

# SYNTHESE D'HYDROGELS A BASE DE XANTHANE. INFLUENCE DES PARAMETRES DE SYNTHESE SUR LE COMPORTEMENT DES HYDROGELS

## SYNTHESIS OF XANTHAN BASED HYDROGELS. INFLUENCE OF THE SYNTHESIS PARAMETERS ON HYDROGELS BEHAVIOR

Anca BEJENARIU,<sup>a, b</sup> Marcel POPA,<sup>a</sup> Luc PICTON<sup>b,\*</sup> et Didier LE CERF<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Faculté de Génie Chimique et Protection de l'Environnement, Département des Polymères Naturels et Synthétiques, Université Technique "Gh. Asachi", Bd. D.Mangeron, nr. 71 A, Iasi 700050, Roumanie

<sup>b</sup> Université de Rouen, FRE 3101 CNRS, F-76821 Mont Saint Aignan, France

Reçu le Mars 25, 2009

De nouveaux hydrogels à base de xanthane ont été obtenus par réticulation, en utilisant des agents non toxiques : la dihydrazide d'acide adipique (ADH) en présence de chlorhydrate de 1-ethyl-3(3-dimethyl amino propyl) carbodiimide (EDCI) en milieu acide et le trimetaphosphate de sodium (STMP) en milieu basique. Dans ces conditions le xanthane est sous forme d'hélice dans le premier cas et il y a coexistence d'hélice et de pelote statistique dans le second cas. Les hydrogels sont caractérisés du point de vue de leur taux de gonflement maximal dans différents milieux et par leur capacité de séquestrer du bleu de méthylène (molécule modèle). Les résultats encourageants montrent la perspective d'utiliser ces hydrogels à base de xanthane dans les domaines pharmaceutique et biomédical pour la séquestration de composé cationique.

New xanthan based hydrogels were obtained by cross-linking reactions, using non-toxic agents: adipic acid dihydrazide (ADH) a 1-ethyl-3[3-dimethyl amino] propyl carbodiimide hydrochloride (EDCI) in acidic medium and sodium trimetaphosphate (STMP) in basic medium. In these conditions, the xanthan is in its helicoidal form in the first case and presents a helix/statistical coil coexistence in the second case. The hydrogels were characterized in terms of their maximum swelling degree in different experimental conditions and through their capacity to entrap the methylene blue (model molecule). The results show the perspective of using xanthan hydrogels in the pharmaceutical and biomedical fields as substrates suitable for controlled cationic drug release systems.

### INTRODUCTION

Les polysaccharides sont des polymères naturels qui ont connu, pendant les dernières années, un regain d'intérêt, du fait de leur biocompatibilité et leur biodégradabilité.<sup>1</sup> Grâce à leurs propriétés, ils sont utilisés pour élaborer des hydrogels dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux.<sup>2,3</sup> Les hydrogels sont des réseaux ayant la capacité d'absorber de grandes quantités d'eau, en restant insolubles dans le milieu aqueux, grâce à la réticulation des chaînes macromoléculaires.<sup>4</sup>

Le xanthane, exopolysaccharide microbien produit par *Xanthomonas campestris*, est généralement utilisé pour sa capacité à modifier les propriétés des milieux aqueux (épaissir, émulsionner,

stabiliser, flocculer, gonfler et suspendre ou former des gels) et pour former des films et des membranes<sup>5</sup> pour des applications cosmétiques, chimiques, agroalimentaires. En solution aqueuse, le xanthane présente une transition conformationnelle d'une forme hélicoïdale ordonnée à une forme désordonnée (pelote) dépendant principalement de la température et de la force ionique.<sup>6</sup> Le xanthane est également capable de former des gels chimiques par réaction de réticulation.<sup>7</sup>

L'objectif principal de notre travail est l'élaboration de matrices à base de xanthane, dans deux milieux où les conformations ordonnée et désordonnée sont préférentielles (milieu acide pour la conformation double hélice et milieu basique pour la conformation pelote – la force ionique a été

\* Correspondant : luc.picton@univ-rouen.fr

fixée à 0,001). Nous avons utilisé deux agents réticulant non toxiques : le sodium trimetaphosphate (STMP) <sup>8</sup> actif en milieu basique et l'hydrazide d'acide adipique (ADH) <sup>9, 10</sup> actif en milieu acide. Les systèmes obtenus ont été caractérisés notamment par leur taux de gonflement maximal ( $Q_{max}$ ) et par leurs capacités de séquestrer une molécule modèle (le bleu de méthylène).

## MATERIEL

Le xanthane a été fourni par Rhodia (France), le nitrate de lithium ( $LiNO_3$ ) par Kelkogel, la dihydrazide d'acide adipique (ADH) par Fluka, le chlorhydrate de 1-ethyl-3(3-dimethyl amino propyl) carbodiimide (EDCI), le trimetaphosphate de sodium (STMP) et le bleu de méthylène (BM) par Sigma-Aldrich. Tous les composés ont été utilisés sans purification préalable et pour tous les tests de l'eau Milli Q (mQ) a été utilisée.

Les mesures de gonflement ont été réalisées par gravimétrie (incertitude 10%) et les mesures de la variation de l'absorption du BM ont été effectuées par spectrophotométrie ( $\lambda=665nm$ ), en utilisant le Spectrophotomètre UVIKON 860, (Kontron Instruments).

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1 Synthèse des hydrogels

Par des mesures rhéologiques et de dichroïsme circulaire (non montrées ici et qui font l'objet d'une autre publication), nous avons montré qu'à  $pH=3$  et quelque soit la force ionique apportée, le xanthane se trouvait toujours sous forme de double hélice. Par contre en milieu fortement basique ( $pH=13$ ) il y avait coexistence de chaînes sous forme ordonnée avec des chaînes sous forme de pelote statistique avec des concentrations en xanthane supérieures à 10g/L, concentration nécessaire pour obtenir des hydrogels.

#### 1.1 Synthèse des hydrogels en milieu acide

Pour la synthèse en milieu acide, il a été choisi de réticuler les hélices de xanthane avec l'ADH, en présence d'une carbodiimide soluble, l'EDCI. La réaction de synthèse est présentée dans la figure 1.

#### 1.2 Synthèse des hydrogels en milieu basique

En milieu basique, les chaînes de xanthane ont été réticulées avec le STMP. Il est important de noter l'apport de charges introduites par réticulation. La réaction de réticulation est présentée dans la figure 2.

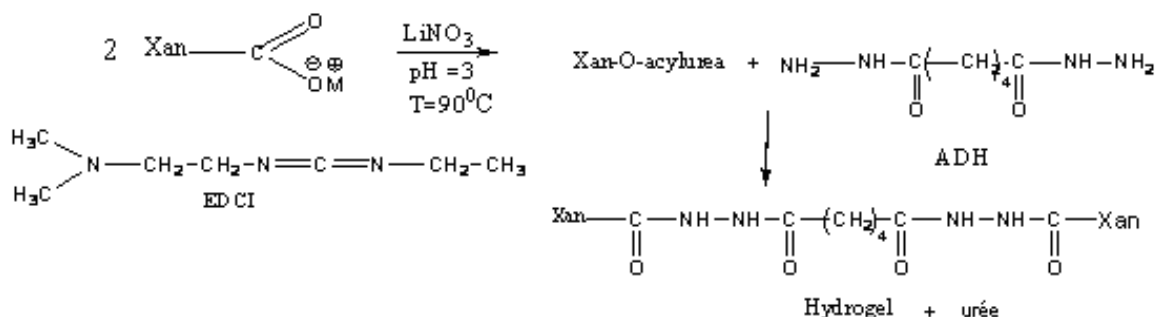


Fig. 1 – Réaction de réticulation du xanthane avec ADH, en présence d'EDCI, en milieu acide.

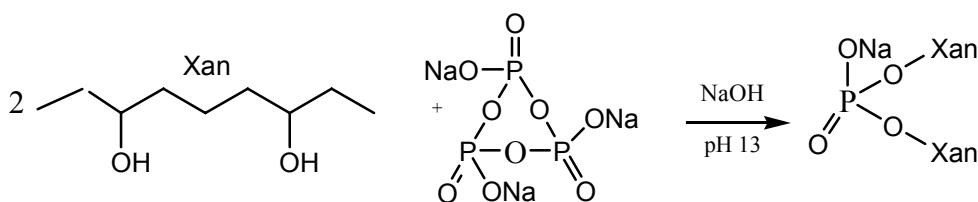


Fig. 2 – Réaction de réticulation du xanthane avec STMP, en milieu basique.

Tous les hydrogels étudiés par la suite ont été obtenus avec une concentration en xanthane initiale  $[X]$  de 25 g/L. Le pH est ajusté par addition de soude ou d'acide chlorhydrique ; du  $\text{LiNO}_3$  à 0,001M est ajouté.

Dans le cas de la réaction de réticulation avec la dihydrazide d'acide adipique (ADH), nous avons fait varier le rapport  $[\text{ADH}]/[\text{X répétition}]$  en gardant constant  $[\text{EDCI}]/[\text{X répétition}] = 1$ . La codification est la suivante : 25XnA pour 25g/L de xanthane avec le rapport  $n = [\text{ADH}]/[\text{Xan}]$  et A est le symbole de l'agent de réticulation (ADH).

Dans le cas du trimetaphosphate de sodium (STMP), nous avons fait varier la quantité de STMP. La codification est la suivante : 25XmS pour 25g/L de xanthane avec le rapport  $m = [\text{STMP}]/[\text{X répétition}]$  et S est le symbole de l'agent réticulant (STMP).

Les hydrogels ont été purifiés par dialyse contre de l'eau Milli Q.

Le rendement de synthèse des hydrogels est plus important en milieu réactionnel acide (70%) en comparaison avec celui du milieu réactionnel basique (50%). Le rendement plus faible avec le STMP est dû à une consommation de soude lors de la réaction<sup>8</sup>. La réussite de la réaction de réticulation a été vérifiée par des mesures d'analyse élémentaire et par des études de stabilité des gels en milieu aqueux, pendant plusieurs jours.

## 2. Caractérisation des hydrogels

Les hydrogels ont été caractérisés par leur taux de gonflement maximal ( $Q_{\text{max}}$ ). Celui-ci est atteint au bout de 2 heures.

### 2.1 Taux de gonflement maximal des gels synthétisés en condition acide

La figure 3 représente les gonflements maximum obtenus pour les trois hydrogels placés selon différents pH : 3, 7 et 13.

De manière très surprenante les hydrogels dont le rapport  $[\text{ADH}]/[\text{X répétition}]$  est le plus élevé présentent un gonflement bien supérieur aux autres alors qu'ils devraient être plus réticulé. Le taux de réticulation réel plus faible obtenu est dû à la quantité très importante d'activateur introduite (EDCI) car nous avons travaillé avec un rapport  $[\text{ADH}]/[\text{EDCI}]$  constant. Toutes les molécules d'EDCI réagissent sur la totalité des fonctions carboxyliques par une liaison N-acylurée stable<sup>10</sup> réduisant la réactivité de l'ADH. Par conséquent le taux de réticulation est plus faible.

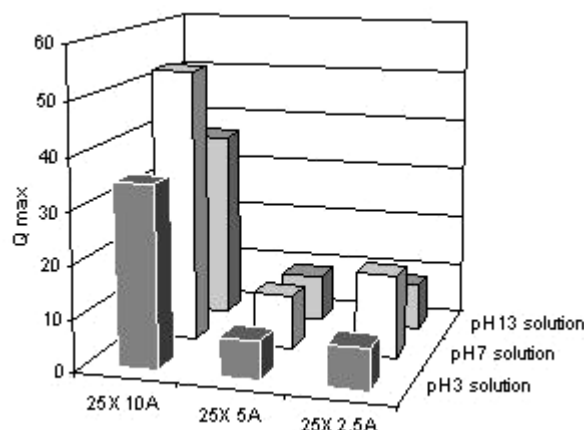


Fig. 3 – Représentation du  $Q_{\text{max}}$  pour les hydrogels synthétisés en milieu acide, dans trois domaines différents de pH.

Pour les deux autres hydrogels, les gonflements sont relativement faibles en raison de la grande rigidité du xanthane en milieu de synthèse acide et ils respectent un taux de réticulation qui augmente avec une augmentation du rapport  $[\text{ADH}]/[\text{X répétition}]$ .

Concernant le milieu de gonflement, un milieu acide est défavorable au gonflement en raison des fonctions acide sous forme carboxylique (absence de charge). Le gonflement est maximum à  $\text{pH}=7$  en raison de la répulsion des chaînes par les fonctions carboxylate. Les mêmes hydrogels, placés à  $\text{pH} 13$  par l'ajout de NaOH se rétracte en raison de la forte force ionique apportée par les ions Sodium. Nous retrouvons des gonflements comparables en milieu  $\text{NaCl} 0,1\text{M}$ .

### 2.2. Taux de gonflement maximal des gels synthétisés en condition basique

La figure 4 représente les gonflements maximum obtenus pour les trois hydrogels placés selon trois pH de 3, 7 et 13.

La présence de chaînes en conformation flexible et de charges négatives sur les nœuds de réticulation donne des gonflements pour ces hydrogels plus importants qu'avec l'ADH comme réticulant.

Pour expliquer le comportement de ces hydrogels, il faut reprendre le mécanisme de réaction du STMP<sup>11</sup> au niveau des liens de réticulation de type phosphate comme montré dans la figure 2, avec des fonctions phosphate et tripolyphosphate qui n'entraînent pas de réticulation mais augmentent fortement le gonflement.<sup>8</sup>

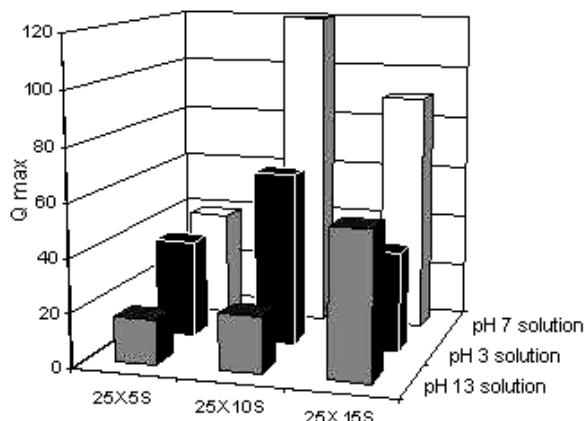


Fig. 4 – Représentation du  $Q_{\max}$  pour les gels synthétisés en milieu basique, dans trois domaines différents de pH.

Les gonflements obtenus sont donc le résultat de deux paramètres dont l'influence est opposée : l'augmentation du nombre de nœuds de réticulation réduisent la dynamique au sein de l'hydrogel et doit diminuer le gonflement, mais la réticulation est obtenu par des groupes phosphate qui augmente le caractère hydrophile et donc l'affinité vis à vis de l'eau. Cela a pour conséquence l'augmentation du gonflement.

Si on se place à pH=7, les teneurs croissantes en STMP augmentent le nombre de phosphate et de tripolyphosphate donnant des gonflements plus importants. A pH=3, les groupes carboxyliques sont protonnés et le milieu est favorable à la formation d'hélice réduisant le gonflement. A pH=13, les fonctions ionisées (carboxylate et phosphate) sont écrantées.

### 3. Capacité d'absorption du bleu de méthylène

Nous avons ensuite recherché à connaître la capacité d'absorption des différents hydrogels synthétisés. Celle-ci peut dépendre du gonflement et des affinités ioniques entre le composé séquestré et l'hydrogel. Nous avons choisi comme modèle, le bleu de méthylène (BM), molécule cationique avec

une grande affinité pour les polymères chargés négativement<sup>10</sup> (figure 5).

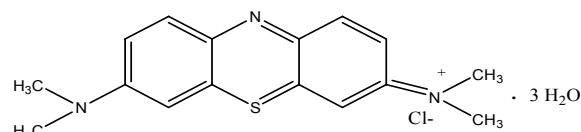


Fig. 5 – Formule chimique du bleu de methylene (BM).

La variation de l'absorption du BM ( $2.10^{-5}$  mol/L) a été mesurée par spectrophotométrie à 665 nm, avant et après l'immersion des gels secs, par comparaison aux valeurs initiales pour obtenir le pourcentage de BM absorbées. La valeur de l'absorption finale a été prise après 24h (figure 6).

De manière logique, la teneur en BM décroît avec le rapport [ADH]/[X répétition] puisque la réticulation est réalisée sur les fonctions carboxyliques. Par contre, avec le STMP, il y a apparition de groupes phosphate et tripolyphosphate qui augmentent le taux de ionisation et donc la capacité de séquestration de composés cationiques.

Des essais d'absorption ont été effectués en utilisant le bleu de dextrane de conformation flexible mais de masse molaire supérieure au million. En raison d'une taille trop importante, le polymère ne peut diffuser à l'intérieur du gel en raison d'une porosité trop faible.

## CONCLUSIONS

Nous avons synthétisé des hydrogels à base de xanthane sous deux conformations structurales préférentielles (double hélice en milieu acide et pelote en milieu basique) en utilisant deux réticulants non toxiques en milieu aqueux (l'hydrazide d'acide adipique (ADH) et le trimetaphosphate de sodium (STMP)).

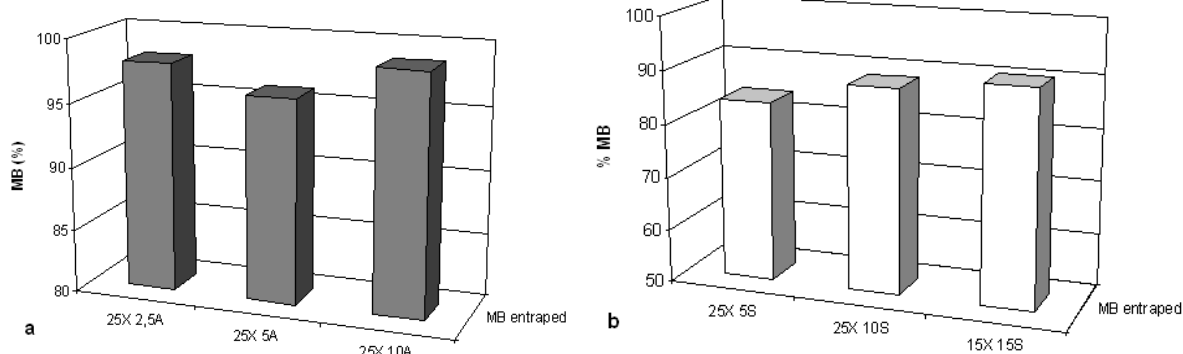


Fig. 6 – Représentation du % BM absorbé dans les gels synthétisés dans des conditions réactionnelles (a) acides et (b) basiques.

Des mesures de gonflement ont été réalisées à pH variable (3, 7 et 13). Les cinétiques de gonflement montrent une stabilisation en environ une heure.

Les taux de gonflement sont plus importants dans le cas des systèmes STMP en raison de la présence de groupes phosphate apportés par le STMP. Avec le STMP, nous avons obtenu un maximum de gonflement pour la densité de réticulation intermédiaire en raison de la compétition entre densité de réticulation et présence de charges par le STMP.

L'effet du pH est peu sensible avec les hydrogels ADH en raison de la faible accessibilité des fonctions carboxyliques excepté pour un des systèmes qui peut s'expliquer par la présence d'ADH monogreffé. Les hydrogels à base de STMP sont plus sensibles au pH.

Enfin, quelques essais de séquestration puis libération d'un composé modèle cationique (bleu de méthylène) ont été réalisés. La séquestration est obtenue par interaction ionique entre le PA et les charges négatives présentes dans l'hydrogel (fonctions carboxylate et pyruvate par le xanthane et fonctions phosphate par le STMP). Les deux milieux de libération testés étaient un pH de 1,5 et du NaCl 0,1M pour mimer respectivement le milieu de l'estomac et le sérum physiologique. Les taux de séquestration obtenus sont importants

(entre 85 et 95%). Les libérations obtenues sont fortement dépendantes du réticulant, du taux de réticulation et du milieu. Ces résultats préliminaires montrent la capacité de ces systèmes mais ne permettent pas encore de bien comprendre et maîtriser le phénomène.

## REFERENCES

1. T. Coviello, P. Matricardi, C. Marianecchi et F. Alhaique, *J. Controlled Release*, **2007**, *119*, 5-24.
2. A.S. Hoffman, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2002**, *54*, 3-12.
3. C.C. Lin et A.T. Metters, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2006**, *58*, 1379-1408.
4. N.A. Peppas, «Hydrogels. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine», 2<sup>nd</sup> edition, Academic Press, New York, 2004.
5. A. Martínez-Ruvalcaba, E. Chornet et D. Rodrigue, *Carbohydr. Polym.*, **2007**, *67*, 586-595.
6. W. Liu et T. Norisuye, *Int. J. Biol. Macromol.*, **1988**, *10*, 1, 44-50.
7. I.C. Alupej, M. Popa, M. Hamcerencu et M.J.M. Abadie, *Eur. Polym. J.*, **2002**, *38*, 2313-2320.
8. S. Lack, V. Dulong, D. Le Cerf, L. Picton, J.F. Argillier et G. Muller, *Polym. Bull.*, **2004**, *52*, 429-436.
9. L. David, V. Dulong, D. Le Cerf, L. Cazin, M. Lamacz et J.P. Vannier, *Acta Biomater.*, **2008**, *4*, 256-263
10. V. Dulong, D. Le Cerf, L. Picton et G. Muller, *Colloids Surf. A*, **2006**, *274*, 163-169.
11. S. Lack, V. Dulong, L. Picton, D. Le Cerf et E. Condamine, *Carbohydr. Res.*, **2007**, *342*, 943-953.