou l'hémorragie et la cicatrisation. Il est maintenant bien établi que la réponse naturelle de l'organisme commence d'abord par l'étape prioritaire et vitale de l'arrêt du saignement/hémorragie suivie par la reconstruction des lésions ou cicatrisation.

Même si du point de vue scientifique, ces deux évènements ne sont pas forcément liés - c'est-à-dire qu'un saignement/hémorragie peut avoir lieu sans lésion de la barrière cutanée et vice-versa – on s'intéresse dans cette étude à ces deux phénomènes pris séparément ou conjointement.

Introduction Générale

L'hémorragie et le saignement sont des phénomènes que l'homme a essayé de maîtriser depuis toujours. Le saignement est un écoulement de sang causé par la rupture d'un vaisseau sanguin, il peut être interne ou externe. Suite à la perte de sang vient l'hémostase et la coagulation qui consistent à arrêter cet écoulement. Tout saignement qu'il soit important ou minime doit être arrêté.

Après la perte de sang, l'hémostase et la coagulation vient la cicatrisation. Cette dernière est aussi un phénomène physiologique très important qui permet de restaurer l'intégrité de la peau après une lésion selon des étapes qui se suivent les unes les autres. Les phénomènes de coagulation et de cicatrisation sont naturels, c'est-à-dire qu'ils se font spontanément dès que la blessure a lieu grâce aux cellules et tissus qui se trouvent dans la peau. Il existe cependant des cas où ils doivent être accompagnés afin d'atteindre l'hémostase voulue ainsi que la guérison de la plaie^[1].

Dans le cas des personnes qui ne possèdent pas ce privilège c'est-à-dire que l'agrégation plaquettaire ne fournit pas assez d'hémostase ou en cas d'une hémorragie excessive il est nécessaire de trouver des solutions afin de stopper le saignement. Parmi ces solutions il y a l'apport des plantes médicinales qui contiennent des métabolites et des substances qui favorisent la coagulation et même la cicatrisation des plaies. On peut citer par exemple la plante Achillée, la verge d'or, la luzerne et plein d'autres plantes utilisées pour leurs effets thérapeutiques^[1].

Il existe aussi des biomatériaux connus pour leurs effets coagulants comme la gélatine, l'amidon de riz, la cellulose oxydée et le chitosane, ces biomatériaux ont été utilisés pour leur origine naturelle, leur abondance ainsi que leur biodégradabilité^[1].

Des recherches antérieures ont mené au développement de plusieurs produits commerciaux tels que les agents hémostatiques dérivés de la Zéolite par exemple QuickClot® qui a été recommandé par le comité des soins tactiques aux blessés de combat, HemCon® un dérivé de la chitine fabriqué à base de chitosane. Ce dernier a également été utilisé par les forces militaires américaines en Irak et en Afghanistan et l'acide tranexamique qui est couramment utilisé en chirurgie cardiaque pour réduire les saignements^[1].

Par ailleurs, les plantes médicinales grâce à leurs divers composants possèdent aussi des effets hémostatiques et cicatrisants comme la luzerne qui a été récemment utilisée pour la guérison des plaies cutanées et la cicatrisation^[2].

Introduction Générale

Cette étude vise à élaborer un biocomposite sous forme de poudre, de film ou de gel en utilisant le chitosane comme matériau bioactif, la luzerne qui est une plante très connue pour ses propriétés phytothérapeutiques et enfin l'hydroxyéthyle cellulose, un polymère hydrosoluble. Le composite est supposé posséder des propriétés pharmacologiques, à savoir, coagulante et cicatrisante.

En effet, la recherche bibliographique que nous avons menée nous a permis de découvrir et de montrer que le chitosane et la luzerne sont tous deux des agents hémostatiques et cicatrisants avec une efficacité hémostatique accrue pour la luzerne et une aptitude cicatrisante et bactéricide beaucoup plus prononcée pour le chitosane. Les films de chitosane étant fragiles et cassants, c'est le HEC ajouté qui va former une matrice plastique et hydrophile qui permet d'apporter de l'humidité et une propriété de gonflement en hydrogel du composite. Nous pensons qu'avec ces trois ingrédients principaux, le composite développé possédera le minimum requis pour l'obtention d'un pansement moderne hémostatique, cicatrisant, biodégradable, biocompatible et bactéricide.

Afin de mieux comprendre le thème développé dans ce mémoire et cerner les bases nécessaires à l'élaboration d'un matériau composite dont l'usage final requiert des propriétés particulières et ciblées, nous aborderons successivement les notions d'hémorragie/saignement, et de cicatrisation. Ensuite on présentera quelques agents hémostatiques et l'évolution dans la conception de différents types de pansements élaborés. Nous présenterons aussi un aperçu sur les techniques à satisfaire lors de cette élaboration. Enfin on s'intéressera à la luzerne comme plante naturelle, au chitosane et à l'hydroxyéthyle cellulose comme biomatériaux qui ont été choisis comme produits de base servant au développement d'un composite nouveau pouvant être utilisé sous différentes formes comme pansement à effet hémostatique et cicatrisant.

Chapitre 1 :
Coagulation et cicatrisation

1.1.INTRODUCTION

La peau est l'organe le plus important de l'organisme – en termes de taille – et possède plusieurs rôles très importants tels que la régulation de l'eau et la température et agit aussi comme barrière qui assure des fonctions de protection mécanique, de photoprotection, d'immunosurveillance, de métabolismes et de réparations. Elle est constituée de trois couches majeures, l'épiderme, le derme, et le tissu sous-cutané, eux-mêmes subdivisés en sous-couches contenant une multitude de cellules et d'éléments dont chacun a un rôle précis à jouer dans cette architecture complexe.

De tous les organes, la peau est certainement le plus exposé aux agressions externes et le plus enclin à subir une lésion, une abrasion, une brûlure, etc. Une blessure est définie comme une perturbation de la structure et de la fonction anatomique normale d'un organe. Dans le cas de la peau, la blessure peut s'étendre aux structures sous-jacentes telles que le tissu sous-cutané, les muscles, les tendons, les nerfs et même aux os.

Les blessures sont classées en deux catégories, à savoir, aiguës ou chroniques. Une blessure aiguë porte atteinte généralement à un organe (tissu) qui peut guérir entre huit à douze semaines. Les causes primaires d'une blessure aiguë peuvent être d'ordre mécanique et dû à des causes externes telles que l'abrasion, ou la pénétration d'un objet contondant, ou encore, suite à des brûlures thermiques, chimiques, ou électriques. D'autre part, une blessure chronique qui prend beaucoup plus de temps à guérir et réapparaître, peut résulter de conditions physiologiques anormales, par exemple, une infection persistante ou le diabète. La connaissance du type de blessure permet d'apporter la réponse appropriée pour permettre la guérison.

Lorsqu'il y a un saignement, la perte de sang qui s'en suit peut être due à une blessure, par exemple, un saignement du nez ou d'un acte volontaire tel que lors d'un procédé chirurgical. Si cette perte de sang est importante, elle peut avoir des conséquences graves sur la personne, par exemple la perte de connaissance en raison du manque d'oxygène dans les organes, ou même la mort dans des cas extrêmes d'une hémorragie très grave.

En chirurgie le contrôle des saignements est une tâche cruciale, car une hémorragie excessive est considérée comme un problème très important lors d'une procédure clinique. Afin

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

de pouvoir arrêter cela, on a un phénomène très important qui est le phénomène de coagulation c'est-à-dire la formation d'un caillot de sang pour arrêter le saignement. Ce phénomène se fait à l'aide de plusieurs substances comme le fibrinogène, la thrombine, la vitamine K et d'autres facteurs fabriqués par le foie appeler facteurs de coagulation.

Pour certaines personnes la coagulation se fait spontanément, ainsi le processus de coagulation peut s'expliquer par la formation d'un bouchon plaquettaire connue aussi par l'hémostase primaire, l'activation de la cascade de coagulation ou l'hémostase secondaire et l'élimination du caillot par fibrinolyse^[1].

Après une intervention chirurgicale, une blessure ou n'importe quel accident vasculaire qui peut causer la perte de sang et la coagulation vient la cicatrisation des plaies qui se fait aussi grâce à un processus complexe provoquant alors la migration de plusieurs types de cellules vers l'endroit endommagé^[1].

Ce processus de guérison des plaies commence dès que le revêtement de la peau est détruit. De ce fait plusieurs phases qui dépendent des facteurs dynamiques systémiques locaux, et régionaux s'enchainent^[3].

L'intérêt porté par les scientifiques pour la compréhension des mécanismes de l'hémostase et de la cicatrisation a conduit au cours des dernières décennies à un développement prodigieux de nouvelles générations de pansements à usage thérapeutiques, tant au niveau militaire que civil, comme on témoigne le nombre impressionnant de pansements existants, au seul Royaume-Uni, qui de 04 en 1988, est passé à 57 à 1998, puis à 262 en 2008.

Nous aborderons dans ce chapitre successivement, les notions d'hémorragie, d'hémostase et de coagulation, de cicatrisation, de procédés et d'agents hémostatiques et ensuite de procédés et d'agents de cicatrisation.

1.2.HÉMORRAGIE – COAGULATION ET HÉMOSTASE

1.2.1. Hémorragie ou perte de sang

Dans une peau normale, le derme et l'épiderme se trouvent dans un état d'équilibre constant et forment une barrière protectrice vis-à-vis de l'environnement extérieur. Lorsque cette barrière est déchirée, l'intégrité structurale se trouve compromise, les vaisseaux sanguins sous-jacents sont rompus et un processus physiologique de réparation est immédiatement mis en

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

œuvre. Un écoulement de sang hors des vaisseaux sanguins se produit et ce saignement permet d'évacuer les bactéries et les antigènes du site de la blessure, et de prévenir ainsi une invasion bactérienne et une infection ^[4].

Quelles que soient les causes qui ont provoqué le saignement ou l'hémorragie, les conséquences pathophysiologiques de l'hémorragie peuvent être très graves si cette dernière n'est pas soignée le plus vite possible. Elle peut entraîner un dysfonctionnement métabolique et cellulaire suite à une hypoxie ou un manque d'oxygène dans les organes. Ce manque d'oxygène résulte de la perte des globules rouges qui sont la principale source d'oxygénation des organes vitaux.

Par ailleurs, la perte des globules rouges provoque aussi une ischémie, une diminution de la pression artérielle, ainsi que la constitution d'une poche sous pression et compression des tissus ou organes adjacents, parfois vitaux si l'hémorragie n'est pas extériorisée.

Lorsque les saignements sont d'origine traumatique comme dans le cas des plaies, il y a également un risque d'infection microbienne si la lésion n'a pas été bien nettoyée et désinfectée ^[5].

1.2.2. Processus de la coagulation

La réponse naturelle aux blessures et à la perte de sang est définie par un processus appelé coagulation ou hémostase, qui dans le cas de blessures aiguës est atteint dans les 15 minutes qui suivent la blessure.

La coagulation est l'enchaînement de plusieurs étapes qui conduisent à la formation d'un caillot sanguin dans la paroi du vaisseau endommagé pour éviter que le sang ne s'écoule en dehors de ce dernier, tout en le maintenant à l'état liquide dans le reste du système vasculaire comme le montre **la figure 1**. Il s'agit alors d'un ensemble de mécanismes systémiques complexes connectés entre eux pour maintenir un équilibre entre la coagulation et l'anticoagulation ^[6].

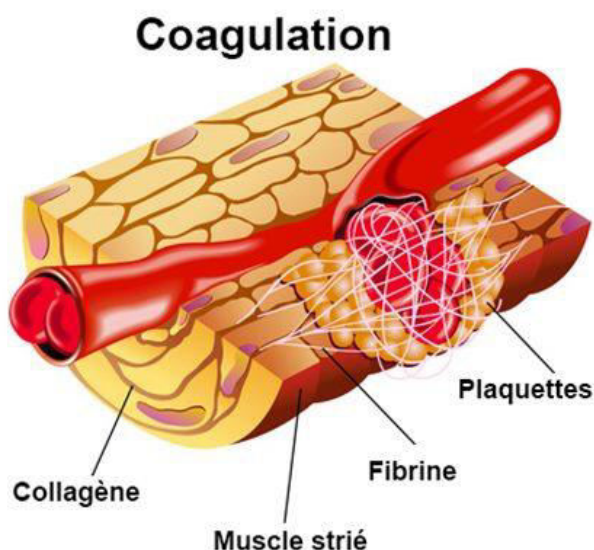


Figure 1 : Coagulation ^[7].

Quand un vaisseau est abimé à cause d'un accident par exemple, cette lésion va entraîner une série d'évènements qui vont aboutir à la formation d'un caillot appelé aussi hémostase. Ce processus va boucher et sceller l'endroit blessé pour empêcher une perte de sang très importante. À ce stade, il y a tout d'abord une constriction du vaisseau sanguin ce qui a pour effet de diminuer le flux sanguin puis la formation d'un clou hémostatique ou plaquettaire temporaire, ces deux phénomènes initiaux sont déclenchés lorsque les plaquettes sont fixées au collagène, et enfin le clou hémostatique est converti en un caillot définitif ^[6].

1.2.3. Mécanisme de la coagulation

Le mécanisme de la coagulation est assez complexe. C'est un processus dynamique impliquant à la fois des interactions physiques et chimiques qui servent à favoriser l'agrégation plaquettaire pour enfin former un caillot sanguin stable ^[1].

Pour ralentir l'écoulement du sang vers la région endommagée, les cellules des muscles lisses qui recouvrent les vaisseaux se contractent, ceci est appelé la vasoconstriction. La vasoconstriction aide à diminuer la perte du sang en particulier pour les petits vaisseaux, car ces spasmes peuvent arrêter complètement le saignement, tandis que pour les gros vaisseaux ils aident à restreindre largement l'hémorragie ^[1].

L'écoulement de composants sanguins tels que le fibrinogène provoque le mécanisme de coagulation. Il y a formation d'un caillot sanguin définitif à la place du clou hémostatique temporaire par la fibrine. Celle-ci est formée par la conversion du fibrinogène plasmatique soluble en une fibrine insoluble en impliquant une cascade de réactions

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

enzymatiques et plusieurs facteurs de coagulation. Chaque molécule de fibrinogène libère deux paires de polypeptides. La partie qui reste de la molécule ce qu'on appelle le monomère de fibrine polymérise avec d'autres molécules monomériques pour donner la fibrine qui forme d'abord un treillis mou de filaments entrelacés transformé ensuite en agrégat dense et serré grâce aux liaisons covalentes croisées qui se sont formées (**figure 2**)^[6].

Ce caillot sèche et forme une croûte qui protège le site et renforce le tissu abimé. Finalement, il y a l'étape de fibrinolyse qui consiste à éliminer le caillot sanguin précédemment formé. La fibrine se lie au plasminogène et l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) pour former la plasmine active qui elle-même dissocie la fibrine, le fibrinogène, les facteurs de coagulation et d'autres protéines plasmatiques afin de dissoudre le caillot^[1].

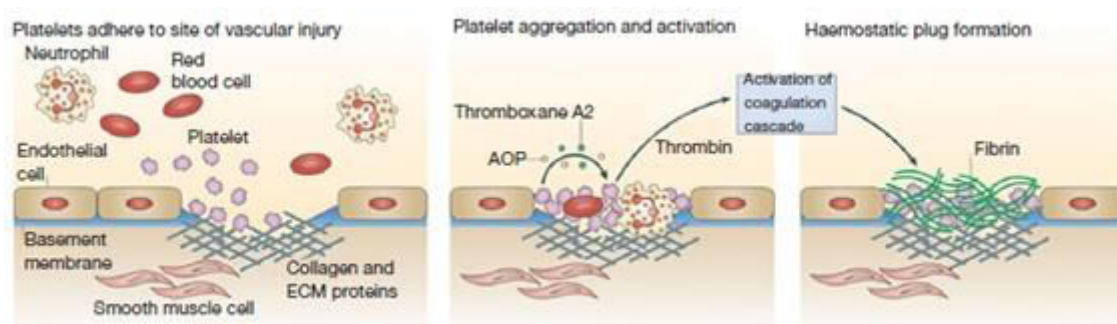


Figure 2: Représentation schématique de l'adhésion, de l'agrégation, de l'activation et de la formation de plaquettes hémostatiques stables^[1].

1.3.CICATRISATION

1.3.1. Processus de la cicatrisation

La cicatrisation se déroule à travers une série d'étapes interdépendantes et qui s'entremêlent temporellement selon des processus biologiques complexes, largement décrits dans la littérature et qui sont regroupés en quatre phases : hémostase, inflammation et migration, prolifération, maturation et remodelage (**Figure 3**)^[4].

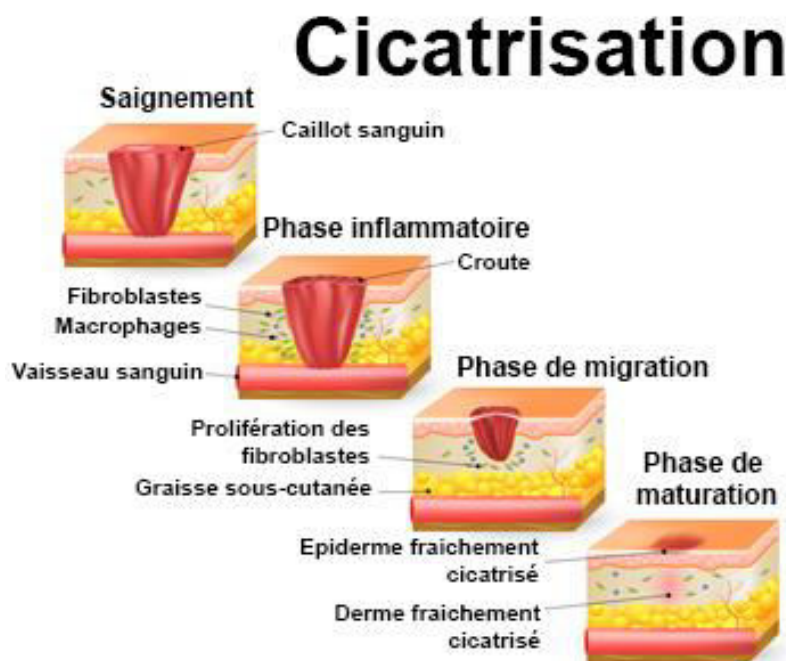


Figure 3 : Cicatrisation ^[8].

Lors de ce processus, différents types de cellules travaillent à l'unisson pour provoquer une réponse inflammatoire, synthétiser le tissu de granulation, ré-établir la couche épithéliale et restaurer l'intégrité structurale. On assiste à une chimiotaxie cellulaire, une mitose épidermique, dermique et vasculaire, à la synthèse de la nouvelle matrice extracellulaire et à la formation d'une cicatrice ^[9].

1.3.2. Mécanisme de la cicatrisation

La phase inflammatoire a lieu presque simultanément avec l'hémostase. Elle commence dès les premières minutes après la blessure et peut durer jusqu'à trois jours. Cette phase assez complexe peut être résumée par l'expression des réponses cellulaires et vasculaires au cours desquelles un exsudat riche en protéines est libéré dans le site de la blessure. Macroscopiquement, cet exsudat prend une forme liquide transparente d'aspect légèrement jaunâtre qui sort du site et le recouvre, avec un enfllement à l'endroit.

Ces protéines commandent une vasodilatation qui permet le passage de cellules neutrophiles et macrophages qui, par phagocytose, vont englober les cellules mortes et les tissus nécrosés en les digérant par processus enzymatiques. Après la phase inflammatoire, une migration de cellules épithéliales et de fibroblastes a lieu vers le site blessé pour remplacer le site perdu. Cette phase de migration qui se fait sous la croute est presque simultanément suivie, à

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

partir du troisième jour, d'une phase dite de prolifération lors de laquelle le tissu de granulation se forme et le collagène qui renforce le nouvel édifice, en lui conférant force et forme, est synthétisé par les fibroblastes. Cette phase de prolifération continue pendant environ 2 semaines puis apparaît la phase de maturation au cours de laquelle il y a renforcement d'un nouvel épithélium et formation du tissu connectif, et qui va déterminer la nature et l'aspect de la cicatrice finale^[10].

Rôle de l'exsudat

L'exsudat est un terme générique attribué au liquide produit lors d'une blessure – chronique ou aiguë – une fois l'hémostase achevée. C'est essentiellement du sang duquel les plaquettes et les globules rouges ont été retirées. Son rôle est primordial lors de tout le processus de cicatrisation. Il permet d'irriguer la blessure, de la garder à l'état humide, de faciliter la migration et la mitose des cellules épithéliales et enfin d'apporter les agents nutritifs au site blessé. Il est aussi essentiel à l'apport des leucocytes qui renforcent la protection contre une invasion microbienne et réduisent le potentiel d'une infection.

1.4.PROCÉDÉS HÉMOSTATIQUES

Parfois l'hémostase innée n'est pas suffisante pour atteindre la coagulation désirée, donc une variété de modalités ont été prise en compte tel que les procédés mécaniques et thermiques comme l'application de la pression, de ligatures et la cautérisation et les agents hémostatiques afin de fournir suffisamment d'hémostase.

1.4.1. Procédés thermiques et mécaniques

Dans des situations critiques assez fréquentes, l'hémostase innée est insuffisante et la coagulation n'est pas atteinte dans un temps raisonnable. C'est le cas par exemple lorsque des saignements à profusion dus à des blessures ou des perturbations physiologiques de la fluidité du sang requièrent des prises de décisions urgentes et nécessitent l'utilisation de procédés destinés à provoquer l'arrêt du saignement.

Depuis l'antiquité, l'homme a toujours tenté de trouver les moyens de stopper les saignements par des procédés divers dont certains sont encore utiles de nos jours on citera par exemple la cautérisation qui est un procédé thermique par lequel un métal chauffé au rouge est appliqué sur une blessure provoquant l'arrêt immédiat du saignement tout en causant des dommages considérables au tissus voisins. Contrairement à ce qui était admis, il est maintenant clairement établi que la cautérisation offre un milieu propice à l'infection. Des techniques

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

beaucoup plus évoluées qui se rapprochent de la cautérisation sont actuellement appliquées dont on citera la stimulation électrique (**ES**), la thérapie électromagnétique pulsée (**PEMF**) et la thérapie au laser faible (**LLLT**).

Outre la cautérisation, des procédés mécaniques toujours en vigueur sont connus pour leurs effets immédiats lorsque cela est possible. On citera l'usage du garrot et du tourniquet dont le principe repose sur l'application d'une pression afin de stopper le saignement. Il est intéressant de signaler à ce sujet qu'un hydrogel à base d'hydroxyéthyle cellulose (HEC) présenté sur **la figure 4** a été développé pour arrêter les saignements dans la paroi interne du nez. L'absorption du sang par le HEC provoque un gonflement de l'hydrogel qui exerce un effet de compression des vaisseaux sanguins et arrête le saignement.

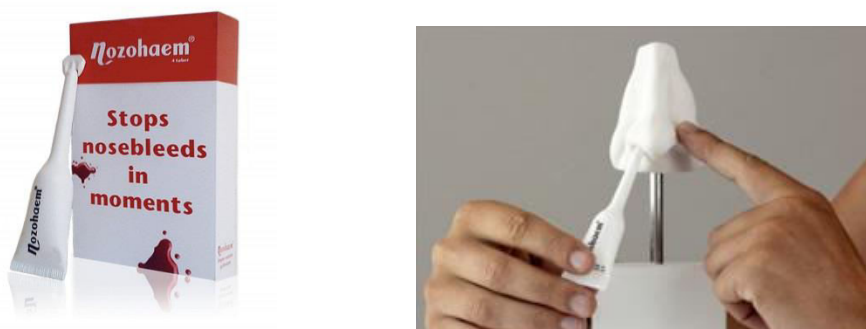


Figure 4 : NOSOHAEM, un hydrogel à base d'hydroxyéthyle cellulose (HEC) utilisé pour arrêter les saignements de nez.

1.4.2. Agents hémostatiques

En plus des procédés traditionnels cités précédemment, des agents hémostatiques topiques ont été développés pour être utilisés soit à l'extérieur ou à l'intérieur des vaisseaux et qui fournissent un substrat pour favoriser l'hémostase ou améliorer le système de coagulation inné.

1.4.2.1. Agents de matrice

Les agents de matrice ont la capacité d'offrir un substrat pour la formation de thrombus. Ils sont fabriqués sous forme de gels, de feuilles ou de poudres et sont directement appliqués sur l'endroit lésé. Ils sont plus efficaces pour des saignements légers, mais inadaptés aux saignements vifs. Ils sont alors absorbables et faciles à utiliser, mais ne sont pas universellement efficaces parce qu'ils dépendent de la présence d'un système de coagulation fonctionnel pour accélérer l'agrégation plaquettaire.

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

Ces agents sont composés de diverses macromolécules, tels que les polysaccharides (Arista AH®), le collagène (Avitene®, Helistat®, Helitene®), la cellulose (SNoW, Surgical, Fibrillar) ou la gélatine (Gelfoam®, Surgifoam®)^[1].

1.4.2.2. Agents externes (zéolites, chitosane et dérivés de la chitine)

Les agents externes sont des produits idéaux pour les cas d'urgence en dehors des hôpitaux, par exemple dans les champs de bataille et de combat particulièrement quand les méthodes traditionnelles comme la pression ne fournissent pas assez de coagulation et que les soins médicaux ne sont pas disponibles au moment de la blessure. Les études d'efficacité de ces agents sont issues des modèles animaux et des études cliniques très poussées. Parmi les agents externes qui ont été développés on cite les composés à base de zéolite et les dérivés de chitine et du chitosane.

- **Les zéolites :**

Les agents hémostatiques à base de zéolite sont formés de granules de minéraux inertes comme l'aluminium, le sodium, le silicium et le magnésium. Ils sont connus par le fait qu'ils concentrent les plaquettes, les facteurs de coagulation et les érythrocytes quand ils sont placés sur la plaie.

QuikClot® est l'un des produits hémostatiques contenant de la zéolite, c'est un produit de deuxième génération en gaze non tissée enduite de kaolin qui est une argile aluminosilicate ayant la possibilité d'activer le facteur XII de la voie de coagulation, et il est appelé QuikClot Combat Gauz.

Des expériences ont été menées sur des porcins avec des lésions hépatiques de niveau V. Ces expériences ont révélé que l'hémostase a été améliorée avec une survie de 88% dans le groupe QuikClot® par rapport à une compresse de gaze standard, plus d'autres études animales qui ont prouvés la qualité et l'efficacité de QuikClot® pour arrêter l'hémorragie par rapport à la gaze standard. L'emploi de ce produit est simple, facile et rapide ce qui fait de lui un produit idéal pour des situations d'urgence.

Malgré son efficacité, QuikClot® a des réactions exothermiques avec les plaies ce qui entraîne des risques de brûlure. Les malades souffraient souvent de la chaleur et de l'inconfort, et il y avait même des cas assez graves pour nécessiter une greffe de peau. Cependant cet inconvénient a été amélioré en incorporant la zéolite dans le maillage.

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

QuikClot® est approuvé par la Food and Drug Administration des États-Unis (FDA) et il est recommandé par le comité des soins tactiques aux blessés de combat^[1].

- **Les dérivés de chitine et du chitosane :**

La chitine est un polymère qui possède des propriétés hémostatiques naturelles, les produits à base de chitine et de ses dérivés possèdent des propriétés mucoadhésives idéales, car ils fonctionnent indépendamment des mécanismes de coagulation physiologiques. Ils réagissent en se fixant fortement au site de la blessure, ils mobilisent les plaquettes, les érythrocytes et les facteurs de coagulation sur la plaie et aussi ils provoquent une vasoconstriction.

L'un des produits à base de dérivés de la chitine est le produit HemCon, il contient le chitosane qui est une chitine désacétylée comme élément de base, et il fonctionne grâce à ses propriétés mucoadhésives. Différentes études ont prouvé sa capacité hémostatique et son efficacité à arrêter les saignements et il a été utilisé avec succès pendant les guerres en Irak et en Afghanistan.

Le deuxième produit à base de chitosane est la ChitoGauze, c'est une gaze extrêmement flexible et maniable de la plus récente génération et qui est très efficace lors des combats.

Un autre produit du chitosane dérivé de coquilles de crabe et de crevette est appelé Celox, ce dernier fonctionne grâce à l'interaction entre les charges positives du chitosane et les charges négatives des érythrocytes. Comme tous les autres produits, il a été testé sur des modèles animaux et il a montré une amélioration marquante de l'hémostase dans les cas de coagulation altérée.

D'autres rapports ont montré des hémostases réussies cliniquement, et aussi pour tous les patients sur le champ de bataille en Afghanistan qui ont utilisé Celox. D'après leurs résultats 18 plaies sur 21 ont atteint une hémostase efficace en 1min et les 3 plaies restantes ont nécessité des applications supplémentaires de Celox pour atteindre une hémostase à 100%. Afin de faciliter l'application de Celox sur le terrain, il a été incorporé dans des gazes.

Enfin il y a le produit mRDH qui contient la chitine ou la poly-N-acétyl glucosamine comme ingrédient actif. En fait ce produit a montré une excellente hémostase dans de nombreux types de modèles humains et animaux, tel qu'il est capable de réduire les pertes de sang, les besoins en liquide et la mortalité dans un modèle de porc avec une lésion hépatique grave.

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

D'autres expériences ont utilisé le mRDH dans des bandages qui servaient comme emballage pour traumatismes intra-abdominaux, et selon les résultats obtenus, tous les patients ont arrêté de saigner sans avoir de nouveaux saignements après le retrait et réexploration sauf un patient qui est mort à cause d'une autre blessure ratée^[1].

1.4.2.3. Agents biologiquement actifs

Le processus dynamique qui implique l'interaction entre les agents pro et anti thrombotiques est appelé la cascade de coagulation. Parfois la complexité de ce processus est aggravée en présence des états pathologiques. Par exemple, la blessure et le choc massif dus à un traumatisme engendrent une hyperfibrinolyse et une anticoagulation systémique qui eux résultent d'un processus multifactoriel qui comporte une inflammation, une hémodilution, une lésion tissulaire, une acidémie et une perfusion diminuée. Par conséquent, le rôle des agents hémostatique biologique repose sur l'augmentation du processus de la coagulation naturel sur le site de la lésion ou la blessure sans provoquer des effets secondaires systémiques importants.

Les agents biologiquement actifs sont la fibrine, la thrombine, l'acide tranexamique, les nanoparticules...etc.^[1]

- **La fibrine**

Les adhésifs de fibrine stimulent l'organisation du caillot sanguin dans la zone où ils sont appliqués et imitent le rôle des produits finaux de la cascade de coagulation. Dans le commerce, ces adhésifs se diffèrent entre eux dans leurs composants sources et leurs propriétés physiques.

FloSeal est un adhésif composé d'un mélange de solutions de thrombine humaine et de granules de gélatine de fibrinogène bovin qui gonflent pour produire un effet de tamponnade. Plusieurs études sur les animaux et les humains ont démontré son efficacité, parmi ces études, l'expérience de Matthew et al^[1] qui a examiné l'application de ces adhésifs dans 689 cas cardiovasculaires et thoraciques, et il a obtenu un taux de réussite du bouchon hémostatique de 94% dans le contrôle des saignements. De plus, ses bouchons à base de fibrine sont cliniquement utiles dans les fermetures de greffes cutanées et les anastomoses coliques^[1].

- **La thrombine**

La thrombine topique fonctionne comme un vasoconstricteur, active les plaquettes et convertit le fibrinogène en fibrine pour former un caillot sanguin stable tout comme la thrombine naturelle. On peut la trouver dans le plasma humain ou bovin. La thrombine bovine est utilisée

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

de manière efficace depuis plus de 60 ans dans de différentes chirurgies et des systèmes d'organes, par exemple les procédures de greffe artérioveineuse et le pontage artériel périphérique.

Il s'est avéré que la thrombine topique est très efficace dans les endroits difficiles à cautériser ou suturer comme le foie, la colonne vertébrale ou les trous d'aiguille dans les greffons en polytétrafluoroéthylène (PTFE), de plus elle traite les pseudo-anévrismes vasculaires lorsqu'elle est directement injectée en formant une thrombose locale. 20% des patients ont démontré qu'ils avaient une incidence plus élevée d'anticorps contre la thrombine bovine, et pour certains, ces anticorps vont réagir d'une façon opposée avec les facteurs de coagulation humains et ils peuvent provoquer soit des saignements graves soit une thrombose. Des essais contrôlés et aléatoires de phase III entre des formulations humaine et bovine ont indiqué une efficacité hémostatique et des résultats indésirables analogues malgré la génération d'anticorps ^[1].

- **Acide tranexamique (AT)**

L'acide tranexamique (AT) est un analogue synthétique de la lysine. Il bloque les sites de la liaison de la lysine sur le plasminogène et empêche son activation. Il est souvent utilisé en chirurgie cardiaque afin de réduire les saignements peropératoires et le besoin de transfusion, et lorsqu'il est injecté par voie intraveineuse il fonctionne comme un agent antifibrinolytique.

La fonctionnalité de cet agent hémostatique dépend de l'heure dont il a été administré, ainsi lorsqu'il est administré dans les trois premières heures qui suivent le choc traumatique il réduit considérablement les risques de décès par hémorragie de 17,4 à 23,9%, par contre s'il est administré après les trois premières heures il est moins efficace voir même nocif.

L'acide tranexamique est un médicament prometteur dans le traitement de l'hémorragie traumatique et son ajout aux procédures de réanimation actuelles est à l'étude ^[1].

- **Les nanoparticules**

Les dernières recherches se sont basées sur l'ingénierie des nanoparticules synthétiques et des dérivées de cellules pour différentes applications cliniques. Parmi ces applications, il y a l'administration de médicaments, l'adhésion tissulaire et l'hémostase. D'autre part les microparticules dérivées des cellules comme les synthocytes, les thromboérythrocytes et les thrombosomes ont été estimées comme étant des mécanismes éventuels qui peuvent traiter et

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

arrêter les saignements. Cependant, non seulement ces particules se sont révélées faibles et inefficaces pour stopper les saignements et les réduire, mais en plus elles présentaient un risque de réponse immunologique indésirable.

D'autres agents nanotechnologiques prometteurs dans des modèles animaux et in vitro réalisaient une hémostase efficace sans risque d'effets secondaires indésirables, et des études avec des nanoparticules topiques et intraveineuses sont en cours^[1].

i. Nanoparticules topiques

Plusieurs agents hémostatiques topiques modifiés ont été testés in vitro et avec des modèles animaux. Tout d'abord il y a les modèles de peptides autoassemblés. Ces modèles atteignaient une hémostase complète en seulement 15 secondes par rapport à d'autres modèles d'organes qui l'atteignaient en 150 secondes, lorsqu'ils sont appliqués à des plaies de moelle épinière, de l'artère fémorale, du cerveau, de la peau et du foie.

Ensuite un autre modèle a été décrit, les nanofibres hémostatiques autoassemblées. Ces derniers ont arrêté le saignement en 17 à 20 secondes en comparaison avec des tests blancs où le temps enregistré variait de 80 à 120 secondes lorsqu'ils ont été appliqués sur un modèle de foie de lapin. Ils ont été signalés comme les plus rapides par rapport aux autres médicaments. Cela est dû aux peptides ioniques qui favorisent la formation rapide des nanofibres en formant une structure de mailles qui ressemble à un filet de poisson.

De plus, un hémostatique topique comprenant des feuilles de chitosane a été développé, ces nanofibres ont été fabriquées par électrofilage ensuite neutralisés pour avoir un matériau insoluble. L'activité hémostatique de ces nanofibres est due aux propriétés cationiques du chitosane et à la liaison non spécifique à la membrane cellulaire qui favorise l'agrégation plaquettaire et la coagulation. Dans les tests réalisés in vitro, les fibres nanofabriquées du chitosane ont montré une adhérence plaquettaire 3,41 fois meilleure que celle d'une éponge de chitosane traditionnelle.

Et enfin, une autre nanomolécule hémostatique topique a été conçue en employant des particules d'hydrogels cationiques à base de N (3-aminopropyl) méthacrylamide avec une distribution de taille étroite et un gonflement rapide. Lors d'une étude sur un modèle d'amputation de foie et de queue de rat une hémostase significative a été observée avec 500% pour la queue et 300% pour le foie par rapport à la gaze témoin, de plus ces hydrogels on réduit

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

les saignements 12 minutes plus rapidement dans la plaie de la queue et 1 minute plus rapidement dans la plaie du foie ^[1].

ii. Nanoparticules intraveineuses

Différents agents hémostatiques artificiels intraveineux ont été décrits dans la littérature. Ces agents simulaient certains composants du processus de bouchon plaquettaire. Dans des modèles de saignements en laboratoire des nanoparticules de liposomes synthétiques enrobées de divers fragments ont été utilisés pour arrêter les saignements et ils ont montré de très bons résultats. De même les liposomes complexés avec des peptides de liaison au vWF (VBP), des peptides de liaison au collagène (CBP) et des peptides mimétiques du fibrinogène (FMP) réduisaient le temps de saignement dans un modèle de transection de la queue de souris de 50% et favorisaient l'agrégation plaquettaire. Et la fixation du dodécapeptide HHLGGAKQAGDV (H12) à la membrane liposomale s'est révélé minimiser l'agrégation plaquettaire in vivo ce qui suggère une interaction avec les plaquettes activées.

Il existe aussi d'autres molécules de type plaquettaire qui ont été fabriquées à l'aide de noyaux moléculaires synthétiques. Des plaquettes synthétiques ont été développées en utilisant un noyau de copolymère bloc poly (acide lactique-glycol) -poly-L-lysine (PLGA PLL) avec des bras en polyéthylène glycol (PEG) terminé par des fonctionnalités Arg-Gly-Asp (RGD) schématisées sur la **figure 5**. Ce type de molécule améliore l'agrégation plaquettaire en se liant aux plaquettes activées, de plus, il s'est avéré que l'administration synthétique de plaquettes réduit de moitié le temps de saignement dans un modèle de lésion de l'artère fémorale.

Il a été démontré que les nanoparticules qui utilisaient des noyaux de poly (acide lactique) (PLA) à la place de PGLA pouvaient être conservées pendant 7 jours et étaient stables à des températures susceptibles d'atteindre 50 °C, ce changement leur permettait d'être encore plus utilisés dans plusieurs applications cliniques.

D'autres nanoparticules ont été élaborées et cette fois leur rôle était d'imiter exactement la fonction physiologique des plaquettes. Elles avaient donc des propriétés biochimiques et biophysiques identiques aux plaquettes naturelles. La circonférence des nanoparticules de type plaquettaire (PLN) se compose de bicouches de poly (chlorhydrate d'allylamine) et d'albumine sérique bovine (HAP / BSA), fournissant une enveloppe flexible de HAP / BSA à laquelle du CBP, du VBP et du FMP étaient attachés. Les PLN ont donc une déformabilité qui imite la souplesse et la flexibilité des plaquettes, ce qui leur permet de passer

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

de la liaison initiale au site de la lésion vasculaire à la propagation dans les matrices de fibrine et enfin à la contraction d'un caillot. Ces PLN ont été testés sur un modèle de transection de queue de souris et elles ont démontré une baisse du temps de saignement d'à peu près 65%. Et comme toute autre étude des applications supplémentaires sur des plaies plus importantes, des recherches plus poussées sont requises^[1].

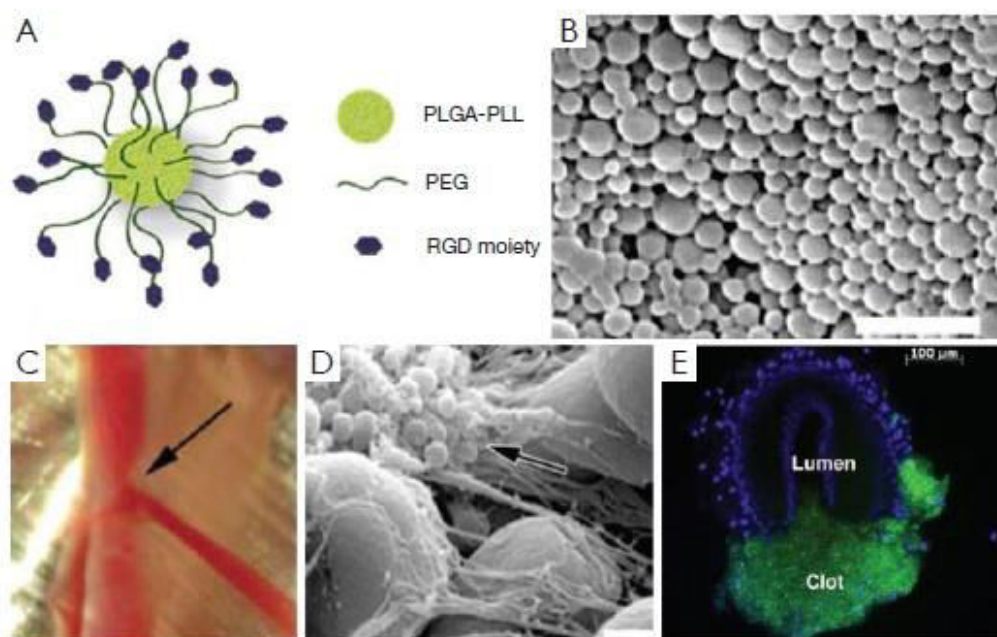


Figure 5 : (A) Schéma du noyau PLGA-PLL avec des bras PEG terminés par un fragment RGD; (B) Micrographie SEM de nanoparticules (barre d'échelle: 1 µm); (C) modèle de lésion de l'artère fémorale pour les expériences in vivo, flèche indiquant la zone de lésion; (D) flèche montrant le maillage de caillot et de fibrine après administration de nanoparticules (barre d'échelle: 1 µm); (E) coupe transversale de nanoparticules marquées par coumarine de caillot sur une lésion de la lumière. PLGA-PLL, poly (acide lactique-co-glycolique) -poly-L-lysine; PEG, polyéthylène glycol; RGD, Arg-Gly-Asp^[1].

La PolySTAT est une des molécules les plus récentes, elle augmente l'affinité pour la fibrine par de nombreux domaines de liaison, elle la réticule et retarde largement le temps de fibrinolyse du caillot. La PolySTAT est efficace pour réduire la mortalité avec moins de perte de sang et de besoins en liquide de réanimation dans un modèle de rat. Cependant, elle est moins efficace dans les carences de la cascade de coagulation et les coagulopathies sévères, car elle dépend de la présence de la fibrine. Il est possible qu'elle soit utilisée pour des modèles humains à l'avenir.

Les vasculatures cérébrales ou coronaires favorisent la formation de caillots sur l'endroit de la blessure sans aboutir à des thromboses éventuellement mortelles ailleurs, et cela est connu par l'élément d'agents hémostatiques intraveineux idéal. Pour minimiser le risque des

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

thromboses mortelles, il est approprié d'utiliser des cibles et des éléments spécifiques propres à la cascade de coagulation active. Par exemple les polymères synthétiques PGLA-PLL ne se lient aux plaquettes actives qu'en présence d'ADP et la liaison spécifique à la fibrine de PolySTAT évite la coagulation systémique hors cible. La particularité de ces agents hémostatiques intraveineux les rend intéressants pour un développement clinique postérieur^[1].

1.5.PROCÉDÉS DE CICATRISATION

1.5.1. Cicatrisation par les plantes (achillée millefeuille, luzerne)

La guérison des blessures est un phénomène physiologique surprenant qui est indispensable à notre survie^[11]. Pendant la guérison de la plaie, plusieurs événements ont lieu au même temps, ils paraissent assez simples, mais en réalité ils sont vraiment compliqués^[12]. Ainsi, le processus de cicatrisation des plaies se fait en 4 étapes : l'inflammation, la granulation, l'épithélialisation et la maturation^[12].

Depuis très longtemps l'homme a essayé de soigner les plaies et de les cicatriser, mais comme il y avait très peu de moyens il a eu recours aux plantes médicinales. En raison de leurs vertus cicatrisantes, ces plantes ont été utilisées pour soigner les ulcères cutanés, les brûlures ainsi que les plaies. De plus les plantes médicinales sont connues pour être des sources très importantes de nouvelles substances chimiques qui ont des effets thérapeutiques bénéfiques^[13], tels que les flavonoïdes, les tannins et les saponines. L'achillée millefeuille et la luzerne sont des plantes avec beaucoup d'avantages, elles sont très connues et ont été utilisées dans les processus de cicatrisation des plaies.

1.5.2. Pansements traditionnels

Actuellement, le choix qui convient le mieux aux malades est devenu difficile et déroutant pour les personnels soignants, vu l'abondance et la diversité des pansements qui sont très répandus sur le marché avec différentes marques et efficacité. Et en raison des changements technologiques et démographiques, la demande en pansements ne cesse d'augmenter. De plus en plus d'exigences d'essais cliniques sont imposées dans le but de fournir des preuves de leur efficacité. Ces procédures impactent obligatoirement le coût des produits^[12].

L'ensemble des observations au cours des études menées et des résultats obtenus ont révélé des critères fondamentaux à respecter lors de l'élaboration d'un pansement idéal. Il devrait produire moins de formation de cicatrice, une guérison plus rapide, une réduction des taux d'infection, moins de changements de pansements et moins de douleur, un environnement

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

idéal doit être préservé pour privilégier un processus de cicatrisation naturel comme un environnement humide, non toxique et chaud^[12].

De ce fait, une variété de produits pour la guérison des plaies s'est présentée sur le marché qui dépend du type de plaie et le besoin de récupération du patient. Il existe trois groupes de pansements, les pansements passifs, les pansements interactifs et les pansements avancés et bioactifs^[14].

Formulations pharmaceutiques topiques

L'utilisation des formulations pharmaceutiques topiques est largement propagée dans le monde, et elles sont faites sous forme de préparations liquides comme les solutions, les suspensions et les émulsions et aussi sous forme de préparations semi-solides telles que les crèmes et les pommades.

Dans les étapes initiales de la cicatrisation, l'utilisation des solutions comme la povidone iodée est très efficace, car elles jouent le rôle d'un agent de débridement et de déchaussage pour empêcher la macération des tissus sains en détruisant les tissus nécrotiques de la plaie fraîche. Ensuite, pour la prévention et le contrôle des infections, des agents antimicrobiens sont intégrés dans les pansements et parmi ces agents on a l'argent, le polyhexaméthylène biguanide et la povidone iodée. Pour le nettoyage des plaies, des solutions salines physiologiques sont utilisées pour laver les pansements de polymère dissous restant dans la plaie et aussi pour éliminer les tissus morts. Et enfin lors du changement du pansement les plaies sèches sont humidifiées avec une solution saline afin de faciliter le retrait avec peu ou pas de douleur, cependant le souci essentiel avec ces formulations pharmaceutiques est que leur temps de séjour sur la plaie est trop court, notamment lorsqu'il existe un degré mesurable de suppuration du liquide de la plaie^[10].

Pour les infections bactériennes qui restent à la surface de la plaie plus longtemps, les solutions ne sont plus efficaces, il faut donc utiliser les préparations semi-solides comme la pommade au nitrate d'argent ou la crème de sulfadiazine d'argent. Par contre dans le cas des plaies fortement exsudatives, les crèmes et les onguents absorbent rapidement le liquide, deviennent mobiles et perdent leurs caractéristiques rhéologiques donc ils ne seront plus efficaces^[10].

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

Pansements classiques (coton, bande de gaze, tulles gras)

Les produits passifs connus sous le nom des pansements traditionnels comme la gaze naturelle ou synthétique, la laine de coton et les bandages sont les moins efficaces, car ils sont utilisés comme couverture que pour les plaies qui guérissent d'elle-même^{[10]-[14]}. Les pansements traditionnels sont secs et ne fournissent pas un environnement humide pour les plaies contrairement aux formulations pharmaceutiques topiques, ils peuvent faire partie d'un composite de plusieurs pansements et chacun d'eux remplit une fonction spécifique. Ainsi, ils sont utilisés comme pansements primaire ou secondaire. Il existe plusieurs types de pansement, les tissus Gamgee par exemple sont composés d'une enveloppe de gaze de coton tubulaire entourant une couche de coton absorbant, ils absorbent l'exsudat et sont appliqués sur un pansement primaire pour éviter de contaminer la plaie avec des fibres de cellulose. D'autres parts il y a les bandages qui sont soit naturels c'est-à-dire fabriqué à partir de matériaux naturels comme la cellulose et le coton, soit synthétiques, qui sont fabriqués par exemple à partir de polyamide, et ces bandages ont de nombreuses fonctions. Pour les applications d'une compression soutenue dans le traitement de l'insuffisance veineuse, les bandages à haute compression sont les plus adaptés, mais pour les ulcères de jambe veineux et le lymphœdème les bandages de compression à étirement court sont les plus utilisés. Ensuite il y a les bandages conformes au coton 198871 qui sont utilisés pour la rétention de pansements légers, et enfin, le bandage de contour en polyamide et cellulose, tricoté BP 198872 est utilisé pour la rétention du pansement^[10].

Les pansements de gaze sont moins rentables que les pansements modernes, ils sont fabriqués à partir de fibres de coton tissées et non tissées, de rayonne polyester ou d'un assemblage des deux. Les tampons de gaze stériles sont employés dans l'emballage des plaies ouvertes pour absorber les exsudats et le fluide, et les fibres du pansement servent de filtre pour éloigner le fluide de la plaie. De plus l'utilisation de gaze imbibée pour l'emballage des plaies chirurgicales et des cavités ouvertes a également été examinée à la lumière de leurs manques connus par rapport aux pansements plus récents actuellement disponibles pour les plaies chroniques. Ces pansements de gaze doivent être changés régulièrement pour éviter la macération des tissus sains sous-jacents^[10].

Les pansements de gaze fournissent une certaine protection bactérienne, cependant cette protection est détruite quand la surface externe du pansement est humidifiée par l'exsudat de la plaie ou par des liquides externes. En plus les gazes sont connues par leurs adhérences aux

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

plaies lorsque la production de liquide diminue, donc ils deviennent plus difficiles à retirer ce qui provoque une gêne pour le malade. Ils permettent également l'évaporation de l'humidité causant ainsi la formation d'un lit de plaie déshydraté et fournissent une faible fermeture des plaies, par contre la gaze imbibée de paraffine molle est occlusive et plus facile à enlever de la peau. Donc à cause de ces inconvénients il est préférable d'utiliser les pansements traditionnels que pour les plaies sèches et propres ou bien les utilisés comme pansement secondaire pour protéger la plaie et absorber les exsudats ^[10].

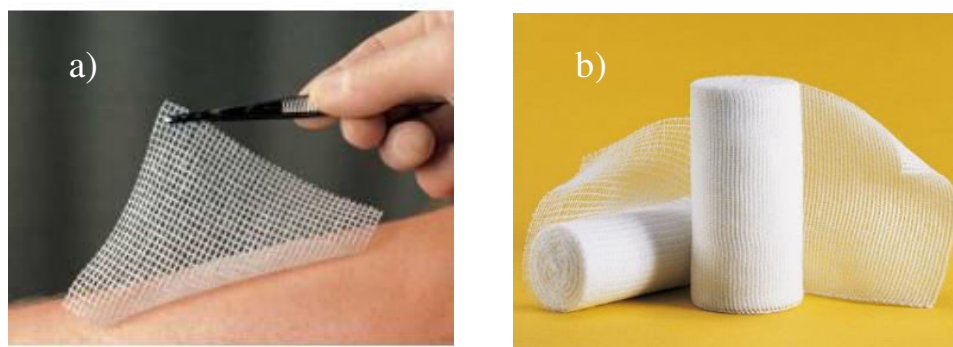


Figure 6 : exemple de pansements classique. a) Tulle gras. b) Bande de gaze

Tous ces agents de cicatrisation traditionnels c'est-à-dire les formulations pharmaceutiques topiques liquides et semi-solides et les pansements classiques fabriqués à base de coton et de gaze ont été largement remplacés par les pansements modernes et avancés pour les plaies et blessures ainsi que pour les brûlures chroniques. Cela s'explique par le fait que les pansements classiques secs ne fournissent pas un environnement humide pour les plaies et les formulations pharmaceutiques ne restent pas assez longtemps sur la surface des plaies ^[10].

1.5.3. Pansements modernes

En 1970, les pansements traditionnels étaient les plus vendus, mais leur disponibilité et leur nombre étaient restreints, la gaze était le pansement le plus répandu en cette période. 10 ans plus tard on a découvert que les vaisseaux sanguins évoluaient à partir des zones riches en oxygènes vers celles avec moins d'oxygènes, par conséquent on a remplacé les pansements traditionnels par les pansements modernes, par exemple les hydrocolloïdes. Et en 1989 Lydon et Hutchinson ont prouvé que l'angiogenèse se produisait rapidement dans les plaies couvertes d'hydrocolloïdes ^[12].

Lorsqu'on compare les plaies sèches et les plaies humides, on trouve que les plaies humides se granulent plus rapidement que les plaies sèches de 40%. Ces pansements humides

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

doivent donc permettre un échange gazeux, garder la plaie humide, mais non macérée, permettre l'élimination de l'excès d'exsudat, empêcher les bactéries de pénétrer dans la plaie, garantir l'absence de fibres dans la plaie, s'assurer qu'aucun traumatisme ne se produit lors du retrait, garder la température de la plaie à 37 °C, et enfin maintenir la plaie à la valeur de pH idéal. Ce sont ces conditions qui ont permis de former la base du développement de pansements modernes [12].

Hydrocolloïdes

Les préférences et les choix des pansements sont basés généralement sur l'expérience et les traditions précédentes plutôt que sur les données scientifiques, ils sont devenus donc un sujet débattu depuis plusieurs années. Dans une étude faite par Eaglstein où il comparait l'utilisation de pansements de gaze ou de plaies traitées à l'air avec l'utilisation d'un pansement humide, il a trouvé que la cicatrisation de la gaze ou des plaies traitées à l'air était réduite de 40%, cependant beaucoup de cliniciens recommandent l'utilisation de gaze ou de plaies traitées à l'air. D'autres expériences ont révélé que les pansements hydrocolloïdes favorisaient la guérison des plaies, car ils réduisent le temps de guérison et favorise l'angiogenèse, facilitent libération des facteurs de croissance et augmentant la fibrinolyse et l'autolyse des tissus nécrotiques. Ainsi que la diminution du risque d'infection de la plaie, le risque d'infections nosocomiales causées par la transmission aérienne de micro-organismes et le coût des soins, la douleur et le traumatisme de la plaie dû aux changements de pansement, cela fait d'eux alors les pansements les plus utilisés [11].

Le mot hydrocolloïde signifie les produits de guérison de plaie fabriqués à partir de matériaux colloïdaux, c'est-à-dire les agents de formation de gel, qui sont eux-mêmes mélangés avec d'autres matériaux tels que les adhésifs et les élastomères. Ce genre de colloïde renferme la pectine, le carboxyméthyle cellulose et la gélatine. Les pansements hydrocolloïdes se présentent sous forme de pansements composites en combinaison avec d'autres matériaux comme l'alginate, sous forme de feuilles minces ou de films. Ils peuvent adhérer aux sites secs et humides donc ils sont très utiles sur le plan clinique contrairement aux autres pansements, de plus ils sont appliqués sur les plaies légères à modérément exsudatives, comme les blessures traumatiques, les escarres et les brûlures mineures, ils peuvent également être utilisé afin de gérer les ulcères de jambes, car ils ont des avantages pour le traitement de plaies qui ne peuvent pas être guéries avec la thérapie de compression seule [10].

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

La particularité des pansements hydrocolloïdes est qu'ils sont imperméables à la vapeur d'eau lorsqu'ils sont intacts, mais quand ils commencent à absorber les exsudats de la plaie, un gel couvrant la plaie se forme suite au changement d'état physique des hydrocolloïdes, et par conséquent ils deviennent de plus en plus perméables à l'eau et à l'air. Comme il a été mentionné précédemment, ces pansements ne provoquent pas de douleurs lors du retrait, donc ils sont très efficaces dans le soin des plaies pédiatriques pour la prise en charge des plaies chroniques et aiguës. D'autres études ont également montré que lorsque ces pansements ont été appliqués aux patients ils ressentaient moins de douleurs et nécessitaient moins d'analgésie, de plus ils pouvaient faire leurs activités quotidiennes sans aucun souci y compris se doucher ou se baigner sans abimer le pansement ou la plaie, ce qui est très intéressant. Les figures suivantes (7 et 8) donnent des exemples de pansement hydrocolloïde qui se trouve sur le marché ^[10].



Figure 7 : Un pansement hydrocolloïde typique (pansement hydrocolloïde mince Tegaderm™, 3M Healthcare, Loughborough, Royaume-Uni). Le pansement combine la perméabilité à la vapeur d'humidité avec l'absorbance et la conformabilité, et sa transparence permet d'observer les plaies ^[10].



Figure 8 : exemples de pansements hydrocolloïdes.

Pansements à l'alginate, Hydrogels, pansements à mousse, pansements biologiques/biomatériaux, ingénierie tissulaire.

1) Pansements à l'alginate

Les pansements à l'alginate peuvent se trouver sous forme de fibres flexibles ou de feuilles lyophilisées poreuses autrement dit : des mousses. Ils sont fabriqués avec de l'acide alginique, un polysaccharide qui contient des unités d'acide guluronique et mannuronique et les sels de calcium et de sodium. Ces pansements ont une très forte capacité d'absorption ils forment un gel dès leur contact avec les exsudats des plaies. Cette forte absorption se fait grâce à la formation d'un gel hydrophile, par conséquent il y a moins de contamination bactérienne et les sécrétions des plaies seront limitées. Les alginates riches en acide guluronique forment des gels durs lorsqu'ils absorbent l'exsudat alors que les alginates riches en acide mannuronique forment des gels plus souples pendant l'hydratation ^[10].

Cette caractéristique qui permet aux alginates de se gélifier est due à la présence des ions calcium qui participent à la formation d'un gel polymère réticulé qui se dégrade progressivement. Lorsque ces pansements sont déposés sur la plaie, les ions présents dans la fibre d'alginates sont échangés avec les ions présents dans le sang et l'exsudat pour former un film protecteur de gel, ce qui permet de maintenir sur la blessure une teneur en eau et une température de cicatrisation idéale. Ainsi les pansements d'alginate de calcium sont des matériaux idéaux comme échafaudage pour l'ingénierie tissulaire, grâce à la capacité des ions de calcium à former des réticulations avec le polymère d'acide alginique. De plus, une étude a montré que les gels d'alginates restaient sur les plaies plus longtemps que les hydrocolloïdes ^[10].

Il s'est avéré que lorsque les ions calcium présents dans les pansements d'alginate étaient libérés dans la plaie (**figure 9**), ils jouaient un rôle physiologique en aidant le mécanisme de coagulation lors de la première étape de cicatrisation, donc ces pansements sont très utiles à toutes les étapes de cicatrisation des plaies ^[10].

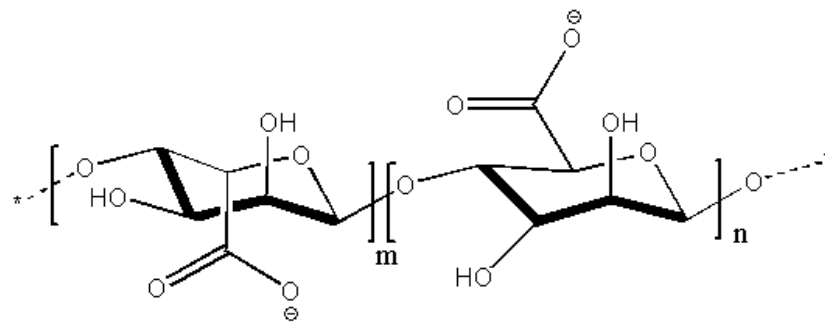


Figure 9 : représentation schématique de la structure chimique de l'alginate.

Quelques propriétés des pansements à l'alginate :

- Ils sont utiles pour les plaies modérément à fortement exsudatives.
- Sous forme de fibre, les pansements d'alginate sont facilement biodégradables quand ils sont piégés dans une plaie et peuvent être rincés avec une irrigation saline.
- Ces pansements ont besoin de l'humidité pour bien fonctionner, donc ils ne peuvent pas être utilisés sur les plaies sèches ou les plaies couvertes de tissus nécrotiques.
- Ils existent plusieurs marques des pansements d'alginate comme celle présentée sur la **figure 10** et chacune d'elle a sa particularité, par exemple l'adhérence, la rétention d'eau et les résidus de pansement ^[10].



Figure 10 : pansements à l'alginate.

2) Les hydrogels

Les hydrogels sont des matériaux gonflables, insolubles et hydrophiles préparés à partir des polymères synthétiques comme la polyvinylpyrrolidone et le polyméthacrylate, certains d'entre eux sont des combinaisons alginate/hydrogel, ils ont une faible résistance mécanique et ils sont difficiles à manipuler. Les pansements d'hydrogels contiennent une quantité très importante d'eau allant de 70 jusqu'à 90%, donc ils absorbent peu d'exsudats, c'est pour cela qu'ils sont utilisés que pour les plaies légères à modérément exsudatives. De ce fait il y aura un cumul de liquide qui provoquera une macération cutanée et une prolifération bactérienne entraînant des mauvaises odeurs dans les plaies infectées ^[10].

Les pansements d'hydrogels existent sous forme de feuille comme sur **la figure 11**, de film solide élastique ou de gel amorphe. Les feuilles ont la capacité de retenir et d'absorber de grandes quantités d'eau au contact des plaies. Elles sont préparées en réticulant les polymères de manière qu'ils enferment l'eau physiquement, en plus les feuilles s'adaptent à la forme de la plaie, car elles sont flexibles, il suffit juste de les couper. Les pansements d'hydrogel ont besoin la plus part du temps d'un revêtement secondaire comme la gaze et doivent être changés souvent, lorsqu'ils sont utilisés sous forme de gel. Les gels peuvent être utilisés comme pansement primaire, alors que les films d'hydrogels peuvent être utilisés comme pansements primaires ou secondaires ^[10].



Figure 11: Un exemple de pansement en feuille d'hydrogel polymère. Les feuilles d'hydrogel n'ont pas besoin d'un pansement secondaire et en raison de leur nature flexible, peuvent être coupées pour s'adapter à la plaie ^[10].

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

Les hydrogels sont considérés comme des pansements idéaux, car ils possèdent des propriétés très satisfaisantes. Ils ont la possibilité de réhydrater les tissus morts et améliorer le débridement autolytique donc ils correspondent aux plaies sèches, gluantes et nécrotiques ainsi que leur nettoyage. De plus, ils favorisent la cicatrisation humide, ils sont non adhérents, ils ne sont pas réactifs avec les tissus biologiques, ils sont perméables aux métabolites, non irritants, et refroidissent la surface de la plaie, par conséquent ils réduisent la douleur et sont plus acceptables par les patients. Les pansements d'hydrogels ne laissent pas de résidus et améliorent la ré-épithélisation des plaies, de ce fait Morgan a affirmé que les hydrogels «peuvent être utilisés aux quatre stades de la cicatrisation des plaies, à l'exception des plaies infectées ou fortement exsudatives»^[10].

3) Les pansements en mousse

La production des pansements en mousse a vu le jour au même temps que les pansements hydrocolloïdes, ils font partie des matériaux interactifs tout comme les hydrogels, ils ont une bonne perméabilité à l'eau et à l'oxygène et ils sont translucides^[14]. Les pansements en mousse se composent d'un film de mousse de polyuréthane ou de mousse de polyuréthane poreuse, des fois ils peuvent contenir des bords adhésifs. Dans la plupart des pansements en mousse on peut trouver des couches en plus qui sont en contact avec la lésion, par exemple une couche de support en polymère occlusif afin de prévenir la perte excessive de liquide et la contamination bactérienne et une couche pour éviter l'adhérence lorsque la plaie est sèche.

Ces pansements ont plusieurs avantages parmi lesquels on peut citer : ils sont pratiques à porter, ils maintiennent un environnement humide pour la plaie, fournissent une isolation thermique et le plus important c'est qu'ils sont fortement absorbants grâce à leurs pores et la structure de la mousse bien sûr. L'absorbance des mousses est contrôlée par la taille et l'épaisseur des pores, plus les pansements ont une structure à pore ouvertes plus le taux de transmission de vapeur sera élevé. Par conséquent ces structures deviennent plus adaptées aux plaies quelles que soient leurs épaisseurs partielle, totale avec différents drainages minimal ou modéré jusqu'aux structures extrêmement absorbantes pour les plaies fortement exsudatives. Une étude comparative entre la gaze et la mousse sur des plaies postopératoires sans fermeture a montré que la mousse était plus choisie, car elle réduisait la douleur par rapport à la gaze^[10].

4) Pansements biologiques/biomatériaux

Comme leur nom l'indique, ces pansements sont fabriqués avec des biomatériaux, ils sont aussi appelés pansements bioactifs. Ils comportent des composants dérivés des tissus naturels ou des sources artificiels, qui combinent généralement des polymères comme le chitosane, les alginates, l'élastine, le collagène et l'acide hyaluronique. Parfois, les biomatériaux sont introduits dans des composés actifs comme les facteurs de croissance pour une livraison au site de la plaie ou dans les antimicrobiens, ils ont beaucoup d'avantages, car ils sont biodégradables, jouent un rôle actif dans la cicatrisation normale et la formation de nouveaux tissus et ils font partie de la matrice tissulaire naturelle. Grâce à ces propriétés, les pansements à base de biomatériaux (ou les pansements biologiques) sont devenus très intéressants pour l'usage clinique d'un point de vue biocompatibilité et toxicologie ^[10].

Il a été précédemment cité que le collagène, l'acide hyaluronique et le chitosane étaient des biomatériaux très utilisés dans la fabrication des pansements biologiques. Le collagène est une protéine structurelle essentielle de tous les organes et un élément naturel du tissu conjonctif, ce polymère naturel est très connu pour ces capacités cicatrisantes, tel qu'il joue un rôle indispensable dans le processus de guérison naturelle de l'induction de la coagulation jusqu'à la formation de la cicatrice finale. Le collagène accélère la migration des cellules endothéliales au contact des tissus endommagés et stimule la formation de fibroblastes. De plus la matrice de collagène peut être utilisée dans l'administration de différentes classes d'antibiotiques ^[10].

L'acide hyaluronique est un lubrifiant des articulations et les processus inflammatoires, c'est un composant glycoaminoglycane de la matrice extracellulaire. Il est biodégradable, biocompatible et manque d'immunogénicité, il est également utilisé dans l'administration des médicaments. Certaines études ont prouvé que l'acide hyaluronique était utilisé efficacement pour les plaies aiguës. Tandis que le chitosane est très efficace pour accélérer la granulation au stade prolifératif de la cicatrisation des plaies ^[10].

5) Ingénierie tissulaire

Malgré l'existence de plusieurs types de pansements très efficaces que ce soit des pansements traditionnels ou modernes, ces derniers ne peuvent pas remplacer le derme et les tissus qui ont été endommagés lors d'une grave blessure par exemple les brûlures du 2^{ème} et 3^{ème} degré. Des idées plus avancées ont permis de concevoir des polymères dits intelligents issus

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

des modifications de polymères synthétiques et bioactifs. Les améliorations qui ont été faites dans la fabrication des biomatériaux et la culture des cellules cutanées ont abouti au développement d'une nouvelle génération de substituts cutanés techniques. Ces polymères jouent le rôle d'échafaudages pour les substrats modifiés par des tissus qui remplacent les tissus morts au lieu de seulement faciliter la cicatrisation. Le but de l'utilisation de ces polymères intelligents sous forme semi-synthétique ou biologique naturelle est donc d'imiter les réponses physiologiques normales pendant la cicatrisation, chose qui peut être très pratique pour les plaies chroniques difficiles à cicatrifier ^[10].

Il existe deux types de matrices principales, les matrices acellulaires et les matrices contenant des cellules, ces matrices sont utilisées dans les substituts cutanés dérivés de l'ingénierie tissulaire. Les matrices acellulaires sont fabriquées à partir du derme natif avec les composants cellulaires retirés, mais en préservant l'architecture cutanée, de combinaisons de matrices extracellulaires comme l'acide hyaluronique ou à partir de collagène synthétique. Les matrices contenant des cellules comportent des films biodégradables composés de glycosaminoglycanes et de collagène, ces films sont des échafaudages sur lesquels des cellules cutanées dérivées de patients ou de sources recombinantes peuvent êtreensemencées pour la croissance de nouveaux tissus. Quand ils sont introduits dans le corps, les pansements d'échafaudages se dégradent petit à petit en laissant derrière eux une matrice de tissu conjonctif avec les propriétés structurelles et mécaniques adéquates. Cela leur confère alors des propriétés mécaniques et des caractéristiques anatomiques qui se rapprochent parfaitement du derme normal à remplacer ^[10].

Malgré leur grande capacité à soigner les plaies, les pansements avancés possèdent des inconvénients bien évidemment, comme par exemple le coût élevé, la nécessité de créer une deuxième plaie dans le cas de la récolte des cellules du patient pour aider la cicatrisation des plaies et le risque d'infection et d'antigénicité ^[10]. **La figure 12** donne les propriétés qui doivent se trouver dans le pansement afin qu'il soit idéal.

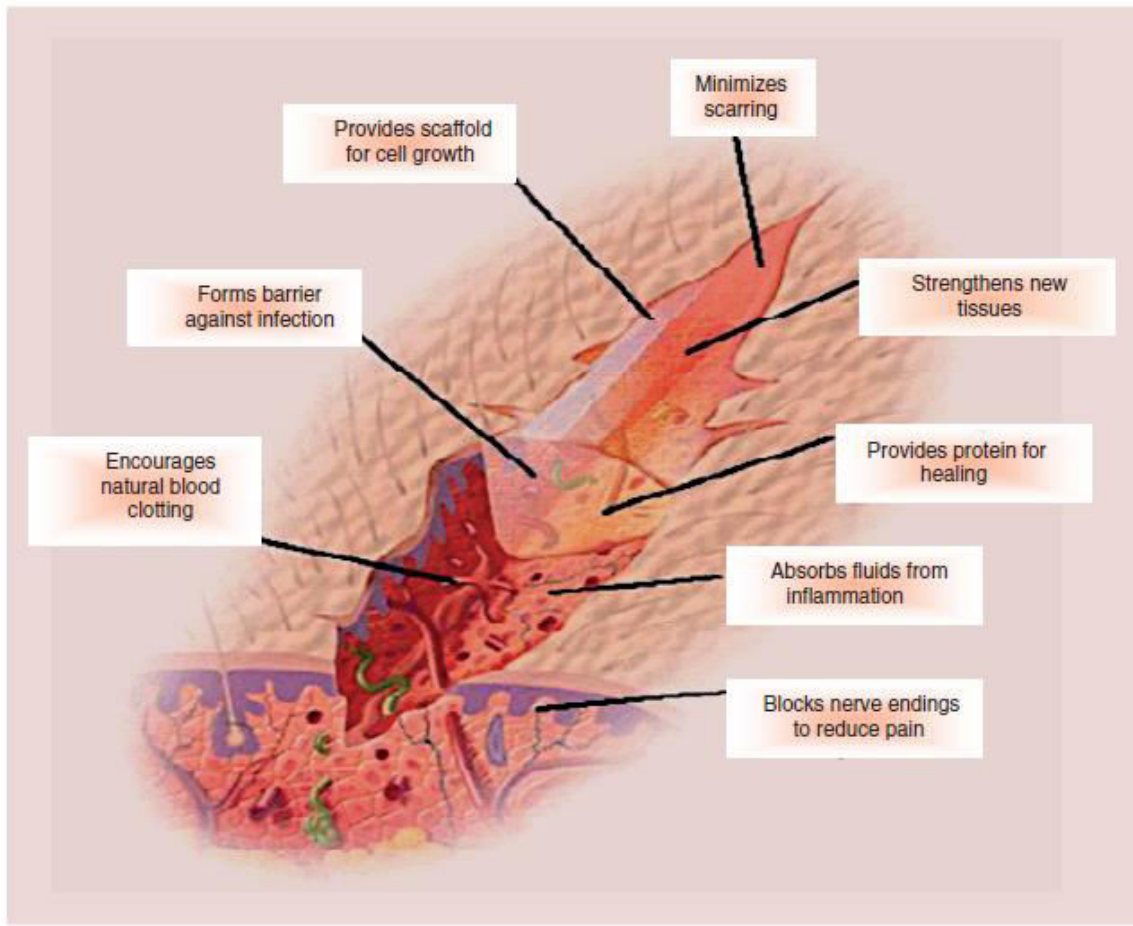


Figure 12 : propriétés exigées pour un pansement idéal ^[14].

Caractérisation physique des pansements

Il est évident que les propriétés physiques de toutes les formulations à usage pharmaceutique jouent un rôle essentiel dans leurs performances. Il existe un certain nombre de propriétés spécifiques qui doivent être caractérisées et sont relatives aussi bien aux types de blessures ou de surfaces à panser au pansement lui-même.

Ces tests de référence ou standards sont généralement décrits dans les spécifications des organismes officiels, tels que les pharmacopées ou les Tests Nationaux Standards ou les laboratoires accrédités. Ces tests comprennent habituellement la détermination des propriétés suivantes :

- Propriétés d'absorption des fluides à savoir leur capacité de rétention et de perte par évaporation.
- Perméabilité à la vapeur d'eau.
- Affinité au fluide.

Chapitre 1 : Coagulation et Cicatrisation

- Rétention d'eau et gélification.
- Tests mécaniques et rhéologiques (contrainte-déformation, élongation, point de rupture).
- Bioadhésion (in vivo et in vitro).

Chapitre 2 :
Plante médicinale et
biomatériaux

2.1. ALFALFA OU LA LUZERNE

2.1.1. Généralités sur Alfalfa, utilisation des plantes médicinales dans l'hémorragie/saignement et la cicatrisation

Depuis très longtemps les humains se soignaient avec les herbes et les plantes. Ils les utilisaient pour traiter différentes maladies, par exemple les troubles digestifs comme les maux d'estomac et les diarrhées, les coups de froid et les douleurs articulaires. Mais ce qui est très intéressant aussi est que ces plantes étaient utilisées pendant les guerres pour arrêter les saignements et les hémorragies, parmi ces plantes on cite la luzerne, l'achillée millefeuille nommée d'après le légendaire Achille et la verge d'or utilisée pour les saignements internes. Mais avec le temps et grâce à la science, les chercheurs ont trouvé que la plupart de ces plantes pouvaient aussi cicatriser les plaies.

La luzerne, aussi connue sous le nom scientifique *Medicago sativa.L* est une plante herbacée et vivace qui fait partie de la famille des Fabacées ^[15] (**figure 13**). Selon l'histoire, la luzerne a deux origines, la première, arabe et la deuxième Grecque. Les Arabes ont été les premiers à cultiver cette plante, car ils ont constaté qu'elle avait une très grande valeur nutritive. La deuxième origine provient de la conquête d'Alexandre de Macédoine de la ville de Médie qui se situe au nord-ouest de l'actuel Iran. Il était ébloui par la force que les animaux d'élevage de la région avaient, donc il s'est intéressé à ce qu'on leur donner comme fourrage.

La position systématique de la luzerne est comme suite :

Règne : Plantae

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Sous-famille: Faboideae

Genre: *Medicago*

Espèce: *Medicago sativa.L*



Figure 13 : La luzerne cultivée.

La luzerne est très résistante à la sécheresse et considérée comme le père de tous les aliments, car elle est riche en vitamines comme la vitamine A, E, D et la vitamine K, le magnésium, le potassium ainsi que le calcium. La luzerne possède aussi des composés bioactifs qui peuvent lui conférer un pouvoir médicinal selon des études cliniques et mécaniques. Parmi ces composés il y a les flavonoïdes, les tannins et les saponines.

Donc comme dit précédemment la luzerne a un pouvoir phytothérapeutique tel qu'elle a été utilisée pour guérir l'athérosclérose, la ménopause, les ulcères grâce aux bioflavonoïdes qui réduisent l'inflammation gastrique et la force capillaire et l'endométriose, car elle contient des phytoestrogènes qui bloquent la production d'œstrogènes. Elle est aussi très efficace pour arrêter les saignements et guérir les plaies cutanées.

Les herbes qui sont utilisées pour arrêter les saignements c'est-à-dire les herbes qui favorisent la coagulation comme la luzerne, sont riches en vitamine K et doivent favoriser l'effet d'un ou plusieurs facteurs de coagulation, des plaquettes ou de la thrombine. La luzerne a un effet de coagulation tellement efficace qu'elle peut gêner l'action de la warfarine anticoagulante aussi connue sous le nom Coumadin. Et elle n'est pas seulement efficace pour la coagulation du sang, mais aussi pour la cicatrisation des plaies grâce à ses composés bioactifs.

2.1.2. Composition chimique

Le concentré de la luzerne contient beaucoup d'aliments nutritionnels ce qui le rend très bénéfique pour les bétails ^[15].

La luzerne possède de nombreux types de protéines solubles à fonctions enzymatiques, des protéines membranaires et des polypeptides, mais la protéine la plus

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

abondante est la rubisco. Ainsi l'extraction de la luzerne révèle la présence de 50 à 60% de la matière azotée totale. Elle renferme aussi une quantité estimée entre 8 et 12% de lipides de divers types comme les glycérides, les acides gras, les quinones liposolubles et les pigments de stérols ^[15].

Medicago sativa.L est une plante très riche en vitamines, comme la vitamine E, C, K et la vitamine B9. Elle est aussi une source non négligeable du précurseur de la vitamine A qui est le β carotène. De plus les extraits de luzerne ont montré que cette dernière contenait une faible quantité de fibres, la quantité est de 2% et les fibres sont sous forme de cellulose, d'hémicellulose, d'oses polymérisés et de lignine ^[15].

Quant à sa composition en glucides, la luzerne contient 0,8% de glucose qui est un sucre simple ; 0,1% de stachyose, 3,2% de glucosannes, 0,3% de saccharose, 2,7% de galactanes, 2% de pentosanes et enfin 0,1% de mananes ; et ce sont des sucres complexes ^[15].

Et enfin l'extraction des minéraux de la luzerne dévoile qu'elle contient 13 à 14% d'éléments minéraux dans la matière sèche.

2.1.3. Composition phytochimique

La composition phytochimique de *Medicago sativa.L* lui confère un intérêt thérapeutique excellent ce qui la rend très appréciée en phytothérapie.

❖ La vitamine K :

La luzerne contient une quantité de 1 mg pour 10 g de concentré de la plante de la vitamine cette vitamine est indispensable à la coagulation du sang. Elle est nécessaire à la synthèse des protéines constituant les facteurs de la coagulation. Et sa présence dans la luzerne lui confère un pouvoir hémostatique remarquable ^[16].

La vitamine K est une vitamine liposoluble et a plusieurs formes moléculaires avec un cycle 2-méthyl-1,4-naphtoquinone commune, mais qui diffère par les structures de la chaîne latérale en position 3. Chez les plantes, il n'y a qu'une seule forme qui est la phylloquinone, appelées auparavant vitamine K₁ ^[17], sa structure chimique est représentée sur **la figure 14**.

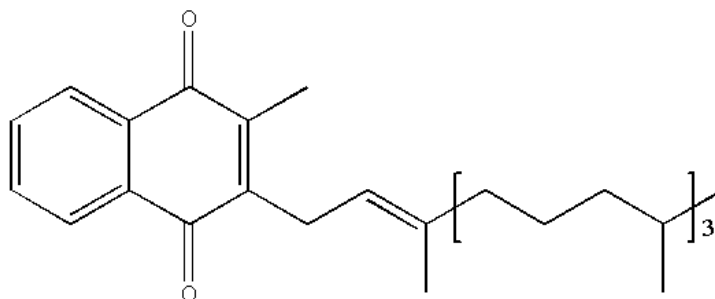


Figure 14 : structure chimique de la phylloquinone ou vitamine K₁.

Des études faites par Henrik Dam en 1930 sur les poulets, et en particulier les poussins, ont conduit à la découverte de la vitamine K. En fait, il a été prouvé que les poussins élevés selon un régime sans stérols et pauvre en graisses développaient de grandes hémorragies, donc des tests supplémentaires de différents aliments ont été ajoutés au régime des poussins comme les céréales, les graines aux organes animaux et ont démontré que le facteur antihémorragique était liposoluble, Henrick Dam la donc nommé : Vitamine Koagulations. Dam a aussi indiqué que le traitement prophylactique avec de la vitamine K à minimiser le taux de mortalité chez les nouveau-nés qui souffraient de maladies hémorragiques.

Enfin grâce à des recherches plus poussées Almquist et Stokstad ont indiqué que les hémorragies pouvaient être stoppées par des extraits concentrés de luzerne ^[18].

❖ La Génistéine

La génistéine est une isoflavone présente dans les différentes parties de la luzerne. C'est un phytoestrogène et un inhibiteur de l'angiogénèse. Cette molécule peut jouer le rôle d'un antioxydant, un anthelminthique et elle peut aussi interagir avec les récepteurs œstrogéniques animaux et humains ^[19]. Sa structure chimique est sur **la figure 15**.

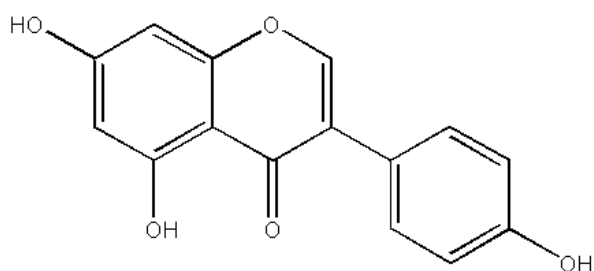


Figure 15 : structure chimique de la génistéine.

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

Récemment, il a été prouvé que la luzerne pouvait être utilisée pour la guérison des plaies cutanées, et cela grâce aux études mécaniques et cliniques qui ont montré que ses effets médicaux étaient attribués à la présence de la génistéine, en fait ces phytoestrogènes ont des structures similaires à celle des œstrogènes et donc les génistéines se lient aux œstrogènes (ER)- β pour activer les voies ER- β afin d'accélérer la fermeture des plaies et le remodelage des tissus^[2].

Il a aussi été démontré que la génistéine favorisait la réparation des plaies après une lésion cutanée en modulant la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui régulaient les activités du facteur nucléaire-kappa B (NF- κ B) et le facteur de nécrose tumorale (TNF- α). Ainsi ces résultats montrent l'importance d'un système antioxydant équilibré et affirment les bienfaits et les avantages de l'utilisation de la génistéine comme antioxydant pour faciliter le mécanisme de cicatrisation des plaies. De plus, l'utilisation de la génistéine pourrait être très bénéfique pour les personnes sensibles au stress oxydatif par exemple les personnes âgées^[20].

❖ La chlorophylle

La chlorophylle est la molécule qui donne la couleur verte aux végétaux et elle est responsable de la photosynthèse des plantes (**voir la figure 16**). D'après Caroline Gayet : « *On la surnomme le sang vert, car sa structure est proche de l'hémoglobine humaine. La différence majeure est que la chlorophylle transporte des atomes de magnésium, alors que chez l'humain, il s'agit de fer* »^[21].

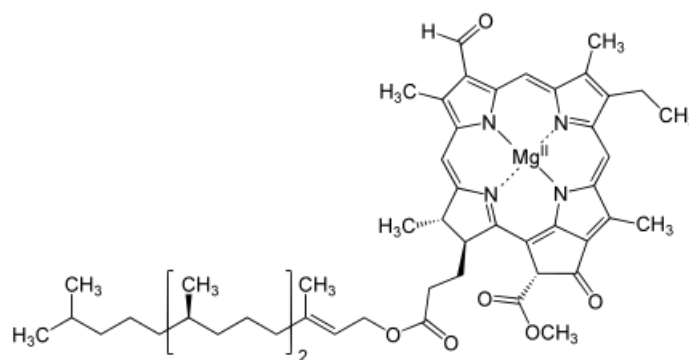


Figure 16 : structure chimique de la chlorophylle.

La chlorophylle stimule la production des globules rouges qui transportent l'oxygène, par conséquent elle permet une meilleure oxygénation, et grâce à ce pouvoir oxygénant la chlorophylle conduit à une meilleure régénération et cicatrisation des tissus. Les

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

dérivés solubles de la chlorophylle sont utilisés par l'armée américaine dans le traitement des blessures de guerre, non seulement pour leur capacité cicatrisante, mais aussi pour leurs propriétés antibactériennes et parce que la chlorophylle permet d'éliminer les odeurs provenant des infections ^[21].

La chlorophylle cicatrise les plaies en réduisant l'hémagglutination et l'inflammation, car lors d'une blessure, il y a la présence de substances étrangères dans le sang qui provoquent la formation des cellules sanguines ce qui diminue la quantité de nutriments présents pour la réparation des tissus endommagés. Quand la chlorophylle est appliquée à une plaie, les agglomérations provoquées par la formation des cellules sanguines sont réduites, et donc le temps de latence lié à la restitution des tissus est raccourci. La chlorophylle diminue également le gonflement puisqu'elle réduit la synthèse de la protéine responsable de la formation des caillots sanguins (la fibrine) ^[22].

Malgré la présence de la chlorophylle avec une grande quantité dans la luzerne et tous ses potentiels thérapeutiques, la luzerne n'a pas encore été utilisée comme un composant dans les pansements régénératifs ^[2].

❖ Les composés antibactériens

La luzerne est une plante polyvalente avec plusieurs utilisations dans le domaine médical. Elle se compose de nombreuses molécules avec effet antibactérien, ces molécules sont les flavonoïdes, les tannins, les saponines... etc. Les flavonoïdes sont une famille de molécules qui s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et le milieu dans lequel il se trouve. Par exemple, il y a l'apigénine qui est représenté sur **la figure 17**, un composé qui agit sur pratiquement toutes les bactéries d'une manière intéressante sauf *Staphylococcus aureus* ^[15].

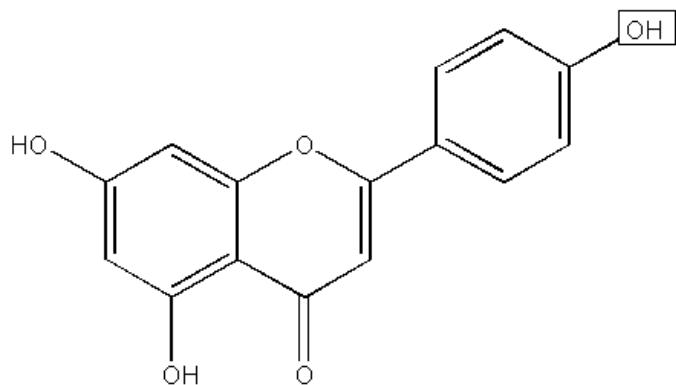


Figure 17: structure chimique de l'apigénine.

Par contre les tannins sont bactéricides contre *Staphylococcus aureus* et leur mécanisme antimicrobien est comme suite :

1. Les tannins conduisent à une complexation avec des substrats ou des enzymes grâce à leurs propriétés astringentes. Lorsque les tannins sont mélangés avec des enzymes microbiennes sous formes purifiées ou dans les filtrats de culture bruts, ils vont inhiber leur fonctionnalité.
2. La nature toxique des tannins peut être liée à leur action sur les membranes des micro-organismes.
3. Les tannins ont la possibilité de complexer les ions métalliques, cette complexation justifie la toxicité des tannins ^[23].

De ce fait on peut en conclure que la luzerne possède une activité antimicrobienne admirable contre les bactéries grâce à la présence des tannins, des flavonoïdes et d'autres composés antibactériens, ainsi les extraits de luzerne peuvent être utilisés comme alternative aux médicaments antimicrobiens chimiques, mais avec des études et des recherches plus poussées ^[23].

2.2. CHITOSANE

2.2.1. Généralités

Le chitosane est un polymère appartenant à la famille des polysaccharides. Il est obtenu par la désacétylation de la chitine (**figure 18**). Celle-ci est un polymère cristallin qui se présente sous forme de microfibrilles hautement ordonnées avec beaucoup d'arrangements. Elle est produite majoritairement à partir des carapaces de crustacés comme les crevettes, les langoustes et les écrevisses, elle est extraite de ces derniers en deux étapes : tout d'abord le

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

carbonate de calcium auquel elle est associée est dissout lors d'un traitement acide, puis les protéines sont solubilisées par une extraction alcaline, alors que le chitosane commercial provient essentiellement de la désacétylation de la chitine. Il peut atteindre de très grandes masses moléculaires selon le protocole de préparation et la source, allant de 1000 à 300 000 kDa. Les degrés de désacétylation de la chitine disponible sur le marché varient entre 70 et 90%, et on peut la trouver sous forme de granules, solutions, poudres, films, hydrogels, fibres et échafaudages lyophilisés

Ainsi la chitine est désacétylée par l'hydroxyde de sodium pour donner le chitosane de formule poly (β -(1.4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose. Le degré de désacétylation (DDA) est défini par le rapport entre les groupements amines et les groupements acétyles dans la chaîne du chitosane, et en fonction de ce rapport on peut savoir s'il s'agit de la chitine ou du chitosane, pour une valeur de DDA supérieure à 50% la structure correspond au chitosane.

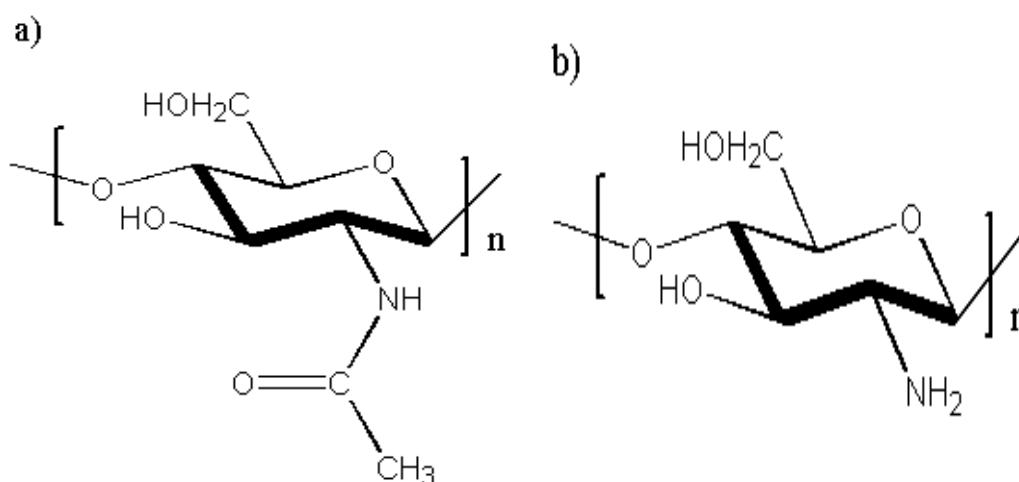


Figure 18 : a) Chitine, b) Chitosane ^[24].

Le chitosane est un polycation semi-cristallin qui est un copolymère de glucosamine et de N-acétylglucosamine. Il est biodégradable, biocompatible, non-toxique et il ne présente aucune immunogénicité et aucune irritation cutanée. Il est également bactéricide ce qui signifie qu'il a la possibilité de tuer les bactéries. Comme la chitine, le chitosane est aussi utilisé dans plusieurs domaines par exemple le biomédical, le pharmaceutique, l'environnement et l'agriculture et même dans le domaine de la papeterie et le textile. Il est aussi connu pour ses capacités hémostatiques, la cicatrisation des plaies en améliorant les fonctions des cellules inflammatoires, il présente aussi de très bonnes propriétés mucoadhésives et antimicrobiennes plus la capacité d'améliorer la pénétration cutanée ^[25].

2.2.2. Propriétés structurales

D'après la littérature, la diffraction de rayons X (DRX) du chitosane hydraté a montré trois réflexions notables. Elle a montré que le motif élémentaire du chitosane hydraté est orthorhombique et se compose de deux chaînes liées avec des liaisons hydrogène intermoléculaires telles que ces chaînes ne sont pas parallèles. La distance entre ces chaînes antiparallèles montre qu'elles forment une structure en forme de bande. L'empilement de ces bandes donne une structure en 3 dimensions qui est présentée dans la **(figure 19)**. Il faut aussi noter que les dimensions des cristaux du chitosane dépendent de son origine ainsi que de sa forme si elle est hydratée ou non, pour mieux comprendre cela on peut voir que pour la forme non hydratée du chitosane il y aura un réarrangement des chaînes selon les axes a, b et c pour occuper l'espace laissé par les molécules d'eau [26].

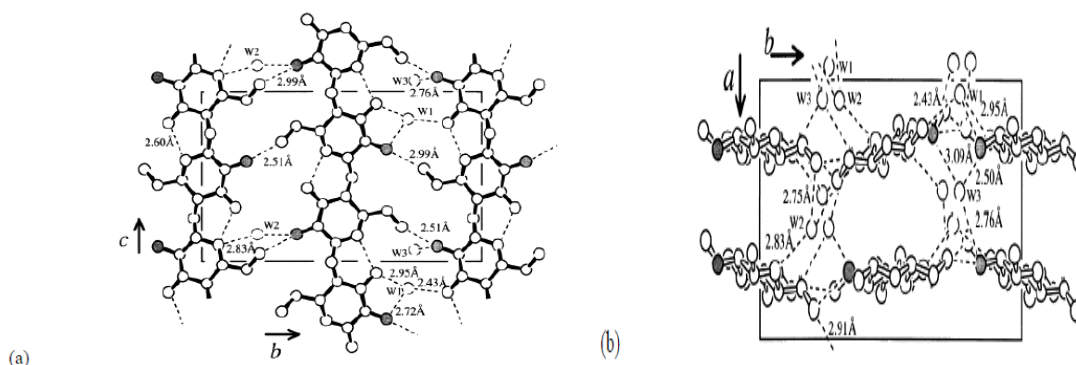


Figure 19 : Empilement des chaînes du chitosane hydraté **(a)** selon l'axe a, **(b)** selon l'axe c. Les cercles gris indiquent un atome d'hydrogène [26].

2.2.3. Propriétés thermiques

Afin de déterminer les transitions thermiques du chitosane, comme les températures de fusion, les transitions vitreuses et les températures de dégradation on utilise la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la thermogravimétrie (TGA) et à l'analyseur mécanique dynamique (DMA).

❖ Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les résultats obtenus par DSC du chitosane montrent qu'il ne présente pas de température de fusion, car sa dégradation se passe avant. De plus, les courbes de DSC ne montrent pas de changement de phase et de cristallinité.

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

La plupart du temps, la DSC et la DMA sont utilisées pour déterminer la valeur de la T_g , car cette dernière est difficile à déterminer précisément pour le chitosane. Dans la littérature, on trouve différentes valeurs de la T_g , sa valeur est contestée, et on trouve aussi des explications qui montrent qu'elle n'existe pas ou qu'elle n'est pas mesurable.

❖ La thermogravimétrie (ATG)

Il a été remarqué que lorsque la vitesse de chauffe augmentait, la dégradation du chitosane se retarder de quelques degrés et qu'elle passait par trois étapes (**figure 20**) :

1. Tout d'abord il y a l'évaporation de l'eau qui est faiblement liée au polymère, cette évaporation est traduite par une perte de masse de 6% et elle a lieu entre la T_{amb} et 140°C.
2. Ensuite il y a la finalisation de la déshydratation, la désacétylation et la dépolymérisation entre 200 et 400°C.
3. Et enfin à des températures supérieures à 400°C, on a la décomposition résiduelle.

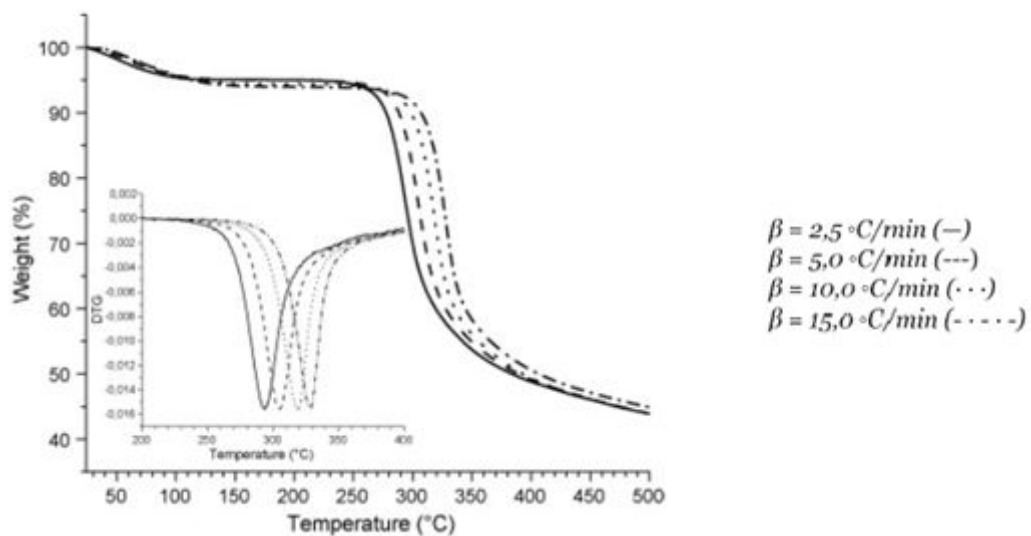


Figure 20 : l'ATG du chitosane pour différentes vitesses du chauffe, ainsi que la dérivée du signal de 200 à 400 °C [26].

2.2.4. Propriétés mécaniques

La chitine est un polymère fortement cristallin grâce à ses groupements acétamide qui ont la possibilité de former des liaisons hydrogène en trois dimensions, alors que le chitosane est lié à l'hydrogène en seulement deux dimensions. Par conséquent différentes conditions d'extrusion de filaments ont été mises en œuvre pour la chitine et le chitosane et ces filaments permettent d'obtenir des propriétés mécaniques et de traction variées comme la résistance à la traction, la ténacité et la flexibilité. La raison pour laquelle le degré d'acétylation de la chitine

augmente et les résistances à la fois sèches et humides augmentent est due à l'augmentation de la cristallinité et l'augmentation des forces entre les chaînes de la chitine [27].

Le chitosane est difficile à désacétyler complètement ce qui provoque une diminution des propriétés de résistance à sec par rapport aux propriétés de résistance humide des fibres et des films, néanmoins il est préférable de former des fibres avec le chitosane qu'avec la chitine, cela peut être alors expliqué par le fait que les fibres partiellement désacétylées aient une structure de copolymère composé de glucosamines et de N-acétyl glucosamines. De ce fait une structure qui n'est pas régulière va donc empêcher la cristallinité et limiter la résistance des fibres et par conséquent une augmentation de l'hydrophilie du chitosane par rapport à celle de la chitine. Cette augmentation de l'hydrophilie va alors diminuer la résistance à la traction du chitosane lorsqu'il est mouillé [27].

2.2.5. Solubilité et propriétés chimiques

2.2.5.1. Le Comportement de la chitine et du chitosane en solution

La chitine et le chitosane possèdent deux propriétés polymériques très importantes, ces propriétés sont le poids moléculaire et le degré de désacétylation. La chitine est connue pour être insoluble dans tous les solvants par contre le chitosane est soluble dans des solutions acides aqueuses, mais cela est possible que si 50% et plus de ses unités répétitives sont désacétylées. Ces deux polymères lorsqu'ils sont à l'état solide possèdent un grand réseau lié à l'hydrogène, ce qui implique la nécessité d'utiliser des solvants qui provoquent des perturbations de la liaison hydrogène et des répulsions entre les chaînes afin de faciliter la solubilité. Les répulsions coulombiennes entre les chaînes sont donc fournies par la protonation des groupements amines qui se trouvent dans les unités répétitives désacétylées du chitosane, et ces répulsions vont alors favoriser le gonflement et la dissolution. De plus, la protonation des amines qui se trouvent dans les chaînes du chitosane provoque une rupture de la cristallinité du polymère. Le degré de désacétylation influe aussi sur la cristallinité, donc pour un DDA égal à 0% ou 100% la cristallinité est maximale alors que pour une valeur intermédiaire la cristallinité est minimale [26]-[27].

2.2.5.2. Conditions de pH liées à la solubilité du chitosane

Le chitosane étant une base qui possède des groupes amines primaires a un pKa de 6,3, donc il n'est pas soluble dans les bases aqueuses, les solvants organiques et l'eau, mais il est possible de le solubiliser dans des solutions acides avec un pH < 6,0. La présence de ces groupes

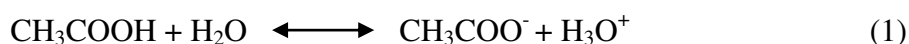
Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

amines font que les propriétés et la charge du chitosane changent avec le changement du pH de la solution, quand le pH est faible les amines vont se protoner et seront chargées positivement, en conséquence le chitosane devient un polyélectrolyte cationique et hydrosoluble, le chitosane est le seul polycation naturel. D'autre part lorsque le pH est élevé le chitosane devient insoluble, ce changement entre l'état soluble et insoluble se fait pour des valeurs de pH entre 6 et 6,5 c'est-à-dire aux alentours de la valeur du pKa (6,3). Sachant que le pKa dépend du DDA cela veut dire que même la solubilité du chitosane dépend de degré de désacétylation et la méthode qui a été utilisée lors de la désacétylation. Effectivement lorsque le chitosane a des faibles valeurs de DDA cela correspond à un nombre restreint de groupements amines.

Il est donc conseillé lors d'un procédé expérimental d'utiliser un chitosane avec un DDA supérieur à 70% pour avoir une solubilité minimale, la solubilité dépend aussi de l'acide utilisé, la force ionique et des groupes acétyles sur la chaîne macromoléculaire. Les techniques d'analyse utilisées pour déterminer le contenu en acétyle du chitosane sont l'infrarouge (IR), l'UV visibles (UV), la chromatographie, la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectroscopie de masse, la conductimétrie et la potentiométrie.

Si la protonation des groupes amines du chitosane augmente, la solubilité du chitosane augmente en parallèle (le degré de protonation dépend de la concentration initiale de l'acide utilisé), et si le degré de protonation est supérieur à 0,5 cela va aboutir à une solubilité complète du chitosane. Le meilleur solvant et le plus utilisé pour solubiliser le chitosane est l'acide acétique dans une solution aqueuse, et il est à noter qu'il n'est pas soluble dans les acides diprotiques comme l'acide sulfurique [26]-[27].

Les équations d'équilibre sont décrites comme suite [26]-[27].



2.2.5.3. Propriétés chimiques et biologiques

Le chitosane possède de nombreuses propriétés chimiques et biologiques. Parmi les propriétés chimiques, on cite :

- polymère cationique ;
- densité de charge importante à pH < 6,5 ;

- Poids moléculaire élevé ;
- La possibilité de former un gel avec les polyanions.
- Chélate certains métaux de transition ;

Et concernant les propriétés biologiques, le chitosane est un polymère d'origine naturelle et biodégradable. Il possède des propriétés hémostatiques telles qu'il peut être utilisé pour arrêter les saignements, ainsi que des propriétés anticancérigènes. Il est également non toxique et antibactérien.

Les différentes formes chimiques du chitosane ainsi que les propriétés chimiques et biologiques ont leurs propres intérêts par exemple pour la manipulation, l'absorption, la bioadhésion et l'hémostase ^[28].

2.2.6. Formes physiques et Applications du chitosane

Les différentes activités et applications du chitosane dépendent largement de sa forme physique, et chacune d'elles a ses propres avantages que ce soit pour la manipulation du chitosane, son activité antibactérienne, sa bioadhésion, l'hémostase ou autres. Ces différentes formes sont :

- Solution.
- Fibres.
- Films.
- Hydrogels.
- Poudre.
- Nanoparticules.
- Revêtements.
- Composite.
- Filaments.
- Et échafaudages lyophilisés.

Il a été prouvé que les nanoparticules du chitosane étaient bien meilleures que sa forme en solution, qui elle aussi meilleure que sa forme solide concernant l'activité antibactérienne. Pour l'hémostase, différentes formes sont utilisés par exemple les éponges de chitosane, les fibres ainsi que les films, et comme pour l'activité antibactérienne il y a une forme qui agit mieux qu'une autre.

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

Les Films de chitosane :

Malgré tous les avantages et les propriétés que possède le chitosane, ses films sont connus pour être cassants et fragiles ce qui limite leurs applications dans plusieurs domaines et surtout pour la conception de formes posologiques. Mais heureusement qu'il existe des méthodes afin de rendre ces films plus rigides, et l'une de ces méthodes est de le mélanger avec d'autres polymères qui ont une meilleure capacité filmogène.

Le mélange du chitosane avec d'autres polymères qui forment des films plus résistants est une méthode simple et moins chère qui offre la possibilité de développer de nouveaux matériaux avec beaucoup de propriétés précieuses. Lorsqu'un polymère cassant est mélangé avec un polymère qui a un aspect caoutchouteux, cela donne un matériau avec une très bonne ténacité et rigidité. Néanmoins ce mélange de polymères donne très souvent des séparations de phases à cause de l'immiscibilité thermodynamique des polymères, l'incompatibilité totale entre ces polymères ne va pas améliorer les propriétés mécaniques et physiques du matériau. D'un point de vue thermodynamique, afin de pouvoir obtenir une miscibilité complète des polymères il faut que l'énergie de mélange de Gibbs soit négative. Il existe des interactions spécifiques telles que les liaisons hydrogène, l'appariement ion-ion qui permettent aux polymères de se mélanger parfaitement, car elles favorisent l'enthalpie de mélange, et pour cette raison-là plusieurs polymères hydrosolubles qui ont des combinaisons des groupes de protons donneurs et de protons accepteurs sont considérés comme miscible. Ainsi la présence des traces d'eau dans les mélanges des polymères hydrosolubles est un facteur favorable, car les molécules d'eau agissent comme des compatibilisants par la formation d'associés polymère/eau/polymères.

Applications :

Le chitosane est un biomatériau très utilisé en industrie, par exemple comme un agent chélatant des métaux nocifs pour enlever les toxines des effluents, comme fongicides dans l'agriculture et beaucoup plus comme flocculant pour clarifier les eaux usées et les boissons. Il est aussi utilisé pour son activité hémostatique, son action antibactérienne, son activité immunostimulante ainsi que pour ses propriétés antifongiques.

Le chitosane est aussi très utilisé en biomédicale, car il ne possède aucune toxicité génétique, aucun effet de toxicité subaiguë, aucune cytotoxicité, aucune hémolyse, une bonne

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

compatibilité biologique et des propriétés biodégradables à la fois pour les humains et les animaux. Il est donc utilisé comme agent hémostatique et un promoteur de cicatrisation des plaies, car il active les fibroblastes, il produit la cytokine, il fait migrer les cellules géantes et il stimule la synthèse du collagène de type IV. Ainsi plusieurs formes de chitosane ont été fabriquées, il a été utilisé pour la conception des éponges qui ont un effet coagulant, des gels hémostatiques à base de gélatine, PVA et de chitosane, des poudres ainsi que des fibres et des films pour la cicatrisation des plaies et le contrôle des saignements.

Le tableau suivant représente quelques dérivés de la chitine et le domaine de leurs applications :

Dérivé	Exemples	applications
N-acyle chitosane	Formyle,acétyle, haxanoyle	Textiles
Ions métalliques complexés	Palladium, argent, cuivre	Photographie, insecticides
Complexes polysaccharidiques naturels	Alkyle chitine, benzyle chitine, complexe acide linoléique chitosane, hydroxyethyle glycol chitosane, hydroxybutyle chitine	Floculation et complexation des ions métalliques Enzymologie Additifs alimentaires Dialyse
N-carboxyalkyle (aryle) chitosane	Alanine glucane, methionine, glucane	Fixation des ions métalliques, Chromatographie
Résines semi-synthétiques de chitosane	Poly (amideester), anhydride, acrylamide maléique	Textiles

Tableau 1 : Quelques dérivés de la chitine et leurs applications ^[28].

2.2.7. Chitosane dans l'hémostase et la cicatrisation

La chitine et le chitosane possèdent beaucoup de propriétés biologiques qui leur confèrent la possibilité d'être utilisés comme pansement pour les blessures. Ces propriétés sont

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

la biocompatibilité, la biodégradabilité, l'activité hémostatique, l'activité anti-infectieuse et la propriété d'accélérer la cicatrisation des plaies ^[29].

Pour l'activité hémostatique du chitosane et sa capacité à se lier aux tissus il y a quelques propriétés chimiques susceptibles de l'influencer, et parmi ces propriétés on cite : le poids moléculaire du biomatériau, sa cristallinité, son degré de désacétylation, son degré d'ionisation et le contre-ion. Le chitosane grâce à son effet coagulant peut être utilisé lors des procédures cliniques par exemple en chirurgie, et il est utilisé directement sur la surface de saignement en utilisant les différentes formes physiques citées précédemment afin d'obtenir des résultats d'hémostase très satisfaisants. L'usage clinique du chitosane va dépendre des méthodes d'application que les chirurgiens individuels utilisent pour des types de plaies bien définis. En littérature les chercheurs mentionnent les différentes formes physiques qu'ils ont utilisées dans leurs études pour décrire l'application hémostatique du chitosane et de la chitine, et leurs résultats ont été regroupés selon la forme physique choisie.

De nombreuses études ont été faites sur des modèles animaux par exemple des porcins hémorragiques et des jeunes moutons pour prouver l'effet hémostatique du chitosane. Les résultats obtenus lors de ces études étaient très satisfaisants et montrent que le temps d'hémostase était réduit, de plus le polymère de chitosane a une longue durée de conservation et ne nécessite aucun assemblage spécial au moment de l'application. Il aurait été utilisé efficacement pour contrôler les saignements artériels majeurs, est non allergène, peut être utilisé efficacement à des températures extrêmes, ne génère pas de chaleur, léger, portable et facile à administrer sans formation spécialisée, et est peu coûteux. Sa forme physique joue aussi un rôle important, car elle lui permet de se gélifier pour se conformer à la plaie une fois versé sur le site de saignement, et peut être facilement retiré. Il est suffisamment lourd pour être versé dans la plaie sans être rapidement éliminé par des saignements en cours ou facilement emporté par des conditions météorologiques défavorables. Les propriétés se rapprochent des qualités idéales des agents hémostatiques pour une utilisation préhospitalière et sur le champ de bataille ^[30].

Ces études permettent alors de développer un traitement sûr et efficace qui sert à relever un certain nombre de défis uniques rencontrés sur le champ de bataille et dans les principaux traumatismes civils, car l'utilisation du garrot peut entraîner des complications et n'est pas toujours efficace ^[30].

D'autres études ont permis de faire des tests à fin de comprendre la façon dont le chitosane agissait sur les sites de saignements. Les tests de coagulation ont indiqué que l'effet

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

hémostatique du chitosane est indépendant de la cascade de coagulation normale et peut être attribué à l'agglutination cellulaire du composant des globules rouges. Le sang contient théoriquement cinq milliards de globules rouges par millilitre et par conséquent, le bouchon hémostatique formé par le chitosane est causé par l'agrégation de ces cellules ^[31].

Les globules rouges possèdent des récepteurs contenant des résidus d'acide muramique à la surface et lorsque le chitosane est appliqué sur le site de saignement il y aura une interaction de ce polymère chargé positivement avec les récepteurs, et par ce fait le mécanisme qui induit la formation de coagulum aura lieu ^[31].

Ces études ont aussi montré que le chitosane peut se lier directement à la membrane cellulaire par une liaison ionique, en particulier avec les globules rouges et les plaquettes indépendamment de la cascade de coagulation intrinsèque. Sachant que le chitosane est un polysaccharide de type glycosaminoglycane, sa liaison aux membranes cellulaires peut favoriser la liaison instantanée d'autres cellules, et donc la formation d'un bouchon hémostatique. Cependant, des études plus poussées sont nécessaires pour une meilleure compréhension ^[31].

Les avantages lors de l'utilisation du chitosane comme pansement hémostatique ^[32]:

- ❖ Coagulation rapide ;
- ❖ Absorption de qualité ;
- ❖ Facile à utiliser, a l'avantage d'apporter une couche antibactérienne aux blessures ;
- ❖ Biocompatibilité.

Concernant la cicatrisation, pour qu'un pansement soit idéal il doit être biocompatible, protéger la plaie contre les infections bactériennes et offrir un milieu humide et cicatrisant. Multiples études ont montrées que la chitine et le chitosane accélèrent la cicatrisation des plaies, et les pansements utilisant la chitine et le chitosane sont déjà sur le marché. Le chitosane est un polycation naturel qui est énormément étudié en tant qu'agent antimicrobien pour prévenir et traiter les infections en raison de ses propriétés antimicrobiennes intrinsèques, ainsi que de sa capacité à délivrer efficacement des composés antimicrobiens extrinsèques dans la zone infectée ^[29].

Les molécules de chitosane ont la possibilité d'induire la migration des cellules inflammatoires et des fibroblastes étant activées pour produire plusieurs cytokines et accélérant la cicatrisation des plaies. En plus lorsque les molécules de chitosane stimulent les fibroblastes,

ces fibroblastes vont sécréter l'interleukine-8 (IL-8), une molécule connue pour être angiogénique et chimioattractive pour les cellules endothéliales et épidermiques. Une étude sur la cicatrisation des chiens qui utilisait le chitosane a révélé que le chitosane stimulait non seulement la migration et la prolifération des fibroblastes, mais également la production de collagène de type III en plus de l'infiltration de cellules inflammatoires dans la zone de la plaie [29].

Dans l'une de ces recherches, on a utilisé les hydrogels de chitosane photoréticulables, car il a été prouvé qu'ils avaient la capacité de pansement pour l'occlusion des plaies dans le processus de cicatrisation. Les hydrogels de chitosane sont mous et très flexibles et leur résistance à l'étanchéité s'est révélée supérieure à celle d'une colle de fibrine disponible dans le commerce [29].

Les hydrogels de chitosane induisent une contraction significative de la plaie de la cicatrisation avec plus de 50% de fermeture. Lorsque la contraction de la plaie est incitée par l'hydrogel cela va contribuer à la formation avancée de tissu de granulation et à l'épithélialisation dans les plaies. En plus, les hydrogels de chitosane adhèrent fortement à la plaie et la couvrent bien pendant le processus de cicatrisation. Il est aussi intéressant de noter que dans cette expérience l'hydrogel qui est resté sur la plaie est tombé spontanément selon la progression de l'épithélialisation et il est également dégradé lentement par l'enzyme de lysozyme, qui est présente sur la zone de la plaie, ce qui augmente la possibilité qu'il ne soit pas nécessaire de retirer périodiquement l'hydrogel de chitosane de la plaie [29].

D'après les résultats de cette étude, l'hydrogel de chitosane photoréticulable peut être un nouveau pansement prometteur pour l'occlusion des plaies et un adhésif tissulaire, particulièrement adapté aux situations nécessitant une hémostase urgente [29].

2.3. HYDROXYETHYLE CELLULOSE

2.3.1. Structure

L'hydroxyéthyle cellulose (HEC) est un polymère neutre hydrosoluble dérivé de la cellulose. C'est un éther de cellulose tout comme le carboxyméthyle cellulose sodique (CMC) ou aussi connu sous le nom gomme de cellulose, seulement le HEC est non ionique et ses solutions ne sont pas affectées par les cations. Il est obtenu en faisant réagir la cellulose avec un époxyde tel que l'oxyde d'éthylène dans des conditions alcalines.

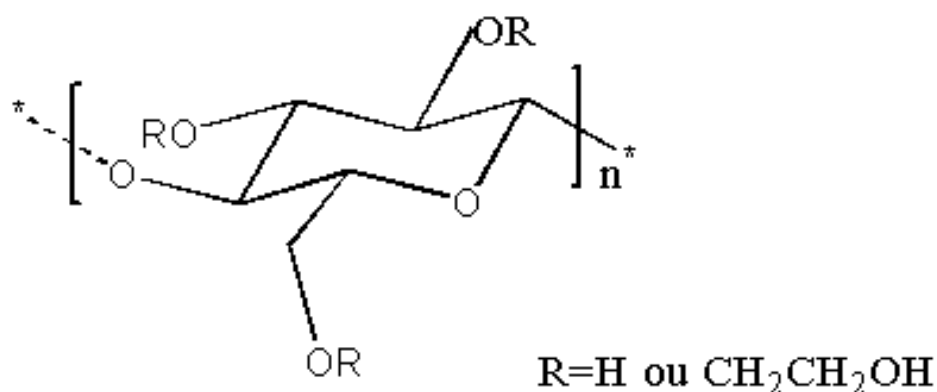


Figure 21 : structure chimique de l'hydroxyethyl cellulose.

Le HEC est facilement soluble dans l'eau qu'elle soit froide ou chaude, en plus ses solutions ont des propriétés d'écoulement différentes par rapport aux autres polymères hydrosolubles ^{[33]-[34]}.

L'hydroxyéthyle cellulose est utilisé comme agent de suspension, colloïde protecteur, épaississant, stabilisant et liant. Et il est aussi utilisé pour la production des solutions qui ont une large gamme de viscosité, ce genre de solutions s'appelle pseudo-plastiques, cela veut dire qu'ils varient en viscosité en fonction de la quantité de contraintes de cisaillement appliquée ^{[33]-[34]}.

Ce polymère est très utilisé en industrie, il peut être utilisé dans le domaine pharmaceutique, les adhésifs, le papier, les textiles, la polymérisation en émulsion et les revêtements décoratifs et protecteurs ^{[33]-[34]}.

2.3.2. Propriétés

2.3.2.1. Solubilité dans l'eau

L'hydroxyéthyle cellulose se dissout rapidement dans l'eau chaude ou froide et forme des solutions homogènes. Les solutions de HEC ne précipitent pas et ne se gélifient pas même si le point d'ébullition de l'eau est atteint ^[33].

2.3.2.2.Solubilité dans les solvants organiques

L'hydroxyéthyle cellulose est un polymère hydrosoluble principalement insoluble dans les solvants organiques. Néanmoins il est gonflé ou partiellement soluble dans certains solvants.

Généralement les solvants qui sont miscibles à l'eau ou possèdent des groupes polaires, montrent un certain effet de solubilité de HEC ^[33].

2.3.2.3.Viscosité

Les solutions de l'hydroxyéthyle cellulose ont un écoulement non newtonien parce qu'elles changent de viscosité avec le taux de cisaillement, et elles sont très utilisées pour modifier la viscosité des solutions, des dispersions et des émulsions. La viscosité des solutions de HEC dépend de la température, elle diminue lorsque la température augmente et elle augmente lorsque la température baisse ^[33].

2.3.2.4.Absorption d'humidité

Le HEC absorbe l'humidité de l'atmosphère comme les autres matériaux hygroscopiques ou finement divisés. La quantité de l'humidité absorbée dépend de l'humidité relative de l'air environnant et de l'humidité initiale de HEC. C'est pourquoi les sacs ouverts qui ne sont pas utilisés peuvent subir une absorption d'humidité.

Lorsque le stockage dur plus longtemps, la teneur en humidité de l'hydroxyéthyle cellulose tend à atteindre un niveau d'équilibre qui varie avec l'humidité de l'atmosphère environnante, particulièrement après l'ouverture du sac ^[33].

2.3.2.5.Compatibilité avec d'autres matériaux

L'hydroxyéthyle cellulose étant un polymère non ionique, il est compatible avec une large gamme de matériaux hydrosolubles, y compris d'autres polymères hydrosolubles et des gommes naturelles ^[33].

2.3.2.6.Dermatologie et toxicologie

Les études de dermatologie humaine et de toxicologie animale ont été faites sur le HEC dans des laboratoires indépendants, et les résultats obtenus étaient très satisfaisants.

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

Les tests de toxicité orale aiguë et les épreuves orales subchroniques n'ont pas montré d'effets indésirables ou des signes de toxicité macroscopique sur les rats même pour des doses un peu élevées, plus des examens microscopiques et macroscopiques des organes et des tissus qui n'ont révélé aucune anomalie qui peut être attribuée à l'alimentation de HEC ^[33].

Il s'est avéré que l'hydroxyéthyle cellulose n'a montré aucun signe de sensibilisation et ne produisait pas d'irritation cutanée dans le patch test prophétique Schwartz chez l'homme comme l'a fait l'amidon de blé commercial. Des tests de patch d'insultes répétées chez l'homme ont indiqué que le HEC est non-irritant et non sensibilisant. Ces tests ont permis à l'hydroxyéthyle cellulose d'être utilisé dans de nombreux produits pharmaceutiques et cosmétiques ^[33].

2.3.2.7. Sécurité du produit

L'hydroxyéthyle cellulose est une poussière inflammable lorsqu'elle est finement divisée et suspendue dans l'air comme pour la plupart des matières organiques. Et si cette poussière en suspension est enflammée, elle peut provoquer une explosion. Pour minimiser ce risque d'explosion, il faut suivre les bonnes pratiques d'entretien et une conception et un fonctionnement appropriés des installations. De plus les surfaces exposées aux déversements et à la poussière de HEC deviendront énormément glissantes, surtout si elles sont mouillées avec de l'eau. Donc il faut bien nettoyer ces déversements et suivre les bonnes pratiques d'entretien ménager ^[33].

2.3.2.8. Statut FDA et EPA

L'hydroxyéthyle cellulose est compris dans la liste des matériaux conformes aux exigences de la US Food and Drug Administration pour une utilisation dans les adhésifs et dans les revêtements résineux et polymériques utilisés sur les surfaces en contact avec les aliments en métal, papier ou articles en carton et autres substrats appropriés destinés à être utilisés dans les emballages alimentaires, comme spécifié dans le Code of Federal Regulations des États-Unis ^[33].

2.3.3. Utilisation

Le HEC est un polymère largement utilisé dans plusieurs domaines ^[34].

- Il est utilisé comme colloïde protecteur dans les revêtements en latex et les émulsions pharmaceutiques ;
- dans les gels pharmaceutiques ;

Chapitre 2 : Plante médicinale et biomatériaux

- comme formateur de film pour les finitions de tissu ;
- le verre fibreux et les amidons aérosols ;
- comme épaississant pour adhésifs ;
- revêtements en latex ;
- dentifrice, shampooings et pansements capillaires, crèmes et lotions cosmétiques,
- encres et ciments pour joints ;
- lubrifiant pour adhésifs pour papier peint ;
- Et comme liant à l'eau pour les ciments, les plastiques, les revêtements de texture, les glaçures céramiques et les encres d'imprimerie.

Chapitre 3 :
Expériences et Résultats

Chapitre 3 : Expériences et Résultats

En raison de conditions actuelles, et de la pandémie du covid-19 le laboratoire de Recherches sur les Macromolécules (LRM) a dû fermer et par conséquent, les expériences ont été suspendues. La partie expérimentale n'est donc pas finie et aucun résultat sur le composite final n'a été obtenu.

3.1. MATÉRIEL

Le matériel utilisé est : erlenmeyers, béchers, barreaux magnétiques, cristallisoirs, plaques chauffantes, pipettes et micropipettes, éprouvettes, pipettes pasteur, balance analytique, thermomètre, boîtes de pétri en polystyrène et en verre, spatules, pinces, un dessiccateur.

3.2. LES RÉACTIFS

Le Chitosane (CTS) (M: 310000-375000Da) avec un degré de désacétylation supérieur à 75% et une viscosité de 800-2000 centipoise (cP) a été acheté auprès de SIGMA-ALDRICH, l'hydroxyéthyle cellulose (HEC) (M_v moyenne : 90,000 g/mol) avec une viscosité de 75-150 centipoises (cP) a été acheté auprès de SIGMA-ALDRICH, les feuilles de luzerne ont été fraîchement cueillies dans la région de Nedroma.

3.3. LES SOLVANTS

L'acide acétique glacial (pureté : 99-100%), l'éthanol (96%) et le méthanol (pureté : 99,6%), ont été obtenus auprès de SIGMA-ALDRICH et utilisés sans purification. l'eau distillée est préparée au laboratoire LRM.

3.4. INSTRUMENTS ET TECHNIQUES D'ANALYSE

Les instruments et techniques d'analyse utilisés lors de cette étude sont : un spectrophotomètre uv-visible (Specord 200 Plus), où les échantillons ont été scannés dans un domaine de 200~1200 nm, sur un trajet lumineux de 1 cm. Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourrier (FTIR) (Agilent Cary 640 de TA instruments). D'autres analyses prévues, telles que la mesure de l'angle de contact, les tests de gonflement, la microscopie électronique à balayage, la (diffraction aux rayons X) DRX, n'ont pu être réalisées en raison de l'interruption du stage pratique suite à la pandémie de Covid-19.

3.5. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

3.5.1. Préparation des mélanges

03 préparations différentes ont été réalisées.

- La 1^{ère} HEC + CTS dans l'acide acétique à 10%.
- la 2^{ème} HEC + CTS dans l'acide acétique à 2%.
- La 3^{ème} uniquement HEC + luzerne dans l'acide acétique à 2% et dans l'eau.

Selon la littérature, des expériences ont été menées en dissolvant le chitosane dans l'acide acétique à 2% et à 10%. L'intérêt de la 1^{ère} et 2^{ème} préparation est de voir quel est le meilleur pourcentage d'acide acétique pour une dissolution complète du chitosane, l'objectif étant alors de faire une comparaison entre les 2 pourcentages, afin de savoir lequel sera choisi pour préparer le composite final.

Pour la 3^{ème} préparation, il fallait voir quel est le meilleur solvant pour dissoudre la poudre des feuilles de luzerne. Un mélange acide acétique-eau a été choisi pour faire les tests.

2 solutions de CTS et de HEC ont été préparées en dissolvant 75 mg de chitosane et de HEC dans 5 ml de solution d'acide acétique à **10%** séparément, la solution de chitosane a été agitée pendant 3 jours avec un chauffage à 60°C pendant 16h. La solution de HEC a été agitée pendant 24h avec un chauffage à 60°C pendant 6h30. Les 2 solutions précédemment préparées ont été mélangées ensemble avec une agitation vigoureuse pendant 24h à Température ambiante. Enfin le gel formé a été coulé sur une boîte de Pétrie en polystyrène, laissé sécher pendant 3 jours à l'air libre puis séché sous vide à l'aide d'un dessiccateur pendant 2 jours. Le film récupéré a été lavé avec l'éthanol puis séché dans une étuve à 65°C avant de le faire passer aux analyses FTIR et UV-VISIBLE.

2 autres solutions de CTS et de HEC ont été préparées en dissolvant 75 mg de CTS et de HEC dans 5 ml de solution d'acide acétique à **2%** et d'eau distillée respectivement. La solution de chitosane a été agitée pendant 5 jours à température ambiante et celle du HEC pendant 24h à température ambiante. Ensuite la solution de CTS a été ajoutée à celle de HEC, puis agitée vigoureusement pendant 24h. Le gel obtenu était versé sur une boîte de Pétri en verre et laissé sécher sous vide dans un dessiccateur pendant 7 jours, ensuite laissé sécher à l'air libre pendant quelques jours.

Chapitre 3 : Expériences et Résultats

2 solutions de HEC ont été préparées en dissolvant 75mg d'hydroxyéthyle cellulose dans 5 ml d'acide acétique à 2% et d'eau distillée respectivement. Les solutions préparées ont été agitées à T_{amb} pendant 24h. Après que le HEC soit bien dissout dans les 2 solvants, une certaine quantité (faible quantité) de poudre de feuilles de Luzerne a été ajoutée aux 2 solutions pour tester sa solubilité et voir le comportement de la plante avec le HEC. Les solutions ont été laissées sous agitation pendant 24h, versées sur 2 boîtes de Pétrie en verre et laissées sécher à l'air libre.

3.5.2. Solubilité des feuilles de luzerne :

Des tests de solubilité de la poudre des feuilles de Luzerne (25,7 mg) dans le méthanol et l'éthanol (10 ml) ont été faits séparément.

- Dans le méthanol : la solubilité de la poudre des feuilles de luzerne s'est faite immédiatement avec un dépôt de quelques particules au fond du bécher et une couleur verte foncée.
- Dans l'éthanol : il y a une bonne solubilité de la poudre dans ce solvant aussi, mais la couleur obtenue est plus claire que pour le méthanol.
- Dans la solution HEC + eau : la plante a une bonne solubilité dans cette solution.
- Dans la solution HEC + acide acétique : mauvaise solubilité de la plante dans l'acide.

Après obtention des films, des analyses spectroscopiques UV-Vis et FT-IR ont été réalisées dont les résultats sont présentés dans ce qui suit. Cependant, des analyses détaillées du composite obtenu après mélange des 3 constituants, c'est-à-dire le chitosane, la luzerne et l'hydroxyéthyle cellulose n'ont pas pu être faites en raison de la fermeture du laboratoire LRM à cause du Covid-19.

3.6. RESULTATS ET DISCUSSION

Lors de la préparation des 2 solutions de chitosane et de HEC dans l'acide acétique à 2% et 10%, on a remarqué qu'il y avait une meilleure dissolution dans la solution à 2% que dans celle à 10%. On a aussi constaté que dans les deux solutions il restait des résidus du polymère qui étaient insolubles. En conséquence, le composite final qui contiendrait la luzerne, le chitosane et l'hydroxyéthyle cellulose devrait être préparé dans une solution d'acide acétique à 2%.

Chapitre 3 : Expériences et Résultats

La figure suivante montre le film de CTS/HEC dans une solution de 10% d'acide acétique qui a été obtenu :



Figure 22 : film de CTS/HEC à 10% d'acide acétique.

3.6.1. Spectre UV visibles :

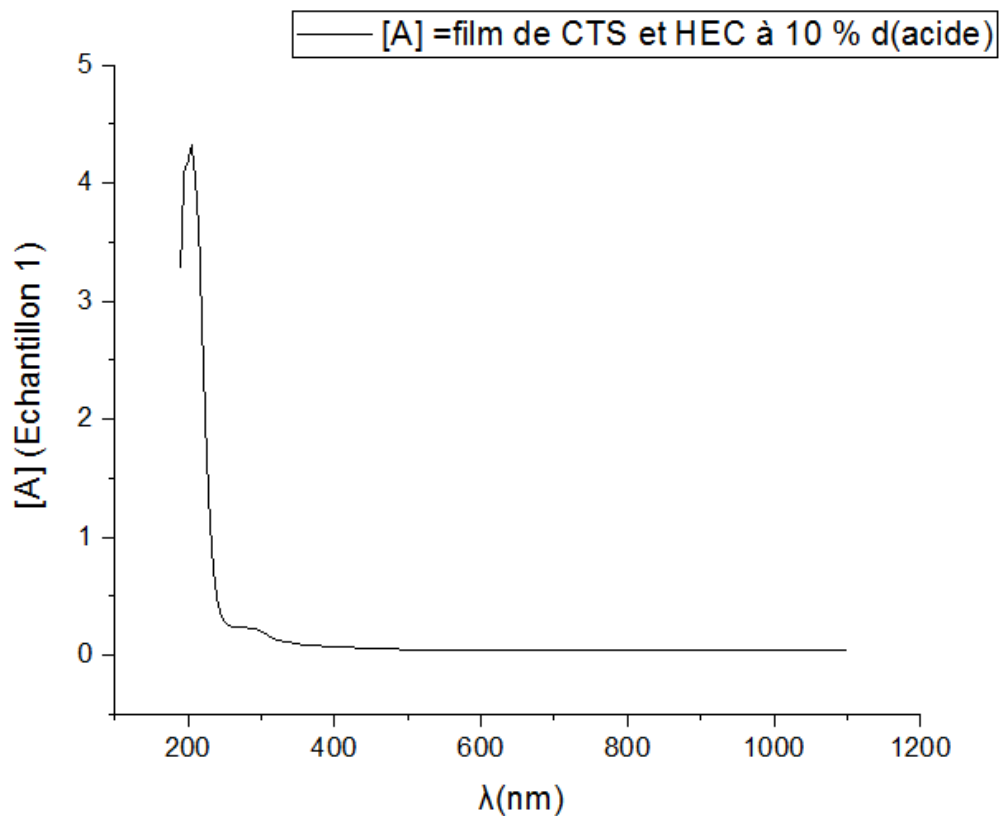


Figure 23 : spectre UV visibles du film contenant le chitosane et l'hydroxyéthyle cellulose dans une solution à 10% d'acide acétique.

Le spectre uv-visible du film CTS/HEC montre une bande d'absorption dans le domaine de l'UV lointain à 220 nm qui n'est attribuée à aucun chromophore en particulier, le film étant incolore et transparent.

3.6.2. Spectres infrarouges :

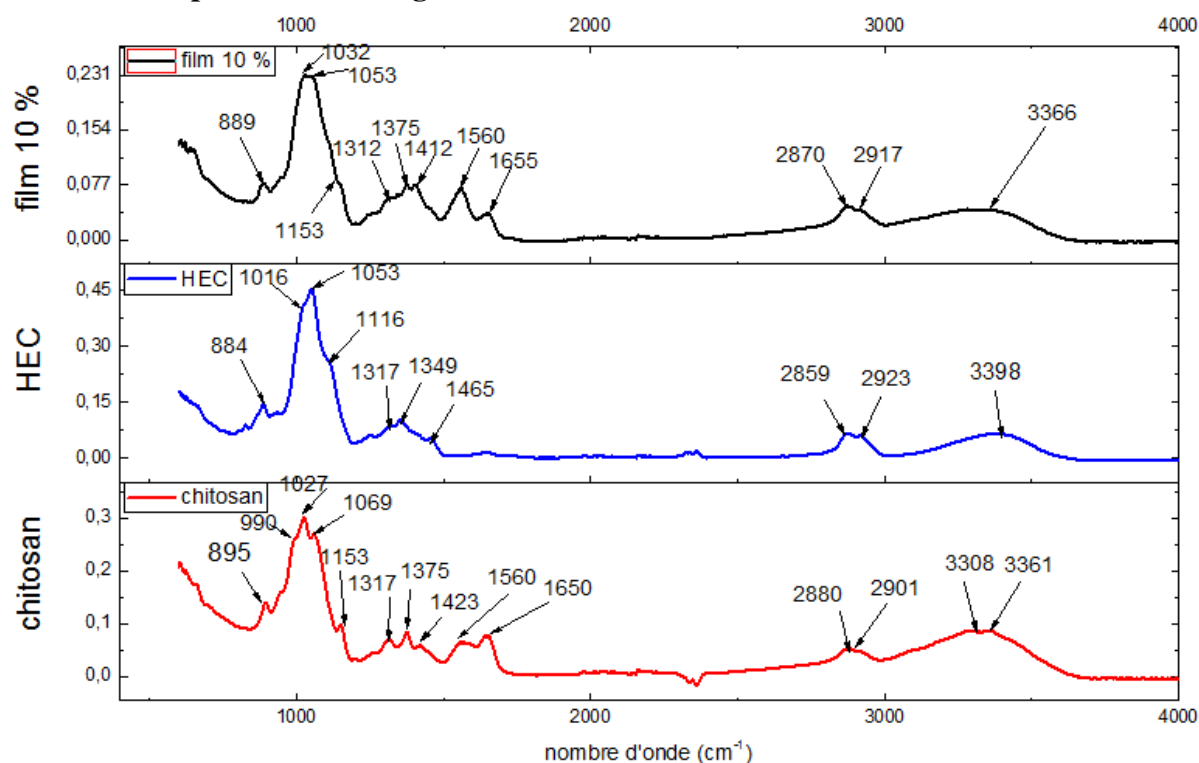


Figure 24 : spectres infrarouge des réactifs et du film de chitosane et HEC dans une solution à 10% d'acide acétique superposés.

Spectre du chitosane

Bandes caractéristiques cm^{-1}	1027	1069	1153	1317~1375	1650	1560	2880~2910	3308~3361
Groupes fonctionnels	C-O Des alcools primaires	C-O des éthers	C-N	CH₃ (déf)	C=O des amides	N-H des amines primaires	C-H (C_{sp3}-H)	Elongation des groupes OH et NH

Tableau 2 : bandes caractéristiques et groupes fonctionnels correspondant au chitosane.

Spectre de l'hydroxyéthyle cellulose

Bandes caractéristiques cm^{-1}	1016	1053	2859~2923	3398
Groupes fonctionnels	C-O des alcools primaires	C-O des éthers	C-H (C_{sp3}-H)	O-H lié

Tableau 3 : bandes caractéristiques et groupes fonctionnels correspondant à l'hydroxyéthyle cellulose.

Chapitre 3 : Expériences et Résultats

Spectre du film CTS/HEC à 10% d'acide

Bandes caractéristiques cm⁻¹	1032	1053	1153	1312~ 1375	1560	1655	2917~ 2870	3366
Groupes fonctionnels	C-O alcool primaire	C-O des éthers	C-N	CH ₃ (déf)	N-H des amines primaires	C=O des amides	C-H (C _{sp3} - H)	O-H et N- H

Tableau 4 : bandes caractéristiques et groupes fonctionnels correspondant au film CTS/HEC à 10% d'acide.

D'après les résultats obtenus et l'interprétation des spectres IR on remarque que les bandes caractéristiques du chitosane ainsi que du HEC sont présentes dans le film cela veut dire qu'il y a eu une homogénéité entre les deux réactifs et que le film contient les deux à la fois.

Ces résultats sont très importants pour pouvoir continuer les expériences, car ils nous prouvent que le chitosane et le HEC peuvent être mélangés ensemble sans aucun problème.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

L'hémorragie, la coagulation et la cicatrisation restent des sujets qui intriguent beaucoup de personnes, surtout les médecins et les chercheurs, car ils touchent plus de 6,5 millions de personnes dans le monde entier chaque année.

Ce travail a pour but d'expliquer ce qu'est l'hémostase et la coagulation plus la cicatrisation, ainsi que leurs mécanismes et procédés anciens et modernes.

Nous avons également présenté une étude bibliographique sur les différents composants, produits et matériaux qui sont utilisés pour arrêter les saignements et améliorer la cicatrisation comme la luzerne et le chitosane.

La partie expérimentale de cette étude se porte sur l'élaboration d'un biocomposite qui contient à la fois la luzerne, le chitosane et l'hydroxyéthyle cellulose et qui a un potentiel hémostatique et cicatrisant. Malheureusement le composite n'a pas pu être élaboré en raison de la pandémie mondiale du Covid-19 pour laquelle le Laboratoire de Recherche sur les Macromolécules (LRM) où on faisait les expériences a dû fermer.

Le protocole expérimental prévu pour l'élaboration complète du composite final ne pouvait être réalisé. Seuls des résultats préliminaires, très encourageants, relatifs à la formation des films ont été obtenus. Bien qu'insuffisants en termes de preuve, les spectres IR et UV-Vis du composite obtenu semblent indiquer qu'il s'est bien formé. On espère que dans le futur l'élaboration sera finalisée et le composite sera obtenu afin de pouvoir faire des études plus avancées et des tests biologiques pour démontrer l'efficacité du biocomposite.

Perspectives

Perspectives

Pour le Futur, nous souhaitons finaliser l'élaboration du composite selon le protocole expérimental suivant :

- Préparer une 1^{ère} solution en dissolvant 75 mg de chitosane dans 5 ml d'une solution d'acide acétique à 2%.
- Préparer une 2^{ème} solution en dissolvant 75 mg de HEC dans 5 ml d'une solution d'acide acétique à 2%.
- Dissoudre 15 mg de poudre de feuille de luzerne dans 5 ml de méthanol.
- Ajouter un agent de réticulation du chitosane et du HEC pour obtenir un composite insoluble, ayant des propriétés d'hydrogel.

Le film sec sera soumis à une caractérisation physico-chimique complète. La caractérisation comprendra : l'UV visibles, l'analyse FTIR, la DRX, le MEB, les tests de gonflement et l'angle de contact.

Et pour finir, des tests biologiques seront réalisés pour voir l'efficacité du biocomposite sur l'organisme.

Références bibliographiques

- [1] P. Hangge, J. Stone, H. Albadawi, Y.S. Zhang, A. Khademhosseini, R. Oklu. Hemostasis and nanotechnology. *Cardiovasc Diagn Ther* [en ligne]. 2017.
- [2] A. Seungkuk, H. A. M. Ardoña, P. C. Hangge., G. M. Gonzalez, and K. K. Parker. Alfafla nanofibers for dermal wound healing. *ACS Appl. Mater. Interfaces*[en ligne]. 2019.
- [3] A. Le Touze, M. Robert, La cicatrisation et la cicatrice.
- [4] D.T. Nguyen, D.P. Orgill, G.F. Murphy The pathophysiologic basis for wound healing and cutaneous regeneration, *Biomaterials for Treating Skin Loss, Wood head Publishing Series in Biomaterials*[en ligne] 2009, Pages 25-57.
- [5] <https://fr.wikipedia.org/wiki/H%C3%A9morragie>(consulté le 15/03/2020 à 10h17)
- [6] S. Barman, K. Barrett, S. Boitano, H. Brooks, W. Ganong. Physiologie médicale, 3^{ème} édition.2012, p532 (Sciences médicales).
- [7] <https://www.docteurclic.com/encyclopedie/coagulation-du-sang.aspx>(consulté le 11/06/2020 à 14h25)
- [8] <https://www.docteurclic.com/symptome/cicatrisation.aspx>(consulté le 11/06/2020 à 14h27)
- [9] G. S. Schultz and B. A. Mast, Molecular Analysis of the Environments of Healing and Chronic Wounds: Cytokines, Proteases and Growth Factors, *Wounds: a compendium of clinical research and practice* [en ligne], January 1999.
- [10] J. S. BOATENG, K. H. MATTHEWS, H. N.E. STEVENS, G. M. ECCLESTON, Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review, *Journal of pharmaceutical sciences* [en ligne], 2008,97, 2892-2922.
- [11] F. Strodbeck, DNS, RNC, NNP, Physiology of Wound Healing, *Newborn and Infant Nursing Reviews* [en ligne], Volume 1, Issue 1, March 2001, Pages 43-52.
- [12] L. Russell, Understanding physiology of wound healing and how dressings help. *British Journal of Nursing* [en ligne].2000, Vol. 9, No. 1.
- [13] B. P. Nagori and R. Solanki, Role of Medicinal plants in Wound Healing. *Research Journal of Medicinal Plants*[en ligne]. 2011, Vol 5, page 392-405.
- [14] A. J. Hassiba , M. E. El Zowalaty, G. K. Nasrallah , T. J. Webster, A. S. Luyt, A. M. Abdullah & A. A. Elzatahry, Review of recent research on biomedical applications of electrospun polymer nanofibers for improved wound healing. *Nanomedicine* [en ligne]. 2016, vol. 11, no. 6.
- [15] A. Messioughi, Etude d'une plante fourragère la luzerne *Medicago sativa.L*: importances phytochimiques, aspects thérapeutiques et essais microbiologiques. [en ligne]Thèse de doctorat en Biologie végétale. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA, 2015/2016.
- [16] <https://www.e-sante.fr/vitamine-k-vitamine-coagulation/actualite/1582>(consulté le 21/04/2020 à 19h22)

Références bibliographiques

- [17] M. J. Shearer, Vitamine K. Thèse de Doctorat, Haemophilia Center, St Thomas Hospital, London SE1 7EH, UK, January 28, 1995.
- [18] E.C. M. Cranenburg, L. J. Schurgers, C. Vermeer. Vitamin K: The coagulation vitamin that became omnipotent. Vita K & Cardiovascular Research Institute CARIM [en ligne], University of Maastricht, Maastricht, The Netherlands, 2007.
- [19] <https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9niste#:~:text=La%20g%C3%A9niste%20est%20l%27une%20des%20nombreuses%20isoflavones%20connues>. (Consulté le 30/04/2020 à 23h00)
- [20] P. Eunkyoo , M. L. Seung, J. In-Kyung , L. Yunsook , K. Jung-Hyun. Effects of genistein on early-stage cutaneous wound healing. *BiochemBiophys Res Commun* [en ligne].2011.
- [21] <https://www.doctissimo.fr/nutrition/sante-dans-l-assiette/secrets-des-aliments-sante/chlorophylle-sante> (Consulté le 23/03/2020 à 09h00)
- [22] H.E. Kirschner, M.D. CHLOROPHYLL as THERAPY – Cancer – Germs- Intestines.
- [23] R. Mohamed, A. El-Desoukey, Phytochemical and Antimicrobial Activity of *Medicago sativa* (Alfalfa) as Source of Animal Food against Some Animal Pathogens. *Global Veterinaria* [en ligne], 2015.
- [24] M. Rinaudo, Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science* [en ligne]. 2006, Vol 31.
- [25] K. Luo, J. Yin, O. V. Khutoryanskaya, V. V. Khutoryanskiy. Mucoadhesive and Elastic films Based on Blends of Chitosan and Hydroxyethyl cellulose. *Macromolecular Bioscience* [en ligne]. 2008.
- [26] M. Matet, Préparation de films à base de chitosane par voie fondue. [en ligne] Thèse de doctorat, Université de Montréal école polytechnique de Montréal, 2014.
- [27] H. S. Whang , W. Kirsch, Y. H. Zhu, C. Z. Yang & S. M. Hudson, Hemostatic Agents Derived from Chitin and Chitosan, 2006.
- [28] E. Assaad, Étude du processus de coagulation-floculation du système montmorillonite-chitosane dans l'élimination de métaux de transition. [en ligne] Thèse de Doctorat, Université DU Québec À Montréal, Mai 2006.
- [29] M. Ishihara, K. Nakanishi, K. Ono, M. Satoc, M. Kikuchi, Y. Saito, H. Yura, T. Matsui, H. Hattori, M. Uenoyama, A. Kurita, Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials* [en ligne], 2002.
- [30] G. Ersoy, M.D., Ü. Rodoplu, M.D., O. Yılmaz, M.D., N. Gökmen, M.D., A. Doğan, M.D., Ö.Dikme, M.D., A. Aydinoğlu, M.D., O. Orhon, M.D. Hemostatic efficacy of local chitosan linear polymer granule in an experimental sheep model with severe bleeding of arteria and venafemoralis, 2016.
- [31] S. B. Rao and C. P. Sharma, Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential. *Journal of Biomedical Materials Research* [en ligne]. 1997, Vol 34.

Références bibliographiques

[32]<http://pc-equipment.fr/wp-content/uploads/2016/07/PANSEMENT-HEMO-FR.pdf> (Consulté le 23/03/2020 à 17h02)

[33] Natrosol[®] HEC and its applications, 1999.

[34] Polymer Chemistry, 6th edition, Ch. E. Carraher, Eds. Marcel Dekker, 2003

ملخص

يُعرّف النزيف بأنه تدفق الدم خارج بيئته الطبيعية التي تسمى بالأوردة. ما يأتي بعد النزيف هما ظاهرتان طبيعيتان تسميان بالتخثر أو الإرقاء و التئام الجروح.

يُعرّف التخثر بأنه تكوين جلطة دموية تمنع تدفق المزيد من الدم ، ويمكن تعريف التئام الجروح على أنه إصلاح الأنسجة المصابة في الجسم.

لتعزيز هذه الظاهرة ، طور الباحثون عدة أنواع من الضمادات مثل الغرواني المائي أو الضمادات القائمة على الجينات.

الهدف من هذا العمل هو تطوير مركب حيوي يعمل بمثابة ضمادة تخثر وشفاء والتي تحتوي على نبات طبي وهو البرسيم الحجازي والمواد الحيوية الشيتوزان و الهيدروكسي اثيل سيلولوز.

الكلمات المفتاحية: التخثر ، الإرقاء ، الشيتوزان ، الندبة ، البرسيم ، هيدروكسي إيثيل السليلوز

Résumé

L'hémorragie est définie par l'écoulement du sang en dehors de son milieu naturel « les veines », ce qui en suit sont deux phénomènes naturels appelés coagulation ou hémostase et cicatrisation.

La coagulation est définie par la formation d'un caillot sanguin qui empêche le sang de couler davantage, et la cicatrisation peut être définie par la réparation d'un tissu de l'organisme atteint d'une blessure.

Pour booster ces phénomènes, les chercheurs ont développé plusieurs types de pansements comme les pansements hydrocolloïdes ou à base d'alginate.

Le but de ce travail est donc d'élaborer un biocomposite qui aura le rôle d'un pansement coagulant et cicatrisant et qui contiendra une plante médicinale qui est la luzerne et des biomatériaux le chitosane et le HEC.

Mots clés : Coagulation, Hémostase, Chitosane, Cicatrisation, Luzerne, Hydroxyéthyle cellulose.

Abstract

Bleeding is defined as the flow of blood outside of its natural environment "the veins", what comes after this are two natural phenomena called coagulation or hemostasis and scarring.

Coagulation is defined as the formation of a blood clot that prevents more blood from flowing, and scarring can be defined as the repair of tissue in the body that has been injured.

To boost these phenomena, researchers have developed several types of dressings such as hydrocolloid or alginate-based dressings.

The goal of this work is therefore to develop a biocomposite which will act as a coagulating and healing dressing and will contain a medicinal plant which is alfalfa and biomaterials chitosan and HEC.

Keywords: Coagulation, Hemostasis, Chitosan, Wound healing, Alfalfa, Hydroxyethyl cellulose.