

AKA ANY-GRAH S^{1*},
KOFFI AA¹,
DALLY LI¹,
N'GUESSANA¹,
N'GUESSAN C¹,
GUEI L¹,
KABLAN L¹,
DADE J²,
AGNELY F³

FORMULATION D'UN HYDROGEL A BASE DE SACOGLOTTIS GABONENSIS POUR LE TRAITEMENT DE L'ULCERE DE BURULI

RESUME

L'ulcère de Buruli (UB) est une maladie infectieuse qui aboutit à de vastes délabrements cutanés chroniques. Malheureusement, les traitements se heurtent à de nombreux facteurs limitatifs liés entre autres à l'infrastructure nécessaire, au coût des traitements et aux rechutes. Notre travail avait pour objectif de formuler un hydrogel thermosensible et bioadhésif à base d'une substance extraite de *Sacoglottis gabonensis*, plante utilisée traditionnellement pour le traitement de l'ulcère de Buruli. La poudre d'écorces de *Sacoglottis gabonensis* a fait l'objet d'une extraction aqueuse. Après une étude phytochimique et une caractérisation

physico-chimique de l'extrait obtenu, une formulation d'hydrogel à base de poloxamer 407 (P407) et de carboxyméthylcellulose sodique (CMC) a été mise au point. Les gels obtenus ont fait l'objet d'études rhéologiques et d'adhésion. Toutes les préparations réalisées étaient homogènes et présentaient un comportement viscoélastique. Les gels à base d'extrait de *Sacoglottis gabonensis* et de P407 à 18% et 20% ont présenté un caractère thermosensible. L'ajout de 0,5% de CMC a permis d'améliorer leur propriété bioadhésive.

Mots-clés: Hydrogel, Ulcère de Buruli, *Sacoglottis gabonensis*, Poloxamer

SUMMARY

Buruli ulcer (BU) is an infectious disease that leads to chronic skin broad dilapidations. Unfortunately, treatments face significant limiting factors including the necessary infrastructure, the cost of treatment and relapse. Our work aimed to formulate a thermosensitive and bioadhesive hydrogel based on a

substance extracted from *Sacoglottis gabonensis*, plant traditionally used for the treatment of Buruli ulcer. The bark powder of *Sacoglottis gabonensis* was fact subject to aqueous extraction. After a phytochemical study and physicochemical characterization of the extract obtained, a formulation based on poloxamer 407

1- Laboratoire de Pharmacie galénique, Biopharmacie et Législation pharmaceutique, UFR des sciences pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan.

2- Université Paris-Sud, Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry, France.

3- Université Paris-Sud, UMR CNRS 8612 « Physicochimie - Pharmacotechnie - Biopharmacie », Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry, France.

Correspondance : Dr AKA épse ANY-GRAH Armelle Adjoua Sandrine – Email : armelleci@yahoo.fr

(P407) and sodium carboxymethylcellulose (CMC) has been developed. The gels obtained were subject to rheological and adhesion studies. All preparations made were homogeneous and had a viscoelastic behavior. *Sacoglottis gabonensis* and P407 hydrogels showed a thermosensitive

nature and a moderate percentage of Sodium Carboxymethylcellulose (0.5%) have improved their bioadhesive property.

Keywords : Hydrogel, Ulcère de Buruli, *Sacoglottis gabonensis*, Poloxamer

INTRODUCTION

L'ulcère de Buruli (UB) est une infection chronique débiliteuse de la peau et des tissus mous due à *Mycobacterium ulcerans* [OMS, 2015]. C'est la troisième mycobactériose la plus fréquente dans le monde, après la tuberculose et la lèpre. Le continent le plus touché est l'Afrique [OMS, 2015]. La Côte d'Ivoire est l'un des pays les plus atteints avec plus de 2 000 nouveaux cas par an [Kanga *et al.*, 2004]. Il n'existe pas de traitement médicamenteux curatif efficace. Les recommandations officielles de l'OMS pour la prise en charge thérapeutique sont basées sur un traitement chirurgical associé à une antibiothérapie de huit semaines [OMS, 2004 ; OMS, 2015]. En pratique, ce traitement se heurte à de nombreux facteurs limitatifs tels que l'insuffisance ou l'inadaptation d'infrastructure nécessaire, le coût élevé des soins, ainsi que les rechutes. Le traitement traditionnel, est donc le premier recours qui s'offre aux malades, en général, démunis. Parmi les plantes utilisées par les tradipraticiens, *Sacoglottis gabonensis* (Bail) Urb. (Humiriaceae) (SG) est l'une des plus documentées. Elle a démontré une activité inhibitrice effective sur *Mycobacterium ulcerans*, avec une CMI=0,78 mg/ml et

une CMB= 12,5 mg/ml sur la souche Côte d'Ivoire [Koné *et al.*, 2007].

L'OMS encourage les initiatives de valorisation des pharmacopées traditionnelles pour l'amélioration de la prise en charge des malades. Elle considère par ailleurs la mise au point d'un traitement médicamenteux contre l'UB comme une grande priorité de recherche [OMS, 2015]. La voie locale est une voie de choix pour le traitement de cette affection à l'instar de la plupart des affections cutanées. En effet, cette voie a l'avantage d'éviter d'éventuels effets systémiques gênants de même que la dégradation des principes actifs par effet de passage hépatique. Des formulations d'hydrogels développées au sein de notre équipe de recherche pour la voie rectale et la voie vaginale ont présenté des propriétés thermosensibles et bioadhésives intéressantes [Aka Any-Grah *et al.*, 2010]. En effet, elles gélifiaient à la température corporelle et grâce à leur caractère bioadhésif, amélioraient le temps de résidence du principe actif. Cette étude avait donc pour objectif de formuler un hydrogel thermosensible et bioadhésif à base de *Sacoglottis gabonensis* pour le traitement de l'UB.

MATERIEL ET METHODES

MATERIELS

La matière première de base est la poudre d'écorce de tronc de SG. Mais la substance active de nos formulations est un extrait aqueux issu de la décoction de

cette poudre. Le Poloxamer 407 (LUTROL® F127, P407) a été fourni par BASF Corporation®, Lot : WPWB653B. Il s'agit d'un copolymère synthétique composé d'une chaîne centrale hydrophobe de

polyoxypropylène (POP) et de deux chaînes latérales hydrophiles de polyoxyéthylène (POE). La Carboxyméthylcellulose sodique (CMC), polymère anionique hydrosoluble, dérivé de la cellulose, a été fournie par les laboratoires COOPER®, Lot : 06040259/A. L'eau milli-Q a été produite par le RIOS 5 et le Synergy 185 (Millipore®). Tous les autres produits et réactifs utilisés étaient de qualité analytique.

METHODES

Identification, récolte et extraction aqueuse du matériel végétal

Les écorces de tronc de SG ont été prélevées en 2012 dans la forêt de Keibly à 12 km de Taï dans la région de Guiglo (Man, Côte d'Ivoire), par Mr TERE, botaniste du Centre Suisse de Recherche Scientifique à Abidjan. Ces écorces ont ensuite fait l'objet d'une identification par le Pr AKE Assi, spécialiste du Centre National de Floristique de l'Université de Cocody (Abidjan). Les écorces ont été séchées sur la paillasse, à température ambiante (entre 26°C et 27°C) et à l'abri de la lumière, pendant trois semaines. Elles ont été ensuite réduites en poudre à l'aide d'un broyeur. Une décoction aqueuse a été réalisée en portant à ébullition le mélange d'1 Kg de poudre à 5 L d'eau distillée à 100°C pendant une heure. Après refroidissement puis filtration, le décocté obtenu a été concentré au Rotavapor (HEIDOLPH®) à 60°C. Enfin, l'extrait obtenu a été pulvérisé puis tamisé à l'aide d'un tamis (TAMISOR®), d'ouverture de maille 80µ.

ANALYSE PHYTOCHIMIQUE

600g d'écorces de tronc de *Sacoglottis gabonensis* ont été pulvérisées puis soumises à une macération dans 3 L de mélange eau/éthanol (1:1). La solution extractive donne après filtration et évaporation du solvant sous pression

réduite 4 g d'un extrait hydroéthanolique. La fraction hydroéthanolique (4 g) est fractionnée sur gel de Sephadex®LH-20 en utilisant le MeOH pour conduire à trois sous-fractions fractions après regroupement des différents éluats selon leur profil chromatographique ($F_{SG.1}$; $F_{SG.2}$; $F_{SG.3}$). La sous-fraction $F_{SG.2}$ (1,7 g) est fractionnée sur colonne de gel de silice 60 (40–63 µm) Chromagel, Merck avec le gradient d'éluion selon un ordre croissant de polarité. Le programme d'éluion a été le suivant : (C_6H_{12}/CH_2Cl_2 (50:50) ; C_6H_{12}/CH_2Cl_2 (10:90) ; $CH_2Cl_2/AcOEt$ (50:50) ; $CH_2Cl_2/AcOEt$ (20:80) et $CH_2Cl_2/AcOEt$ (0:100). Ce fractionnement a conduit à trois sous-fractions fractions après regroupement des différents éluats selon leur profil chromatographique ($F_{SG.2.1}$; $F_{SG.2.2}$; $F_{SG.2.3}$). La sous-fraction $F_{SG.2.1}$ (1,1 mg) est ensuite fractionnée sur gel de Sephadex®LH-20 dans le MeOH pour conduire à trois fractions $F_{SG.2.1.1}$; $F_{SG.2.1.2}$; $F_{SG.2.1.3}$. La sous-fraction $F_{SG.2.1.3}$ (204 mg) est fractionnée sur colonne de gel de silice avec le gradient (C_6H_{12}/CH_3COCH_3 (50:50) ; C_6H_{12}/CH_3COCH_3 (40:60) ; C_6H_{12}/CH_3COCH_3 (30:70) ; C_6H_{12}/CH_3COCH_3 (20:80) et C_6H_{12}/CH_3COCH_3 (0:100) pour conduire à l'isolement de l'acide bétulinique (SG.1) (6,4 mg). La fraction $F_{SG.3}$ après purification sur gel de silice en utilisant un gradient $C_6H_{12}/AcOEt$ conduit à l'isolement de la bergénine (SG.2) (679,7 mg)

EVALUATION PHYSICO-CHIMIQUE

Cristallinité : Elle a été réalisée sur la poudre d'extrait sec par diffraction des rayons X avec un appareil-prototype de haute résolution muni d'une source puissante (anode tournante au cuivre Rigaku RH-18, tension 50 kV, ampérage : 300 mA, longueur d'onde $\lambda = 1,54051$ Å). Les diffractogrammes obtenus ont été enregistrés avec un pas de 0,02° (et 1s par pas) en angle de Bragg. La géométrie

du goniomètre utilisé est celle de Bragg-Brentano (θ - 2θ) et porte-échantillon plan (plaque de verre). [Zhang *et al*, 2013]

Solubilité dans l'eau : Elle a été déterminée selon la méthode des ajouts dosés de l'OCDE.

FORMULATION DES GELS

Des gels de P407 à 16% (concentration massique (m/m), soit 16 g de P407 pour 100 g de gel), 17%, 18%, et 20% ont été préparés selon la méthode à froid de Schmolka [1972]. Une dispersion de la poudre de P407 était réalisée dans de l'eau milli-Q à 4°C, sous agitation à 2000 tr/mn à l'aide d'un agitateur mécanique de type RAYNERI Turbotest jusqu'à dissolution complète du P407. Selon le même procédé des gels de CMC sodique à 0,5%, 1% et 1,5% ont été préparés. Les gels de P407/CMC sodique ont été préparés par ajout de P407 dans le béccher contenant de l'eau milli-Q, auquel on a ajouté la CMC sodique après dissolution. Pour les gels de P407/CMC sodique/SG, l'extrait sec a d'abord été dissous dans l'eau, puis le P407 et la CMC sodique ont été ajoutés. Tous les gels préparés ont été conservés à 4°C pendant 48 heures, avant toute caractérisation, de façon à permettre une parfaite hydratation des chaînes de polymères et à éliminer les bulles d'air. Une sélection basée sur leur aspect macroscopique a été effectuée pour les essais de caractérisation.

CARACTÉRISATION DES GELS

Observation macroscopique

La limpidité, l'absence de particules en suspension, de bulles d'air et l'absence de séparation de phase ont été observés à l'œil nu immédiatement après la préparation, puis 48h après conservation au réfrigérateur à 4°C.

Etude rhéologique des gels

Elle a été menée en mode oscillatoire en fonction de la température afin de déterminer les paramètres rhéologiques que sont : la température de gélification (Tgel) en °C, le module élastique G' et le module visqueux G'' . L'appareil utilisé était un rhéomètre de type Rheostress RS600 (HAAKE Thermo Electron), équipé d'une géométrie cône/plateau de 35 mm de diamètre, d'angle 1° et de 53 μ m d'entrefer, munie d'un système anti-évaporation. Les mesures en mode oscillatoire ont été effectuées en imposant une contrainte de cisaillement de 5 Pa, sous une fréquence $f = 1$ Hertz. Un balayage en température entre 5°C et 45°C a été effectué en augmentant la température de 1°C/min, pour mesurer le module élastique G' et le module visqueux G'' . Lorsque $G'' > G'$ le système avait un comportement visqueux. Lorsque $G' > G''$ il avait un comportement élastique. Une moyenne a été calculée à partir des valeurs mesurées de trois essais.

Etude de l'adhésion

elle a été effectuée sur deux types de membrane modèle : un film synthétique de type polypropylène et une membrane biologique, la peau d'oreille de porc. Ce matériel biologique a été fourni par l'INRA (Institut National de Recherche Agronomique) de Jouy-en-Josas (France). Immédiatement après le sacrifice de l'animal par injection IV de 20 ml de phénobarbital sodique (Dolethal®, Vetoquinol laboratoire, France), le tissu a été prélevé et conservé à -20°C. L'échantillon a été décongelé au moment de son utilisation dans une solution isotonique, à température ambiante. L'appareil utilisé était un analyseur de texture (TAXT2, Rhéo Champlan, France). Les échantillons ont été conservés au préalable à 4°C puis à 25°C. La membrane modèle a ensuite été collée sur un plot métallique de diamètre

d = 14 mm. Celui-ci a été fixé à la traverse mobile de l'appareil et le support creux de l'appareil, thermostaté à 37°C, a été rempli avec 3 g de gel. Après un temps de contact de 120 secondes les deux surfaces ont été séparées par traction à une vitesse

constante de 1mm/s. La résistance a été enregistrée en fonction du déplacement et a permis de déterminer la force de séparation maximale F_{max} (N), ainsi que le travail d'adhésion W (mJ). Les essais ont été répétés cinq fois pour chaque échantillon.

RESULTATS

OBTENTION DE L'EXTRAIT

L'extrait sec de l'écorce du tronc de SG obtenu après extraction et évaporation, s'est présenté sous forme de paillettes de couleur marron foncé (Figure 1a), avec un rendement d'extraction de 8,29%. Ces paillettes ont ensuite été transformées en poudre fine (Figure 1b), par passage forcé à travers les mailles d'un tamis d'ouverture 80 μ .



Figure 1 : a) Paillettes d'extrait sec



: b) Poudre d'extrait sec

ANALYSE PHYTOCHIMIQUE

Les tests aux réactifs de Dragendorff et de Kedde sont négatifs pour l'extrait hydroéthanolique (SG.HE) de *Sacoglottis*

gabonensis. La purification de la sous-fraction $F_{SG.2.1.3}$ (204,0 mg) a conduit à l'isolement de l'acide bétulinique (SG.1) (6,4 mg). La fraction $F_{SG.3}$ après purification sur gel de silice a conduit à l'isolement de la bergénine (SG.2) (679,7 mg) (Figure 2).

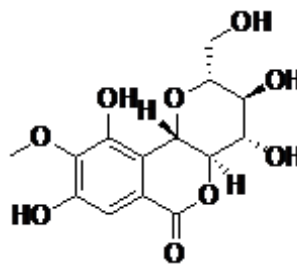


Figure 2 : Structure de la bergénine

EVALUATION PHYSICO-CHIMIQUE

La diffraction des rayons X a montré que l'extrait sec était de structure amorphe. Sa solubilité à 20°C dans l'eau était de 5,55 g/l. Son pH était de 5,4.

FORMULATION ET SÉLECTION DES GELS

17 formulations ont été préparées. Elles sont résumées dans le tableau I. Elles étaient composée soit de : P407 seul ; CMC seule ; mélange P407/CMC ou mélange P407/CMC/Extrait sec de SG. La majorité de ces formulations étaient homogènes et limpides à 4°C, après 48 h de conservation. Les formulations contenant la CMC étaient visqueuses et celles contenant l'extrait sec de SG étaient de coloration marron. Les gels 16/1/0, 16/1,5/0, 17/1/0 et 17/1,5/0 contenant 1% à 1,5% de CMC sodique étant très visqueux. Ils emprisonnaient les

bulles d'air, rendant de ce fait impossible la réalisation des essais rhéologiques. Par conséquent, ils n'ont pas été retenus pour la suite de l'étude.

ETUDE RHÉOLOGIQUE

Lors de leur étude rhéologique, toutes les préparations ont présenté un comportement viscoélastique (Figure 3). Les propriétés

élastiques ont été plus prononcées que les propriétés visqueuses ($G' > G''$), sauf à basse fréquence où les propriétés visqueuses ont été prépondérantes (Tableau I). Nous avons également noté une diminution de la température de gélification avec l'augmentation de la concentration de P407 (Tableau I).

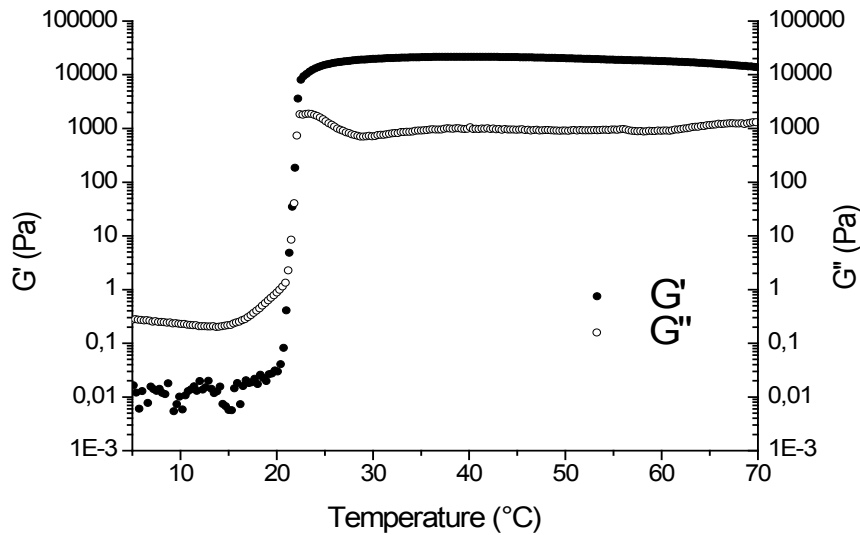


Figure 3 : Profil typique d'évolution des module élastique G' et visqueux G'' en fonction de la température. Expérience menée avec le P407 à 20%

Tableau I : Valeurs rhéologiques de toutes les préparations homogènes (n= 3)

Préparation N°	Composition % P407/CMC/SG	T Gel (°C)	Valeur G' 25°C (Pa)	Valeur G' 37°C (Pa)	Valeur G» 25°C (Pa)	Valeur G» 37°C (Pa)
1	16/0/0	31 ± 1	0,21 ± 0,009	8390 ± 900	0,34 ± 0,01	7700 ± 290
2	17/0/0	28 ± 1	0,22 ± 0,006	11810 ± 160	0,53 ± 0,008	6400 ± 30
3	18/0/0	27 ± 1	0,31 ± 0,007	13490 ± 1040	0,66 ± 0,02	9700 ± 370
4	20/0/0	24 ± 1	7200 ± 300	18,66 ± 0,37	1200 ± 210	3900 ± 300
5	0/0,5/0	-	0,371 ± 0,001	0,095 ± 0,01	0,865 ± 0,02	0,63 ± 0,01
6	0/1/0	-	3,801 ± 0,02	2,18 ± 0,055	8,200 ± 0,08	5,571 ± 0,04
7	0/1,5/0	-	13,82 ± 1,96	9,32 ± 2,92	15,9 ± 0,11	11,94 ± 0,26
8	16/0,5/0	30 ± 1	2,22 ± 0,026	8880 ± 660	4,57 ± 0,03	4570 ± 30
11	17/0,5/0	26 ± 1	4,45 ± 0,027	14340 ± 520	9,854 ± 0,07	310 ± 0,01
14	18/0,5/0	25 ± 1	2780 ± 0,08	13990 ± 580	6120 ± 0,30	1160 ± 600
15	20/0,5/0	21 ± 1	14320 ± 200	25540 ± 1150	6800 ± 100	2560 ± 370
16	18/0,5/0,1	25 ± 1	3770 ± 497	20490 ± 1300	8530 ± 1368	3900 ± 400
17	20/0,5/0,1	21 ± 1	16190 ± 300	21030 ± 370	4000 ± 300	0

ETUDE D'ADHÉSION

Une meilleure adhésion des gels a été observée parallèlement l'augmentation de la concentration en P407 (Tableau II a). Il a également été noté une amélioration de l'adhésion en présence de CMC sodique et une meilleure adhésion pour les gels

conservés à 25°C (Tableaux II a et II b). Quant aux mesures effectuées sur la peau d'oreille de porc, aucune différence significative d'adhésion entre les deux formulations n'a été observée. Toutefois, l'adhésion est restée meilleure pour les gels conservés à 25°C (Tableau III).

Tableau IIa : Evolution de la force d'adhésion et du travail d'adhésion en fonction de la concentration en P407 sur film de polypropylène. (n=5)

P407 (%)	T° (C)	FORCE (N)	TRAVAIL (mJ)
18	4°C	0,55 ± 0,07	0,56 ± 0,04
	25°C	0,63 ± 0,06	0,59 ± 0,13
20	4°C	0,63 ± 0,11	0,66 ± 0,03
	25°C	0,57 ± 0,07	0,75 ± 0,14

Tableau IIb : Evolution de la force d'adhésion et du travail d'adhésion en fonction de la formulation du gel sur film de polypropylène (n=5)

P407 (%)	T° (C)	FORCE (N)	TRAVAIL (mJ)
18	4°C	0,55 ± 0,07	0,56 ± 0,04
	25°C	0,63 ± 0,06	0,59 ± 0,13
20	4°C	0,63 ± 0,11	0,66 ± 0,03
	25°C	0,57 ± 0,07	0,75 ± 0,14

Tableau III : Evolution de la force d'adhésion et du travail d'adhésion en fonction de la formulation du gel sur peau d'oreille de porc (n=5)

P407/CMC/SG	T°	FORCE	TRAVAIL
18/0,5/0,1	4°C	0,57 ± 0,07	0,52 ± 0,14
	25°C	0,83 ± 0,20	0,70 ± 0,45
20/0,5/0,1	4°C	0,56 ± 0,05	0,62 ± 0,18
	25°C	0,84 ± 0,12	0,73 ± 0,08

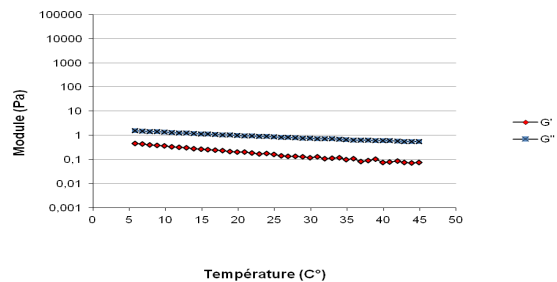


Figure 4: Courbe d'évolution du module élastique G' et du module visqueux G'' de la CMC sodique 0,5% en fonction de la température.

Figure 4: Courbe d'évolution du module élastique G' et du module visqueux G'' de la CMC sodique 0,5% en fonction de la température

DISCUSSION

OBTENTION DE L'EXTRAIT

Les opérations de broyage et de tamisage des paillettes d'extrait sec de SG avaient pour but d'améliorer sa solubilité dans l'eau par l'augmentation de sa surface spécifique.

ANALYSE PHYTOCHIMIQUE

L'étude phytochimique des écorces de tronc de *Sacoglottis gabonensis* nous a permis d'isoler deux composés : l'acide bétulinique (SG.1) et la bergénine (SG.2). Cette dernière, déjà isolée de la plante, apparaît comme étant le composé majoritaire de l'extrait total [Patel *et al*, 2012].

CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE L'EXTRAIT

La solubilité de la poudre fine obtenue dans l'eau à 20°C était moyenne. Son pH (5,4) était compatible avec la peau d'oreille de porc dont le pH est compris entre 5,2 et 7. La structure amorphe de la poudre obtenue est un facteur favorable à sa solubilisation.

FORMULATION ET SÉLECTION DES GELS

Nos gels combinaient le P407, dont les propriétés thermosensibles favorisent la gélification à la température corporelle, et la CMC sodique, dont les propriétés mucoadhésives permettent d'accroître le temps de résidence de la formulation au site d'application, prolongeant ainsi la libération des principes actifs. Selon leur composition, la température de gélification des solutions de P407 peut être ajustée autour de 37°C pour des applications pharmaceutiques [Koffi *et al.*, 2006]. Les gels préparés à partir de P407 étaient parfaitement homogènes et stables. En revanche, la viscosité s'est trouvée considérablement augmentée avec l'ajout de CMC. Quant aux préparations ternaires, aucune modification des caractéristiques macroscopiques n'a été observée.

ETUDE RHÉOLOGIQUE

D'un point de vue rhéologique, nos résultats sont similaires à ceux de plusieurs auteurs dont Chang *et al.* [2002], Veyries *et al.* [1999] hormis une différence de comportement selon les systèmes. Le comportement rhéologique classique des gels de P407 en fonction de la température a été observé (figure 3). En effet, avant la température de gélification (Tgel), les modules visqueux et élastique étaient faibles et le système s'est comporté comme un liquide visqueux. A la température de gélification, il a été observé une augmentation brusque de G' et G''. Après la température de gélification les modules étaient élevés et le système s'est comporté comme un gel élastique. Les propriétés viscoélastiques des solutions de P407 ont été améliorées avec l'augmentation de la concentration en poloxamer, tandis que la température de gélification s'en trouvait diminuée. Cette diminution, selon Sagrado *et al.*, [1994], serait liée à une étape de micellisation plus

rapide due à une plus grande proximité des molécules de P407. Les gels de CMC se sont comportés comme des fluides visco-élastiques. Les modules visco-élastiques ont diminué avec l'augmentation de la température (Figure 4) de même qu'avec la diminution de la concentration de CMC (Tableau I). Les solutions aqueuses de P407, des mélanges binaires P407/CMC et des mélanges ternaires ont été préparés en y ajoutant l'extrait de SG. L'ajout de CMC à 0,5% a augmenté la viscoélasticité des gels de P407, tandis qu'il a diminué leur température de gélification. Notamment, le gel à 18% de P407 avait une Tgel de 27±1°C, tandis que le gel à P407/CMC (18%/0,5%) avait une Tgel de 25±1°C. Ceci pourrait s'expliquer par la désorganisation des micelles de P407 par les chaînes de CMC démontrée par Zhang *et al* sur des gels à base de P407 et P188 (Poloxamer 188) par diffraction des rayons X aux petits angles et micro-DSC [Zhang *et al.*, 2013]. Enfin, l'ajout de l'extrait de SG n'a pas modifié le comportement des gels de P407/CMC sodique. En effet, le gel P407/CMC (18%/0,5%) et le gel P407/CMC/SG (18%/0,5%/0,1%) avaient des Tgel similaires de 25±1°C.

ETUDE D'ADHÉSION

Au vu de leurs caractéristiques rhéologiques satisfaisantes, nous avons retenu les mélanges ternaires contenant du P407 à 18% et 20% pour l'étude d'adhésion. Celle-ci a été effectuée sur des préparations déjà gélifiées dans le but de mimer les conditions réelles d'utilisation conformément aux travaux de Aka Any-Grah *et al* [2010]. Les mesures effectuées sur une membrane de polypropylène ont montré une mucoadhésion assez faible pour les gels de P407. Cependant, il a été observé une meilleure adhésion du système ternaire à 20% de P407. Ainsi, plus la concentration en poloxamer est

augmentée, meilleure est l'adhésion. Ceci confirme la théorie selon laquelle la rhéologie et les propriétés bioadhésives sont fortement corrélées [Tse *et al*, 1989 ; Koffi *et al*, 2006]. Cette phase de l'étude a permis de mettre en évidence une interaction déjà évoquée dans la littérature entre le P407 et les polymères bioadhésifs [Koller et Buri 1987]. En effet, une augmentation des concentrations de P407 de 18% à 20% et une concentration en CMC de 0,5 % a entraîné une augmentation importante (2,15 fois) du travail d'adhésion des hydrogels et à un degré moindre de la force de détachement maximale. Ce résultat présente

un intérêt pour l'adhérence prolongée de l'hydrogel à la surface des ulcérations, après son administration. De façon intéressante, la présence de l'extrait de SG n'a pas modifié la bioadhésivité des hydrogels. Les essais effectués sur la peau d'oreille de porc, n'ont pas révélé de différence significative d'adhésion entre les deux systèmes ternaires. En réalité, l'ulcération est tapissée de fluide de suintement, qui pourrait influencer la valeur de la force et du travail d'adhésion. Il serait donc intéressant de poursuivre cette étude sur des muqueuses imprégnées de fluides simulant les suintements des ulcérations.

CONCLUSION

Les essais de formulation et de caractérisation des hydrogels associant le P407, CMC et les extraits sec de SG ont été proposés afin d'améliorer la prise en charge de l'UB. Les études rhéologiques et d'adhésion ont permis de démontrer que les formulations étaient thermosensibles et bioadhésives. Par ailleurs, la présence

d'extrait de plante dans ces formulations n'a pas modifié le comportement rhéologique, ni les propriétés d'adhésion de ces hydrogels. Les résultats de ce travail paraissent encourageants. Toutefois, des études de stabilité poussées et des essais d'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des formulations devront être entreprises.

REFERENCES

- Aka Any-Grah A, Bouchemal K, Koffi A *et al.*, (2010) Formulation of mucoadhesive vaginal hydrogels insensitive to dilution with vaginal fluids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*; **76**: 296-303
- Chang J-Y, Oh TK, Choi H-G *et al* (2002) Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions. *Int. J. Pharm.*; **241**: 155-163
- Kanga JM, Kacou E, Kassi E *et al* (2004) L'ulcère de Buruli : aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques en Côte d'Ivoire. *Med. Trop*; **64** : 238-242
- Koffi A, Agnely F, Ponchel G, *et al* (2006) Modulation of the rheological and mucoadhesive properties of thermosensitive poloxamer-based hydrogels intended for the rectal administration of quinine. *Eur. J. Pharm. Sci.* **27**: 328-335
- Koller C, Buri P (1987) Propriétés et intérêt pharmaceutique des gels de poloxamers et poloxamines. *S.T.P. Pharma.* **3**: 115-124
- Koné M, Vangah-Mandah OM, Kouakou H *et al* (2007) Influence de *Sacoglottis gabonensis* (baille) urban et de *Okoubak aubrevillei* normand et pellegrin sur la croissance *in vitro* de *Mycobacterium ulcerans*. *Med Afr Noire* ; **54** (11) : 549-554
- OCDE (1995) Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, section 1. Propriétés physico-chimiques. http://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/lignes-directrices-de-l-ocde-pour-les-essais-de-produits-chimiques-section-1-proprietes-physicochimiques_20745818;jsessionid=10kvt3rpndla7.x-oecd-live-03 consulté le 1er juin 2015
- OMS (2004) Recommandations provisoires pour certains antibiotiques dans la prise en charge de l'infection à *Mycobacterium ulcerans* (ulcère de buruli). Genève: OMS ; 33p
- OMS (2015) Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023 ;75p http://www.who.int/publications/list/traditional_medicine_strategy/fr/ ; http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95009/1/9789242506099_fre.pdf consultés le 1er juin 2015

- OMS (2015) Aide mémoire n°199
- Patel DK, Patel K, Kumar R et al (2012) Pharmacological and analytical aspects of bergenin: A concise report. *Asian Pacif. J. Trop. Dis.*; 163-167.
- Schmolka I R (1972) Artificial skin Preparation and properties of pluronics F-127 gels for treatments of burns. *J Biomed Mater Res.*; 6: 571-582
- Tomida H, Shinohara M, Kuwada N, Kiryu S (1978) In vitro release characteristics of diclofenac and hydrocortisone from Pluronic F-127 gels. *Acta Pharm. Suec*; 24: 263-272
- Tse MF (1989) Studies of triblock copolymer-tackifying resin interactions by viscoelasticity and adhesive performance. *J. Adhes. Sci. Technol*; 3: 551-570
- Veyries ML, Couarraze G, Geiger S, Agnely F (1999) Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.*; 192: 183-193
- Zhang M, Djabourof M, Bourgaux C et al (2013). Nanostructured fluids from pluronic mixtures. *Int. J. Pharm.* 454 599-610