

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université BADJI Mokhtar Annaba
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie

THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences médicales

**ETUDE IN VITRO DU PROFIL DE LIBERATION DU
5- FLUOROURACILE CHARGE SUR DES
NANOCOMPOSITES MAGNETIQUES SYNTHETISES A
PARTIR DE COMPOSES ORGANIQUES NATURELS**

Présentée par : MEKAHLIA Leila

Maitre assistante Hospitalo Universitaire en Chimie Minérale

Directeur de Thèse : Pr HADEF Youcef

Faculté de Médecine d'Annaba

Co-Directeur de Thèse : Pr MERAH Abdelali

Faculté de Médecine d'Annaba

Le Jury :

Pr BOUDIS Abdelhakim

Président

Faculté de Pharmacie d'Alger

Pr LALAOUNA Abdel Djalil

Membre

Faculté de Médecine de Constantine

Pr ALLEG Safia

Membre

Faculté des Sciences d'Annaba

Pr BELLEILI Mehdi

Membre

Faculté de Médecine d'Annaba

N° d'ordre :

Année : 2025/2026

DEDICACE

Je dédie ce travail, aboutissement de plusieurs années de persévérance, d'engagement et de passion scientifique :

À mes chers parents, Pour leur amour inestimable, leurs sacrifices silencieux et leur soutien indéfectible, fondations de mon parcours.

À mon cher mari, Pour sa patience, sa compréhension et son soutien constant, qui ont été pour moi une source de force et d'équilibre.

À mes enfants, Petits soleils de ma vie, pour leur amour pur, leur présence réconfortante et leur inspiration au quotidien.

À mes sœurs et mes frères, Pour leur affection, leurs encouragements sincères et leur complicité, qui m'ont portée dans les moments difficiles comme dans les réussites.

À ma belle-famille, Pour leur soutien et leur gentillesse.

À toute ma famille, Pour leur bienveillance et leur présence fidèle à chaque étape de mon cheminement.

*À toutes les personnes, de près ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de cette thèse,
Je leur exprime ma profonde reconnaissance.*

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je rends grâce à Allah, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'aboutissement de cette thèse. C'est par sa volonté que j'ai pu mener à bien ce travail, malgré les difficultés rencontrées.

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à Monsieur le Professeur HADEF Youcef, mon directeur de thèse, pour sa bienveillance, son encadrement rigoureux et ses conseils scientifiques précieux. Son exigence intellectuelle et sa capacité à me guider avec clarté m'ont permis de surmonter les difficultés et d'approfondir mes recherches. Sa disponibilité et son soutien constant ont grandement contribué à la qualité de ce travail, et je lui suis profondément reconnaissante pour l'attention qu'il m'a portée tout au long de cette thèse.

Je remercie chaleureusement Monsieur le Professeur MERAH Abdelali, mon co-directeur, pour son accompagnement méthodologique et ses conseils constructifs tout au long de cette recherche.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur BOUDIS Abdelhakim, Président du jury, pour l'honneur qu'il me fait en présidant cette soutenance. Je lui suis reconnaissante pour l'attention qu'il portera à l'examen de ce travail et pour la valeur de ses observations, qui contribueront sans nul doute à enrichir et à perfectionner ce manuscrit.

Je souhaite adresser un remerciement tout particulier à Madame la Professeure ALLEG Safia, Directrice du Laboratoire de Magnétisme et Spectroscopie des Solides (LM2S), Département de Physique, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar-Annaba. Sa générosité scientifique, sa disponibilité, ainsi que les moyens techniques qu'elle a mis à ma disposition ont joué un rôle déterminant dans la réussite de la partie expérimentale de cette thèse. Je la remercie très sincèrement pour son accompagnement attentif, ses conseils éclairés et son soutien bienveillant tout au long de ce travail.

J'exprime également ma reconnaissance à Monsieur le Professeur LALAOUNA Abdeljalil, pour sa contribution précieuse lors de la phase expérimentale. Je le remercie pour le temps qu'il m'a consacré, pour ses orientations techniques pertinentes, et pour la qualité des échanges que nous avons partagés, qui ont incontestablement enrichi ce travail.

REMERCIEMENTS

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur BELLEILI Mehdi qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail de thèse. Je le remercie vivement pour le temps qu'il consacrera à son évaluation, ainsi que pour la pertinence et la richesse des remarques qu'il ne manquera pas d'apporter, contribuant ainsi à l'amélioration et à l'enrichissement de ce manuscrit.

Mes remerciements vont à Monsieur le Professeur DOUAOUI Abdelkader, pour m'avoir orienté vers l'industrie Democedes, où la partie expérimentale de ce travail a pu être réalisée dans des conditions optimales. Je remercie sincèrement l'ensemble de l'équipe de DEMOCEDES, notamment Monsieur le Directeur de site Dr BENHAMLA Ahmed, la Pharmacienne BOURSAS Narimene, ainsi que Akrem, Sara et Fares, pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et leur précieuse collaboration.

Je tiens par ailleurs à remercier toute l'équipe du laboratoire de chimie analytique pour leur accueil, leur aide précieuse et la qualité de l'environnement de travail. Un remerciement particulier à Dr LABOUIZ pour son aide au cours de cette étape. J'adresse également une pensée reconnaissante à la résidente Rania, pour sa disponibilité, son soutien technique et sa collaboration active, qui m'ont grandement facilité la réalisation de certaines étapes expérimentales.

Je remercie également Dr BOUTEFNOUCHET, Maître Assistante en pharmacie galénique, pour l'aide qu'elle m'a apportée dans la réalisation de certaines parties expérimentales.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Professeur MATMOUR et au Docteur DJAHOUDI Heithem pour leur contribution précieuse à l'élaboration et à l'enrichissement de ce travail de thèse.

Enfin, à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, je vous adresse mes plus sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

TABLES DES MATIERES.....	I
LISTE DES ABREVIATIONS.....	X
LISTE DES TABLEAUX.....	XII
LISTE DES FIGURES.....	XVI
INTRODUCTION GENERALE.....	1

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I :

Nanomatériaux et nanocomposites magnétiques : principes fondamentaux et perspectives d'application

1 Généralités sur les nanomatériaux.....	3
1.1 Définition des nanomatériaux.....	3
1.2 Types et classification des nanomatériaux.....	4
1.2.1 Nanomatériaux à base de carbone.....	4
1.2.2 Nanomatériaux à base organique.....	5
1.2.3 Nanomatériaux à base inorganique.....	5
1.2.4 Nanocomposites hybrides.....	5
2 Nanocomposites fonctionnels : hydroxyapatite et magnétite.....	6
2.1 Hydroxyapatite.....	6
2.1.1 Structure cristalline.....	6
2.1.2 Propriétés principales de l'HAp.....	7
2.1.3 Applications biomédicales de l'hydroxyapatite.....	8
2.1.3.1 Implants et greffes osseuses.....	8
2.1.3.2 Systèmes de délivrance de médicaments.....	9
2.1.3.3 Applications dentaires.....	9
2.1.3.4 Matériaux de scaffolding pour l'ingénierie tissulaire.....	9
2.2 La magnétite.....	10
2.2.1 Structure cristalline.....	10
2.2.2 Propriétés principales de la magnétite.....	10
2.2.3 Applications biomédicales.....	13
2.2.3.1 Applications in vivo.....	13
2.2.3.2 Applications in vitro.....	16
3 Méthodes de synthèse de nanocomposite magnétique.....	16
3.1 Approches courantes de synthèse.....	16

TABLE DES MATIERES

3.1.1	Méthode de précipitation chimique.....	16
3.1.2	Méthode hydrothermale.....	18
3.1.3	Méthode sol gel.....	20
3.1.4	Approche biomimétique dans les études biologiques	21
3.2	Rôle des monosaccharides et des polysaccharides dans la synthèse des nanocomposites magnétiques.....	25
4	Méthodes de caractérisation des nanocomposites magnétiques HAp et Fe ₃ O ₄	26
4.1	Diffraction des rayons X (DRX).....	26
4.2	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	28
4.3	Microscopie électronique à balayage.....	30
4.4	Magnétométrie à échantillon vibrant VSM.....	32
4.5	Analyse Thermique Différentielle (DSC) et Thermogravimétrie (TG).....	33
5	Applications biomédicales des nanocomposites magnétiques.....	34
5.1	Systèmes de délivrance de médicaments.....	36
5.2	Ingénierie tissulaire.....	38
5.3	Régénération osseuse.....	39
5.4	Activité antimicrobienne.....	39

CHAPITRE II :

Le 5-Fluorouracile : mécanismes d'action et stratégies de vectorisation pour une chimiothérapie ciblée

1	Le 5-Fluorouracile (5-FU).....	43
1.1	Historique.....	43
1.2	L'importance du 5-FU en chimiothérapie.....	43
2	Propriétés physico-chimiques et stabilité.....	44
3	Propriétés pharmacologiques.....	46
3.1	Propriétés pharmacodynamiques.....	46
3.2	Indications, voies d'administration et effets indésirables.....	47
3.3	Propriétés pharmacocinétiques.....	47
3.4	Propriétés toxicologiques.....	48
4	Mécanismes d'action de 5 FU.....	48
5	Interaction du 5-FU avec le milieu biologique.....	50
6	Encapsulation du 5-FU.....	51
6.1	Le rôle de la vectorisation du 5-FU.....	51

TABLE DES MATIERES

6.2 Divers systèmes de nanovecteurs pour l'administration du 5-FU.....	52
6.2.1 Systèmes de délivrance basés sur les SLNs.....	54
6.2.2 Le chitosane en tant que nanotransporteur polymérique : CS-g-PCL.....	54
6.2.3 Conjugaison du 5-FU à la chitosane de faible poids moléculaire.....	54
6.2.4 Association du chitosane (CS) et de l'acide polyaspartique (PAsp).....	54
6.2.5 Nanoparticules d'or fonctionnalisées au chitosane et ciblées par le folate (CG-5-FU-NPs et FCG-5-FU-NPs).....	55
6.2.6 Polymère de surface imprimé moléculairement à base de chitosane greffé au poly méthacrylate de méthyle (MIP-CS-g-PMMA).....	55
6.2.7 Polymères imprimés moléculaires sensibles à la température et au magnétisme (TMMIPs).....	55
6.2.8 Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHx) comme copolymère biodégradable pour la délivrance de médicaments.....	55
6.2.9 Nanoparticules Modifiées avec le Poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA).....	56
6.2.10 Nanoparticules de Sérum Albumine Bovine (BSA NPs) à Base de Protéines.....	56
6.2.11 Nanoparticules de Phosphate de Calcium (CaP).....	56
6.2.12 Dendrimères PEGylés (PEG-PAMAM) pour la délivrance ciblée du 5-FU.....	56
6.2.13 Systèmes de délivrance à base de PDEA-mPEG-PAMAM (PPD).....	57
6.2.14 Nanoparticules de Poly(acide lactique) (PLA) et PLA-PEG pour la Délivrance de 5-Fluorouracile (5-FU).....	57
6.2.15 Nanoparticules Superparamagnétiques.....	57
6.2.16 Nanoparticules de Fer Encapsulées dans du Carbone Fonctionnalisées par PEI, β CD et Acide Folique pour la Délivrance Ciblée du 5-FU.....	57
6.2.17 Liposomes Conjugués à la Transferrine.....	58
6.2.18 Liposomes Conjugués au Folate-PEG.....	58
6.2.19 Pro-médicament Amphiphile Sensible à la Phospholipase A2 (OFZG).....	58
6.2.20 Nanotubes de Carbone à Parois Multiples (MWCNTs).....	59
6.2.21 Nanoparticules de Silice (EGF-HMSNs).....	59
6.2.22 Nanocomposite d'hydroxyapatite magnétique.....	59
7 Profil de libération du 5- FU.....	59
7.1 Modélisation de la libération du 5-FU.....	59
7.1.1 Modèle de libération de zéro ordre.....	60

TABLE DES MATIERES

7.1.2	Modèle de libération de premier ordre.....	61
7.1.3	Modèle de Higuchi.....	62
7.1.4	Modèle de Hixson-Crowell.....	63
7.1.5	Modèle de Korsmeyer-Peppas.....	64
7.2	Analyse comparative des modèles cinétiques et des facteurs influençant la libération du 5-FU.....	65

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I:

Etude de l'influence des facteurs sur la synthèse des nanocomposites magnétiques par Co précipitation

1	Matériels et méthodes.....	68
1.1	Matériels.....	68
1.2	Méthodes.....	70
1.2.1	Synthèse des nanocomposites magnétiques.....	70
1.2.2	Caractérisation des nanocomposites magnétiques	75
1.2.2.1	Diffraction des rayons X (DRX).....	75
1.2.2.2	Microscopie électronique à balayage (MEB).....	78
1.2.2.3	Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier.....	80
1.2.2.4	Analyse thermogravimétrique et calorimétrie différentielle à balayage.....	82
1.2.2.5	Analyse par magnétométrie à échantillon vibrant.....	83
1.2.2.6	Outils logiciels pour le traitement des résultats expérimentaux.....	84
2	Résultats et discussion.....	84
2.1	Synthèse de nanocomposite magnétique.....	84
2.2	Caractérisation des nanocomposites.....	85
2.2.1	Propriétés cristallines des nanocomposites.....	85
2.2.1.1	Identification de phases cristallines.....	85
2.2.1.2	Raffinement Rietveld des nanocomposites synthétisés avec fructose.....	93
2.2.2	Propriétés morphologiques.....	100
2.2.3	Propriétés magnétiques.....	109
2.2.3.1	Magnétisation à saturation (Ms).....	112
2.2.3.2	Coercivité (Hci).....	113
2.2.3.3	Rétentivité (Mr).....	114
2.2.3.4	Symétrie des cycles d'hystérésis.....	114

TABLE DES MATIERES

2.2.3.5	Variabilité des tailles de cristallites et RMS.....	115
2.2.3.6	Effet des agents stabilisants sur les propriétés magnétiques	115
2.2.4	Propriétés structurales et fonctionnelles.....	116
2.2.5	Propriétés thermiques.....	123
2.2.5.1	Nanocomposites synthétisés avec fructose.....	123
2.2.5.2	Nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine.....	126
2.3	Analyse statistique des résultats expérimentaux.....	128
2.3.1	Plan d'expérimentation et influence des paramètres sur la formation des phases.....	128
2.3.2	Effet des variables sur le pourcentage d'HAp.....	129
2.3.2.1	Estimations et analyse statistique des coefficients pour le pourcentage d'HAp.....	129
2.3.2.2	Évaluation de la normalité des résidus pour la validation du modèle.....	131
2.3.2.3	Diagramme d'interaction pour le pourcentage d'HAp.....	133
2.3.2.4	Approche bayésienne pour la réponse Y_1 : Pourcentage d'HAp.....	136
2.3.3	Effets des variables sur le pourcentage de la magnétite.....	138
2.3.3.1	Estimations et analyse statistique des coefficients pour le pourcentage de la magnétite.....	138
2.3.3.2	Évaluation de la normalité des résidus pour la validation du modèle.....	140
2.3.3.3	Diagramme d'interaction pour la proportion de la magnétite.....	141
2.3.3.4	Approche bayésienne pour le pourcentage de magnétite.....	145
2.3.4	Effets des variables sur la taille des cristallites de l'HAp.....	146
2.3.4.1	Analyse des coefficients et de leur influence sur la taille des cristallites.....	146
2.3.4.2	Interprétation des graphiques de normalité (Normal Plot) et de demi-normalité (Half-Normal Plot).....	148
2.3.4.3	Diagramme d'interaction pour la taille des cristallites d'HAp.....	150
2.3.4.4	Influence des interactions entre facteurs sur la taille des cristallites d'HAp par l'approche bayésienne.....	153
2.3.5	Effets des variables sur la taille des cristallites de la magnétite.....	154
2.3.5.1	Interprétation des coefficients pour la taille des cristallites de la magnétite.....	154

TABLE DES MATIERES

2.3.5.2	Interprétation des graphiques Normal Plot et Half-Normal Plot pour la taille des cristallites de la magnétite.....	156
2.3.5.3	Diagramme d'interaction de la taille des cristallites de la magnétite.....	158
2.3.5.4	Analyse bayésienne de la taille de cristallites de la magnétite.....	161
2.4	Analyse statistique des contributions des facteurs influençant la synthèse des nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄	163

CHAPITRE II

Optimisation des conditions de synthèse des nanocomposites HAp-Fe₃O₄ et étude de l'incorporation du 5-Fluorouracile

1	Matériels et méthodes.....	168
1.1	Matériels.....	168
1.2	Méthodes expérimentales.....	169
1.2.1	Optimisation des conditions de synthèse (plan composite central).....	169
1.2.2	Chargement des nanocomposites en acide barbiturique (molécule modèle).....	171
1.2.3	Caractérisation physico-chimique et magnétique avant/après chargement	173
1.2.3.1	Diffraction des rayons X (DRX) et affinement Rietveld.....	173
1.2.3.2	Microscopie électronique à balayage (MEB/EDS).....	173
1.2.3.3	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	174
1.2.3.4	Magnétométrie à échantillon vibrant (VSM).....	174
1.2.3.5	Analyses thermiques (DSC/TG).....	174
1.2.4	Étude de la cinétique de libération (acide barbiturique).....	174
1.2.5	Approches statistiques et chimiométriques (ANOVA, ACP, CAH, désirabilité).....	176
1.2.5.1	Analyse de la variance (ANOVA).....	176
1.2.5.2	Analyse en Composantes Principales (ACP).....	177
1.2.5.3	Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).....	178
1.2.5.4	Méthode de désirabilité.....	178
1.2.6	Validation expérimentale du nanocomposite optimal.....	179
1.2.7	Chargement et évaluation du 5-Fluorouracile.....	180
1.2.7.1	Sécurité et procédure de désactivation lors de la manipulation du 5-Fluorouracile.....	180
1.2.7.2	Procédure de chargement.....	182
1.2.7.3	Caractérisation des nanocomposites chargés.....	184

TABLE DES MATIERES

1.2.7.4	Détermination du taux de chargement.....	184
1.2.7.5	Étude de la cinétique de libération du 5-FU.....	185
1.2.7.6	Dosage du 5-FU résiduel.....	187
1.2.8	Modélisation de la cinétique de libération de l'acide barbiturique et du 5-Fluorouracile.....	187
2	Résultats et discussion.....	188
2.1	Caractérisation des nanocomposites (avant et après chargement en acide barbiturique).....	188
2.1.1	Analyse structurale par DRX et affinement Rietveld.....	188
2.1.2	Propriétés morphologiques (MEB/EDS).....	194
2.1.3	Propriétés magnétiques (VSM).....	199
2.1.4	Propriétés fonctionnelles (FTIR).....	202
2.1.5	Propriétés thermiques (DSC/TG).....	206
2.2	Étude du chargement en acide barbiturique (molécule modèle).....	209
2.2.1	Taux de chargement et efficacité d'adsorption.....	209
2.2.2	Cinétique et modélisation de la libération contrôlée.....	213
2.2.2.1	Profils expérimentaux de libération.....	213
2.2.2.2	Influence de la structure et de la porosité.....	215
2.2.2.3	Étude de la stabilité en solution.....	216
2.2.2.4	Modélisation cinétique.....	216
2.3	Analyse statistique et chimiométrie.....	220
2.3.1	Effet des paramètres de synthèse (plan d'expériences).....	220
2.3.1.1	Formation et proportion de l'HAp.....	220
2.3.1.2	Formation et proportion de Fe ₃ O ₄	222
2.3.1.3	Taille cristalline de Fe ₃ O ₄	224
2.3.1.4	Propriétés magnétiques.....	226
2.3.1.5	Modélisation statistique de la taille des cristallites de l'hydroxyapatite.....	228
2.3.1.6	Effet de la composition des nanocomposites sur le taux de chargement en principe actif.....	229
2.3.2	Analyse multivariée (ACP, CAH, cartes thermiques).....	231
2.3.2.1	Analyse en Composantes Principales (ACP).....	231
2.3.2.2	Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).....	232
2.3.2.3	Cartes thermiques : corrélations chargement/libération.....	233

TABLE DES MATIERES

2.3.2.4	Identification des variables IR et DSC les plus discriminantes.....	239
2.3.3	Sélection et validation du nanocomposite optimal.....	246
2.3.3.1	Sélection du nanocomposite optimal par la méthode de désirabilité.....	246
2.3.3.2	Validation expérimentale du nanocomposite optimal.....	250
2.3.3.3	Validation après chargement en acide barbiturique.....	257
2.3.3.4	Validation du modèle expérimental et analyse statistique.....	263
2.4	Étude du 5-Fluorouracile sur le nanocomposite optimal.....	265
2.4.1	Caractérisation spectroscopique des nanocomposites chargés en 5-FU.....	265
2.4.2	Détermination du taux de chargement	266
2.4.3	Étude de la cinétique de dissolution du 5-FU.....	267
2.4.3.1	Quantification UV-Vis et courbe d'étalonnage.....	267
2.4.3.2	Profils de dissolution.....	269
2.4.3.3	La modélisation mathématique des cinétiques de libération.....	272
3	Conclusion.....	274

CHAPITRE III:

Évaluation in vitro et in silico du nanocomposite HAp/Fe₃O₄ et de son interaction avec le 5-FU

1	Matériels et méthodes.....	277
1.1	Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	277
1.1.1	Matériels.....	277
1.1.2	Méthode.....	278
1.1.2.1	Préparation des suspensions bactériennes et des solutions de test.....	278
1.1.2.2	Protocole de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide.....	279
1.2	Étude in silico des interactions moléculaires entre le 5-FU, le nanocomposite et la thymidylate synthase.....	282
1.2.1	Préparation des ligands.....	282
1.2.1.1	Sélection des structures cristallographiques.....	282
1.2.1.2	Construction et optimisation des structures moléculaires.....	282
1.2.2	Sélection et préparation de la cible protéique.....	283
1.2.2.1	Structure cristallographique de la thymidylate synthase.....	283
1.2.2.2	Identification du site actif et des résidus clés.....	283

TABLE DES MATIERES

1.2.3	Définition du site de Docking et paramétrage de la boîte de grille.....	283
1.2.4	Exécution du Docking et analyse des conformations optimales.....	284
1.2.5	Comparaison des complexes et analyse des résultats.....	284
2	Résultats.....	285
2.1	Résultats de l'étude in vitro.....	285
2.2	Résultats de l'étude in silico.....	287
2.2.1	Docking moléculaire de 5-Fluorouracile avec la thymidylate synthase.....	287
2.2.1.1	Paramètres de simulation et configuration de la grille.....	287
2.2.1.2	Docking moléculaire et affinité de liaison.....	287
2.2.1.3	Interprétation du diagramme 2D des interactions.....	289
2.2.2	Docking moléculaire du complexe 5-FU- magnétite avec la thymidylate synthase.....	290
2.2.2.1	Interactions entre 5-FU et magnétite	290
2.2.2.2	Docking du complexe 5FU-Magnétite avec la thymidylate synthase.....	291
2.2.3	Docking moléculaire du complexe 5-FU-HAp avec la thymidylate synthase.....	293
2.2.3.1	Interaction entre 5-FU et HAp.....	293
2.2.3.2	Docking du complexe 5-FU-HAp avec la thymidylate synthase.....	294
2.2.4	Docking moléculaire du complexe 5-FU-Fe ₃ O ₄ -HAp avec la thymidylate synthase.....	297
3	Discussion.....	300
3.1	Activité antimicrobienne du nanocomposite HAp/Fe ₃ O ₄	300
3.2	Docking moléculaire du 5-FU et interactions enzymatiques.....	301
3.3	Corrélation avec la libération in vitro.....	302
3.4	Perspectives thérapeutiques.....	303
4	Conclusion.....	303
	CONCLUSION GENERALE.....	305
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	a
	ANNEXES	i
	RESUME	

LISTE DES ABREVIATIONS

5-FU :	5-Fluorouracile
ACP :	Analyse de Composante Principale
ALA :	Alanine
ARG :	Arginine
ASP :	Acide Aspartique
ASN :	Asparagine
BET :	Méthode de Brunauer Emmett Teller
CAH :	Classification Ascendante Hiérarchique
CBS :	Backscattered Electron Detector
CCR :	Cancer Colorectal
CMC :	Carboxymethylcellulose
CNT :	Nanotube de Carbone
CO ₃ ²⁻ :	Carbonate
CS :	Chitosane
CYS :	Cystéine
CV :	Coefficient de Variation
DDSs :	Drug Delivery Systems
DDL :	Degré de Liberté
DPD :	Dihydroprimidine Déshydrogénase
DRX :	Diffraction des Rayons X
DSC :	Differential Scanning Calorimetry
EDS :	Energy Dispersive Spectroscopy
ETD :	Everhart Thornley Detector
Exp :	Expérience
FDA :	Food and Drug Administration
Fe ₃ O ₄ :	Magnétite
FTIR :	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GLN :	Glutamine
GLY :	Glycine
GR :	Graphène
HAp :	Hydroxyapatite
Hci :	Coercivité
HIS :	Histidine
IARC :	Agence Internationale de la Recherche sur le Cancer
ILE :	Isoleucine
IONPs :	Iron Oxide Nanoparticles
IUPAC :	International Union of Pure and Applied Chemistry
LEU :	Leucine
LV :	Leucovorine
LYS :	Lysine
MEB :	Microscopie Électronique à Balayage
MET :	Microscopie Électronique à Transmission
MHAp NCs :	Nanocomposites Magnétisés à base d'Hydroxyapatite
MNPs :	Nanoparticules de magnétite
Mr :	Rétentivité
Ms :	Magnétisation à Saturation
Ncp :	Nanocomposite
NPs :	Nanoparticules
NSMs :	Matériaux nanostructurés

LISTE DES ABREVIATIONS

PHE :	Phénylalanine
PO ₄ ³⁻ :	Phosphate
ROS :	Reactive Oxygen Species
RMS :	ROOM Mean Square
Rexp :	Residual Expected
Rwp :	Weighted Residual Error
SER :	Sérine
SPE :	Solide Phase Extraction
SPIONs :	Small Iron Oxide Nanoparticles
TC :	Taille des cristallites
T :	Temps
TG :	Thermogravimetric Analysis
TS :	Thymidylate Synthase
Uem :	Unité électromagnétique
USPIONs :	Ultra Small Iron Oxide Nanoparticles
UV :	Ultraviolet
VSM :	Vibrating Sample Magnetometry
α-Fe ₂ O ₃ :	Hématite
γ-Fe ₂ O ₃ :	Maghémite
°C :	Degré Celsius

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Résumé des différentes méthodes de synthèse des nanocomposites d’HAp magnétiques ainsi que de leurs applications.	24
Tableau 2: Différents Systèmes de Nano-Délivrance du 5-FU.....	53
Tableau 3: Interprétation des mécanismes de libération diffusifs à partir de films polymériques.	65
Tableau 4: Réactifs utilisés pour la synthèse des nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄	69
Tableau 5: Matériel de laboratoire utilisé.....	69
Tableau 6: Équipements de caractérisation utilisés.....	70
Tableau 7: Matrice expérimentale du plan de criblage factoriel pour la synthèse des nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄	74
Tableau 8: Caractéristiques de la matrice d’expériences.	75
Tableau 9: Résultats du raffinement Rietveld des nanocomposites synthétisés avec le galactose (G4, G8) et la pectine (P4, P8).	91
Tableau 10: Les principaux résultats du raffinement Rietveld.	95
Tableau 11: Composition élémentaire des nanocomposites à base de fructose et rapport Ca/P.	103
Tableau 12: Résultats des paramètres magnétiques.	110
Tableau 13: Plan d'expérimentation.	129
Tableau 14: Estimation des coefficients, valeurs limites et significativité pour la réponse Y ₁ (pourcentage d’HAp).....	130
Tableau 15: Estimations, valeurs limites et significativité des coefficients pour la réponse Y ₂ (pourcentage de magnétite).	139
Tableau 16: Estimations et analyse statistique des coefficients pour la réponse Y ₃ : Taille des cristallites d’HAp.	147
Tableau 17: Estimations des coefficients et analyse statistique de la taille des cristallites de la magnétite.	155
Tableau 18: Contribution des facteurs et de leurs interactions sur la composition et les propriétés structurales des nanocomposites.	163
Tableau 19: Liste des réactifs.....	168

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 20: Liste des équipements utilisés pour la caractérisation et l'essai de dissolution..	168
Tableau 21: Plan composite central.	171
Tableau 22: Paramètres structuraux issus de l'affinement Rietveld (a, c, V, taille cristallite, Rwp, χ^2)	190
Tableau 23: Paramètres cristallographiques des nanocomposites après chargement en acide barbiturique.	191
Tableau 24: Rapports Ca/P et compositions élémentaires (massiques et atomiques) déterminés par EDS.	197
Tableau 25: Composition élémentaire des nanocomposites après chargement en acide barbiturique (analyse EDS).	198
Tableau 26: Paramètres magnétiques (Ms, Hc, Mr) des échantillons.	200
Tableau 27: Paramètres magnétiques des nanocomposites après chargement.	201
Tableau 28: Comparaison des spectres FTIR avant et après chargement en acide barbiturique.	205
Tableau 29: Comparaison des pertes de masse et transitions thermiques avant et après chargement en acide barbiturique.....	208
Tableau 30: Taux de chargement calculé à partir de l'intensité normalisée de la bande à 1682,12 cm^{-1} (1618,28 cm^{-1} dans le spectre original).	212
Tableau 31: Taux de chargement et profils de libération de l'acide barbiturique en fonction du temps.	214
Tableau 32: Classification des profils cinétiques.	215
Tableau 33: Paramètres des modèles cinétiques pour les 13 échantillons.	217
Tableau 34: Analyse de variance (ANOVA) de la proportion massique d'HAp.	221
Tableau 35: Les indicateurs de qualité du modèle.	221
Tableau 36: Analyse de la variance (ANOVA) pour la teneur massique en Fe_3O_4	223
Tableau 37: Indicateurs de qualité du modèle pour Fe_3O_4	223
Tableau 38: Analyse de la variance (ANOVA) pour la taille des cristallites de Fe_3O_4	225
Tableau 39: Statistiques d'ajustement du modèle pour la taille des cristallites de Fe_3O_4	225

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 40: Analyse de la variance (ANOVA) pour l'aimantation.	227
Tableau 41: Paramètres statistiques du modèle.....	227
Tableau 42 : Analyse de la variance (ANOVA) pour le taux de chargement.	230
Tableau 43: Paramètres statistiques du modèle.....	230
Tableau 44: Synthèse des corrélations structurales, magnétiques et fonctionnelles issues de l'ACP et de la CAH.....	238
Tableau 45: Les dix bandes infrarouges les plus discriminantes identifiées par l'analyse univariée, classées par ordre croissant de p-value.....	239
Tableau 46: Variables spectroscopiques (FTIR) et thermiques (DSC/TG) discriminantes identifiées par ACP, CAH et ANOVA.....	243
Tableau 47: Critères d'optimisation basés sur la désirabilité.	246
Tableau 48: Paramètres de l'échantillon optimal sélectionné.	250
Tableau 49: Paramètres cristallographiques du nanocomposite optimal.	252
Tableau 50: Composition élémentaire par EDS et rapports Ca/P.	253
Tableau 51: Propriétés magnétiques du nanocomposite optimal.	255
Tableau 52: Paramètres structuraux des échantillons optimaux chargés avec l'acide barbiturique issus de l'affinement Rietveld.....	257
Tableau 53: Propriétés magnétiques des nanocomposites optimaux après chargement.	259
Tableau 54: Synthèse de la composition, des paramètres structuraux et de l'évaluation du taux de chargement des nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄	261
Tableau 55: Données expérimentales des échantillons optimaux.....	263
Tableau 56: Validation du modèle avec un intervalle de confiance de 95 %.	264
Tableau 57: Intensités spectrales avant/après adsorption et taux de chargement des nanocomposites en 5-FU.....	266
Tableau 58: Paramètres de modélisation cinétique de la libération du 5-FU.....	272
Tableau 59: Souches microbiennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique.....	277
Tableau 60: Résultats de la CMI.	286

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 61: Paramètres du Docking Moléculaire du 5-Fluorouracile avec la Thymidylate Synthase.	287
Tableau 62: Résultats du Docking moléculaire du 5-FU avec la thymidylate synthase humaine (TS).....	288
Tableau 63: Énergies de liaison et distances RMSD des différentes conformations issues du Docking du 5-FU avec Fe ₃ O ₄	291
Tableau 64 : Energie de liaison entre le complexe 5FU-HAp et la thymidylate synthase.....	294
Tableau 65: Energies de liaison entre le complexe 5FU-Fe ₃ O ₄ -HAp et la thymidylate synthase.	298

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Schéma illustrant l'échelle de taille des objets comparée au régime de taille nanométrique.....	4
Figure 2: Morphologie des différents nanomatériaux.....	6
Figure 3: Illustration de la structure de l'HAp.....	7
Figure 4: Structure cristalline de la magnétite ; Sphères vertes – Fe ³⁺ ; sphères noires – Fe ²⁺ ; sphères rouges – O ²⁻	10
Figure 5: Structure cristalline de l'hématite, de la magnétite et de la maghémite (la boule noire représente Fe ²⁺ , la boule verte représente Fe ³⁺ et la boule rouge représente O ²⁻).....	11
Figure 6: Schéma illustrant l'orientation des spins dans le cas (A) du ferromagnétisme, (B) de l'antiferromagnétisme et (C) du ferrimagnétisme.....	11
Figure 7: Réponses magnétiques avec et sans hystérésis représentées respectivement en rouge et en vert. Le comportement du volume de nanoparticules magnétiques suit la courbe verte au centre, caractérisée par l'absence d'hystérésis.....	12
Figure 8: Illustration d'un processus typique de thérapie par hyperthermie magnétique.....	14
Figure 9: Représentation schématique d'une nanoparticule thérapeutique à base de magnétite revêtue.....	15
Figure 10: Synthèse par la méthode de précipitation chimique.....	17
Figure 11: Méthode de synthèse hydrothermale.....	19
Figure 12: La méthode sol gel.....	20
Figure 13: La méthode biomimétique.....	22
Figure 14: Morphologies de l'hydroxyapatite magnétique synthétisée par différentes méthodes.....	23
Figure 15: Structure chimique de la pectine.....	25
Figure 16: structure chimique des monosaccharides (fructose et galactose).....	25
Figure 17: Caractéristiques de base d'un diffractomètre DRX.....	28
Figure 18: Principe de fonctionnement de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.....	29
Figure 19: Principe de fonctionnement de microscope électronique à balayage.....	31

LISTE DES FIGURES

Figure 20 : Structure cœur-coquille de nanocomposites magnétisés à base d'HAp	34
Figure 21: Une représentation des applications des nanocomposites magnétiques à base d'hydroxyapatite (HAp).....	35
Figure 22: Représentation schématique de la libération contrôlée de médicaments par des nanoparticules magnétiques d'hydroxyapatite.....	37
Figure 23: Schéma des principaux mécanismes d'action antibactérienne des ions métalliques et des nanocomposites métalliques	41
Figure 24: Structure chimique et numérotation atomique de la molécule du 5-FU.....	45
Figure 25: Diverses enzymes clés qui facilitent le mécanisme d'action (anabolisme) du 5-FU dans les cellules cancéreuses et son élimination (catabolisme) via le système hépatique.	50
Figure 26: Quelques systèmes nanoparticulaires pour la libération de 5-FU.....	52
Figure 27: Synthèse des nanoparticules de Fe ₃ O ₄ par la méthode de co-précipitation. La couleur de la solution de fer évolue au cours du processus de synthèse, passant de jaune à brun, puis à noir.	72
Figure 28: Schéma récapitulatif des étapes de synthèse des nanocomposites magnétiques HAp/Fe ₃ O ₄	73
Figure 29: Diffractomètre à rayon X (Malvern Panalytical, Empyrean®).	78
Figure 30: Poudre de nanocomposite déposée sur le porte échantillon.	80
Figure 31: Microscope électronique à balayage (MEB) de marque QUANTA 250® couplé à l'EDS de marque AMETEK®.	80
Figure 32: Spectrophotomètre infrarouge SHIMADZU IRaffinity-1S.....	81
Figure 33: Analyseur Thermique Type SETARAM LABSYS EVO.	83
Figure 34: Étapes de la synthèse du nanocomposite magnétique.	85
Figure 35: Diffractogrammes des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine	86
Figure 36: Le raffinement Rietveld des nanocomposites synthétisés avec fructose.	94
Figure 37: Répartition des phases dans les nanocomposites.....	96
Figure 38: Taille des cristallites d'hydroxyapatite dans les nanocomposites.	98
Figure 39: Taille des cristallites de magnétite dans les nanocomposites.	99

LISTE DES FIGURES

Figure 40: Analyse morphologique par MEB FEG des nanocomposites synthétisés avec fructose.....	102
Figure 41: Spectre EDS des nanocomposite synthétisé à base de fructose.....	103
Figure 42: Cartographie de la distribution élémentaire des nanocomposites par EDS.....	106
Figure 43: Morphologie des nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine observée en MEB (détecteurs ETD et CBS).	108
Figure 44: Hystérésis de la magnétite pure.	111
Figure 45: Hystérésis des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine...	112
Figure 46: Spectres infrarouges des nanocomposites synthétisés avec fructose.....	116
Figure 47: Spectres infrarouges des nanocomposites synthétisés avec galactose.....	117
Figure 48: Spectres infrarouges des nanocomposites synthétisés avec pectine.	117
Figure 49: Thermogramme DSC et TG des nanocomposites synthétisés avec fructose.....	124
Figure 50: Thermogramme DSC et TG des nanocomposites synthétisés avec galactose.....	126
Figure 51: Thermogramme des nanocomposites synthétisés avec pectine.	127
Figure 52: Représentation graphique des coefficients de régression.	130
Figure 53: Normal Plot des résidus standardisés.	131
Figure 54: Half-Normal Plot des effets des facteurs.	132
Figure 55 : Etude graphique de l'interaction entre ratio et vitesse d'agitation.	134
Figure 56: Etude graphique de l'interaction entre ratio et température de calcination.	135
Figure 57: Etude graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.	136
Figure 58: Approche bayésienne pour l'analyse du pourcentage d'HAp (Y1).....	137
Figure 59: Analyse graphique des effets sur la réponse Y ₂ : Pourcentage de magnétite.	139
Figure 60: Normal Plot des résidus standardisés.	140
Figure 61: Half-Normal Plot des effets des facteurs.	141
Figure 62: Diagrammes d'interaction pour le pourcentage de la magnétite.	142

LISTE DES FIGURES

Figure 63: Etude graphique de l'interaction entre ratio et température de calcination.	143
Figure 64: Analyse graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.	144
Figure 65: Diagramme de l'approche bayésienne pour le pourcentage de magnétite.....	145
Figure 66: Analyse graphique des effets sur la taille des cristallites d'HAp.	148
Figure 67: Diagramme de normalité des résidus (Normal Plot).	149
Figure 68: Diagramme demi-normal des effets (Half-Normal Plot).....	149
Figure 69: Graphiques de l'interaction ratio et vitesse d'agitation.	150
Figure 70: Analyse graphique de l'interaction entre le ratio et la température de calcination.	151
Figure 71: Analyse graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.	152
Figure 72 : Analyse bayésienne de l'effet des facteurs sur la taille des cristallites d'HAp....	154
Figure 73: Analyse graphique des effets des facteurs sur la taille des cristallites de la magnétite.	156
Figure 74: Graphique de probabilité normale des effets.	157
Figure 75: Graphique de probabilité demi-normale des effets.....	157
Figure 76: Graphique des interactions entre le ratio et la vitesse d'agitation.	158
Figure 77 : Interaction entre le ratio et la température de calcination.....	159
Figure 78 : Graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.	160
Figure 79: Estimation bayésienne de la taille des cristallites de la magnétite.	162
Figure 80: Représentation graphique du plan composite central à deux facteurs.....	170
Figure 81: Enceinte de pesée ventilée utilisée pour la pesée des échantillons en milieu contrôlé	181
Figure 82: Chargement du 5-FU sur les nanocomposites sous agitation continue.	183

LISTE DES FIGURES

Figure 83: Schéma du processus de chargement du 5-Fluorouracile (5-FU) sur les nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄ , illustrant les étapes de synthèse et les interactions moléculaires impliquées.	184
Figure 84: Appareil de dissolution in vitro des échantillons encapsulés dans des sacs de dialyse.	186
Figure 85 : Diffractogrammes des nanocomposites avant chargement.....	188
Figure 86: Diffractogrammes des nanocomposites après chargement.....	188
Figure 87: Analyse morphologique et compositionnelle des nanocomposites par MEB (modes ETD et CBS).	195
Figure 88: Images MEB des échantillons après chargement en acide barbiturique.....	196
Figure 89: Spectres EDS confirmant la composition élémentaire (Ca, P, O, Fe).	196
Figure 90: Hystérésis des nanocomposites avant chargement.	199
Figure 91: Hystérésis des nanocomposites après chargement.	201
Figure 92: Spectres FTIR des nanocomposites avant chargement.....	203
Figure 93: Spectres infrarouges des nanocomposites après chargement.	204
Figure 94: Thermogrammes DSC et TG des nanocomposites avant chargement.....	207
Figure 95: Thermogrammes DSc et TG des nanocomposites après chargement.....	207
Figure 96: Spectres infrarouge des nanocomposites avant et après normalisation.	210
Figure 97: Déplacement de la bande caractéristique (1682,12 cm ⁻¹).	211
Figure 98: Profils de libération de l'acide barbiturique pour 13 nanocomposites.	214
Figure 99: Stabilité de l'acide barbiturique en solution tampon pH 7,4.	216
Figure 100: Courbes d'ajustement des profils au modèle de Korsmeyer-Peppas.	219
Figure 101: Représentation factorielle des variables par Analyse en Composantes Principales (ACP).	232
Figure 102: Regroupement des variables par analyse en classification hiérarchique (CAH).	233
Figure 103: Carte thermique des corrélations entre taux de chargement et profils de dissolution à différents temps.	234

LISTE DES FIGURES

Figure 104: Analyse en Composantes Principales (ACP) complémentaire illustrant les corrélations entre paramètres structuraux, magnétiques et fonctionnels.....	236
Figure 105: : Dendrogramme complémentaire de l'Analyse en Classification Hiérarchique (CAH) des relations entre les paramètres étudiés.	236
Figure 106: Superposition des spectres FTIR des échantillons, région discriminante (1680–1700 cm^{-1}).	240
Figure 107: Courbes DSC/TG comparatives des nanocomposites, avec annotation de la zone discriminante (420–455 °C).	241
Figure 108: Projection factorielle ACP (PC1–PC2) des échantillons en fonction des variables spectroscopiques (FTIR) et thermiques (DSC/TG).....	245
Figure 109: Surfaces de réponse 3D illustrant l'effet du ratio (A) et de la température de calcination (B) sur les paramètres de synthèse et de performance des nanocomposites.....	247
Figure 110: Carte de superposition identifiant la zone optimale de synthèse des nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄	249
Figure 111: Représentation des valeurs optimales des paramètres de synthèse.....	250
Figure 112: Diffractogrammes du nanocomposite optimal synthétisé en trois répliquats.	251
Figure 113: Diffractogrammes des échantillons triplicata du nanocomposite optimal.....	251
Figure 114: Micrographies MEB du nanocomposite optimal.	253
Figure 115: Cartographie EDS des éléments (Ca, P, O, Fe, C).	254
Figure 116: Boucles d'hystérésis VSM.....	255
Figure 117: Spectres FTIR du nanocomposite optimal.....	256
Figure 118: Thermogrammes DSC/TG des nanocomposites.....	256
Figure 119: Diffractogrammes des nanocomposites optimaux obtenus par l'affinement Rietveld.	258
Figure 120: Spectre infrarouge de nanocomposites optimaux chargés en acide barbiturique.	260
Figure 121: Spectres infrarouges normalisés des nanocomposites avant et après chargement en acide barbiturique.	261
Figure 122: Influence de la taille des cristallites de la magnétite sur le taux de chargement en acide barbiturique selon les conditions de refroidissement.....	262

LISTE DES FIGURES

Figure 123: Spectres FTIR comparatifs du 5-FU libre et des nanocomposites chargés en 5-FU.	265
Figure 124: Spectres FTIR normalisés pour l'évaluation du taux de chargement des nanocomposites en 5-FU.	266
Figure 125 : Spectre UV du 5-FU dans le PBS (pH 7,4).	268
Figure 126: Courbe d'étalonnage du 5-FU dans le tampon PBS à pH=7,4.	268
Figure 127: Courbe d'étalonnage du 5-FU ($y = 0,050x + 0,020$; $R^2 = 0,999$).	269
Figure 128: Profils de libération du 5-FU libre et encapsulé dans les nanocomposites HAp/Fe ₃ O ₄	269
Figure 130: La suspension mère de nanocomposite magnétique préparé dans une solution de CMC.	279
Figure 131: Schéma de la plaque de microdilution utilisée pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) du nanocomposite magnétique sur différentes souches bactériennes.	281
Figure 132: Microplaque de détermination de la CMI et agitation pour homogénéisation des échantillons.	281
Figure 133 : Plaque de microdilution pour la détermination de la CMI après incubation.	285
Figure 134: Représentation 2D des interactions entre le 5-FU et la thymidylate synthase.	289
Figure 135: Complexe 5FU-Magnétite.	290
Figure 136: Représentation 2D des interactions entre le complexe 5-FU-Fe ₃ O ₄ et la thymidylate synthase.	292
Figure 137: Structure de complexe 5FU-HAp.	294
Figure 138: Représentation 2D des interactions entre le complexe 5-FU-HAp et la thymidylate synthase.	296
Figure 139 : Structure du complexe 5-FU-magétite-HAp.	297
Figure 140: Représentation 2D des interactions entre le complexe 5-FU-Fe ₃ O ₄ -HAp et la thymidylate synthase.	299

INTRODUCTION GENERALE

Le cancer reste l'une des principales causes de mortalité dans le monde, imposant la nécessité d'améliorer en permanence les stratégies thérapeutiques. Parmi les traitements disponibles, la chimiothérapie repose sur l'emploi d'agents cytotoxiques tels que le 5-fluorouracile (5-FU), largement utilisé contre les cancers colorectaux, mammaires et gastro-intestinaux. Cependant, l'efficacité de ces traitements est souvent limitée par leur toxicité systémique et leur faible sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales, générant de nombreux effets indésirables. Ces contraintes soulignent l'importance de développer des approches plus ciblées et moins toxiques en oncologie (1,2).

L'application des nanotechnologies à la vectorisation des médicaments anticancéreux ouvre des perspectives prometteuses en permettant de mieux contrôler leur libération et de réduire leurs effets secondaires. Parmi ces nanomatériaux, les nanocomposites magnétiques associant hydroxyapatite (HAp) et magnétite (Fe_3O_4) représentent une alternative innovante pour une administration ciblée et contrôlée d'agents anticancéreux (3-5).

Dans ce contexte, la mise au point de systèmes de libération contrôlée constitue une approche particulièrement attractive pour optimiser l'efficacité thérapeutique et limiter la toxicité des traitements (6).

Le présent travail s'inscrit dans cette démarche. Il porte sur la synthèse de nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 biocompatibles et biodégradables, élaborés par des procédés « verts » à l'aide d'agents naturels tels que le fructose, le galactose et la pectine. Ces matériaux permettent à la fois l'encapsulation du 5-FU et sa libération prolongée, tout en répondant à un champ magnétique externe afin de cibler spécifiquement la zone tumorale.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer in vitro le profil de libération du 5-FU à partir de ces nanocomposites, dans la perspective de proposer un vecteur plus efficace et mieux toléré pour la chimiothérapie anticancéreuse.

Pour y parvenir, plusieurs axes de recherche ont été définis :

- Optimiser la synthèse de nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 par voie verte afin d'obtenir une composition homogène et adaptée à la vectorisation du 5-FU ;

- Réaliser une caractérisation approfondie de ces nanomatériaux en termes de structure, composition, propriétés magnétiques et thermiques ;
- Étudier la libération du 5-FU en fonction de paramètres expérimentaux influençant sa cinétique de relargage ;
- Explorer l'activité antimicrobienne des nanocomposites pour d'éventuelles applications biomédicales complémentaires ;
- Mettre en œuvre une modélisation par Docking moléculaire afin de comparer les interactions du 5-fluorouracile (5-FU) libre avec les sites actifs de ses cibles protéiques, en particulier la thymidylate synthase, à celles établies par le 5-FU encapsulé dans les nanocomposites, et ainsi anticiper son efficacité thérapeutique ainsi que la stabilité des complexes formés.

Ce travail est structuré en deux parties :

- une partie théorique, dédiée à l'état de l'art et aux concepts fondamentaux liés aux nanomatériaux magnétiques et aux systèmes de libération contrôlée, comprenant notamment l'étude des propriétés des nanocomposites et du 5-FU ;
- une partie expérimentale, axée sur la synthèse, la caractérisation et l'évaluation des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ chargés en 5-FU, incluant l'analyse de leurs paramètres de préparation, l'optimisation des conditions de co-précipitation, l'évaluation de leur activité antimicrobienne et la modélisation des interactions moléculaires.

Dans une approche multidisciplinaire alliant chimie des matériaux, biotechnologie et pharmacologie, cette recherche vise à concevoir des systèmes innovants capables d'améliorer l'administration du 5-FU tout en réduisant sa toxicité systémique. L'étude détaillée des propriétés physico-chimiques et biologiques de ces nanocomposites, ainsi que l'évaluation de leurs interactions moléculaires, pourraient ainsi contribuer à l'émergence de nouvelles stratégies thérapeutiques plus sûres et plus performantes en oncologie.

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I

Nanomatériaux et nanocomposites magnétiques : principes fondamentaux et perspectives d'application

1 Généralités sur les nanomatériaux

1.1 Définition des nanomatériaux

Les nanomatériaux, selon les normes ISO/TS 80,004, sont définis comme des matériaux présentant des dimensions externes spécifiques ou une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique, soit entre 1 et 100 nm. Cette définition englobe les nano-objets, caractérisés par des composants matériels spécifiques, ainsi que les matériaux nanostructurés possédant une structure interne ou de surface nanométrique. Un nanomatériau peut être classé dans l'une ou les deux catégories (7).

En complément, la Commission européenne (2011) décrit les nanomatériaux comme des substances naturelles, incidentelles ou manufacturées constituées de particules non liées, agrégées ou agglomérées, dont plus de 50 % des particules présentent une taille comprise entre 1 et 100 nm. Ce seuil de 50 % peut être abaissé à une plage de 1 à 50 % dans des cas spécifiques, en fonction des préoccupations liées à l'environnement, à la santé, à la sécurité ou à la compétitivité.

La nanoscience est définie comme l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique, mettant particulièrement l'accent sur les propriétés dépendantes de la taille des matériaux à l'état solide. Elle combine plusieurs disciplines, telles que la physique, la science des matériaux et la biologie, afin de comprendre et de manipuler les matériaux au niveau atomique et moléculaire.

La nanotechnologie, quant à elle, désigne l'ensemble des outils et des techniques permettant d'observer, de mesurer, de manipuler et de produire des matériaux à l'échelle nanométrique. Elle se concentre sur les applications pratiques découlant des connaissances acquises par la nanoscience, notamment pour développer des matériaux et des dispositifs innovants (7,8).

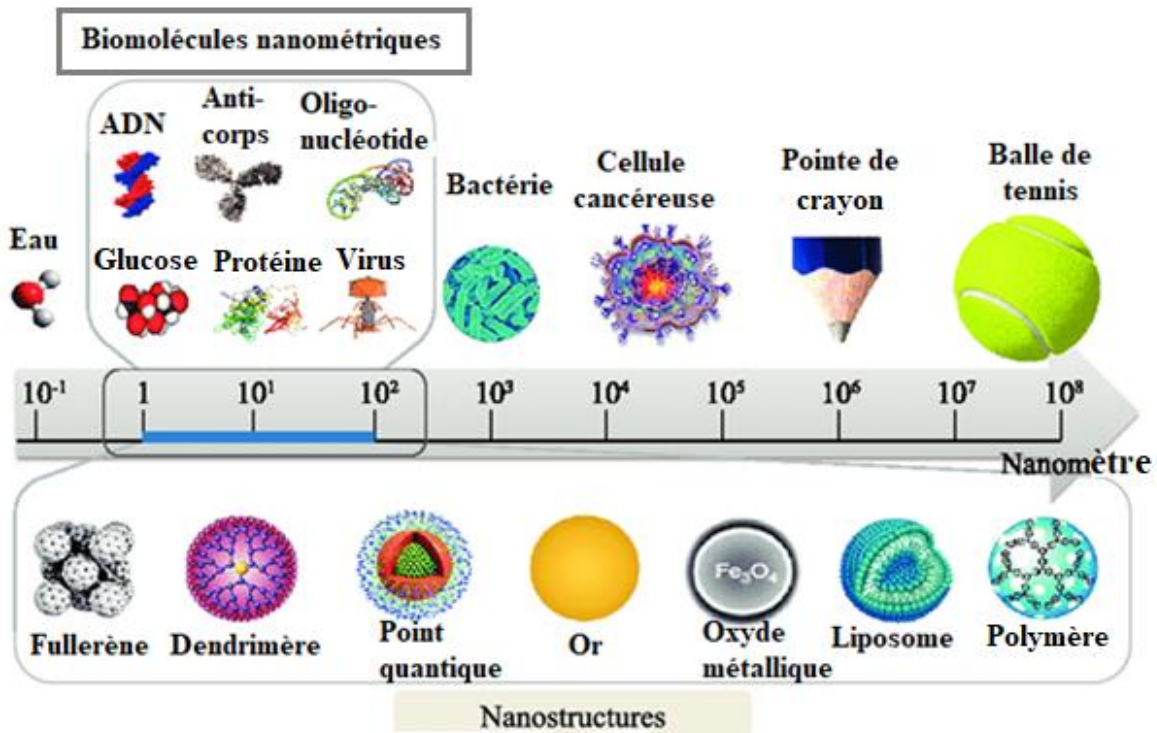


Figure 1: Schéma illustrant l'échelle de taille des objets comparée au régime de taille nanométrique (7).

1.2 Types et classification des nanomatériaux

La plupart des nanoparticules (NPs) et des matériaux nanostructurés (NSMs) actuels peuvent être classés en quatre catégories principales basées sur leur nature matérielle.

1.2.1 Nanomatériaux à base de carbone

Ces nanomatériaux sont essentiellement composés de carbone et se présentent sous des morphologies telles que des tubes creux, des ellipsoïdes ou des sphères. Parmi eux, on trouve les fullerènes (C_{60}), les nanotubes de carbone (CNTs), les nanofibres de carbone, le noir de carbone, le graphène (Gr) et les oignons de carbone. Les méthodes de production importantes pour la fabrication de ces matériaux incluent l'ablation laser, la décharge par arc électrique et la déposition chimique en phase vapeur (CVD), à l'exception du noir de carbone (9).

1.2.2 Nanomatériaux à base organique

Cette catégorie comprend les nanomatériaux principalement composés de matière organique, à l'exclusion des nanomatériaux à base de carbone ou d'origine inorganique. L'utilisation d'interactions non covalentes (faibles) pour l'auto-assemblage et la conception de molécules permet de transformer ces nanomatériaux organiques en structures spécifiques telles que les dendrimères, les micelles, les liposomes et les nanoparticules polymères.

1.2.3 Nanomatériaux à base inorganique

Ces nanomatériaux incluent des nanoparticules et des matériaux nanostructurés à base de métaux et d'oxydes métalliques. Ils peuvent être synthétisés sous forme de métaux tels que les nanoparticules d'or (Au) ou d'argent (Ag), d'oxydes métalliques tels que les nanoparticules de TiO_2 et ZnO , ou encore de semi-conducteurs comme le silicium et les céramiques.

1.2.4 Nanocomposites hybrides

Ces matériaux multiphasés incluent au moins un composant de taille nanométrique (1–100 nm) ou présentent une séparation de phase à l'échelle nanométrique (10). Ils sont structurés autour d'une matrice polymère, céramique, hydrogel ou métallique, qui détermine leurs propriétés générales.

Les polymères servent de matrice pour des nanomatériaux organiques ou inorganiques utilisés comme renfort, conférant des propriétés spécifiques au composite. Les nanocomposites à base d'hydroxyapatite et de magnétite, par exemple, combinent les propriétés biologiques de l'hydroxyapatite, souvent utilisée comme phase principale ou dispersée, et les caractéristiques magnétiques uniques de la magnétite. Ces systèmes trouvent des applications prometteuses en biomédecine, notamment dans l'administration de médicaments et l'ingénierie osseuse.

Les composites à matrice céramique, comme ceux renforcés par des fibres, sont utilisés dans des secteurs spécialisés tels que l'aérospatiale. De leur côté, les hydrogels, grâce à leurs propriétés bioactives et leur capacité d'interagir avec des nanostructures, sont adaptés à des environnements spécifiques tels que l'ingénierie tissulaire. Enfin, les nanocomposites

métalliques, intégrant des alliages, des nanoparticules cœur-écorce ou des matériaux carbonés, répondent à des exigences élevées dans des domaines comme l'industrie aéronautique (11).

Les nanomatériaux peuvent être synthétisés sous différentes morphologies, comme mentionné dans la Figure 2, en fonction des propriétés requises pour des applications spécifiques.

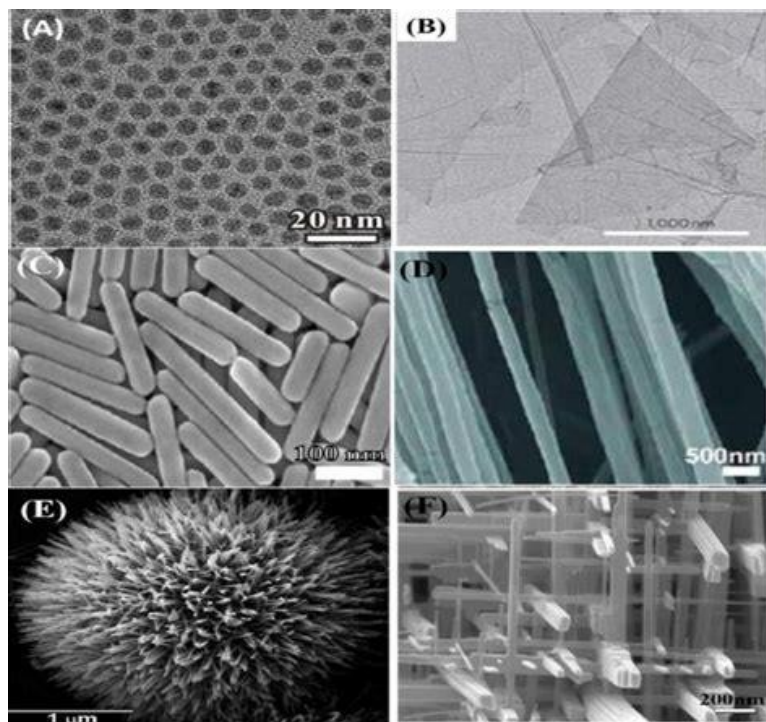


Figure 2: Morphologie des différents nanomatériaux.

(A) nanoparticules de Pd non poreuses (0D) (12,13), (B) feuillets de graphène (2D) (14), (C) nanorods d'Ag (1D) (15), (D) nanofibres de polyéthylène oxyde (1D) (16), (E) nanofils en forme de hérisson de ZnO (3D) (17), (F) réseau de nanofils d'oxyde de tungstène WO_3 (3D) (18).

2 Nanocomposites fonctionnels : hydroxyapatite et magnétite

2.1 Hydroxyapatite

2.1.1 Structure cristalline

L'hydroxyapatite (HAp) est un minéral composé principalement de phosphore et de calcium, naturellement présent dans les os et les dents humains. Ce composé fait partie de la famille des apatites. Sa formule chimique générale est $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. L'HAp suscite un grand intérêt en tant que biomatériau polyvalent, en raison de ses propriétés telles que son faible coût, sa grande capacité d'adsorption, sa biodégradabilité, sa stabilité et sa réactivité (19).

L'HAp cristallise dans un système hexagonal (P63/m) avec des paramètres de maille de $a = 9,37 \text{ \AA}$ et $c = 6,88 \text{ \AA}$. Sa structure est composée de groupes tétraédriques PO_4^{3-} formant un réseau compact, délimitant deux types de canaux distincts. Le premier, de $2,5 \text{ \AA}$ de diamètre, est bordé par des ions Ca^{2+} (Ca(I)), tandis que le second, d'un diamètre de $3,5 \text{ \AA}$, est entouré d'ions Ca^{2+} (Ca(II)) et abrite les groupes hydroxyles (OH^-) alignés le long de l'axe c , jouant un rôle clé dans les propriétés acido-basiques et électriques (20).

L'HAp présente une grande flexibilité compositionnelle. Sa forme stœchiométrique ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) a un rapport Ca/P de 1,67. Les formes non stœchiométriques incluent l'HAp déficiente en calcium ($\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, $0 < x < 1$) et l'HAp enrichie en carbonate ($\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x}$), pouvant atteindre un rapport Ca/P supérieur à 1,67 (21,22).

L'HAp est peu soluble dans l'eau et insoluble en milieu alcalin, elle se dissout en milieu acide via la réaction :

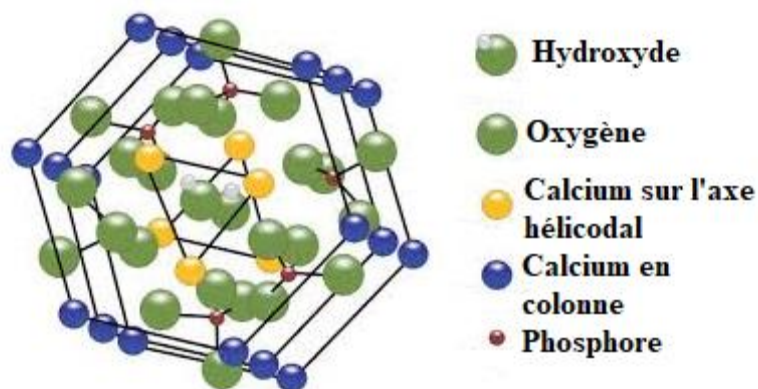
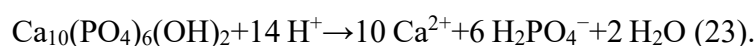


Figure 3: Illustration de la structure de l'HAp (24).

2.1.2 Propriétés principales de l'HAp

L'hydroxyapatite, un minéral de phosphate de calcium, est largement reconnu pour ses propriétés de biocompatibilité et de biodégradabilité.

La biocompatibilité de l'HAp est principalement due à sa composition chimique et à sa structure cristalline, qui sont très similaires à celles des minéraux présents dans les os humains. En effet, l'HAp constitue environ 70 % de la masse osseuse, ce qui lui confère une excellente capacité à interagir avec les tissus vivants (25,26). Des études ont montré que l'HAp peut former des liaisons directes avec les tissus vivants, favorisant ainsi l'ostéoconduction, c'est-à-dire la capacité à soutenir la croissance osseuse (27,28). De plus, l'HAp est souvent utilisée dans des implants et des greffes osseuses en raison de sa faible toxicité et de sa capacité à induire des réponses biologiques favorables, telles que la prolifération cellulaire et la minéralisation (29,30).

Concernant la biodégradabilité, l'HAp est considérée comme un matériau bioactif qui peut se décomposer dans le corps humain. Cette dégradation est essentielle pour les applications de remplacement osseux, car elle permet à l'HAp d'être progressivement remplacée par du tissu osseux naturel au fur et à mesure de la guérison (31,32). Sa vitesse de dégradation peut être influencée par divers facteurs, notamment sa structure, sa porosité et la présence d'additifs ou de dopants (29,32). Par exemple, des composites d'HAp renforcés avec d'autres polymères biodégradables, comme le poly(L-lactide), ont montré une dégradabilité améliorée tout en maintenant une bonne biocompatibilité (29).

2.1.3 Applications biomédicales de l'hydroxyapatite

L'HAp, en raison de sa composition chimique similaire à celle des minéraux osseux, est largement utilisée dans divers domaines biomédicaux. Ses propriétés uniques, telles que la biocompatibilité, l'ostéoconductivité et la bioactivité, en font un matériau de choix pour des applications allant des implants orthopédiques aux systèmes de délivrance de médicaments.

2.1.3.1 Implants et greffes osseuses

L'une des applications les plus significatives de l'HAp est son utilisation dans les implants et les greffes osseuses. En raison de sa capacité à favoriser l'adhésion et la croissance des cellules ostéoblastiques, l'HAp est souvent utilisée comme revêtement pour les implants métalliques, améliorant ainsi leur intégration avec le tissu osseux environnant (33,34). Des études ont

démontré que les implants revêtus d'HAp présentent une meilleure ostéointégration et une réduction des complications post-opératoires (35).

2.1.3.2 Systèmes de délivrance de médicaments

L'HAp joue un rôle essentiel dans la délivrance de médicaments grâce à sa capacité à adsorber des substances bioactives et à assurer une libération contrôlée par sa dégradation progressive (36). Utilisée comme support pour divers médicaments, elle influence la cinétique d'adsorption et de libération en fonction des caractéristiques des molécules et de la morphologie des nanoparticules. Par exemple, le cisplatine (chargé positivement) préfère les particules en forme d'aiguilles, tandis que l'alendronate (chargé négativement) s'adsorbe mieux sur les surfaces en plaques (37). En oncologie, elle permet une libération ciblée des médicaments, réduisant ainsi les effets secondaires comme les dommages à la moelle osseuse causés par des agents tels que le 5-fluorouracile (38). Elle est également efficace pour les AINS et les vitamines, avec une libération contrôlée favorisant la régénération osseuse et influencée par le pH du milieu (39).

2.1.3.3 Applications dentaires

Dans le domaine dentaire, l'HAp est utilisée pour des applications telles que les revêtements de dents, les matériaux de restauration et les traitements de reminéralisation. En raison de sa similitude avec la structure minérale des dents, l'HAp favorise la reminéralisation de l'émail dentaire et peut être intégrée dans des composites dentaires pour améliorer leur résistance et leur durabilité (33).

2.1.3.4 Matériaux de scaffolding pour l'ingénierie tissulaire

L'HAp est largement utilisée comme matériau de scaffolding dans l'ingénierie tissulaire, où elle sert de matrice pour la croissance cellulaire et la régénération des tissus. Sa structure poreuse et sa capacité à interagir avec les cellules favorisent l'adhésion et la prolifération des cellules souches, ce qui est essentiel pour la régénération osseuse et d'autres tissus (40–42).

2.2 La magnétite

2.2.1 Structure cristalline

La magnétite est la forme d'oxyde de fer naturel la plus courante et la plus utilisée, avec la formule chimique Fe_3O_4 (43). Elle se caractérise par une structure spinelle inverse cristalline cubique, dans laquelle les ions ferreux occupent la moitié des sites octaédriques du réseau, tandis que les ions ferriques occupent l'autre moitié des sites octaédriques ainsi que tous les sites tétraédriques du réseau (44).

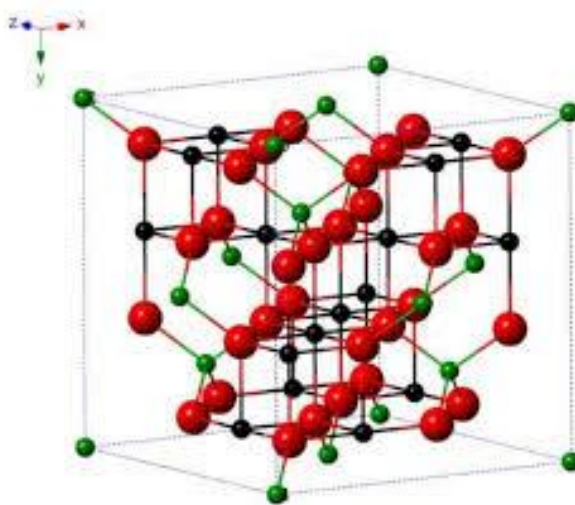


Figure 4: Structure cristalline de la magnétite ; Sphères vertes – Fe^{3+} ; sphères noires – Fe^{2+} ; sphères rouges – O^{2-} (45).

Les structures de magnétite à l'échelle nanométrique ont suscité un intérêt particulier en raison de leurs propriétés uniques lorsqu'elles sont réduites à quelques nanomètres (46). Bien que la plupart des études se concentrent sur les nanoparticules sphériques de magnétite (MNPs), diverses autres morphologies peuvent être obtenues. Les MNPs ont été synthétisées sous forme de cubes, bâtonnets, disques, tubes, plaques, hexagones, octaèdres, octaèdres tronqués, tétraèdres, octopodes, tétrapodes, anneaux, fleurs, formes concaves, etc., dans des configurations solides, creuses ou poreuses (47,48).

2.2.2 Propriétés principales de la magnétite

Parmi les nanoparticules d'oxydes de fer magnétiques (IONPs), la magnétite (Fe_3O_4), la maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) et l'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) sont les plus connus (45).

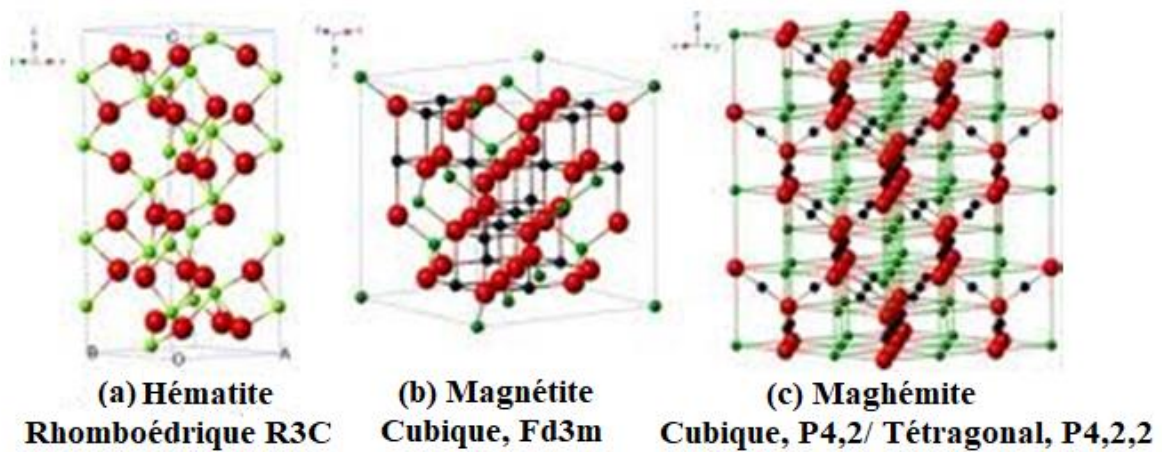


Figure 5: Structure cristalline de l'hématite, de la magnétite et de la maghémite (la boule noire représente Fe^{2+} , la boule verte représente Fe^{3+} et la boule rouge représente O^{2-}) (49).

Le ferrimagnétisme des MNPs, telles que celles composées de magnétite ou de maghémite, résulte de l'alignement antiparallèle des moments magnétiques des ions Fe. Dans ces matériaux, seuls les ions Fe^{2+} contribuent à la magnétisation nette (50,51). Les particules ferrimagnétiques se comportent de manière similaire aux particules ferromagnétiques, mais avec des moments magnétiques opposés et de magnitudes inégales dans les sous-réseaux. Cela donne lieu à une magnétisation nette dans certaines conditions, mais qui reste généralement plus faible que celle des matériaux ferromagnétiques où les moments magnétiques sont alignés dans la même direction. L'antiferromagnétisme se caractérise par un alignement des moments magnétiques, avec une alternance régulière entre des orientations parallèles et antiparallèles, ce qui entraîne une somme nette de moments magnétiques égale à zéro. La figure ci-dessous illustre l'orientation des spins dans les trois états. (52).

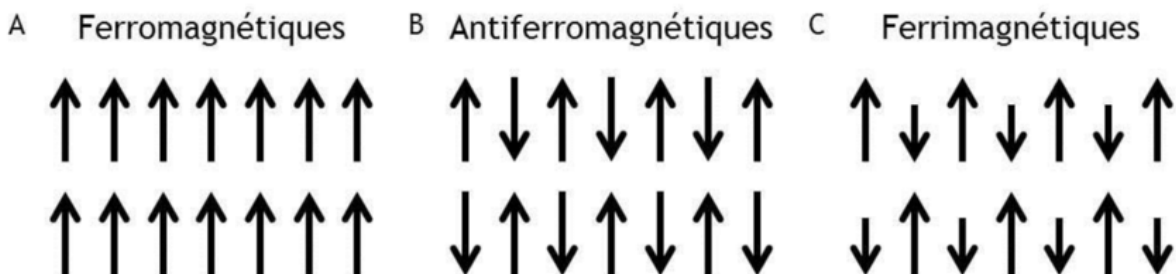


Figure 6: Schéma illustrant l'orientation des spins dans le cas (A) du ferromagnétisme, (B) de l'antiferromagnétisme et (C) du ferrimagnétisme.

À l'échelle nanométrique, ces particules adoptent un comportement superparamagnétique, caractérisé par une forte susceptibilité magnétique (53). Elles se magnétisent sous l'effet d'un champ magnétique externe, mais cette magnétisation disparaît immédiatement après le retrait du champ, sans persistance, ce qui distingue ce comportement de celui des matériaux ferromagnétiques (54). En effet, les MNPs superparamagnétiques ne montrent pas d'hystérésis (absence de rémanence magnétique après suppression du champ coercitif H_c), comme montre la figure 7, un phénomène souvent observé dans les matériaux ferromagnétiques ou ferrimagnétiques, où la magnétisation rémanente (M_r) reste présente. En revanche, les particules superparamagnétiques montrent une réponse instantanée au champ magnétique et une absence de cette hystérésis (55).

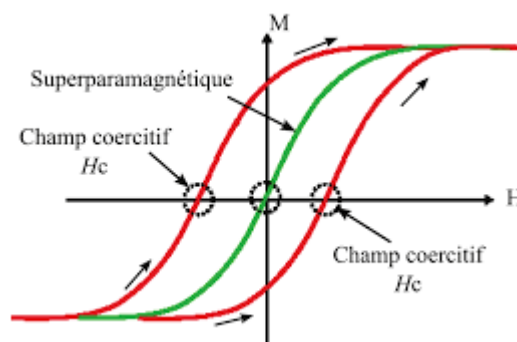


Figure 7: Réponses magnétiques avec et sans hystérésis représentées respectivement en rouge et en vert. Le comportement du volume de nanoparticules magnétiques suit la courbe verte au centre, caractérisée par l'absence d'hystérésis (56).

Le comportement superparamagnétique est dû à la petite taille des MNPs (entre 10 et 30 nm) (57), ce qui leur permet de montrer des propriétés de magnétisation de saturation (M_s) (magnétisation maximale possible lorsque tous les moments magnétiques sont alignés dans le champ magnétique) élevées mais à faible magnétisation par particule, en raison des inversions rapides des moments magnétiques. Ces particules sont particulièrement adaptées à des applications comme la délivrance de médicaments ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM), où l'absence de forces d'attraction internes entre les particules est importante pour éviter l'agrégation (55).

Cependant, bien que les MNPs présentent une excellente dispersibilité et biocompatibilité grâce à leur grande surface spécifique, leur réactivité chimique les rend sensibles à l'oxydation, ce qui peut réduire leur dispersibilité et leur magnétisme. Ainsi, pour préserver leurs propriétés

magnétiques et éviter l'oxydation, la synthèse de ces particules doit être réalisée en conditions anaérobies (45).

2.2.3 Applications biomédicales

Les nanoparticules d'oxydes de fer magnétiques (IONPs) sont largement étudiées en raison de leur biocompatibilité et de leurs nombreuses applications biomédicales, notamment grâce à leur approbation par la FDA (Drug Food Administration) pour des usages médicaux et alimentaires (58). Leurs principales caractéristiques incluent :

- Une taille comparable aux protéines, cellules et ADN.
- Une surface modifiable pour se lier à des molécules biologiques.
- Un moment magnétique élevé permettant des méthodologies non invasives pour le diagnostic et le traitement des maladies.

Les *théranostiques*, combinant traitement et diagnostic, émergent comme une nouvelle approche prometteuse capable à la fois de diagnostiquer une maladie et de la traiter de manière ciblée. Toutefois, sans revêtement, les MNPs ont tendance à s'agréger dans les fluides biologiques en raison des forces de Van der Waals, limitant leur compatibilité avec certaines applications en raison du risque d'obstruction des capillaires.

Les applications des MNPs peuvent être classées comme suit :

- **Applications in vitro** : elles concernent principalement la sélection et la séparation dans le cadre du diagnostic et magnéto-relaxométrie.
- **Applications in vivo** : elles se divisent en deux catégories d'applications : thérapeutiques (hyperthermie magnétique, délivrance de médicaments) et diagnostiques (imagerie par résonance magnétique) (59–62).

2.2.3.1 Applications in vivo

Les nanoparticules magnétiques superparamagnétiques (MNPs), comme les SPIONs (>50 nm) et USPIONs (<50 nm), doivent être biodégradables et compatibles pour les applications thérapeutiques. Le fer libéré par les IONPs est métabolisé dans le corps, intégrant les érythrocytes sans effets toxiques majeurs à des concentrations faibles (63). La taille des

particules influence leur biodistribution, avec une taille idéale entre 10 et 100 nm pour éviter la filtration par les reins et la capture par la rate (64).

Les MNPs sont reconnues par des opsonines et ingérées par les macrophages, puis dégradées dans les lysosomes (65). Pour augmenter leur circulation dans le corps, les NPs peuvent être revêtues de polymères biocompatibles comme le dextran ou PEG, ce qui réduit l'agglomération et améliore leur biocompatibilité (66).

2.2.3.1.a L'hyperthermie

L'hyperthermie magnétique utilise des MNPs exposées à des ondes électromagnétiques pour chauffer les cellules cancéreuses à des températures de 42-45°C, détruisant principalement les cellules tumorales. Les MNPs recouvertes de polymères améliorent l'efficacité du traitement (67,68). L'hyperthermie renforce la radiothérapie et la chimiothérapie en rendant les cellules tumorales plus sensibles (69). Si la température dépasse 50°C, l'ablation thermique se produit, causant nécrose en plus de la mort cellulaire (70,71). Les particules de taille nanométrique permettent un meilleur contrôle thermique(67).

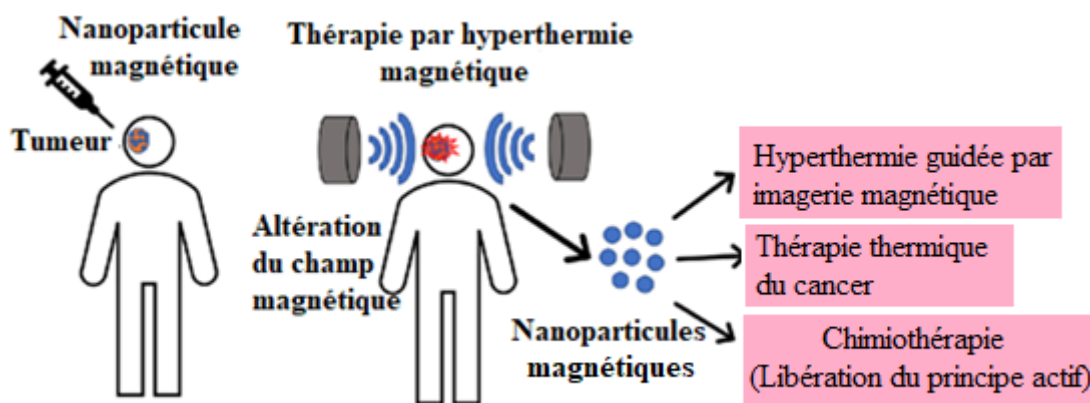


Figure 8: Illustration d'un processus typique de thérapie par hyperthermie magnétique (72).

2.2.3.1.b Délivrance de médicaments

Les IONPs offrent un fort potentiel pour la libération ciblée de médicaments grâce à leurs propriétés magnétiques. Cependant, leur toxicité et faible furtivité nécessitent une fonctionnalisation, notamment via des polymères naturels (chitosane, alginate) ou synthétiques

(PLA, PLGA), pour améliorer leur biocompatibilité et leur ciblage (73,74). La figure ci-dessous illustre une nanoparticule typique à base de magnétite, dont le cœur est constitué de magnétite. Ce cœur est entouré d'une substance de revêtement, sur laquelle une charge thérapeutique est fixée.

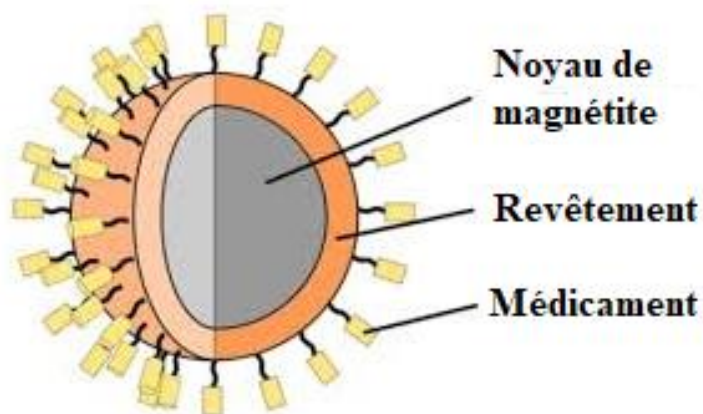


Figure 9: Représentation schématique d'une nanoparticule thérapeutique à base de magnétite revêtue (75).

Leur guidage vers des tissus spécifiques est assuré par des champs magnétiques externes ou des molécules de reconnaissance (anticorps) à leur surface. Cela permet une concentration locale du médicament, réduisant les doses et les effets secondaires (76,77).

Les MNPs modifiés avec des polymères organiques deviennent biocompatibles et peuvent être fonctionnalisés pour transporter des molécules bioactives. Leur localisation dans le corps repose sur l'équilibre entre les forces sanguines et magnétiques. Selon leur taille et charge, ils pénètrent les cellules par différents mécanismes (endocytose, pinocytose, phagocytose ou récepteurs spécifiques),(78,79).

2.2.3.1.c Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique de diagnostic non invasive couramment utilisée. Les MNPs servent d'agents de contraste en modifiant la relaxation magnétique des protons d'eau, améliorant ainsi le contraste entre les tissus sains et pathologiques (80).

De plus, les MNPs s'accumulent dans les zones avec altérations vasculaires, inflammations, lésions tumorales et ganglions lymphatiques, en particulier dans les tumeurs (taille des MNPs : 10-100 nm), en raison d'un drainage lymphatique défectueux dans ces tissus (80,81).

2.2.3.2 Applications in vitro

L'extraction en phase solide magnétique (SPE) utilise des nanoparticules magnétiques (MNPs) pour isoler et concentrer rapidement des substances dans des échantillons. Cette méthode permet une séparation efficace, en adsorbant la substance cible sur les MNPs, puis en la récupérant à l'aide d'un champ magnétique. Les nanoparticules offrent l'avantage de former des suspensions stables sans sédimentation, contrairement aux microparticules (82,83).

3 Méthodes de synthèse de nanocomposite magnétique

3.1 Approches courantes de synthèse

Les nanocomposites d'hydroxyapatite magnétique peuvent être synthétisés par plusieurs techniques, classées en méthodes humides, sèches, à haute température et combinées. Les méthodes humides, telles que la précipitation chimique, sont les plus utilisées, suivies des approches hydrothermales et sol-gel. Pour les études biologiques, la méthode biomimétique est souvent privilégiée. Chaque technique choisie affecte la structure, la cristallinité, la forme et les proportions des composites obtenus. (84–86).

3.1.1 Méthode de précipitation chimique

Cette méthode permet de contrôler la structure et les proportions des composites magnétiques obtenus et de préparer un matériau homogène (85). Elle inclut la précipitation homogène, qui produit des particules uniformes à faible coût, et la co-précipitation, qui génère des particules de morphologies variées et de haute pureté.

Le processus consiste à mélanger des précurseurs de calcium et de phosphate selon un rapport Ca/P de 1,67, en ajustant le pH (7–12) et la température. L'ajout de cations métalliques (Zn^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , etc.) via des sels solubles améliore les propriétés physiques, chimiques et biologiques des hydroxyapatites (87). Le schéma de la synthèse est présenté à la figure 10.

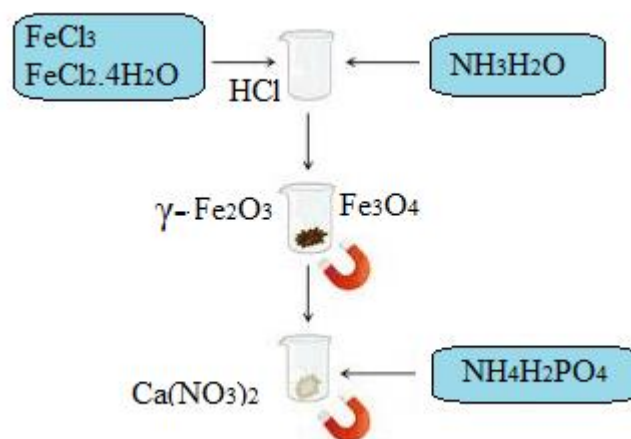


Figure 10: Synthèse par la méthode de précipitation chimique (19).

Shen et al. ont synthétisé des nanoparticules magnétiques de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ à partir de FeCl_3 et $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dissous dans une solution d' HCl (88,89). Après l'ajout de l'ammoniac $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, un sédiment brun a été collecté, lavé et séché. Ensuite, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a été dispersé dans une solution de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, et $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ a été ajouté tout en maintenant un pH constant grâce à une solution d'ammoniaque. Après agitation et chauffage, le composite magnétique a été isolé par un aimant, lavé, séché, puis broyé (90).

Les analyses DRX ont confirmé la présence de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ et d'hydroxyapatite sans altération structurelle. La spectroscopie FTIR a montré l'absence de modification des groupes fonctionnels. Le MET a révélé des particules sphériques de maghémite encapsulées dans des structures d'hydroxyapatite en bâtonnets. Les analyses VSM ont mis en évidence des propriétés superparamagnétiques favorisant la séparation après adsorption (90).

Des modifications de cette méthode incluent l'ajout d'acide citrique comme surfactant pour améliorer la dispersion des particules, une technique adoptée par Ramos Guivar et Sun et al. (91,92). Xiao et al. ont également synthétisé un nanocomposite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ /hydroxyapatite dopé au fer, caractérisé par une grande surface spécifique, idéale pour des applications comme adsorbant (93).

Vahdat et al. ont utilisé de l'hydroxyapatite dérivée d'os de poulet calcinés pour préparer un nanocomposite magnétique. La dureté accrue des composites a été confirmée par des tests de dureté Vickers, attribuée à la présence de molécules de magnétite (94).

D'autres études, comme celles de Sahoo et al., ont montré que l'incorporation de Fe_3O_4 dans la structure de l'hydroxyapatite n'affectait pas sa pureté ni sa cristallinité. Ces composites présentent des surfaces mésoporeuses adaptées aux applications d'adsorption, comme confirmé par les analyses BET et DRX(95).

Venkatesan et al. ont rapporté des résultats comparables, incluant des mesures de potentiel zêta qui ont révélé une surface négativement chargée dans une plage de pH de 5 à 9, ce qui favorise les interactions électrostatiques avec des cations métalliques (96).

Tran et Liu et al. ont étudié l'ajout d'acide citrique comme surfactant pour améliorer la dispersion des nanoparticules de Fe_3O_4 . Liu et al. ont également exploré la réactivité photocatalytique des composites, qui augmentait avec la température jusqu'à un certain seuil (97,98).

De nombreux chercheurs ont étudié la synthèse des composites de magnétite et d'hydroxyapatite, notamment Ribeiro et al. (99) et Thanh et al.(100). Des études antérieures importantes dans ce domaine ont également été rapportées, notamment celles de Shan et al. (101), Wu et al. (102), Ansar et al. (103), et Dong et al. (104). Ces travaux ont contribué de manière significative au développement des connaissances sur ces matériaux. Les matériaux synthétisés dans ces recherches ont démontré des propriétés adéquates et ont été obtenus avec succès.

3.1.2 Méthode hydrothermale

Une méthode hydrothermale utilisant un autoclave ou un micro-onde permet d'atteindre des pressions et températures élevées, favorisant la synthèse de composés stœchiométriques avec une bonne cristallinité (85,86). Cette approche a été appliquée par plusieurs chercheurs pour la synthèse de nanocomposites magnétiques à base d'HAp et de Fe_3O_4 . Le schéma de la synthèse est présenté à la figure 11.

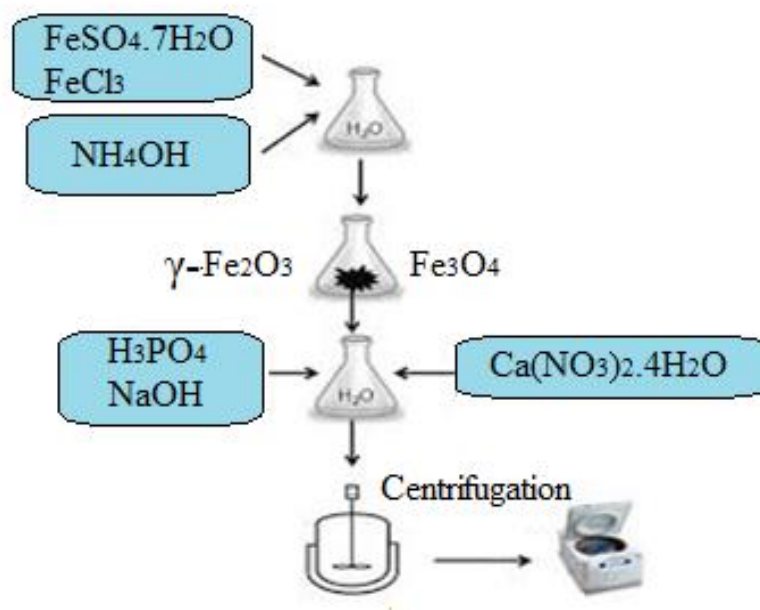


Figure 11: Méthode de synthèse hydrothermale (19).

Zheltova et al. ont préparé des nanoparticules de magnétite à partir de FeSO₄·7H₂O et FeCl₃, en ajoutant de l'hydroxyde d'ammonium. Le dépôt obtenu a ensuite été combiné avec Ca(NO₃)₂·4H₂O et H₃PO₄ pour former un nanocomposite d'hydroxyapatite en autoclave. Les analyses (DRX, FTIR, MET, BET) ont confirmé la présence de Fe₃O₄ et HAp, avec des propriétés superparamagnétiques validées par la spectroscopie Mössbauer (105,106).

Par ailleurs, Kermanian et al. ont introduit le cetrimonium bromide (CTAB) comme surfactant dans une synthèse impliquant des solutions de (NH₄)₂HPO₄, CaCl₂·2H₂O et de Fe²⁺/Fe³⁺, suivie d'un traitement en autoclave. Les techniques XRD, FTIR, TEM, VSM et EDS ont confirmé l'incorporation homogène des particules de magnétite dans la structure de HAp (84,107,108).

Dans une autre étude, Govindan et al. ont montré que leur méthode produisait une dispersion homogène des particules de Fe₃O₄ sur des nanorods d'HAp. Les mesures BET ont révélé une structure mésoporeuse avec une grande surface spécifique, adaptée à des applications d'adsorption (4).

De même, Zeng et al. ont utilisé FeCl₃·6H₂O dans l'éthylène glycol avec du polyéthylène glycol pour synthétiser la magnétite, suivie de la transformation d'un composite CaCO₃/Fe₃O₄ en HAp

magnétique via un traitement en autoclave. Les analyses ont démontré une susceptibilité magnétique et une synthèse efficace de HAp sur les particules magnétiques (109–111).

En complément, Murakami et al. ont employé du phosphate tricalcique (α -TCP) et des nanoparticules de magnétite pour créer une structure microporeuse en autoclave, tandis que Sato et al. ont synthétisé une hydroxyapatite dopée au fer, montrant une cristallinité élevée et des propriétés magnétiques améliorées en fonction de la teneur en fer (112,113).

3.1.3 Méthode sol gel

La méthode sol-gel est un procédé chimique qui transforme des solutions liquides, généralement solution colloïdale, en matériaux solides (gel) par hydrolyse et polymérisation de précurseurs (114). Elle est simple à mettre en œuvre et ne nécessitant pas d'équipements spécifiques, permet d'obtenir des particules avec une grande efficacité, pureté et un rapport stœchiométrique précis (115,116). Le schéma de la synthèse est présenté à la figure 12.

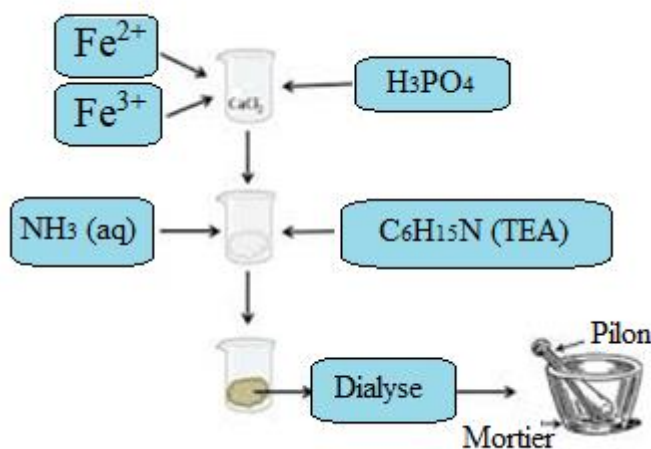
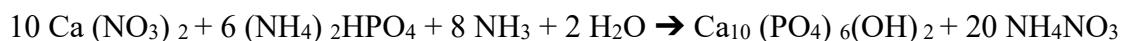


Figure 12: La méthode sol gel (19).

Kadu et al. ont synthétisé un nanocomposite d'hydroxyapatite dopé avec des ions Fe^{2+} et Fe^{3+} en utilisant une solution de $CaCl_2$, de l'acide phosphorique et de l'ammoniaque pour maintenir le pH. Après séchage et broyage, l'analyse (DRX, FTIR, EDS, MET) a confirmé la formation d'hydroxyapatite et de magnétite. Les particules présentaient une morphologie en forme d'aiguilles (117).

Yusoff et al. ont formé une couche d'hydroxyapatite sur des nanoparticules de Fe_3O_4 via une solution de P_4O_{10} et $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Le mélange a été calciné pour obtenir un produit final analysé par DRX, FTIR et MET, confirmant la superparamagnétisme des particules (118,119).

Pylypchuk et al. ont produit une couche d'HAp sur Fe_3O_4 selon une équation chimique spécifique. Les analyses DRX ont validé la synthèse réussie (120).



Shi et al. ont utilisé une méthode sol-gel écologique pour préparer des particules de maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) encapsulées par de l'hydroxyapatite. L'analyse DRX a confirmé l'intégrité structurale, tandis que le MET a révélé des formes sphériques et une surface spécifique accrue (121).

Kaygili et al. ont modifié l'hydroxyapatite avec du fer comme dopant. Les analyses DRX, FTIR et MEB/EDS ont démontré la substitution des ions Ca^{2+} par Fe, réduisant ainsi la cristallinité tout en maintenant les caractéristiques principales de l'hydroxyapatite (122).

3.1.4 Approche biomimétique dans les études biologiques

L'HAp magnétique est largement utilisée dans l'industrie biologique. Sa synthèse via une approche biomimétique avec un fluide corporel simulé (SBF) offre une alternative rapide, non toxique et sûre aux méthodes conventionnelles. Le schéma de la synthèse est présenté à la figure 13.

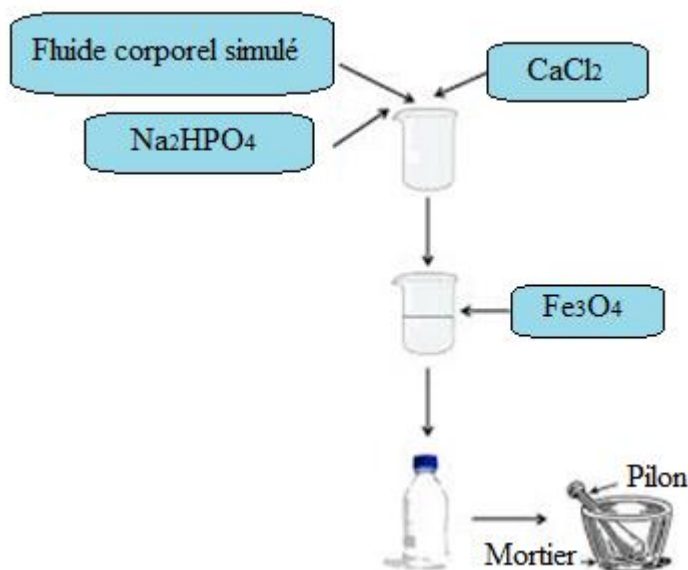


Figure 13: La méthode biomimétique (19).

Bhatt et al. ont synthétisé un nanocomposite en mélangeant du SBF, Na_2HPO_4 , et CaCl_2 , avant d'ajouter des particules de Fe_3O_4 . Le mélange a été incubé, lavé, séché et broyé. Les analyses MET et MEB ont montré des particules de magnétite dispersées de manière irrégulière avec une conformation amorphe. EDS a confirmé la présence d'éléments tels que Mg, Na et Fe. Les spectres FTIR ont révélé les bandes caractéristiques des phases présentes, et le composite a montré un superparamagnétisme, malgré des traces de carbonates dues au CO_2 atmosphérique (123–127).

Yamamoto et al. ont utilisé des noyaux d'apatite précipités en solution, combinés avec de la maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), suivis d'une immersion dans du SBF. Les couches d'HAp ainsi formées ont encapsulé les particules magnétiques. L'analyse MEB a montré des structures en bâtonnets, et FTIR a confirmé l'intégration de la maghémite et l'ordre cristallin du composite (127,128).

Les différentes méthodes de synthèse des nanoparticules d'hydroxyapatite magnétique peuvent produire des particules avec des morphologies variées, comme le montre la Figure 14. La morphologie des particules peut influencer leurs propriétés, telles que leur solubilité, leur biocompatibilité et leur bioactivité (129).

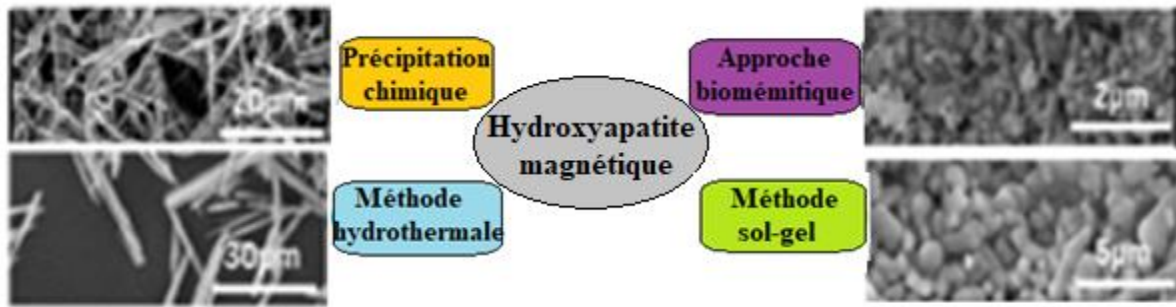


Figure 14: Morphologies de l'hydroxyapatite magnétique synthétisée par différentes méthodes (87).

Le tableau 1 résume les différentes méthodes de synthèse des nanocomposites d'HAp magnétique ainsi que de leurs applications

Tableau 1: Résumé des différentes méthodes de synthèse des nanocomposites d'HAp magnétiques ainsi que de leurs applications.

Voie de synthèse	Matériau	Application	Avantage	Inconvénient	Réf
Méthode de précipitation chimique	Fe/Sr-HAp, Fe ₂ O ₃ @HAp, hydroxyapatite dopée au lanthane/CS, Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ -HAp	Régénération osseuse, Ingénierie tissulaire, Hyperthermie magnétique, Étude cellulaire, délivrance de médicaments	Haute sélectivité, adaptée aux structures en cœur-coquille	Formation de sous produits	(130–132)
Méthode hydrothermale	CaCO ₃ /Fe ₃ O ₄ -HAp, Fe ₃ O ₄ -HAp, Co-HAp, HAp dopé au Gd	Régénération osseuse, agent antimicrobien, délivrance de médicaments, hyperthermie, IRM	Croissance cristalline homogène, synthèse à grande échelle	Cristallisation par germination, croissance non contrôlée	(133–135)
Méthode sol gel	GR- HAp	Agent antimicrobien	Économique ; Sans équipement spécifique ; Grande pureté des échantillons obtenus ; Efficace ; Rapide.	Temps de traitement long ; Difficile d'obtenir une taille de particule uniforme	(87,116)
Méthode biomimétique	HAP microcapsules encapsulating γ -Fe ₂ O ₃	Adsorption de biomolécules tel que les protéines et les enzymes	Non toxique ; Rapide ; Les propriétés chimiques de l'échantillon préparé sont comparables ; Sûr pour la nature et la santé humaine ; Trouve principalement des applications dans les études biologiques	Processus lent ; Difficile de contrôler la morphologie et la taille des particules ; Utilisation de matériaux biologiques coûteux	(87,127)

3.2 Rôle des monosaccharides et des polysaccharides dans la synthèse des nanocomposites magnétiques

Les polysaccharides sont des polymères de glucides naturels, biodégradables, non toxiques et hydrophiles, largement disponibles à faible coût (136,137). Leur structure peut être linéaire ou ramifiée, avec des propriétés telles que la stabilité, l'effet antimicrobien, et une haute porosité, ce qui les rend idéaux pour les applications biomédicales (138). Ils jouent un rôle clé dans la délivrance de médicaments grâce à leurs capacités d'adsorption, de libération contrôlée et de ciblage (139). Classés en polysaccharides anioniques (alginate, pectine) et cationiques (chitosane), ils sont utilisés en combinaison avec des phosphates de calcium comme l'HAP, notamment dans les domaines pharmaceutique et médical (136).

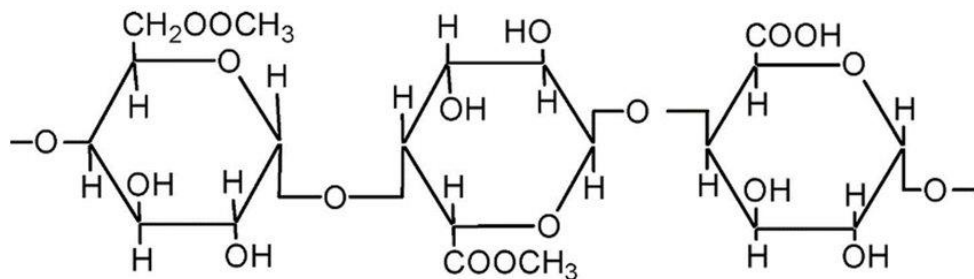


Figure 15: Structure chimique de la pectine (140).

L'utilisation de monosaccharides et de polysaccharides dans la synthèse de nanocomposites, notamment ceux à base d'HAP et de Fe_3O_4 , est un domaine de recherche intéressant qui met en avant les propriétés uniques de ces biomolécules. Les monosaccharides tels que le fructose, ainsi que les polysaccharides tels que la pectine, jouent des rôles importants dans la formation, la stabilisation et l'amélioration des propriétés des nanocomposites.

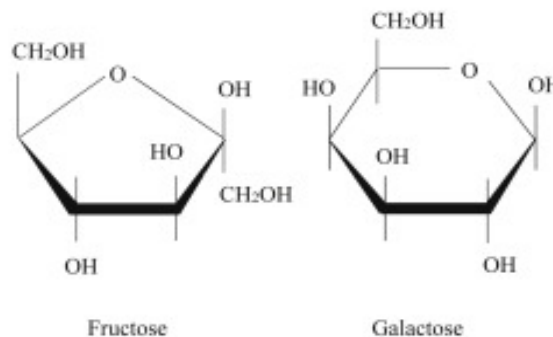


Figure 16: structure chimique des monosaccharides (fructose et galactose) (141).

Les monosaccharides, en tant que petites unités de glucides, peuvent agir comme agents réducteurs et stabilisants dans la synthèse de nanoparticules. Par exemple, le fructose et le galactose ont été utilisés pour réduire des ions métalliques en nanoparticules tout en stabilisant ces dernières grâce à leurs groupes hydroxyles. Ces interactions favorisent la formation de structures nanométriques avec des tailles et des morphologies contrôlées, essentielles pour les applications biomédicales (142).

Les polysaccharides, quant à eux, offrent une matrice naturelle qui facilite l'incorporation de nanoparticules tout en améliorant la biocompatibilité et la biodégradabilité des nanocomposites. La pectine, par exemple, est connue pour ses propriétés gélifiantes et sa capacité à former des réseaux tridimensionnels, ce qui permet de piéger les nanoparticules et de contrôler leur libération (143). De plus, les polysaccharides peuvent interagir avec les nanoparticules par le biais de liaisons hydrogène et d'interactions électrostatiques, stabilisant ainsi les nanocomposites et améliorant leur résistance mécanique (144).

4 Méthodes de caractérisation des nanocomposites magnétiques HAp et Fe₃O₄

4.1 Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X (DRX) repose sur l'interaction des rayons X avec les structures cristallines, et son principe fondamental est basé sur la loi de Bragg :

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad [10]$$
 où :

- n est un entier,
- λ est la longueur d'onde des rayons X,
- d est l'espacement entre les plans cristallins,
- θ est l'angle d'incidence.

Les rayons X, d'une longueur d'onde courte ($\sim 10^{-5}$ –100 Å), sont produits par des transitions électroniques impliquant les électrons des orbitales internes des atomes ou par le freinage d'électrons à haute énergie.

Lorsque cette condition est satisfaite, une interférence constructive se produit, créant des pics caractéristiques dans le spectre de diffraction. Ces pics permettent d'obtenir des informations

qualitatives et quantitatives sur les matériaux cristallins. Les informations obtenues par DRX sont :

- **Taille des cristallites** : La taille moyenne des domaines cristallins est déterminée par l'élargissement des pics via l'équation de Scherrer : $t = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta}$
 - t: taille moyenne des cristallites,
 - K: facteur de forme (environ 0,9 pour la plupart des cristaux),
 - λ : longueur d'onde des rayons X,
 - β : largeur à mi-hauteur (FWHM) des pics,
 - θ : angle de diffraction.

Cette méthode est fiable pour les particules de 1 à 100 nm, mais ne donne pas la distribution de tailles.

- **Distribution des tailles et défauts** : Les spectres fournissent des indications sur les défauts structuraux et la texture des nanomatériaux.
- **Analyse des phases** : Les positions et intensités des pics permettent d'identifier les phases cristallines présentes dans l'échantillon. La méthode est particulièrement utile pour les solides cristallins tels que les minéraux, les oxydes ou les matériaux composites.

Cette technique rapide et précise pour analyser les matériaux cristallins. Elle fournit des informations uniques sur la structure interne et les phases présentes. Elle est complémentaire aux techniques comme la diffraction des neutrons ou la microscopie électronique.

Un diffractomètre à rayons X comprend :

- Une source de rayons X (généralement avec une cible en cuivre, produisant une longueur d'onde de 1,5418 Å).
- Un porte-échantillon.
- Un détecteur rotatif collectant les rayons diffractés.
- Le goniomètre contrôle l'angle d'incidence (θ) et la détection des rayons diffractés (à 2θ) pour enregistrer les spectres (θ).

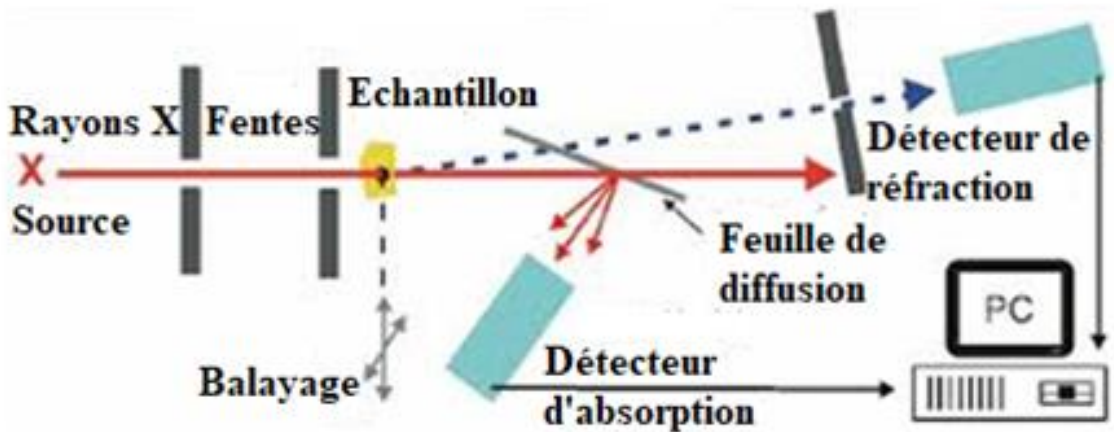


Figure 17: Caractéristiques de base d'un diffractomètre DRX.

4.2 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une méthode basée sur l'absorption et la transmission pour étudier les liaisons chimiques et leur environnement dans des systèmes moléculaires. Le spectre infrarouge montre les vibrations et rotations moléculaires dans la région infrarouge ($15\ 000 \sim 10\ \text{cm}^{-1}$). Elle permet d'identifier qualitativement les composants d'un échantillon (via les fréquences caractéristiques des bandes) et de quantifier les composants (via l'intensité des bandes).

Elle permet d'identifier les structures moléculaires (groupes fonctionnels, liaisons chimiques), de détecter les isomères et les structures inconnues, et d'analyser des échantillons sous forme gazeuse, liquide ou solide. Elle est particulièrement utile pour la caractérisation des nanoparticules de carbone, comme les fullerènes ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH).

L'intervalle de 4000 à $400\ \text{cm}^{-1}$ est le domaine le plus couramment exploité en spectroscopie FTIR. Les plages caractéristiques des bandes FTIR sont les suivantes :

- $3700\text{--}2500\ \text{cm}^{-1}$: vibration d'élongation des liaisons H–(C, N, O, S).
- $2300\text{--}2000\ \text{cm}^{-1}$: vibration d'élongation des liaisons $\text{C}\equiv\text{(C ou N)}$.
- $1900\text{--}1500\ \text{cm}^{-1}$: vibration d'élongation des liaisons $\text{C}=\text{(C, N ou O)}$.
- $800\text{--}1300\ \text{cm}^{-1}$: vibration d'élongation des liaisons $\text{C}\text{--}(\text{C, N ou O})$.

La zone "empreinte digitale" ($1300\sim 400\text{ cm}^{-1}$) permet de détecter des changements fins dans la structure moléculaire.

Elle permet également de différencier les vibrations symétriques et antisymétriques des liaisons, et d'analyser les interactions moléculaires via les changements de bandes. La technique est précise pour les structures organiques et l'étude de matériaux nanostructurés.

Dans la caractérisation des nanoparticules, la FTIR est utilisée pour identifier les transitions de phase difficilement différenciables par la diffraction des rayons X. Par exemple, la transformation de Fe_3O_4 en $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ par calcination peut être suivie :

Fe_3O_4 : Bande d'absorption à 571.1 cm^{-1} .

$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$: Bandes à 632.9 cm^{-1} et 563.4 cm^{-1} après calcination à 150 °C .

$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$: Bandes à 532.5 cm^{-1} et 463.1 cm^{-1} après calcination à 550 °C , correspondant à une transformation complète en hématite.

Cette technique présente des avantages notables, notamment la rapidité et la précision des mesures des substances moléculaires, l'identification des transformations de phases, et la capacité à différencier les structures cristallines similaires lorsque la diffraction des rayons X est limitée (9).

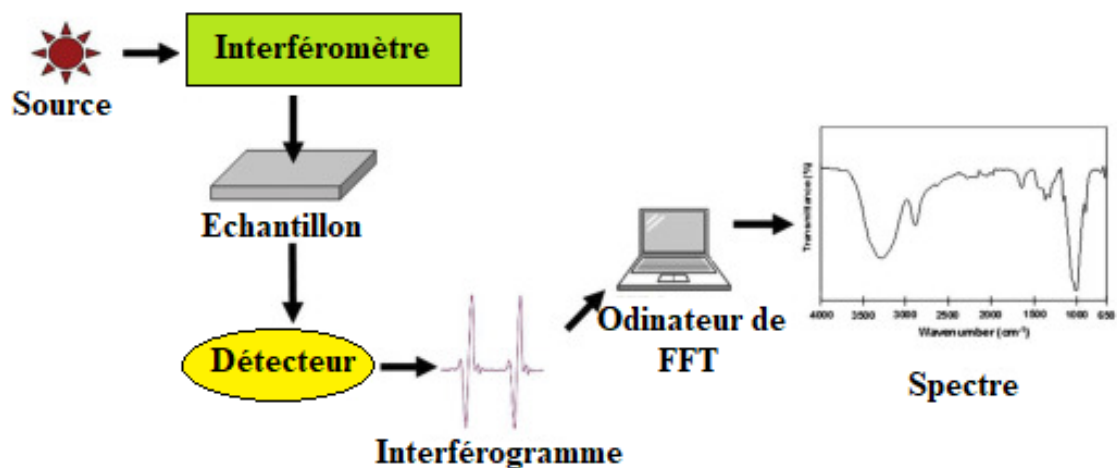


Figure 18: Principe de fonctionnement de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.

4.3 Microscopie électronique à balayage

L'analyse au microscope électronique à balayage (MEB) permet de caractériser la composition chimique des échantillons, tout en offrant des informations cristallographiques, magnétiques et électriques grâce aux instruments modernes.

Lorsqu'un faisceau d'électrons focalisé interagit avec la surface d'un solide, plusieurs signaux sont générés, notamment des électrons rétrodiffusés, des électrons secondaires, des électrons Auger et des rayons X caractéristiques. Ces signaux contiennent des informations précieuses sur la topographie et la composition de la surface du spécimen. Les interactions entre le faisceau d'électrons et le solide peuvent être classées en deux catégories :

- **Interactions élastiques** : modification des trajectoires des électrons sans perte significative d'énergie.
- **Interactions inélastiques** : transfert partiel ou total de l'énergie des électrons au solide, conduisant à l'émission d'électrons secondaires, d'électrons Auger ou de rayonnements.

Dans un MEB typique, un faisceau d'électrons d'un diamètre d'environ 5 nm, avec une énergie allant de quelques centaines d'électronvolts à 50 keV, balaie la surface de l'échantillon. Les interactions entre le faisceau et la surface entraînent l'émission de signaux (électrons ou photons), qui sont capturés et convertis en images détaillées sur un écran.

Les images obtenues avec le MEB se répartissent en trois catégories principales :

- **Images en électrons secondaires** : Les électrons secondaires sont produits par des interactions inélastiques entre les électrons du faisceau et les électrons faiblement liés du matériau. Ces électrons possèdent une faible énergie (< 50 eV) et proviennent des couches superficielles (50–500 Å).
- **Images en électrons rétrodiffusés** : Ces électrons sont issus d'interactions élastiques avec le noyau atomique. Leur nombre augmente avec le numéro atomique du matériau, ce qui permet de distinguer les zones ayant des numéros atomiques différents.

- **Cartes élémentaires par rayons X** : Les rayons X caractéristiques sont produits lors des transitions électroniques dans les atomes, fournissant des informations qualitatives et quantitatives sur la composition chimique de l'échantillon.

Un MEB se compose de trois éléments principaux :

- **Colonne du microscope** : Elle comprend le canon à électrons, le système de lentilles, les bobines de balayage et les détecteurs.
- **Système informatique** : Il pilote l'instrument, gère l'acquisition et le traitement des données.
- **Équipements auxiliaires** : Ils incluent des systèmes de vide, de refroidissement et des dispositifs de protection contre les vibrations ou les champs magnétiques ambiants.

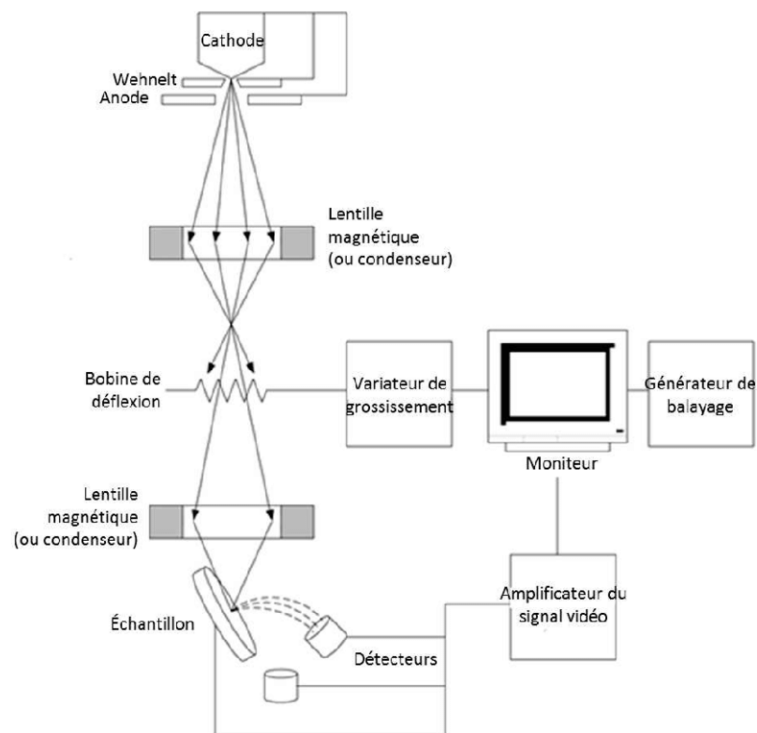


Figure 19: Principe de fonctionnement de microscope électronique à balayage (145).

Les détecteurs les plus couramment utilisés sont les scintillateurs (design Everhart-Thornley) pour les électrons secondaires et les détecteurs à semi-conducteurs pour les rayons X. Ces détecteurs permettent d'obtenir des gains élevés (jusqu'à 10^6 pour les scintillateurs) et une résolution exceptionnelle.

La MEB est une technique essentielle pour la caractérisation des nanomatériaux et nanostructures, permettant une résolution de l'ordre de quelques nanomètres et un grossissement pouvant atteindre $\times 300\,000$. Il est largement utilisé dans divers domaines, notamment :

- Caractérisation des polymères, nanocomposites, nanotubes, et nanofibres.
- Études des surfaces fracturées, des nanorevêtements et des nanoparticules.
- Recherche biomédicale, ingénierie des tissus, culture cellulaire et études environnementales (9).

- **Analyse par dispersion d'énergie des rayons X (EDS)**

L'analyse EDS, utilisée conjointement avec le MEB, permet d'identifier les éléments proches de la surface d'un échantillon et leurs proportions à différents emplacements, offrant ainsi une cartographie globale de l'échantillon.

Lorsque le faisceau d'électrons (énergie typiquement de 10–20 keV) frappe la surface d'un échantillon conducteur, il provoque l'émission de rayons X caractéristiques. Ces rayons X, générés jusqu'à une profondeur d'environ 2 μm , sont spécifiques aux éléments présents dans le matériau. Cependant, cette méthode n'est pas strictement de surface.

Cartographie élémentaire : En déplaçant le faisceau d'électrons sur l'échantillon, il est possible d'obtenir une image de la distribution de chaque élément. Les spectres EDS permettent une analyse qualitative et quantitative des échantillons.(9).

4.4 Magnétométrie à échantillon vibrant VSM

La technique VSM (Vibrating Sample Magnetometer) est une méthode largement utilisée pour mesurer les propriétés magnétiques des matériaux. Cette technique est particulièrement appréciée pour sa capacité à fournir des données précises sur la magnétisation, la susceptibilité

et d'autres caractéristiques magnétiques des échantillons, qu'ils soient solides, liquides ou en poudre.

Le VSM fonctionne sur le principe de la détection de la variation du champ magnétique généré par un échantillon qui vibre dans un champ magnétique externe. Lorsqu'un échantillon magnétique est soumis à un champ magnétique, il génère un moment magnétique proportionnel à son champ appliqué. En faisant vibrer l'échantillon à une fréquence spécifique, le VSM convertit ce moment magnétique en un signal électrique qui peut être mesuré et analysé. Cette méthode permet d'obtenir des courbes d'hystérésis, des mesures de saturation magnétique et d'autres propriétés magnétiques essentielles (146).

Le VSM est particulièrement utile pour analyser les nanoparticules magnétiques, qui ont des propriétés magnétiques uniques en raison de leur taille réduite. Les chercheurs utilisent le VSM pour étudier les effets de la taille des particules sur les propriétés magnétiques, comme le passage du ferromagnétisme au superparamagnétisme (147).

L'un des principaux avantages du VSM est sa capacité à fournir des mesures précises et répétables des propriétés magnétiques, même pour de petits échantillons. De plus, il permet d'effectuer des mesures à différentes températures, ce qui est crucial pour étudier les transitions de phase et les comportements magnétiques en fonction de la température (146).

4.5 Analyse Thermique Différentielle (DSC) et Thermogravimétrie (TG)

L'analyse thermique est une méthode essentielle pour étudier les propriétés thermiques des matériaux. Parmi les techniques d'analyse thermique, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et l'analyse thermogravimétrique (TG) sont largement utilisées pour caractériser les matériaux en fonction de leur comportement thermique (148).

La DSC mesure la différence de flux de chaleur entre un échantillon et un matériau de référence pendant un programme de chauffage ou de refroidissement. Cette technique permet de détecter des transitions thermiques, telles que les points de fusion, de cristallisation et de décomposition, en fournissant des informations sur les capacités thermiques et les changements d'état des matériaux (149).

La TG mesure la variation de la masse d'un échantillon en fonction de la température ou du temps, sous un environnement contrôlé. Cette technique est utilisée pour évaluer la stabilité thermique, la composition et les mécanismes de décomposition des matériaux. Les courbes TG fournissent des informations sur les pertes de masse dues à l'évaporation, à la déshydratation ou à la décomposition chimique (150).

La DSC et la TG sont utilisées pour analyser les propriétés thermiques et la stabilité des matériaux. La DSC examine les transitions de phase des polymères et les biomatériaux, tandis que la TG étudie leur décomposition thermique et la pyrolyse de la biomasse. Ensemble, ces techniques évaluent la compatibilité et le comportement thermique des composites (151).

5 Applications biomédicales des nanocomposites magnétiques

Les nanocomposites magnétisés à base d'hydroxyapatite (MHAp NCs) combinent deux composants pour former un système hybride, offrant des propriétés multifonctionnelles grâce à la synergie entre les matériaux. Ces propriétés dépendent de leur taille, structure et concentration. Dans les MHAp à structure cœur-coquille, le noyau est encapsulé par une couche externe, ce qui modifie leurs propriétés par rapport aux matériaux individuels. Cette structure est illustrée dans la figure 20.

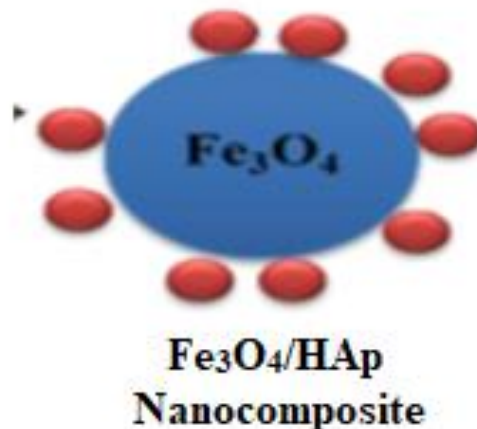


Figure 20 : Structure cœur-coquille de nanocomposites magnétisés à base d'HAp (120).

Les MHAp NCs possèdent une grande surface spécifique, une bonne biocompatibilité et une forte résistance mécanique. Leur nature hybride, marquée par la synergie des propriétés des composants, les rend adaptés à de nombreuses applications, notamment :

- **Biomédicales** : libération ciblée de médicaments (grâce à des champs électriques et magnétiques externes), ingénierie tissulaire, diagnostic et thérapie des cancers.
- **Environnementales** : élimination des métaux lourds et des colorants.
- **Industrielles** : catalyse, matériaux antimicrobiens, biocapteurs et matériaux résistants au feu (152).

La figure ci-dessous illustre les différentes applications potentielles des nanocomposites magnétiques.

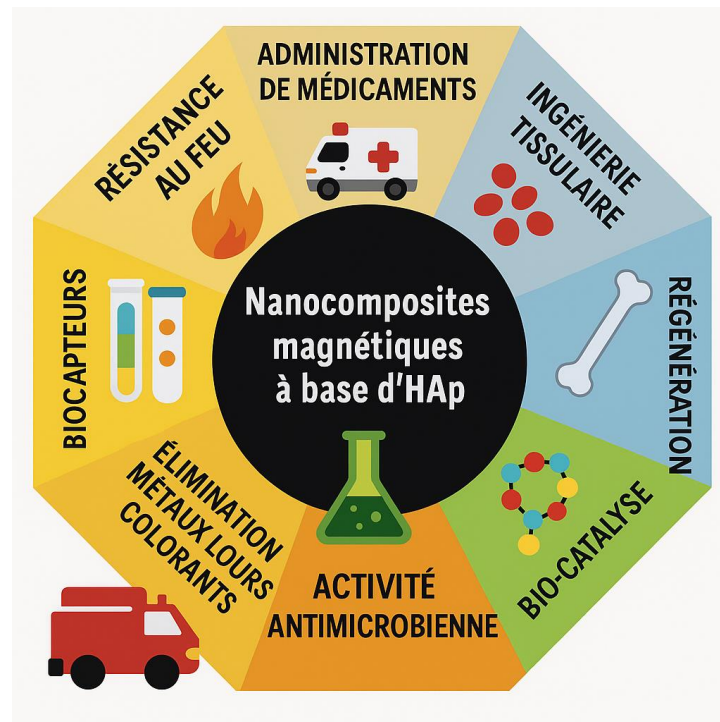


Figure 21: Une représentation des applications des nanocomposites magnétiques à base d'hydroxyapatite (HAp) (85).

5.1 Systèmes de délivrance de médicaments

Des progrès significatifs ont été réalisés dans les systèmes d'administration de médicaments au cours des dernières décennies. Les transporteurs de médicaments, essentiels pour une libération contrôlée et ciblée, doivent être biocompatibles, permettre un chargement efficace, et faciliter la libération des médicaments.

Les MHAp NCs se sont révélés adaptés à ces systèmes grâce à leur capacité élevée de chargement/déchargement, due aux groupes OH formant des liaisons hydrogène avec les médicaments. La partie magnétique permet un ciblage précis via un champ externe, tandis que l'HAp protège contre l'agglomération, améliore la biocompatibilité et assure une stabilité thermique et chimique (153–155). La figure ci-dessous illustre la libération contrôlée de médicaments par des nanocomposites magnétiques d'hydroxyapatite sous l'influence d'un champ magnétique externe.

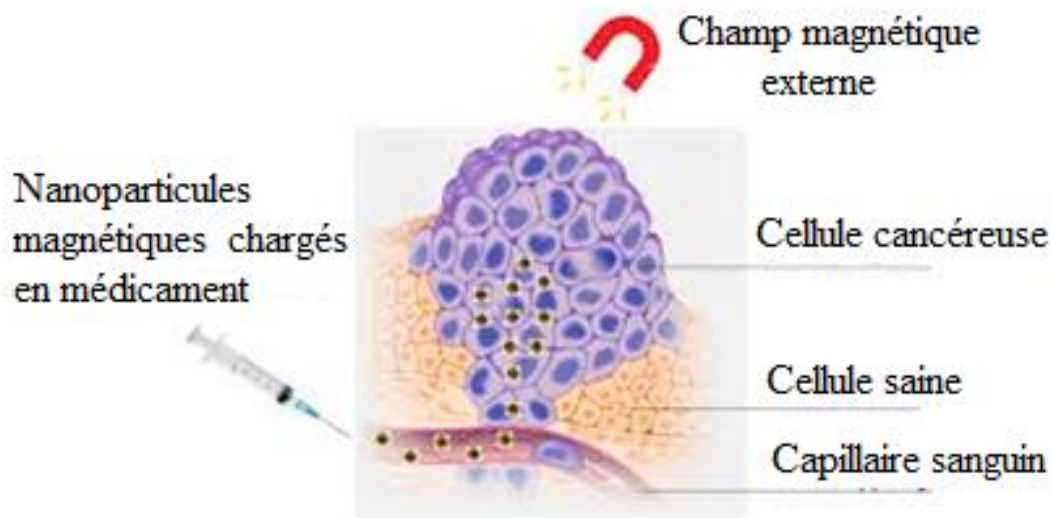


Figure 22: Représentation schématique de la libération contrôlée de médicaments par des nanoparticules magnétiques d'hydroxyapatite (87).

Les études expérimentales démontrent le potentiel des MHAp NCs dans l'administration ciblée de médicaments et le traitement des cancers. Les principales avancées incluent :

- **Réduction de la migration des cellules cancéreuses** : Les HAp lamellaires magnétiques (LM-HAp) montrent une efficacité supérieure à celle des HAp non magnétiques pour limiter la migration et l'adhésion des cellules cancéreuses mammaires grâce aux nanoparticules superparamagnétiques (156).
- **Administration du 5-FU** : Les Co-HAp NCs dopés au cobalt offrent une meilleure fixation et libération du 5-fluorouracile, associée à une hémocompatibilité accrue, bénéfique pour la régénération osseuse et le traitement tumoral (135).
- **Libération contrôlée selon le pH** : Les microsphères HAp mésoporeuses chargées de vancomycine et les composites $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HAp}$ contenant de la doxorubicine (DOX) ont montré une libération efficace et ajustable selon le pH, avec une libération prolongée pour le DOX (43 % en 100 heures) (157,158).
- **Hyperthermie magnétique** : Les nanocomposites $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{HAp}$ et $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HAp}$ ont généré suffisamment de chaleur pour traiter l'ostéosarcome et les cancers osseux sans affecter les cellules saines (110,159).

- **Traitement combiné** : Les Pt-Fe-HAp combinent chimiothérapie et hyperthermie magnétique, s'avérant efficaces contre le cancer du poumon sans affecter les fibroblastes (160).
- **Applications spécifiques** : Les nanocomposites $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{HAp}$ modifiés par l'APTES ciblent le tractus gastro-intestinal avec une libération sensible au pH, tandis que les nanobâtonnets $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HAp}$ ont montré des propriétés antiprolifératives contre les cellules cancéreuses de la peau (4,130).

Ces travaux confirment la biocompatibilité, la capacité de ciblage et la polyvalence des MHAp NCs dans des approches thérapeutiques avancées adaptées aux conditions de pH, de champ magnétique et de température.

5.2 Ingénierie tissulaire

Les MHAp NCs ont démontré leur efficacité en ingénierie tissulaire grâce à leurs propriétés uniques, telles que le contrôle de la libération des médicaments via un champ magnétique externe et leur capacité à favoriser l'ostéoinduction (161).

Des Fe-HAp NCs modifiés par de l'acide polylactique ont montré une prolifération cellulaire améliorée, particulièrement à haute concentration (30 % en poids) (162). Les composites HAp co-substitués par Fe/Sr ont présenté une grande compatibilité avec les cellules mésenchymateuses humaines et une amélioration de la libération des médicaments ainsi que de la réparation des tissus (163).

Des nanocomposites poly(ϵ -caprolactone)/HAp dopé au fer (PCL/FeHAp) ont offert de bonnes propriétés mécaniques, une hydrophobicité accrue et un comportement superparamagnétique. Ils ont également permis une excellente adhésion des cellules souches mésenchymateuses humaines (hMSCs) (164).

Les structures biomimétiques $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ -HAp ont montré une meilleure prolifération cellulaire sous un champ magnétique statique grâce à leur nature superparamagnétique (165). Des MNCs Fe-HAp testés via la moelle osseuse de rat ont montré une forte affinité avec l'ADN et une amélioration de la prolifération des cellules mésenchymateuses portant le gène GDNF (166).

Ces résultats confirment le potentiel des HAp NCs magnétiques dans la prolifération, l'adhésion et la différenciation des cellules pour des applications en ingénierie tissulaire.

5.3 Régénération osseuse

Les MHAp NCs montrent un fort potentiel en régénération osseuse grâce à leurs propriétés magnétiques et leur biocompatibilité.

Les MHAp associés au bioverre magnétique (CaO-SiO₂-P₂O₅-Fe₃O₄) favorisent la croissance des nanorods d'HAp et améliorent l'adhésion et la prolifération des cellules osseuses (167).

Les structures mésoporeuses enrichies en Fe₃O₄ stimulent l'adhésion et la différenciation ostéogénique des cellules stromales de moelle osseuse (133).

Les HAp dopés au fer, soumis à un champ magnétique, augmentent la prolifération des cellules ostéoblastiques humaines (Saos-2) par rapport aux HAp classiques (168).

Les composites Fe/Sr co-dopés améliorent l'activité ostéogénique et l'expression des protéines clés comme l'ostéocalcine, confirmant leur rôle comme substituts osseux (131).

Les échafaudages magnétiques chitosane-collagène-Fe₃O₄-HAp montrent des résultats supérieurs en différenciation et régénération osseuses in vivo sur un modèle de crâne de rat (169).

Les composites HAp/chitosane dopés au lanthane stimulent efficacement la différenciation ostéogénique des cellules souches mésenchymateuses (132).

Les MHAp NCs s'imposent comme des candidats prometteurs pour les implants osseux, alliant réparation, différenciation cellulaire et propriétés biomimétiques.

5.4 Activité antimicrobienne

L'inhibition ou l'élimination des microbes pathogènes (champignons, bactéries et virus) est associée à l'activité antimicrobienne (170). L'HAp possède une activité antimicrobienne limitée,

mais le dopage avec des ions magnétiques améliore cette propriété, permettant de concevoir des nanoparticules hybrides magnétiques (NCs) (171,172).

Le mode d'action létal des nanocomposites métalliques demeure un sujet de débat, bien que trois mécanismes majeurs soient généralement avancés :

- **La génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)**, qui induisent un stress oxydatif conduisant à des dommages irréversibles au niveau des structures cellulaires bactériennes.
- **La libération d'ions métalliques**, qui interfèrent avec les processus métaboliques essentiels des microorganismes, compromettant ainsi leur viabilité.
- **L'interaction directe des nanocomposites avec la membrane cellulaire**, entraînant une altération de son intégrité et, par conséquent, une perte de fonctionnalité biologique.

Comparés à leurs homologues sous forme de sels métalliques, les nanocomposites métalliques présentent un potentiel antibactérien accru, en raison de leur surface spécifique élevée et de leurs propriétés physicochimiques uniques (173,174). Par ailleurs, la taille des nanocomposites constitue un paramètre clé influençant leur activité antimicrobienne, les particules de dimensions réduites étant plus susceptibles de pénétrer la membrane bactérienne et d'exercer un effet cytotoxique renforcé (175).

Le mécanisme antibactérien des nanocomposites repose sur leur interaction avec la membrane bactérienne via des protéines transmembranaires, induisant des altérations structurelles et un blocage des canaux de transport. La taille des nanoparticules influence leur efficacité, les plus petites pénétrant plus facilement tandis que les plus grandes favorisent l'adhésion par les forces de Van der Waals. Une fois internalisés, ces nanocomposites libèrent des ions métalliques, provoquant des dommages aux structures intracellulaires, notamment l'ADN et les enzymes. Ces altérations entraînent un stress oxydatif et perturbent les fonctions biologiques essentielles, conduisant à la mort cellulaire (176).

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les nanocomposites métalliques constitue un mécanisme clé de leur action antibactérienne. Ces ROS comprennent des oxydants hautement réactifs tels que les radicaux superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2),

les radicaux hydroxyles (OH^-) et l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) [69-70]. Leur forte réactivité leur permet d'endommager les composants cellulaires essentiels, notamment le peptidoglycane, les membranes cytoplasmiques, l'ADN, l'ARN messager, les ribosomes et diverses protéines (177). L'action des ROS entraîne également l'inhibition de processus biologiques critiques tels que la transcription, la traduction, l'activité enzymatique et la chaîne de transport des électrons. Certains nanocomposites d'oxydes métalliques exploitent ainsi principalement la génération de ROS comme mécanisme de toxicité antibactérienne (178).

Les atomes métalliques possèdent une affinité particulière pour les groupes thiol des enzymes, entraînant leur inactivation et perturbant ainsi les fonctions biologiques essentielles des cellules bactériennes. Par ailleurs, il est suggéré que les ions métalliques peuvent interagir avec les paires de bases pyrimidine et purine, altérant la stabilité des liaisons hydrogène entre les deux brins d'ADN, ce qui peut provoquer des dommages structurels et fonctionnels. Bien que ce mécanisme nécessite des investigations supplémentaires, il est largement admis que ces ions, une fois internalisés, se lient directement à l'ADN, compromettant son intégrité et conduisant potentiellement à l'inhibition de la réplication et de la transcription cellulaires (179).

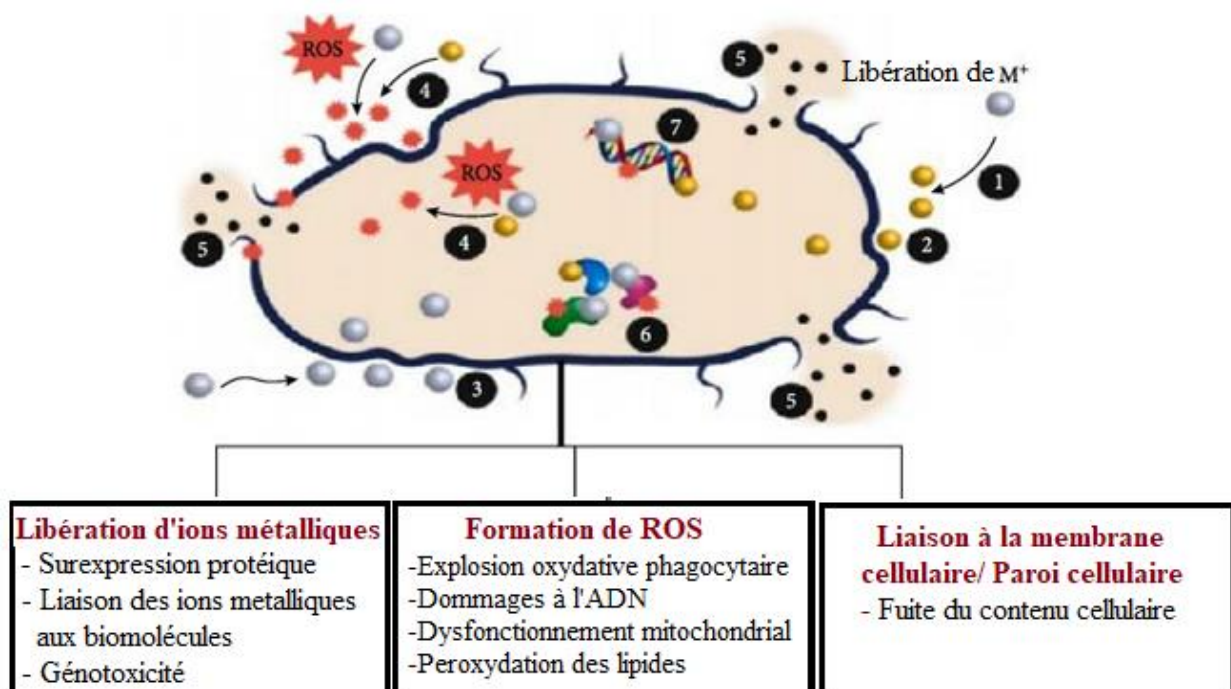


Figure 23: Schéma des principaux mécanismes d'action antibactérienne des ions métalliques et des nanocomposites métalliques (180).

L'illustration ci-dessus (figure 23) représente les principaux mécanismes d'action antibactérienne des ions métalliques et des nanocomposites métalliques

1/ Libération d'ions métalliques à partir des nanoparticules métalliques, entraînant des interactions cytotoxiques avec la cellule bactérienne.

2/ Interaction directe des ions métalliques et/ou des nanoparticules métalliques avec la paroi cellulaire via des interactions électrostatiques, perturbant ainsi la fonction membranaire et l'assimilation des nutriments.

3/ Formation de ROS (espèces réactives de l'oxygène) à l'intérieur et à l'extérieur des cellules, causant des dommages oxydatifs aux lipides, aux protéines et à l'ADN.

4/ Accumulation élevée des ions métalliques au niveau de l'enveloppe cellulaire et stress oxydatif accru, pouvant altérer la membrane plasmique et entraîner une fuite du contenu intracellulaire.

5/ Capture et accumulation intracellulaire des nanoparticules métalliques et des ions métalliques, interférant directement avec les protéines et l'ADN.

6/ Altération des protéines cellulaires par les nanoparticules et les ions métalliques, conduisant à leur inactivation et à une perturbation du métabolisme cellulaire.

7/ Dommages à l'ADN provoqués par les interactions des nanoparticules métalliques et des ions métalliques, entraînant des mutations, des altérations structurales et un arrêt des fonctions cellulaires essentielles.

CHAPITRE II

Le 5-Fluorouracile : mécanismes d'action et stratégies de vectorisation pour une chimiothérapie ciblée

1 Le 5-Fluorouracile (5-FU)

1.1 Historique

Le 5-FU est un antimétabolite où un atome de fluor remplace l'hydrogène en position C5 de l'uracile. Cette substitution entraîne l'incorporation du 5-FU dans l'ADN à la place de la thymine, formant ainsi des paires de bases adénine-uracile/5-FU (181).

Le 5-FU a été synthétisé pour la première fois en 1957 par Heidelberger et al., afin d'exploiter l'absorption élevée de l'uracile par les cellules tumorales (182). Dès 1954, Rutman et al. avaient déjà observé une incorporation préférentielle de l'uracile dans les hépatomes de rat par rapport aux tissus sains, suggérant ainsi une cytotoxicité sélective (183).

Le choix du 5-FU repose sur la similitude de poids moléculaire entre le fluor et l'hydrogène, ainsi que sur la stabilité exceptionnelle de la liaison carbone-fluor. Ces caractéristiques ont conduit Heidelberger et al. à prédire son incorporation dans l'ARN et son inhibition de la biosynthèse de l'ADN (184).

Par ailleurs, Handschumacher et al. ont rapporté en 1956 l'activité antitumorale du 6-azauracile (185). Toutefois, bien qu'il soit converti en sous-unités de l'ARN, ce composé n'est pas directement incorporé dans l'ARN (186). Son utilisation clinique a été abandonnée en raison d'effets indésirables sévères, notamment l'embryotoxicité (187) et des complications thromboemboliques (188).

1.2 L'importance du 5-FU en chimiothérapie

Le 5-FU est un antimétabolite fluoré largement utilisé en chimiothérapie pour le traitement de plusieurs types de cancers, notamment le cancer colorectal (CCR), le cancer du sein, du pancréas, de la peau, de l'estomac, de l'œsophage et des cancers de la tête et du cou. Depuis son introduction, il s'est imposé comme un agent clé des protocoles de chimiothérapie, aussi bien en monothérapie qu'en association avec d'autres agents cytotoxiques (189).

Dans le traitement du CCR, le 5-FU, administré par voie intraveineuse ou sous forme de fluoropyrimidines orales, constitue la base du traitement systémique depuis les années 1990. Cependant, en raison de son absorption gastro-intestinale imprévisible et de la grande variabilité

de sa pharmacocinétique, l'utilisation du 5-FU oral seul a rapidement été abandonnée (190). Aujourd'hui, la leucovorine (LV, acide folinique) est souvent associée au 5-FU pour améliorer son efficacité thérapeutique et réduire ses effets secondaires. Il a été démontré que cette association améliore la survie des patients et augmente le taux de réponse tumorale, ce qui en fait un élément standard de tous les schémas thérapeutiques à base de 5-FU (191).

Malgré les avancées en matière de nouvelles thérapies anticancéreuses, le 5-FU demeure l'un des agents les plus efficaces et les plus couramment utilisés dans le traitement du CCR. Il constitue le pilier des protocoles de chimiothérapie combinée, où il est fréquemment associé à d'autres agents cytotoxiques tels que l'oxaliplatine et l'irinotécan pour accroître son efficacité (192). L'oxaliplatine, un complexe de platine, forme des adduits à l'ADN, tandis que l'irinotécan inhibe la topoisomérase I via son métabolite actif SN-38, entraînant ainsi des cassures irréparables de l'ADN et la mort cellulaire (193).

L'association du 5-FU/LV avec l'oxaliplatine (FOLFOX) ou l'irinotécan (FOLFIRI) a démontré une efficacité comparable en traitement de première intention du CCR métastatique (CCRm) (194). Ces schémas de polychimiothérapie se sont imposés comme des standards dans le traitement du CCRm, améliorant la survie globale des patients à environ deux ans (195). Toutefois, bien que l'ajout d'oxaliplatine ou d'irinotécan augmente la survie des patients, il est également associé à une toxicité accrue (196).

Bien que le 5-FU reste un agent clé en chimiothérapie, des défis subsistent quant à son efficacité et à ses effets secondaires. La recherche continue de se concentrer sur la biomodulation du 5-FU afin d'améliorer son index thérapeutique et de minimiser sa toxicité (190). L'identification de nouvelles stratégies d'administration et de nouveaux agents combinés reste un domaine actif de recherche visant à optimiser l'utilisation du 5-FU et à améliorer la prise en charge des patients atteints de cancer.

2 Propriétés physico-chimiques et stabilité

Le 5-FU, également connu sous le nom systématique IUPAC de 5-fluoro-1H-pyrimidine-2,4-dione, a une structure chimique représentée dans la figure ci-dessous. Sa masse moléculaire est de $130,077 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

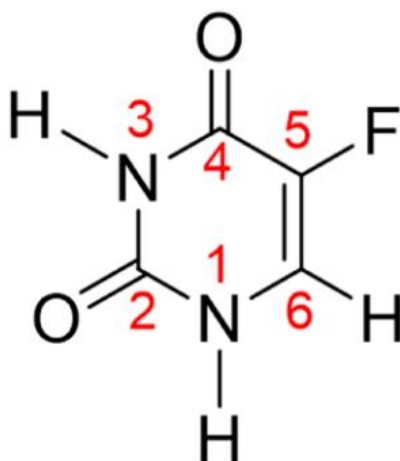


Figure 24: Structure chimique et numérotation atomique de la molécule du 5-FU (197).

Selon la Pharmacopée Européenne 6.0, il se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche ou presque blanche, peu soluble dans l'eau et faiblement soluble dans l'éthanol à 96 % (European Directorate for the Quality of Medicines, 2007).

Sa solubilité varie en fonction du solvant :

- 1 g de 5-FU se dissout dans 80 mL d'eau, 170 mL d'éthanol et 55 mL de méthanol.
- La solubilité du 5-FU augmente avec le pH, en raison de la formation de sels.

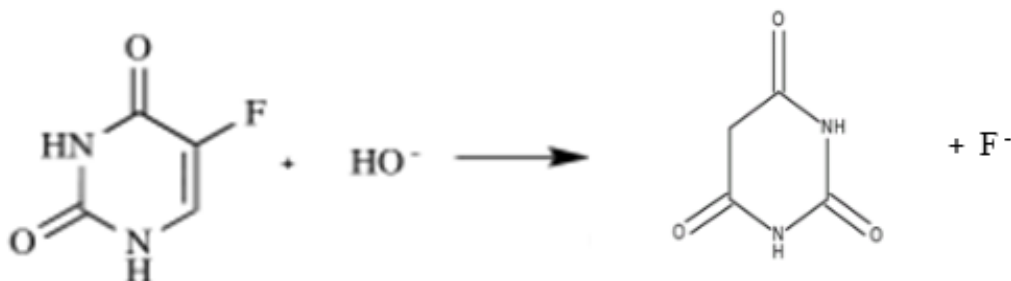
Le 5-FU possède deux sites ionisables, avec des valeurs de pKa de 7,3 et 11,3 à 80 °C (199).

Son point de fusion est compris entre 282 et 286 °C, avec décomposition, entraînant l'émission de vapeurs toxiques contenant des fluorures et des oxydes d'azote. Le 5-FU est photosensible, inflammable et réactif avec les oxydants forts et les bases (200).

Sa dégradation suit deux voies principales :

- Thermique et photochimique, entraînant l'ouverture du cycle pyrimidine entre N3-C4 et N1-C5, avec formation d'urée.
- Hydrolyse alcaline, conduisant à la production d'acide barbiturique et d'uracile, ce dernier étant ultérieurement dégradé en urée. Cette hydrolyse s'accélère significativement au-delà d'un pH de 9,0 (201).

Garrett et al. ont étudié la cinétique de cette réaction et ont mis en évidence que le premier produit formé en milieu fortement alcalin est l'acide barbiturique, comme illustré par l'équation (1).



Dans ces conditions, l'acide barbiturique se dégrade plus rapidement qu'il ne se forme, le rendant ainsi indétectable dans les solutions alcalines de 5-FU. Bien que le 5-FU soit stable en milieu acide, sa solubilité y est réduite (201).

3 Propriétés pharmacologiques

3.1 Propriétés pharmacodynamiques

Le 5-FU est un agent cytostatique appartenant à la classe des antimétabolites antipyrimidiques. Son activité repose sur le rôle essentiel de l'uracile dans les tissus à croissance rapide : d'une part, en tant que précurseur de la thymine via la thymidylate synthase, indispensable à la synthèse de l'ADN et à la division cellulaire ; d'autre part, en tant que constituant des ARNs impliqués dans la synthèse des protéines et des enzymes cellulaires.

Le Fluorouracile agit par plusieurs mécanismes antimétabolites :

- Il est métabolisé en 5-fluorodéoxyuridine 5'-monophosphate (FdUMP) qui, en présence de 6-méthyltétrahydrofolate, se lie à la thymidylate synthase. Cela bloque la méthylation de l'uracile en thymine, entraînant une inhibition de la synthèse de l'ADN et un ralentissement de la prolifération cellulaire.
- Il est phosphorylé en triphosphate (FUTP) et intégré à la place de l'uracile dans les ARNs, provoquant des erreurs de lecture du code génétique lors de la synthèse des protéines et des enzymes, ainsi que la production de coenzymes inefficaces et de ribosomes immatures.
- Il inhibe l'uridine phosphorylas (202).

3.2 Indications, voies d'administration et effets indésirables

Le 5-FU est principalement utilisé en oncologie pour traiter les cancers colorectaux et pancréatiques, ainsi que ceux du sein, du poumon, de l'ovaire et de la vessie, seul ou en association avec d'autres agents antinéoplasiques. Il est généralement administré par voie intraveineuse, mais peut aussi être utilisé en perfusion intra-artérielle ou intracavitaire (pleurale et péritonéale).

En dermatologie, il est prescrit sous forme topique pour les kératoses actiniques et certains carcinomes basocellulaires, ainsi que pour le traitement des verrues en association avec l'acide salicylique. Ses promédicaments, comme la capécitabine et le tégafur, permettent une administration orale.

Les effets indésirables les plus fréquents incluent une myélosuppression, des troubles gastro-intestinaux (mucosite, diarrhée) et une toxicité cutanée. Des complications cardiovasculaires et neurologiques peuvent également survenir. (203,204) .

3.3 Propriétés pharmacocinétiques

Après administration intraveineuse, le 5-FU est rapidement éliminé du sang, avec une demi-vie d'environ six minutes. Il se diffuse de manière sélective dans les tissus à croissance rapide, notamment les tissus tumoraux, la moelle osseuse et la muqueuse intestinale. À la 4^{ème} heure, ces tissus présentent des concentrations bien supérieures à celles des tissus sains, où le médicament disparaît presque totalement en 24 heures. Il atteint également le liquide céphalorachidien, où sa concentration demeure plus faible mais prolongée.

Le 5-FU est principalement métabolisé dans le foie par la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), produisant des métabolites inactifs (CO₂, urée, α -fluoro- β -alanine).

Son élimination se fait majoritairement par voie respiratoire sous forme de CO₂ (60 à 80 %), avec une excrétion rénale limitée à environ 1,5 %. Une adaptation posologique est recommandée en cas d'insuffisance hépatique sévère, tandis qu'une réduction systématique n'est pas nécessaire en cas d'insuffisance rénale, sauf en cas d'anurie. Un déficit en DPD,

présent chez environ 8 % de la population, peut altérer son métabolisme et entraîner une toxicité accrue (202).

3.4 Propriétés toxicologiques

Le 5-FU est une substance hautement toxique et possède une faible marge de sécurité. Il peut être dangereux s'il est ingéré, inhalé ou s'il entre en contact avec la peau, et il peut provoquer des irritations.

Ce composé est un mutagène expérimental chez les animaux de laboratoire. L'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) classe les substances chimiques en quatre groupes en fonction des preuves disponibles concernant leur potentiel cancérigène chez l'humain :

- cancérigène pour l'humain (1),
- probablement cancérigène pour l'humain (2A),
- potentiellement cancérigène pour l'humain (2B),
- non classifiable quant à son risque cancérigène pour l'humain (3),
- et probablement non cancérigène pour l'humain (4).

Le 5-FU appartient au groupe (3). Ce médicament peut causer des troubles reproductifs, et des effets tératogènes ont été démontrés expérimentalement (205).

4 Mécanismes d'action de 5 FU

Le 5-FU est un antimétabolite fluoré conçu pour cibler le métabolisme de l'uracile dans les cellules tumorales. Son développement repose sur la découverte que l'uracile est plus rapidement métabolisé chez les rats atteints de tumeurs hépatiques (183), ce qui a conduit à la synthèse du 5-FU, un analogue de la pyrimidine où un atome de fluor remplace l'hydrogène en position C-5 (206).

Après administration intraveineuse, seule une faible fraction (1 à 5 %) du 5-FU est convertie en métabolites cytotoxiques actifs, tandis que 20 % sont éliminés par voie urinaire et 80 % sont dégradés dans le foie par la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), qui transforme le 5-FU en un métabolite inactif, le 5,6-dihydro-5-fluorouracile (DHFU) (207,208). Le DHFU est

ensuite converti en acide α -fluoro- β -uréidopropionique (FUPA), puis en α -fluoro- β -alanine (FBAL) par d'autres enzymes.

Une partie du 5-FU suit une voie anabolique et est transformée en fluorouridine monophosphate (FUMP) par l'orotate phosphoribosyltransférase (OPRT), avant d'être convertie en fluorouridine triphosphate (FUTP) ou en fluorodésoxyuridine diphosphate (FdUDP) (209). Le FUTP s'intègre à l'ARN des cellules tumorales, perturbant la synthèse protéique et déclenchant l'autophagie et l'apoptose (210). Le FdUDP, quant à lui, est transformé en fluorodésoxyuridine triphosphate (FdUTP), qui s'incorpore dans l'ADN et provoque des dommages irréparables.

Par ailleurs, le 5-FU est converti en FdUMP, son principal métabolite actif, qui inhibe l'enzyme thymidylate synthase (TYMS) en formant un complexe stable avec le 5,10-méthylènetétrahydrofolate (CH_2THF) (211). Cette inhibition empêche la conversion du dUMP en dTMP, perturbant la synthèse et la réparation de l'ADN, ce qui entraîne l'arrêt du cycle cellulaire et la mort des cellules tumorales.

Ainsi, l'effet cytotoxique du 5-FU repose sur trois mécanismes complémentaires : altération de l'ARN, intégration fautive à l'ADN et inhibition de la thymidylate synthase, en faisant un agent clé en chimiothérapie.

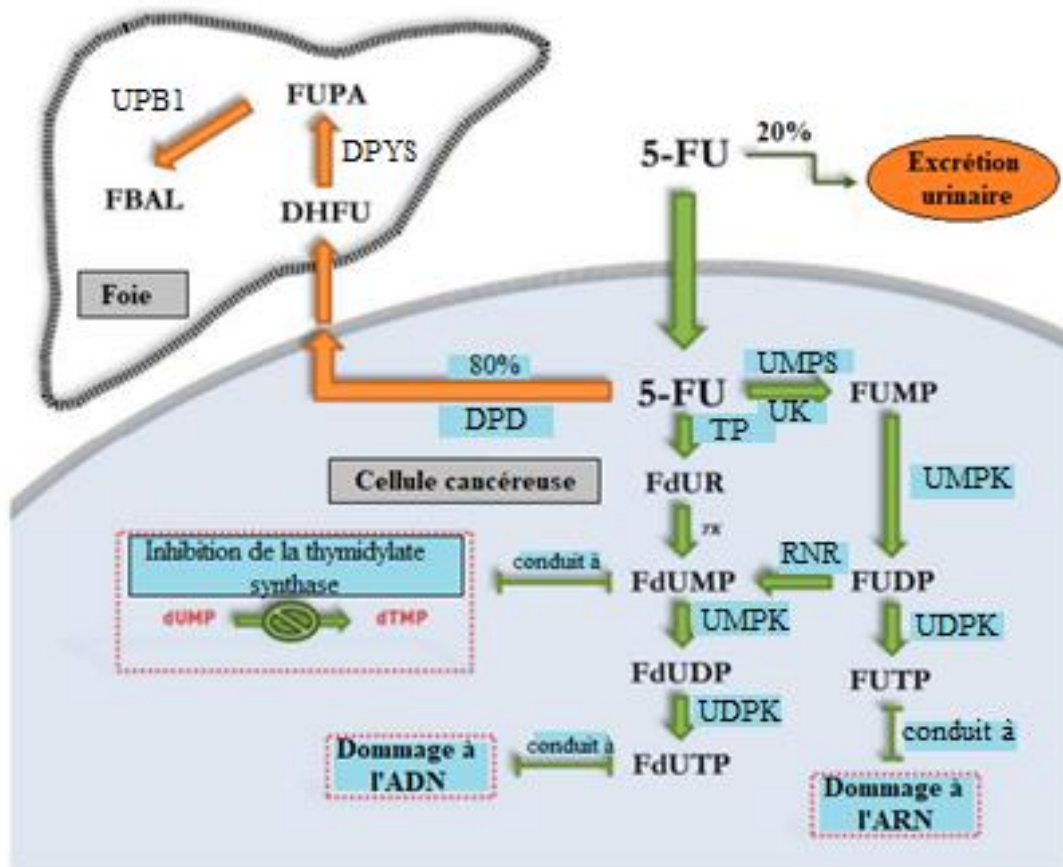


Figure 25: Diverses enzymes clés qui facilitent le mécanisme d'action (anabolisme) du 5-FU dans les cellules cancéreuses et son élimination (catabolisme) via le système hépatique (212).

5 Interaction du 5-FU avec le milieu biologique

Le 5-FU interagit avec son environnement biologique à plusieurs niveaux, influençant son efficacité et sa toxicité. Après administration, il est rapidement métabolisé par le foie via la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), une enzyme clé dans sa dégradation. Toute inhibition de cette enzyme, notamment par des molécules comme la brivudine ou la sorivudine, peut entraîner une augmentation des concentrations plasmatiques du 5-FU et, par conséquent, une toxicité sévère.

De plus, le 5-FU traverse la barrière hémato-encéphalique, lui permettant d'atteindre le liquide céphalo-rachidien et le tissu cérébral, ce qui peut expliquer certains effets secondaires neurologiques observés chez les patients traités (202).

Par ailleurs, des études récentes soulignent le rôle du microbiote intestinal dans la modulation de la réponse au 5-FU. Certaines bactéries intestinales possèdent des enzymes capables de métaboliser le 5-FU, influençant ainsi son absorption et sa biodisponibilité, ce qui peut impacter son efficacité thérapeutique et son profil de toxicité. Ces différentes interactions montrent que l'action du 5-FU ne dépend pas uniquement de sa cible cellulaire, mais aussi de facteurs systémiques et environnementaux qui peuvent moduler son effet anticancéreux (213).

6 Encapsulation du 5-FU

6.1 Le rôle de la vectorisation du 5-FU

Le CRC est le troisième cancer le plus fréquent et le deuxième en terme de mortalité (214). Le 5-FU, un agent chimiothérapeutique hydrosoluble, est couramment utilisé en première ligne contre plusieurs cancers, dont le CRC. Cependant, son efficacité est limitée par une faible biodisponibilité, dont un taux de guérison <15 % pour le CRC avancé, une demi-vie courte entre 10–20 min et une toxicité élevée (215–217).

La nanomédecine, à travers les systèmes de libération de médicaments (DDSs), permet d'optimiser l'administration du 5-FU en ciblant mieux les cellules tumorales et en réduisant ses effets secondaires (218). Une alternative consiste à utiliser des substituts comme le TAS-102, un traitement utilisé en chimiothérapie (Trifluridine/Tipiracil), qui améliore le ciblage et contourne les limites du 5-FU (219).

Le développement de nouveaux DDSs reste une priorité pour améliorer l'efficacité du 5-FU tout en réduisant sa toxicité et en prolongeant son effet thérapeutique (220,221). La figure 25 illustre divers systèmes à base de nanoparticules conçus pour la libération du 5-FU.

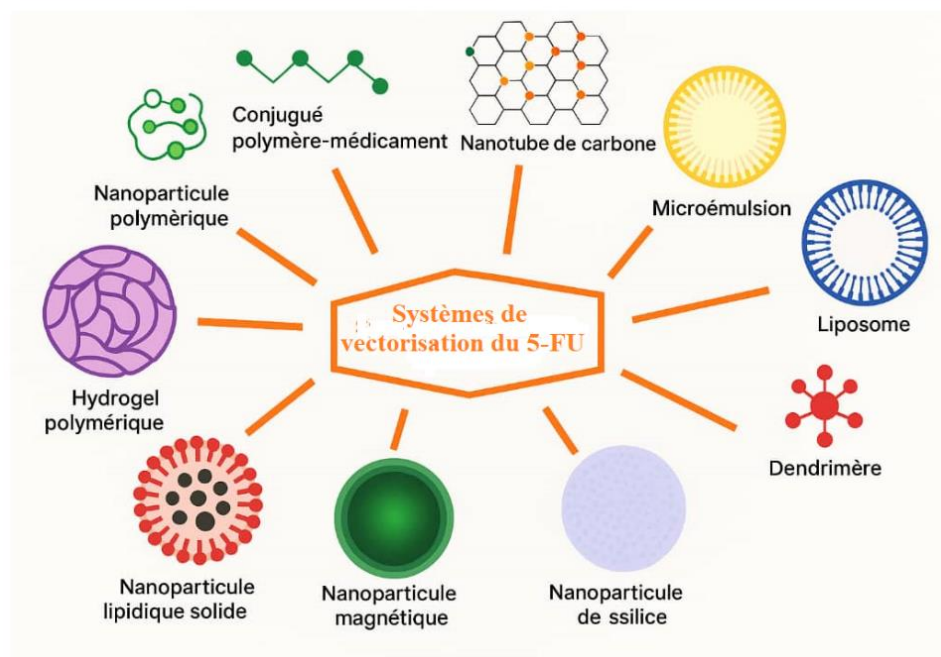


Figure 26: Quelques systèmes nanoparticulaires pour la libération de 5-FU (2).

6.2 Divers systèmes de nanovecteurs pour l'administration du 5-FU

La recherche sur le 5-FU se concentre sur des systèmes de délivrance pour améliorer l'efficacité et réduire les effets secondaires. Cela inclut l'utilisation de structures noyau-enveloppe pour protéger le médicament et favoriser son accumulation dans les tumeurs via l'effet EPR (222,223), ainsi que la délivrance ciblée par des récepteurs tumoraux tels que les récepteurs de l'asialoglycoprotéine (224), de la transferrine (225), des intégrines (226,227) et des folates (228). Une autre stratégie consiste à lier chimiquement le 5-FU à un polymère pour contrôler sa libération et améliorer sa solubilité. Les systèmes étudiés, regroupés dans le tableau ci-dessous, incluent ceux basés sur la nanotechnologie pour la délivrance du 5-FU.

Tableau 2: Différents Systèmes de Nano-Délivrance du 5-FU.

Système nanoparticulaire	Structure	Taille des particules(nm)	Réf
Nanoparticule Lipidique Solide	Acide stéarique, lécithine, poloxamère 188	137 à 800	(229)
Chitosane	CS-g-PCL LMWC-acide-4-bromométhyl-3-nitrobenzoïque CS-PAsp CG5-FU-NPs et FCG5-FU-NPs	61,4–108,6 365 85-300 31-33	(230), (231), (232), (233)
Nanovecteur Magnétique	Nanosphères de carbone encapsulant Fe ₃ O ₄ (TMMIPs) Nanoparticules de ferrite de samarium (SmFeO ₃) en poly (méthacrylate de méthyle) CEINs-PEI-βCD FA	150 ~50 <100	(234) (235) (236)
Polymère à Empreinte Moléculaire	MIP-CS-g-PMMA TMMIPs	130 150	(237) (234)
Nanoparticule et Microparticule Polymériques	Poly(3-hydroxybutyrate-co-3 hydroxyhexanoate) (PHBHHx) PLA et PLA-PEG FA-PLGA	160 et 3 μm 294 et 283 224±18	(238) (74) (239)
Nanoparticule Protéique	Albumine sérique bovine (BSA)	210	(240)
Dendrimère	PEG-PAMAM PDEA-mPEG-PAMAM (PPD)	270-307 43,0 à pH 4,0, 41,6 à pH 6,5 et 11,6 à pH 7,4	(241), (242)
Liposome	Liposome conjugué à la transferrine Folate-PEG-DSPE	174	(243), (244)
Nanotube de carbone	CNTs à parois multiples		(245)
Nanoparticules de silice	Nanoparticules de silice mésoporeuse creuses liées au facteur de croissance épidermique	120 et taille des pores = 2,5	(246)

6.2.1 Systèmes de délivrance basés sur les SLNs

Les nanoparticules lipidiques solides (SLNs) offrent plusieurs avantages en tant que systèmes de délivrance colloïdaux, notamment un meilleur contrôle de la libération du médicament, une stabilité accrue et une capacité de charge élevée (247,248).

Une étude sur l'incorporation du 5-FU dans les SLNs pour traiter la tumeur d'Ehrlich a montré un profil de libération in vitro amélioré par rapport au 5-FU seul. L'ajout d'une matrice de gel de NaCMC a facilité la diffusion et la libération des SLNs. Les tests in vivo ont révélé une efficacité thérapeutique accrue chez les souris traitées avec les SLNs (229) suggérant leur potentiel pour l'administration locale du 5-FU et d'autres médicaments hydrophiles.

6.2.2 Le chitosane en tant que nanotransporteur polymérique : CS-g-PCL

Le chitosane greffé avec du poly(ϵ -caprolactone) (CS-g-PCL) a été utilisé pour formuler des micelles de délivrance du 5-FU. La longueur de la chaîne hydrophobe a influencé leurs propriétés et permis une libération contrôlée du médicament. Ces micelles ont montré une bonne biocompatibilité, une cytotoxicité réduite par rapport au 5-FU libre et une efficacité anticancéreuse maintenue grâce à une libération prolongée (230).

6.2.3 Conjugaison du 5-FU à la chitosane de faible poids moléculaire

Une étude a développé un promédicament du 5-FU en le conjuguant à la chitosane de faible poids moléculaire (LMWC) via un lien photo-clivable, permettant une libération contrôlée sous irradiation UV à 365 nm. Ce polymère conjugué présente une meilleure solubilité, une pénétration cellulaire accrue et une taille inférieure à 100 nm. Il favorise également la formation d'hydrogels et de gels à base de DMSO, améliorant la diffusion du 5-FU (231).

6.2.4 Association du chitosane (CS) et de l'acide polyaspartique (PAsp)

Des nanoparticules innovantes à base de chitosane (CS) et d'acide polyaspartique (PAsp) ont été développées pour la délivrance du 5-FU. Elles ont permis une libération prolongée du médicament, contrairement à la libération rapide du 5-FU en solution. De plus, l'augmentation significative de l'aire sous la courbe (AUC) indique une meilleure exposition et efficacité potentielle du 5-FU par rapport aux formulations classiques (232).

6.2.5 Nanoparticules d'or fonctionnalisées au chitosane et ciblées par le folate (CG-5-FU-NPs et FCG-5-FU-NPs)

Akinyelu et Singh ont développé des nanoparticules d'or chargées en 5-FU, fonctionnalisées ou non avec du folate. Ces nanostructures stables ont montré une libération contrôlée selon le pH et une cinétique décrite par un modèle d'ordre zéro. Elles ont démontré une meilleure activité anticancéreuse que le 5-FU libre, avec une cytotoxicité accrue des FCG-5-FU-NPs sur les cellules MCF-7 grâce à l'interaction avec les récepteurs au folate (233)

6.2.6 Polymère de surface imprimé moléculairement à base de chitosane greffé au poly méthacrylate de méthyle (MIP-CS-g-PMMA)

Zheng et al. ont utilisé l'impression moléculaire pour développer un système de délivrance orale ciblée du 5-FU pour le côlon, basé sur du chitosane greffé au poly méthacrylate de méthyle (CS-PMMA). Les microsphères obtenues ont montré une libération dépendant du pH : aucune libération à pH 1, libération lente à pH 6,8, et libération rapide à pH 7,4, correspondant aux conditions coliques simulées (237).

6.2.7 Polymères imprimés moléculaires sensibles à la température et au magnétisme (TMMIPs)

Li et al. (2016) ont synthétisé des nanosphères de carbone encapsulant des nanoparticules de Fe_3O_4 , recouvertes d'une couche de polymères imprimés moléculaires sensibles à la température et au magnétisme (TMMIPs) par polymérisation radicalaire libre. Ces nanosphères, avec une structure cœur-coquille, permettent une libération contrôlée du 5-FU dans des milieux aqueux. Elles mesurent environ 150 nm de diamètre, avec une couche de revêtement de 50 nm d'épaisseur (234).

6.2.8 Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHx) comme copolymère biodégradable pour la délivrance de médicaments

Lu et al. (2010) ont préparé des microparticules (MPs) et nanoparticules (NPs) à base de poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHx) via une double émulsion et évaporation de solvant. Ces particules, de forme sphérique avec des tailles respectives de 160 nm pour les NPs et 3 μ m pour les MPs, ont été utilisées comme vecteurs pour la délivrance du 5-FU. L'ajout

de bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) a amélioré la charge médicamenteuse. Le profil de libération in vitro a montré une libération rapide initiale, suivie d'une libération plus lente sur 24 heures (238).

6.2.9 Nanoparticules Modifiées avec le Poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA)

Wang et al. ont développé un nouveau conjugué de nanoparticules (NPs) de poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA) modifié avec de l'acide folique (FA), un ligand ciblant les récepteurs des cellules cancéreuses HT-29. L'acide folique a été conjugué aux vecteurs de 5-fluorouracile (5-FU) à l'aide de 1,3-diaminopropane comme agent de réticulation. Cette approche a amélioré la spécificité des systèmes de délivrance de médicaments ciblant les agents anticancéreux (239).

6.2.10 Nanoparticules de Sérum Albumine Bovine (BSA NPs) à Base de Protéines

Les nanoparticules de sérum albumine bovine (BSA NPs) chargées de 5-fluorouracile (5-FU) ont été développées comme système de délivrance de médicaments en raison de leur biodégradabilité. Une étude de Maghsoudi et al. a utilisé un plan d'expériences pour déterminer que le pH influençait principalement l'efficacité d'encapsulation, avec une libération prolongée du 5-FU sur 20 heures et une cinétique d'ordre zéro (240).

6.2.11 Nanoparticules de Phosphate de Calcium (CaP)

Les nanoparticules de phosphate de calcium (CaP NPs) sont des vecteurs prometteurs pour la délivrance de médicaments anticancéreux grâce à leur biodégradabilité, leur capacité de libération contrôlée et leur efficacité de chargement. Une étude a développé des CaP NPs chargées en 5-fluorouracile (CaP-5-FU NPs) en utilisant la méthode de micelle inverse (249).

6.2.12 Dendrimères PEGylés (PEG-PAMAM) pour la délivrance ciblée du 5-FU

Bhadra et al. ont étudié l'utilisation de dendrimères de poly(amidoamine) (PAMAM), non revêtus et PEGylés, pour la délivrance de 5-fluorouracile (5-FU). Des dendrimères PAMAM de génération 4.0 ont été synthétisés et PEGylés avec du carboxyméthyl méthoxy polyéthylène glycol (MPEG-5000), ce qui a amélioré le taux de charge en médicament, contrôlé la libération et réduit la toxicité hémolytique. La PEGylation a également permis d'augmenter la capacité de

charge du médicament et d'améliorer l'administration du 5-FU tout en minimisant les effets secondaires, en particulier les perturbations hématologiques (241).

6.2.13 Systèmes de délivrance à base de PDEA-mPEG-PAMAM (PPD)

Une structure cœur-coquille a été conçue avec des dendrimères PAMAM et des chaînes PDEA sensibles au pH et mPEG pour un ciblage tumoral et une circulation prolongée. Ce système a montré une libération pH-dépendante du 5-fluorouracile (5-FU), avec une libération plus rapide à pH 7,4. Il offre un potentiel prometteur pour la délivrance ciblée de médicaments anticancéreux, grâce à une bonne encapsulation et un contrôle de la libération (242).

6.2.14 Nanoparticules de Poly(acide lactique) (PLA) et PLA-PEG pour la Délivrance de 5-Fluorouracile (5-FU)

Des nanoparticules de poly(acide lactique) (PLA) et PLA-PEG chargées en 5-fluorouracile (5-FU) ont été créées par émulsion et évaporation de solvant. Ce système a prolongé la libération du 5-FU tout en maintenant sa cytotoxicité contre la lignée cellulaire HepG2. Les tests chez le rat ont montré une amélioration significative des paramètres pharmacocinétiques, avec une biodisponibilité du 5-FU quatre fois supérieure à celle du 5-FU libre. Ces nanoparticules offrent un grand potentiel pour l'administration orale du 5-FU (74).

6.2.15 Nanoparticules Superparamagnétiques

Dans une étude menée par Hariharan et al., des nanoparticules de ferrite de samarium (SmFeO_3) ont été préparées pour encapsuler le 5-fluorouracile (5-FU) et recouvertes de poly(méthacrylate de méthyle). Le 5-FU a été lié aux nanoparticules par un complexe hôte-invité avec la β -cyclodextrine (βCD). Avec une taille d'environ 50 nm, ces nanoparticules ont montré un comportement superparamagnétique et ont conservé l'efficacité du 5-FU lors des tests de cytotoxicité in vitro (235).

6.2.16 Nanoparticules de Fer Encapsulées dans du Carbone Fonctionnalisées par PEI, βCD et Acide Folique pour la Délivrance Ciblée du 5-FU

Les nanoparticules de fer encapsulées dans du carbone (CEINs), modifiées par du polyéthylèneimine (PEI) et fonctionnalisées avec de l'acide folique (FA) et de la β -

cyclodextrine (β CD), ont été étudiées comme agents théranostiques pour la délivrance ciblée du 5-FU. La libération du médicament dépend du pH, avec un maximum à pH 9 et un minimum à pH 4,7. Grâce à leur noyau magnétique pour le diagnostic et leur capacité de libération contrôlée du 5-FU, ces nanoparticules présentent un fort potentiel en nanomédecine (236).

6.2.17 Liposomes Conjugués à la Transferrine

Les liposomes, grâce à leur biocompatibilité et leur flexibilité structurelle, sont des vecteurs prometteurs pour la délivrance ciblée de médicaments. Soni et al. ont développé des liposomes chargés de 5-FU et couplés à la transferrine via la méthode du film de coulée. Les études in vivo ont montré une absorption cérébrale du 5-FU multipliée par 10 avec les liposomes classiques et par 17 avec ceux couplés à la transferrine, confirmant leur potentiel pour le ciblage cérébral (243).

6.2.18 Liposomes Conjugués au Folate-PEG

Une étude de Handali et al. a optimisé la formulation de liposomes à base de phosphatidylcholine (PC) chargés en 5-fluorouracile (5-FU). L'acide folique (FA) a été utilisé pour cibler spécifiquement les cellules cancéreuses HT-29, Caco-2 et MCF-7. L'efficacité d'encapsulation et la taille des particules ont été influencées par la quantité de PC. Les tests de cytotoxicité ont montré une activité antitumorale accrue des liposomes conjugués au folate par rapport aux liposomes non modifiés (244).

6.2.19 Pro-médicament Amphiphile Sensible à la Phospholipase A2 (OFZG)

Un pro-médicament amphiphile sensible à la phospholipase A2, 1-O-octadécyl-2-(5-fluorouracile)-N-acétyl-3-zidovudine-phosphorylglycérol (OFZG), a été synthétisé et formulé en nanoassemblages avec du Tween 80 et du cholestérol. Grâce à la surexpression de la phospholipase A2 dans certaines cellules cancéreuses, ces nanoassemblages ont montré une activité anticancéreuse supérieure au 5-FU contre les lignées HCT116, HT-28 et COLO205. Après administration intraveineuse, l'OFZG s'est principalement accumulé dans les reins, la rate, les poumons et le foie, avant une élimination rapide (250).

6.2.20 Nanotubes de Carbone à Parois Multiples (MWCNTs)

Des chercheurs ont démontré que les nanotubes de carbone multi-parois (MWCNTs) pouvaient être utilisés comme vecteurs pour améliorer l'efficacité du 5-fluorouracile (5-FU) dans le traitement du cancer. Le médicament a été adsorbé sur les MWCNTs, ce qui a renforcé ses effets cytotoxiques et antitumoraux, tant *in vitro* qu'*in vivo*. Cette approche pourrait non seulement augmenter l'efficacité des traitements, mais aussi réduire le risque de résistance des cellules cancéreuses (245).

6.2.21 Nanoparticules de Silice (EGF-HMSNs)

Les nanoparticules de silice mésoporeuses creuses (HMSNs), conjuguées au facteur de croissance épidermique (EGF), ont été utilisées comme vecteurs pour la délivrance du 5-FU afin de surmonter la résistance à la doxorubicine (ADR) dans le cancer colorectal (CRC). Ces nanoparticules, ayant une structure poreuse bien définie, ont été efficacement internalisées par les cellules SW480/ADR, une lignée cellulaire CRC surexprimant les récepteurs de l'EGF. Ce mécanisme d'endocytose médiée par récepteurs a permis de contourner la résistance à l'ADR, entraînant la mort cellulaire au stade S du cycle cellulaire (246).

6.2.22 Nanocomposite d'hydroxyapatite magnétique

Un nanocarrier à base de SPION (Fe_3O_4) et d'HAp a été développé pour traiter le cancer osseux par hyperthermie topique. Ce système, chargé de 5-FU, génère de la chaleur sous champ magnétique et présente des effets cytotoxiques significatifs en laboratoire. Il montre un potentiel pour améliorer les traitements anticancéreux et pourrait aussi être utilisé en médecine régénérative (251).

7 Profil de libération du 5- FU

7.1 Modélisation de la libération du 5-FU

Au cours des dernières décennies, des avancées médicales significatives ont été réalisées dans le domaine de l'administration des médicaments, avec le développement de formes à libération contrôlée. Ces systèmes permettent de maintenir des concentrations thérapeutiques optimales en libérant le médicament de manière rapide puis lente. Ils améliorent l'efficacité, la conformité

des patients et réduisent les effets secondaires. La modélisation mathématique est essentielle pour prédire et optimiser la libération du médicament.

Il existe plusieurs modèles cinétiques pour décrire la libération du médicament à partir des formulations. Pour réduire la nécessité d'études in vivo, il est souhaitable de développer des outils utilisant les données de dissolution in vitro pour prédire la performance in vivo des formulations à libération contrôlée. Les approches pour étudier la cinétique de libération peuvent être classées en trois catégories :

- Méthodes statistiques comprenant l'analyse exploratoire des données, la conception de mesures répétées et l'approche multivariée.
- Méthodes basées sur des modèles, incluant les modèles zéro ordre, premier ordre, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Baker-Lonsdale, Weibull, etc.
- Méthodes non dépendantes des modèles, incluant le facteur de différence (f1) et le facteur de similarité (f2).(252).

Les méthodes dépendantes des modèles utilisent des fonctions mathématiques pour analyser les profils de dissolution des médicaments. L'analyse de régression non linéaire aide à déterminer le modèle cinétique de libération. Nous nous intéressons particulièrement à ces méthodes, notamment les modèles zéro ordre, premier ordre, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas (252).

7.1.1 Modèle de libération de zéro ordre

La dissolution du médicament à partir de formes galéniques qui ne se désagrègent pas et libèrent lentement le médicament peut être représentée par l'équation suivante (253):

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \text{ où}$$

- Q_t est la quantité de médicament dissoute au temps t,
- Q_0 est la quantité initiale de médicament dans la solution (souvent, $Q_0 = 0$),
- K_0 est la constante de libération de zéro ordre, exprimée en unités de concentration/temps.

Pour étudier la cinétique de libération, les données obtenues à partir des études in vitro de libération du médicament sont tracées sous forme de la quantité cumulative de médicament libérée en fonction du temps.

Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution du médicament dans plusieurs types de formes pharmaceutiques à libération modifiée, telles que certains systèmes transdermiques, des comprimés matriciels contenant des médicaments peu solubles sous forme enrobée, des systèmes osmotiques, etc (252).

7.1.2 Modèle de libération de premier ordre

Ce modèle est couramment utilisé pour décrire l'absorption et/ou l'élimination de certains médicaments, bien que son mécanisme théorique soit parfois difficile à conceptualiser. La libération d'un médicament suivant une cinétique de premier ordre peut être exprimée par l'équation (254):

$$\frac{dC}{dt} = -KC$$

où K est la constante de vitesse de premier ordre, exprimée en unités de temps⁻¹.

En réarrangeant cette équation, on obtient :

$$\log C = \log C_0 - \frac{Kt}{2,303} \text{ Où}$$

- C_0 est la concentration initiale du médicament,
- K est la constante de vitesse de premier ordre,
- t représente le temps.

Les données expérimentales sont tracées sous forme de log du pourcentage cumulatif de médicament restant en fonction du temps, ce qui donne une droite dont la pente est $-K/2,303$.

Cette relation est utilisée pour décrire la dissolution des médicaments dans certaines formes galéniques, notamment celles contenant des principes actifs hydrosolubles incorporés dans des matrices poreuses (252).

7.1.3 Modèle de Higuchi

Le premier modèle mathématique visant à décrire la libération d'un médicament à partir d'un système matriciel a été proposé par Higuchi en 1961. Initialement conçu pour des systèmes plans, il a ensuite été généralisé à différentes géométries et matrices poreuses.

Ce modèle repose sur plusieurs hypothèses :

- ❖ La concentration initiale du médicament dans la matrice est beaucoup plus élevée que sa solubilité.
- ❖ La diffusion du médicament se fait uniquement en une seule dimension.
- ❖ Les particules de médicament sont beaucoup plus petites que l'épaisseur du système.
- ❖ Le gonflement et la dissolution de la matrice sont négligeables.
- ❖ La diffusivité du médicament est constante.
- ❖ Des conditions de milieu parfait (sink conditions) sont toujours respectées dans l'environnement de libération.

La libération du médicament est décrite par l'équation :

$$Q = A\sqrt{D(2C - C_s)C_s} t$$

où :

- Q est la quantité de médicament libérée en fonction du temps t par unité de surface A,
- C est la concentration initiale du médicament,
- C_s est la solubilité du médicament dans la matrice,
- D est le coefficient de diffusion du médicament dans la matrice.

Cette relation est valide tant que tout le médicament n'a pas été totalement libéré.

Dans le cas d'une matrice poreuse, où la libération du médicament se fait à travers les pores, l'expression devient :

$$Q = \frac{D\delta}{\sqrt{\tau}} (2C - \delta C_s) C_s t$$

où :

- δ est la porosité de la matrice,

- τ est la tortuosité de la matrice, qui dépend de la forme et de la ramification des pores et canaux dans la matrice.

De manière plus générale, le modèle de Higuchi peut être simplifié sous la forme suivante :

$$Q = K_H \cdot T^{\frac{1}{2}}$$

où K_H est la constante de dissolution selon Higuchi.

Ce modèle est utilisé pour décrire la dissolution des médicaments dans divers systèmes à libération modifiée, notamment :

- Les systèmes transdermiques (patchs médicamenteux),
- Les comprimés matriciels contenant des médicaments hydrosolubles.

Dans les études expérimentales, les données sont généralement représentées sous forme de pourcentage cumulatif de médicament libéré en fonction de la racine carrée du temps (252,255).

7.1.4 Modèle de Hixson-Crowell

En 1931, Hixson et Crowell ont observé que la surface régulière des particules est proportionnelle à la racine cubique de leur volume. À partir de cette relation, ils ont établi l'équation suivante :

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = \kappa t$$

où :

- W_0 est la quantité initiale de médicament dans la forme pharmaceutique,
- W_t est la quantité de médicament restante dans la forme pharmaceutique à l'instant t ,
- κ (kappa) est une constante intégrant la relation entre la surface et le volume.

Cette équation décrit la libération du médicament dans les systèmes où la surface disponible et le diamètre des particules ou des comprimés diminuent au fil du temps.

Pour analyser la libération du médicament selon ce modèle, les données expérimentales sont représentées sous forme de racine cubique du pourcentage de médicament restant dans la matrice en fonction du temps.

Ce modèle s'applique aux formes pharmaceutiques solides, notamment les comprimés, où la dissolution se produit de manière homogène et proportionnelle sur toute la surface. Ainsi, la forme géométrique du comprimé reste constante au cours du processus de dissolution (252,256).

7.1.5 Modèle de Korsmeyer-Peppas

En 1983, Korsmeyer et al. ont proposé une relation simple pour décrire la libération d'un médicament à partir d'un système polymérique. Cette relation est donnée par l'équation suivante :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \text{ Où :}$$

- M_t/M_∞ est la fraction de médicament libérée à l'instant t,
- K est la constante de vitesse de libération,
- n est l'exposant caractérisant le mécanisme de libération.

La valeur de n permet de déterminer le mécanisme de libération du médicament, comme décrit dans le tableau ci-dessous, notamment pour des matrices cylindriques :

Si $n \leq 0,45$, la libération du médicament suit une diffusion Fickienne, contrôlée uniquement par la diffusion.

Si $0,45 < n < 0,89$, la libération suit un transport anormal non-Fickien, résultant d'un mécanisme combinant diffusion et relaxation de la matrice.

Si $n = 0,89$, la libération suit un transport de type II, caractérisé par le gonflement de la matrice suivi d'une libération rapide.

Si $n > 0,89$, la libération suit un transport de type super case II, dominé par la désintégration de la matrice.

Tableau 3: Interprétation des mécanismes de libération diffusifs à partir de films polymériques (252).

Exposant de libération (n)	Mécanisme de transport du médicament	Taux en fonction du temps
$n < 0,45$	Diffusion sous-fickienne	t^{n-1}
0,5	Diffusion fickienne	$t^{-0,5}$
$0,45 < n \leq 0,89$	Transport non-fickien	t^{n-1}
0,89	Transport de type II	Libération d'ordre zéro
$n > 0,89$	Transport de type II avancé	t^{n-1}

Pour déterminer le mécanisme de libération du médicament, seules les données correspondant à 60 % de libération du médicament doivent être utilisées. L'analyse des cinétiques de libération consiste à représenter graphiquement le logarithme de la fraction libérée en fonction du logarithme du temps (257,258).

7.2 Analyse comparative des modèles cinétiques et des facteurs influençant la libération du 5-FU

La comparaison des modèles de libération pour les formulations du 5-FU permet de mieux comprendre les mécanismes qui régissent la diffusion du médicament à travers différentes matrices de nanotransporteurs. Les études analysées, y compris celles utilisant des formulations de nanocomposites, mettent en évidence l'importance des modèles cinétiques dans la description de la libération contrôlée du 5-FU. Plusieurs modèles sont utilisés dans la littérature pour étudier ces processus, tels que les modèles de zéro ordre, de premier ordre, de Higuchi, de Hixson-Crowell, et de Korsmeyer-Peppas, chacun ayant ses particularités selon le type de formulation et les conditions expérimentales, telles que le pH et la température.

Une étude sur des nanocomposites lamellaires d'hydroxyapatite et magnétite a montré que les modèles de premier ordre ($R^2 = 0.9919$ à pH 7,4) et de Higuchi ($R^2 = 0.9910$) étaient les plus appropriés, indiquant que la libération du 5-FU est principalement contrôlée par diffusion (259). D'autres travaux ont utilisé le modèle de Korsmeyer-Peppas pour analyser la libération du 5-FU à partir de nanoparticules lipidiques et de nanocomposites montmorillonite/magnétite, montrant que le pH et la température influencent significativement la cinétique de libération. Un pH plus élevé (autour de 8-9) accélère la libération, probablement en raison de la meilleure solubilité du 5-FU, tandis qu'un pH plus bas ralentit le processus en raison d'une adsorption plus forte sur les matrices. Les indices "n" du modèle varient également en fonction du pH,

indiquant une diffusion Fickienne à pH élevé (valeurs proches de 1) et une diffusion anormale à pH bas (valeurs inférieures à 0,5). De plus, l'augmentation de la température accélère la libération du 5-FU, en raison de l'augmentation de la fluidité de la matrice et de la solubilité du médicament. Cela modifie aussi les indices "n", signalant une diffusion plus rapide et un changement des mécanismes de libération.(260,261).

Une autre étude montre que la libération du 5-FU à partir des nanoagrégats magnétiques dépend du pourcentage de 5-FU chargé et de la technique de chargement utilisée. Le chargement par lyophilisation donne des constantes de libération plus élevées et des ajustements plus précis aux modèles cinétiques, avec une libération plus rapide du médicament, surtout pour des charges de 5%. La diffusion reste le mécanisme principal, avec des valeurs de n faibles (indiquant une diffusion Fickienne), mais la lyophilisation permet un meilleur contrôle sur la libération par rapport au chargement in-situ (262).

Une étude des nanoparticules de chitosane encapsulant du 5-FU a révélé que la libération du médicament suit principalement un mécanisme de diffusion, modélisé par le modèle de Higuchi avec des valeurs de R^2 élevées (jusqu'à 0,96) sur une plage de pH de 3 à 7,4. Le modèle de Korsmeyer-Peppas a montré des indices "n" de 0,28 à 0,34, indiquant une diffusion Fickienne ou anormale. Le pH influence la vitesse de libération, avec un pH plus acide ralentissant la libération par rapport à un pH plus proche de 7,4 (263).

Une autre étude analyse la libération du 5-FU à partir de deux formulations : une solution de 5-FU et un composite 5-FU-CN. Pour la solution de 5-FU, les modèles cinétiques de premier ordre et de Higuchi offrent un bon ajustement, avec des coefficients de corrélation proches de 1, indiquant une libération bien définie. En revanche, pour le composite 5-FU-CN, les résultats montrent un ajustement moins optimal aux modèles, notamment au modèle de zéro-ordre, suggérant que la libération du 5-FU est moins contrôlée dans ce cas, ce qui pourrait être dû à l'interaction spécifique entre le médicament et les nanocomposites (1).

Dans une autre étude, les résultats des composites HAp-GEL pour la libération du 5-FU montrent que la température influence la cinétique de libération. À 32°C, le modèle de premier ordre est le plus adapté, tandis qu'à 42°C, c'est le modèle de Higuchi qui présente un meilleur ajustement. Les composites avec 5 % de Glutaraldehyde (GA) montrent des libérations plus

lentes et un ajustement au modèle de premier ordre à 32°C, mais moins efficace à des températures plus élevées. Ces résultats montrent que la température et la composition des composites influencent la diffusion et la libération du médicament (264).

Les résultats d'une autre étude montrent que le pH influence la libération du 5-FU des formulations PEG-CHIT-MSNs. À pH 4.2, le modèle de Korsmeyer-Peppas s'adapte bien, indiquant une diffusion contrôlée avec des indices "n" faibles (0.39 et 0.32). À pH 7.4, le modèle de Korsmeyer-Peppas est moins ajusté, suggérant un mécanisme de libération plus complexe avec des indices "n" plus élevés. Le modèle Kopcha montre également une libération plus rapide à pH acide (265).

Une étude a révélé que la libération du 5-FU à partir des nanocomposites MMT/CS est principalement régie par un mécanisme de diffusion.

Modèle de Higuchi : La diffusion prédomine, avec une libération plus lente à pH 1,2 et plus rapide à pH 7,4 en présence de chitosane.

Modèle de Korsmeyer-Peppas : À pH 1,2, la libération est plus contrôlée ($n = 0,1845$), tandis qu'à pH 7,4, elle suit une diffusion Fickienne ($n = 0,3155$), indiquant un transport essentiellement passif du 5-FU.

Le chitosane ralentit la libération en milieu acide et l'accélère en milieu neutre, offrant ainsi un potentiel intéressant pour une libération ciblée dans le tractus gastro-intestinal (266).

La comparaison des modèles met en évidence que la libération du 5-FU des nanocomposites dépend fortement du système de transporteur, des conditions expérimentales notamment le pH et la température et du choix du modèle cinétique. Le modèle de Korsmeyer-Peppas, en particulier, s'avère utile pour décrire les profils de libération dans des systèmes complexes, en offrant une analyse détaillée des mécanismes de diffusion et des processus liés à la libération du médicament, tout en prenant en compte l'influence des paramètres environnementaux.

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Étude de l'influence des facteurs sur la synthèse des nanocomposites magnétiques par Co précipitation

Le développement de nanocomposites magnétiques innovants associant l'hydroxyapatite (HAp) à la magnétite (Fe_3O_4) repose sur une approche de synthèse verte, mettant à profit des agents de stabilisation d'origine naturelle tels que le fructose, le galactose et la pectine. Ces polysaccharides, reconnus pour leurs propriétés réductrices, complexantes et biocompatibles, facilitent la dispersion des nanoparticules et contribuent à la formation de structures cristallines homogènes, tout en réduisant les risques d'agglomération et de croissance incontrôlée des cristallites (267).

La présente étude a pour objectif de synthétiser ces nanocomposites par co-précipitation, puis de les soumettre à une caractérisation physico-chimique exhaustive à l'aide de techniques complémentaires, incluant la diffraction des rayons X (DRX) avec raffinement Rietveld, la spectroscopie FTIR, la microscopie électronique à balayage couplée à l'analyse élémentaire EDS, l'analyse thermique (TG/DSC), ainsi que la magnétométrie à échantillon vibrant (VSM).

Par ailleurs, l'influence de divers paramètres de formulation – notamment le rapport molaire agent stabilisant/nitrate de calcium, la température de calcination et la vitesse d'agitation – est analysée dans le cadre d'un plan factoriel de criblage, afin d'optimiser la structure cristalline, la stabilité thermique et les propriétés magnétiques des matériaux obtenus. Cette optimisation vise à maximiser leur potentiel pour des applications biomédicales avancées, telles que la vectorisation ciblée de médicaments, l'ingénierie osseuse ou encore l'hyperthermie magnétique en oncologie.

1 Matériels et méthodes

1.1 Matériels

➤ Réactifs

L'ensemble des réactifs utilisés pour la préparation des nanocomposites magnétiques HAp/ Fe_3O_4 figure dans le Tableau 4. Chaque composé a été sélectionné sur la base de critères de pureté analytique, conformément aux exigences de fiabilité des protocoles expérimentaux mis en œuvre dans cette étude.

Tableau 4: Réactifs utilisés pour la synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄.

Réactif	Formule chimique	Rôle / Utilisation
Chlorure de fer (III)	FeCl ₃	Précurseur de Fe ³⁺ pour la synthèse de Fe ₃ O ₄
Chlorure de fer (II) tétrahydraté	FeCl ₂ ·4H ₂ O	Précurseur de Fe ²⁺ pour la synthèse de Fe ₃ O ₄
Acide chlorhydrique 0,5 M	HCl	Acidification du milieu réactionnel
Hydroxyde d'ammonium 25 %	NH ₄ OH	Précipitation et ajustement du pH
Nitrate de calcium tétrahydraté	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	Source de Ca ²⁺ pour la formation de HAp
Dihydrogénophosphate d'ammonium	(NH ₄) ₂ HPO ₄	Source de phosphate pour la formation de HAp
Eau distillée	H ₂ O	Solvant et milieu réactionnel
Éthanol absolu	C ₂ H ₅ OH	Solvant de dispersion
Fructose (agent de stabilisation)	C ₆ H ₁₂ O ₆	Stabilisant naturel – contrôle de la cristallinité
Galactose (agent de stabilisation)	C ₆ H ₁₂ O ₆	Stabilisant naturel – contrôle de la cristallinité
Pectine (agent de stabilisation)	Variable selon source	Stabilisant naturel – contrôle de la cristallinité et porosité

➤ **Matériel de laboratoire utilisé :** Comprend les instruments de base

Tableau 5: Matériel de laboratoire utilisé.

Matériel / Appareil	Référence / Marque	Utilisation
Balance analytique	SHIMADZU AUW200D	Pesée précise des réactifs
Agitateur magnétique chauffant	ISOLAB GmbH	Agitation et chauffage des solutions
Hotte	IsoLab	Protection contre les vapeurs et manipulations en atmosphère contrôlée
pH-mètre	Starter 3100	Mesure du pH des solutions
Dispositif de filtration sous vide	Non spécifiée	Filtration sous pression réduite
Bain à ultrasons	Fisherbrand® FB15060	Dispersion ultrasonique des particules
Étuve	Memmert	Séchage des échantillons
Four à moufle	Vecstar Ltd	Traitement thermique et calcination

➤ Equipements de caractérisation

Les équipements utilisés pour la caractérisation des nanocomposites sont décrits dans le Tableau 6. Ces dispositifs sont essentiels pour la réalisation précise des procédures expérimentales.

Tableau 6: Équipements de caractérisation utilisés.

Équipement de caractérisation	Référence / Marque	Fonction
Diffractomètre à rayons X (DRX)	Panalytical Empyrean – Malvern Panalytical®	Analyse cristallographique (phases, taille, structure)
Spectrophotomètre FTIR	SHIMADZU IRaffinity-1S	Étude des groupements fonctionnels (liens chimiques)
Microscope électronique à balayage (MEB) couplé à EDS	QUANTA 250® / AMETEK®	Observation morphologique et analyse élémentaire
Analyseur thermique (TG/DSC)	SETARAM LABSYS EVO	Analyse thermique : stabilité et transitions
Magnétomètre à échantillon vibrant (VSM)	LAKESHORE 7404	Mesure des propriétés magnétiques des échantillons

1.2 Méthodes

1.2.1 Synthèse des nanocomposites magnétiques

La préparation du nanocomposite magnétique HAp/Fe₃O₄ a été réalisée par une approche en deux étapes successives reposant sur la méthode de Coprécipitation, largement reconnue pour son efficacité et sa simplicité dans la synthèse de nanomatériaux hybrides. Dans un premier temps, des nanoparticules de magnétite (Fe₃O₄) ont été obtenues, puis incorporées dans une matrice d'hydroxyapatite (HAp), conduisant à la formation du nanocomposite final.

La synthèse des nanoparticules de Fe₃O₄ a consisté à mélanger 3,7 mmol de chlorure de fer (III) (FeCl₃) et 1,85 mmol de chlorure de fer (II) tétrahydraté (FeCl₂·4H₂O) dans 50 mL d'une solution d'acide chlorhydrique (0,5 M). Le mélange a été maintenu sous agitation à température ambiante pendant 30 minutes. Par la suite, 400 mL d'une solution d'hydroxyde d'ammonium à 25 % (0,7 M) ont été ajoutés goutte à goutte durant 50 minutes, conduisant à la précipitation d'un dépôt noir caractéristique de la magnétite. Le produit obtenu a été récupéré par décantation

magnétique, lavé successivement à l'eau distillée et à l'éthanol, puis séché à 70 °C pendant 5 heures.

La réaction globale peut être représentée ainsi :



La seconde étape a consisté en la préparation du nanocomposite HAp/Fe₃O₄, suivant un protocole structuré :

- **Préparation de la dispersion de Fe₃O₄** : 0,1 g de nanoparticules de Fe₃O₄ ont été dispersées dans un mélange de 40 mL d'eau distillée et 60 mL d'éthanol, puis soumises à une agitation ultrasonique durant 30 minutes afin d'assurer une homogénéisation optimale.
- **Préparation de la solution calcique stabilisée** : 1,67 mmol de nitrate de calcium tétrahydraté (Ca(NO₃)₂·4H₂O) ont été dissous dans une solution contenant un agent de stabilisation naturel (fructose, galactose ou pectine). Le rapport molaire agent de stabilisation/nitrate de calcium a été ajusté afin d'optimiser la dispersion et la cristallinité des nanocomposites. Cette solution a ensuite été soumise à une sonication de 30 minutes. Plusieurs travaux antérieurs ont montré que ce paramètre est déterminant pour prévenir l'agglomération et améliorer la qualité structurale des composites.
- **Mélange des solutions et ajustement du pH** : la solution calcique stabilisée a été introduite progressivement, goutte à goutte, dans la dispersion de Fe₃O₄, puis le pH a été ajusté à 12 à l'aide d'une solution de NH₄OH sous agitation vigoureuse.
- **Ajout de la solution phosphate** : 1 mmol de dihydrogénophosphate d'ammonium ((NH₄)₂HPO₄), dissous dans 100 mL d'eau distillée, a été ajouté lentement au mélange précédent. L'agitation a été maintenue à température ambiante pendant 24 heures. Le contrôle de la vitesse d'agitation s'avère essentiel afin d'éviter l'agglomération, d'assurer une nucléation homogène et de favoriser la distribution uniforme des phases.
- **Récupération et traitement thermique** : le précipité obtenu a été filtré, lavé à l'eau distillée, puis séché à 80 °C pendant 6 heures. Avant la calcination, une étape de broyage a été effectuée afin d'assurer l'homogénéité du mélange. Enfin, la poudre a été calcinée pendant 2 heures. La température de calcination, considérée comme un paramètre critique,

influence fortement la cristallinité, la distribution des nanoparticules dans la matrice de l'hydroxyapatite et la stabilité des phases (130).

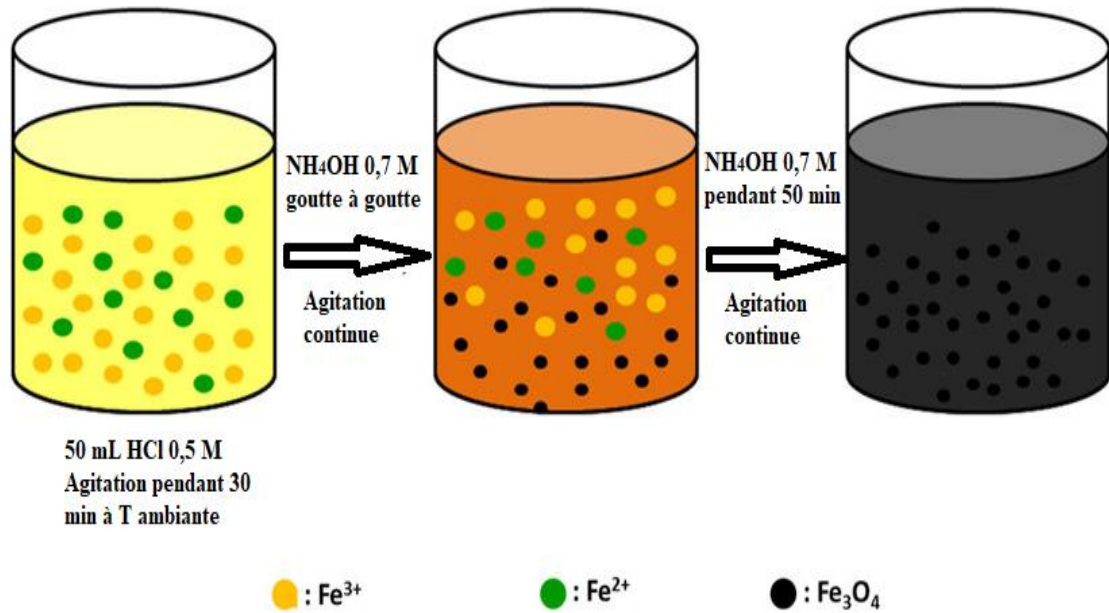


Figure 27: Synthèse des nanoparticules de Fe₃O₄ par la méthode de co-précipitation. La couleur de la solution de fer évolue au cours du processus de synthèse, passant de jaune à brun, puis à noir.

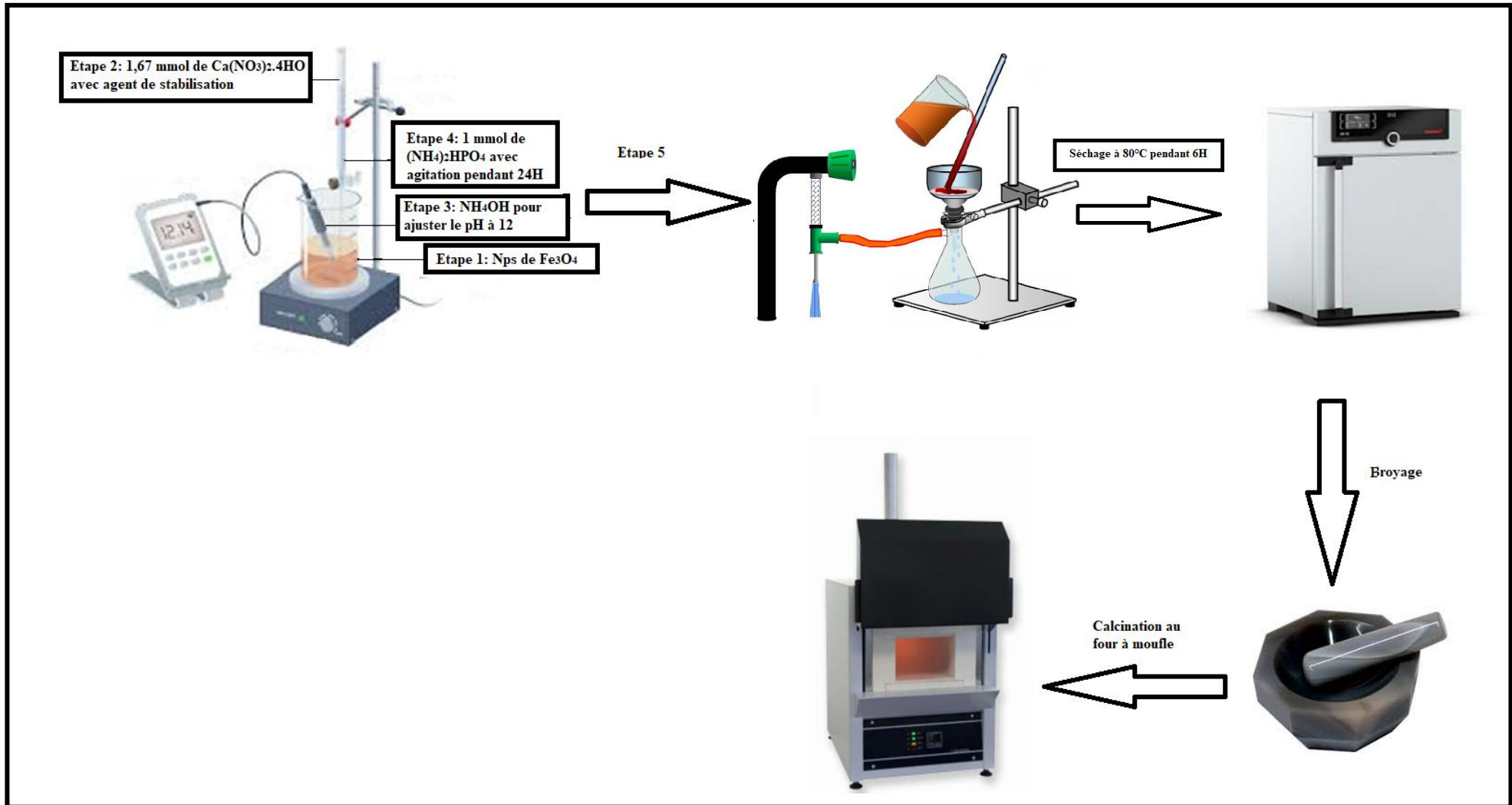


Figure 28: Schéma récapitulatif des étapes de synthèse des nanocomposites magnétiques HAp/ Fe_3O_4

Dans le cadre de cette étude, une méthodologie expérimentale basée sur un plan de criblage factoriel a été mise en œuvre afin d'évaluer l'influence de trois variables principales sur la synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄. Les facteurs étudiés sont :

- le rapport molaire entre l'agent stabilisant naturel et le nitrate de calcium (X_1),
- la vitesse d'agitation (X_2),
- la température de calcination (X_3).

Le plan d'expérience a été conçu à l'aide du logiciel NemrodW, générant une matrice expérimentale initiale fondée sur un plan factoriel complet à trois variables et deux niveaux codés (+1 et -1). Ce type de plan est couramment employé dans la littérature pour analyser les effets principaux et les interactions entre facteurs (268). La matrice ainsi définie a conduit à la réalisation de huit expériences de base (Tableau 7).

Tableau 7: Matrice expérimentale du plan de criblage factoriel pour la synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄.

Exp	Codé			Décodé		
	Ratio Molaire (X_1)	Vitesse d'Agitation (X_2)	Température de Calcination (X_3)	Ratio Molaire (Sucre/Ca)	Vitesse d'Agitation (tr/min)	Température de Calcination (°C)
1	-1	-1	-1	0.5	250	400
2	+1	-1	-1	2.0	250	400
3	-1	+1	-1	0.5	350	400
4	+1	+1	-1	2.0	350	400
5	-1	-1	+1	0.5	250	500
6	+1	-1	+1	2.0	250	500
7	-1	+1	+1	0.5	350	500
8	+1	+1	+1	2.0	350	500

Chaque expérience a été répétée pour chacun des trois agents stabilisants naturels (fructose, galactose et pectine), aboutissant à un total de 24 expériences distinctes.

Afin de garantir la robustesse statistique du plan adopté, plusieurs indicateurs méthodologiques ont été évalués. Le déterminant de la matrice d'information $(X'X)^{1/p} = 8.0000$ témoigne d'une répartition optimale des points expérimentaux, assurant une estimation précise et non biaisée des paramètres du modèle. De plus, l'efficacité G de 100 % confirme une optimisation parfaite

du plan, excluant tout risque de redondance ou de corrélation excessive entre les facteurs étudiés.

La fonction de variance maximale, égale à 1.0000, ainsi que la trace de la matrice de dispersion $(X' X)^{-1} = 1.0000$, indiquent une variance minimale dans l'estimation des coefficients, traduisant la stabilité et la fiabilité du modèle expérimental. Les caractéristiques statistiques du plan sont résumées dans le Tableau 8.

Tableau 8: Caractéristiques de la matrice d'expériences.

PROPRIETES	
Déterminant $(X'X)^{-1}$ ** 1/p	8.0000
Déterminant (M)	1.0000000E+0000
Déterminant (M) ** 1/p	1.000000
Fonction de variance maximale	1.000000
Trace $(X'X)^{-1}$	1.0000
Efficacité G (%)	100.00

L'ensemble de ces éléments démontre que le plan factoriel adopté est statistiquement robuste et rigoureusement conçu, garantissant la validité et la fiabilité des résultats expérimentaux obtenus dans cette étude.

1.2.2 Caractérisation des nanocomposites magnétiques

1.2.2.1 Diffraction des rayons X (DRX)

L'analyse structurale des échantillons a été réalisée au Laboratoire de Magnétisme et Spectroscopie des Solides (Département de Physique, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar – Annaba). Les profils de diffraction ont été obtenus à l'aide d'un diffractomètre haute résolution Pannalytical Empyrean® (Malvern Panalytical®) équipé d'un rayonnement $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$). Environ 1 g de poudre a été soigneusement disposé dans une cuve fixée sur le porte-échantillon afin d'assurer une surface plane, condition essentielle pour la fiabilité des mesures.

L'acquisition des diffractogrammes a été effectuée dans une gamme angulaire de 10° à 80° en 2θ , avec un pas de $0,013^\circ/s$ et un temps de comptage optimisé pour garantir un rapport signal/bruit élevé et une bonne résolution des pics. Les données ont été enregistrées en temps réel via le logiciel associé, assurant une reproductibilité optimale.

Les diffractogrammes ont permis d'identifier les phases d'hydroxyapatite (HAp) et de magnétite (Fe_3O_4), ainsi que d'éventuelles phases secondaires. Leur interprétation a été conduite à l'aide du programme MAUD, basé sur la méthode de Rietveld, permettant le calcul des paramètres de maille, de la taille des cristallites et de la proportion relative des phases (268–270). L'algorithme de raffinement a également permis d'évaluer le paramètre RMS (Root-Mean-Square), indicateur des déformations microstructurales.

Afin d'évaluer la qualité de l'ajustement entre les données expérimentales et les profils simulés, plusieurs paramètres statistiques issus de la méthode de Rietveld ont été utilisés. Ces indicateurs sont définis comme suit, conformément à la formulation établie par Young (1993) (269):

- **Le facteur de pondération du profil (Rwp)** est un indice global mesurant l'écart entre les intensités observées y_i^{obs} et calculées y_i^{calc} , pondéré par les poids statistiques w_i :

$$Rwp = \left[\frac{\sum_{i=0}^n w_i (y_i^{obs} - y_i^{calc})^2}{\sum w_i (y_i^{obs})^2} \right]^{1/2} \times 100$$

Il représente le principal critère d'évaluation de la qualité de l'ajustement du profil complet, où :

Rwp : Facteur de pondération du profil (*Weighted-profile R-factor*); C'est l'indice mesurant l'écart global entre les intensités observées et calculées sur tout le diffractogramme.

w_i : Poids statistique associé au point i , généralement l'inverse de la variance (**$w_i = 1/\sigma_i^2$**).

y_i^{obs} : Intensité expérimentale observée au point i (c'est la valeur mesurée).

y_i^{calc} : Intensité calculée au point i par le modèle théorique.

n : Nombre total de points de mesure sur le diffractogramme.

Pour un bon raffinement, Rwp est idéalement faible.

Un Rwp inférieur à 10 % est souvent considéré comme satisfaisant pour des échantillons standards en diffraction sur poudre.

Rwp \leq 5 % est excellent, mais rare sauf sur des échantillons très purs avec peu de bruit.

Si R_{wp} est $> 15 \%$, cela signale généralement des problèmes de modèle, d'échantillon ou de bruit dans les données.

- **Le facteur de pondération attendu (R_{exp})** exprime la limite théorique minimale atteignable pour R_{wp} , en fonction du bruit statistique des données. Il dépend du nombre total de points N et du nombre de paramètres ajustés P :

$$R_{exp} = \left[\frac{N - P}{\sum w_i (y_i^{obs})^2} \right]^{1/2} \times 100$$

Où :

N : Nombre total de points de mesure dans le diffractogramme.

P : Nombre de paramètres ajustés pendant le raffinement (positions atomiques, facteurs d'échelle, largeurs de pics, etc.).

w_i : Poids statistique associé au point i , généralement l'inverse de la variance ($w_i = 1/\sigma_i^2$).

y_i^{obs} : Intensité expérimentale observée au point i (c'est la valeur mesurée).

i : Indice de sommation couvrant tous les points mesurés.

R_{exp} est généralement inférieur à R_{wp} . Typiquement, R_{exp} varie entre 1% et 5% pour des données de diffraction de bonne qualité.

- **Le facteur de Bragg (R_b)** évalue la concordance entre les intensités intégrées des pics de Bragg observés et simulés. Il permet de juger plus directement la qualité du modèle cristallographique indépendamment du profil global.

$$R_b = \frac{\sum |I_k^{obs} - I_k^{calc}|}{\sum I_k^{obs}} \times 100$$

Où :

I_k^{obs} : Intensité intégrée observée pour le pic de Bragg k (extrait du profil expérimental).

I_k^{calc} : Intensité intégrée calculée pour le même pic k selon le modèle théorique ajusté.

k : Indice de sommation sur tous les pics de Bragg pris en compte dans l'ajustement.

Une valeur de R_b comprise entre 2% et 5% témoigne d'un ajustement structural correct, garantissant une reproduction fiable de la distribution des intensités diffractées.

- **Le facteur de concordance (χ^2)**, aussi appelé goodness of fit, est défini comme le carré du rapport entre R_{wp} et R_{exp} :

$$\chi^2 = \left(\frac{R_{wp}}{R_{exp}} \right)^2$$

Une valeur de χ^2 proche de 1 indique que le modèle s'ajuste de manière satisfaisante aux données expérimentales.

Le paramètre **Sig**, souvent utilisé dans les logiciels de raffinement, correspond à la racine carrée de χ^2 , soit :

$$\text{Sig} = \sqrt{\chi^2} = \left(\frac{R_{wp}}{R_{exp}} \right)$$

Il fournit une mesure synthétique de la qualité de l'ajustement : une valeur de Sig comprise entre 1 et 1,3 est généralement considérée comme très satisfaisante (270).

Les ajustements ont été réalisés en tenant compte des corrections liées aux effets de diffraction multiples et à l'absorption des rayons X, renforçant la fiabilité des résultats. Cette analyse a permis de mettre en évidence l'impact des conditions de synthèse sur la cristallinité, la taille des cristallites et la microstructure des nanocomposites (271,272).



Figure 29: Diffractomètre à rayon X (Malvern Panalytical, Empyrean®).

1.2.2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)

L'analyse des nanocomposites a été effectuée au sein de centre de Recherche, Ecole Nationale Supérieure des Technologies Industrielles, Université BADJI Mokhtar Annaba.

Le microscope électronique à balayage (MEB) utilisé est de marque QUANTA 250® couplé à l'EDS de marque AMETEK®. L'échantillon est préparé pour la MEB par séchage et doit être plat pour garantir une bonne interaction avec le faisceau d'électrons.

L'échantillon est d'abord soumis à une analyse par MEB, où un faisceau d'électrons balaie la surface du matériau. Les électrons secondaires émis sont alors détectés, permettant d'obtenir des images haute résolution qui révèlent la topographie des nanocomposites.

En parallèle, l'analyse par EDS est réalisée, le détecteur EDS captant les rayons X émis par l'échantillon. Cela permet de déterminer la composition élémentaire en fonction de l'énergie des rayons X détectés. Les spectres d'énergie dispersive ainsi que les cartographies élémentaires fournissent des informations détaillées sur la nature des éléments présents et leur répartition au sein du matériau.

La poudre fine du nanocomposite a été étalée sur une bande de ruban carbone autocollant, puis déposé sur le porte-échantillon (figure 30) en vue de son observation par microscopie électronique à balayage (MEB). Les analyses ont été effectuées en mode vide secondaire (High Vacuum), sous une tension d'accélération de 25 kV. Les observations ont été réalisées à l'aide des détecteurs ETD (Everhart-Thornley Detector) pour les électrons secondaires et CBS (Backscattered Electron Detector) pour les électrons rétrodiffusés, permettant une double lecture morphologique et compositionnelle.

Deux niveaux de grossissement ont été employés pour chaque mode d'imagerie : 12 000×, avec une échelle d'observation de 5 µm, et 3 000×, correspondant à une échelle de 30 µm., la distance de travail effective a été maintenue entre 11,4 et 14,3 mm, garantissant une netteté optimale et une profondeur de champ suffisante pour la visualisation des microstructures fines du matériau (273).

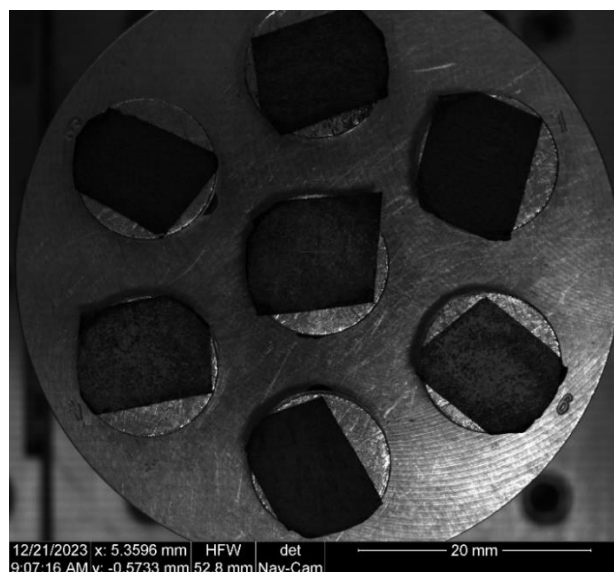


Figure 30: Poudre de nanocomposite déposée sur le porte échantillon.



Figure 31: Microscope électronique à balayage (MEB) de marque QUANTA 250® couplé à l'EDS de marque AMETEK®.

1.2.2.3 Spectroscopie infrarouge à transformée de fourier

L'analyse des nanocomposites a été réalisée au sein de la plateforme commune de physicochimie, Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, Annaba.

Avant toute analyse, le spectromètre FTIR est mis sous tension au moins 30 minutes à l'avance afin de permettre la stabilisation de la source infrarouge. L'unité informatique est ensuite allumée, puis le logiciel d'acquisition est lancé. Le système procède alors automatiquement à un autodiagnostic pour vérifier le bon fonctionnement de ses composants optiques et électroniques.

La propreté du cristal ATR, du plateau ainsi que du bras de pression est systématiquement vérifiée. En cas de contamination ou de résidus, un nettoyage soigneux est effectué à l'aide d'éthanol à 96°.

Une mesure de l'arrière-plan (background) est d'abord réalisée, afin qu'il soit automatiquement soustrait du spectre de l'échantillon au cours du traitement.

Pour l'analyse, une petite quantité de poudre du nanocomposite est déposée directement sur le cristal ATR, au centre du plateau, à l'aide d'une spatule propre. Le bras de pression est ensuite abaissé délicatement jusqu'à enclenchement du mécanisme, garantissant un contact optimal entre l'échantillon et le cristal.

L'acquisition du spectre infrarouge a été réalisée dans la gamme spectrale comprise entre 4000 et 400 cm^{-1} , en accumulant 16 scans avec une résolution spectrale de 4 cm^{-1} . Le spectre obtenu a été automatiquement enregistré par le logiciel LabSolutions en vue d'une analyse ultérieure (274).



Figure 32: Spectrophotomètre infrarouge SHIMADZU IRAffinity-1S.

1.2.2.4 Analyse thermogravimétrique et calorimétrie différentielle à balayage

Les nanocomposites HAp/Fe₃O₄ synthétisés ont été soumis à une caractérisation thermique approfondie à l'aide de l'analyse thermogravimétrique (TG) et de la calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Ces analyses ont été réalisées au sein de la plateforme commune de physicochimie de la Faculté de Médecine, Département de Pharmacie, Université de Annaba.

Afin de garantir une représentativité et une homogénéité optimales, environ 10 mg de chaque échantillon ont été soigneusement pesés et placés dans des creusets en alumine de haute pureté, adaptés aux températures élevées requises. L'analyse thermogravimétrique a été effectuée à l'aide d'un analyseur de marque SETARAM LABSYS EVO 1600°C. Les échantillons ont été soumis à une vitesse de chauffage de 10 °C/min, depuis la température ambiante jusqu'à 900 °C, sous atmosphère inerte assurée par un flux continu d'azote à 40 mL/min, afin de prévenir toute oxydation durant le processus. Cette analyse a permis de suivre les pertes de masse en fonction de la température, fournissant ainsi des indications sur la stabilité thermique et les étapes de dégradation des matériaux.

La calorimétrie différentielle à balayage a été conduite simultanément dans les mêmes conditions opératoires. Cette technique a permis de détecter les transitions thermiques, notamment les phénomènes endothermiques et exothermiques, ainsi que les éventuelles transitions de phase des nanocomposites.

Les thermogrammes obtenus par les analyses TG et DSC ont été traités et interprétés à l'aide du logiciel Calisto, permettant une lecture précise et une extraction rigoureuse des événements thermiques caractéristiques des échantillons analysés (275).



Figure 33: Analyseur Thermique Type SETARAM LABSYS EVO.

1.2.2.5 Analyse par magnétométrie à échantillon vibrant

Les échantillons de nanocomposites ont été analysés à l'aide d'un magnétomètre à échantillon vibrant. L'échantillon, monté sur un support vibrant de manière synchrone dans le champ magnétique appliqué, génère un signal induit dans les bobines de détection. Ce signal est proportionnel à l'aimantation de l'échantillon, permettant ainsi une mesure précise de ses propriétés magnétiques.

L'expérience a été réalisée dans des conditions rigoureusement contrôlées, avec une gamme de température stabilisée et une série de cycles de champ magnétique variant de -10 kOe à +10 kOe. Les courbes d'hystérésis obtenues ont servi à déterminer les principaux paramètres magnétiques, tels que la magnétisation à saturation (M_s), la coercivité (H_c), et la rémanence (M_r), ces paramètres étant indicatifs de la qualité et des performances des nanocomposites synthétisés.

Les courbes d'hystérésis obtenues ont permis de déterminer les principaux paramètres magnétiques : magnétisation à saturation (M_s), coercivité (H_c) et rémanence (M_r). Ces paramètres reflètent la qualité et l'uniformité des nanocomposites. Des corrections

expérimentales ont été appliquées pour compenser les interférences environnementales, garantissant la fiabilité des mesures. Cette méthodologie a permis d'obtenir des données quantitatives précises, essentielles pour évaluer l'impact des différents paramètres de synthèse sur les propriétés magnétiques des nanocomposites, notamment en ce qui concerne la stabilité thermique des phases magnétiques et l'uniformité des particules (276).

1.2.2.6 Outils logiciels pour le traitement des résultats expérimentaux

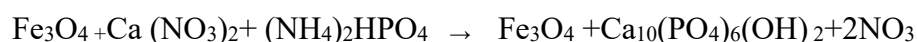
Les histogrammes ont été générés à l'aide de Microsoft Excel 365, permettant une représentation simple et efficace des données.

Les diffractogrammes (DRX), courbes d'hystérésis (VSM), spectres infrarouges (FTIR) et thermogrammes (DSC/TG) ont été tracés à l'aide du logiciel OriginPro 2024, offrant une précision graphique élevée et des possibilités d'ajustement et de traitement statistique. Le plan d'expériences, visant à optimiser les paramètres de synthèse par criblage, a été conçu à l'aide du logiciel NemrodW version 2017, spécialisé dans les plans factoriels et l'analyse statistique des résultats expérimentaux.

2 Résultats et discussion

2.1 Synthèse de nanocomposite magnétique

À la fin de la réaction, une suspension homogène de nanocomposite magnétique est obtenue. La réaction chimique mise en jeu dans la synthèse est la suivante :



Après filtration, le précipité brunâtre obtenu a été récupéré, puis séché à l'étuve, conduisant à l'obtention d'une poudre anhydre.



Figure 34: Étapes de la synthèse du nanocomposite magnétique.

(A) Filtration du nanocomposite magnétique ; (B) Nanocomposite magnétique après filtration ; (C) Nanocomposite après séchage à l'étuve ; (D) Nanocomposite magnétique après broyage.

La dernière étape consiste en la calcination, dont l'objectif est d'éliminer l'eau cristalline et de favoriser la transformation des phases minérales par décomposition thermique.

2.2 Caractérisation des nanocomposites

2.2.1 Propriétés cristallines des nanocomposites

2.2.1.1 Identification de phases cristallines

La figure ci-dessous présente les diffractogrammes des échantillons synthétisés en présence de fructose, galactose et pectine. L'analyse comparative permet d'identifier les différences structurales et les variations de phases cristallines résultant de l'influence de chaque sucre sur la formation des nanocomposites.

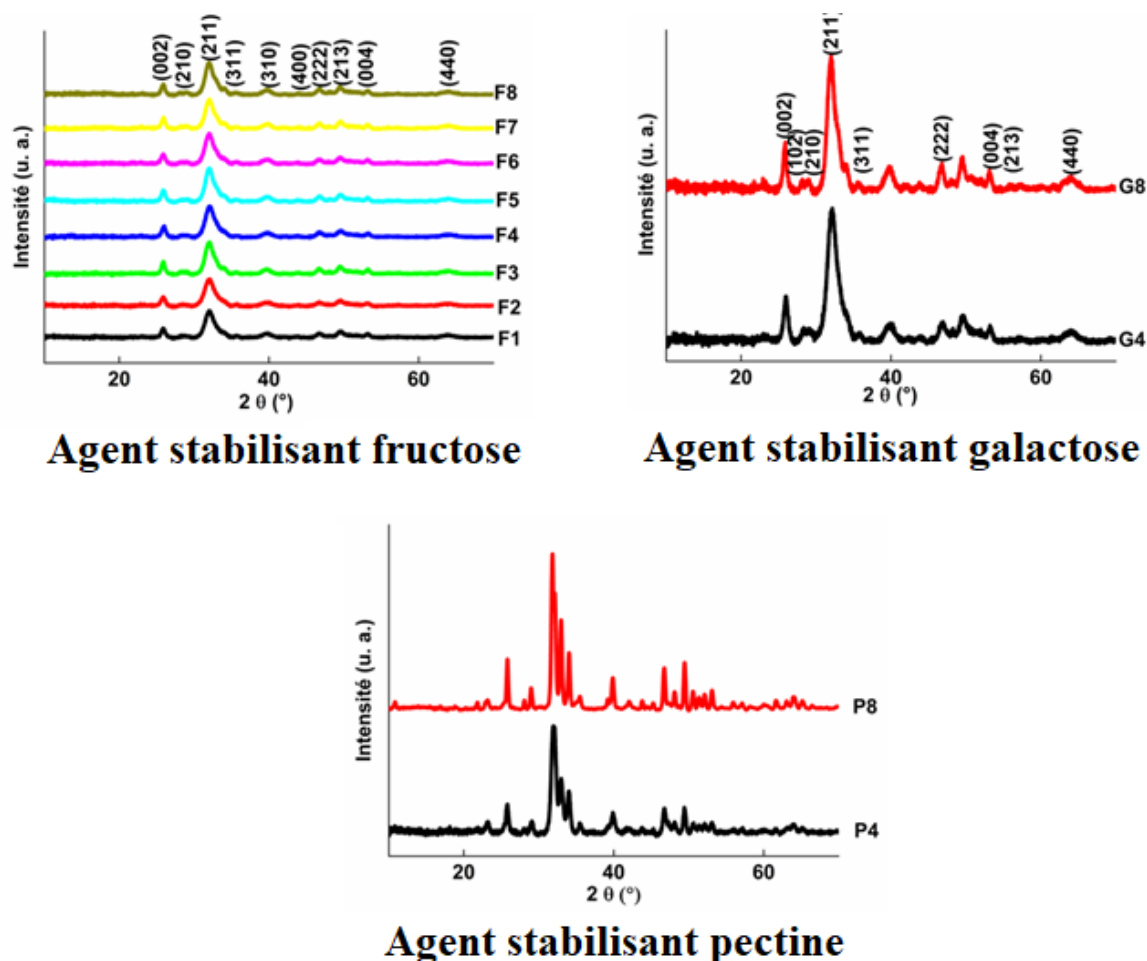


Figure 35: Diffractogrammes des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine.

Les analyses DRX des nanocomposites synthétisés avec fructose montrent une forte similarité dans les diffractogrammes, révélant la présence dominante de deux phases principales HAp et Fe_3O_4 ou Fe_2O_3 . Les variations observées concernent principalement les proportions des phases et les paramètres cristallins. Les pics caractéristiques de l'hydroxyapatite apparaissent aux angles 2θ de $26,08^\circ$ (plan (002)), $28,24^\circ$ (plan (210)), 32° (plan (211)), $39,54^\circ$ (plan (310)), $46,72^\circ$ (plan (222)), $49,42^\circ$ (plan (213)) et $53,53^\circ$ (plan (004)) (277–279), tandis que ceux de la magnétite se situent à $30,1^\circ$ (plan (220)), $35,42^\circ$ (plan (311)), $44,93^\circ$ (plan (400)), $57,12^\circ$ (plans (511)), et $63,96^\circ$ (plan (440)). Ces résultats confirment la bonne cristallinité des deux phases (251,280,281).

La présence bien définie de la phase apatitique est confirmée par la clarté et l'intensité des pics attribués aux plans cristallins caractéristiques de l'hydroxyapatite. Ces observations s'accordent

avec les données de Zawisza et al. (2020), qui ont rapporté des pics similaires dans des nanocomposites bioactifs à base d'HAp, avec notamment des réflexions nettes autour de 26° ((002)) et 32° ((211)), confirmant une bonne cristallinité sans interférence de phases secondaires. Cette cohérence structurale est essentielle pour garantir les propriétés bioactives et ostéoconductrices de l'apatite (277).

De manière plus précise, Thanh et al. (2022) ont mis en évidence l'impact des conditions de synthèse sur les propriétés cristallines des nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 développés à des fins d'hyperthermie. Leurs résultats indiquent que l'intensité des pics caractéristiques de l'HAp varie en fonction de la proportion relative de la phase magnétique. Cette observation est en accord avec les variations constatées dans nos propres échantillons, en particulier dans le rapport d'intensité entre les pics attribués à l'HAp et ceux de la Fe_3O_4 . Ces résultats suggèrent que l'introduction de la phase magnétique ne compromet pas la formation de l'HAp, mais peut en modifier la proportion relative au sein du composite final (278).

Par ailleurs, Kim et al. (2024), dans une étude consacrée à des couches minérales bio-inspirées, ont montré que l'incorporation de substituants tels que les carbonates ou d'autres ions exogènes dans le réseau cristallin pouvait entraîner des décalages ou des élargissements de pics apatitique. Des observations analogues ont été relevées dans mes analyses, avec de légers déplacements dans la région $28\text{--}32^\circ$, pouvant témoigner d'une substitution partielle au sein de la maille cristalline. Ces hypothèses seront examinées plus en détail dans la section consacrée à l'analyse FTIR (279).

La présence des pics à $30,1^\circ$, $35,42^\circ$, $44,93^\circ$, $57,12^\circ$ et $63,96^\circ$, correspondant aux plans (220), (311), (400), (511) et (440), est caractéristique de la magnétite bien cristallisée. Ces résultats sont parfaitement en ligne avec ceux rapportés dans plusieurs études ayant synthétisé des nanoparticules de Fe_3O_4 par des approches vertes ou en conditions douces. Notamment, Osial et al. (2024) ont obtenu un profil DRX très proche dans des nanocomposites SPION/HAp conçus pour la vectorisation du 5-fluorouracile (251). Ils rapportent des pics intenses pour la magnétite aux mêmes positions angulaires, indiquant une phase bien définie, intégrée sans altération majeure dans la matrice apatite. La forte similitude entre leurs résultats et les miens confirme que la magnétite obtenue dans mes échantillons possède un bon degré de cristallinité, propice à des applications en hyperthermie ou en guidage magnétique.

De plus, l'étude de Yan et al. (2019) portant sur le comportement des oxydes de fer vis-à-vis de l'ozone en milieu aqueux met en évidence la diversité structurale des phases ferriques et l'influence de leur environnement de surface. Les résultats DRX qu'ils présentent pour la magnétite montrent des pics aux mêmes positions que dans mes échantillons, mais avec des intensités variables selon la méthode de synthèse. Cette comparaison appuie l'idée que les variations observées dans mes diffractogrammes reflètent des différences réelles dans la proportion et la distribution des sites $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, en lien avec les conditions expérimentales appliquées (température, ratio, agitation) (280).

Enfin, les données fournies par Stan et al. (2019), qui ont utilisé des nanoparticules de magnétite synthétisées de manière verte pour l'adsorption de colorants, confirment également la position typique des pics DRX de Fe_3O_4 . Leur étude met en évidence un bon accord avec la structure de la magnétite cubique inverse, dont la cristallinité est favorable à des interactions superficielles efficaces. Ces résultats confortent l'observation selon laquelle les nanocomposites obtenus à partir du fructose conservent une organisation cristalline optimale de la phase Fe_3O_4 , malgré l'environnement polysaccharidique réducteur et stabilisant (281).

L'analyse globale des diffractogrammes des nanocomposites synthétisés avec le galactose et la pectine met en évidence la formation conjointe de deux phases cristallines : l'apatite et la magnétite. Cette identification est soutenue par la présence de pics caractéristiques localisés autour de $25,8^\circ$, $28-29^\circ$, $31-33^\circ$, $35,7^\circ$, $46,7^\circ$ et 64° , correspondant respectivement aux plans (002), (102), (211), (300), (004) pour l'apatite, et (311), (440) pour la magnétite (280,282-286).

Cette tendance à la formation d'apatite, au détriment de l'hydroxyapatite observée dans les échantillons à base de fructose, peut s'expliquer par la nature chimique spécifique des agents de stabilisation utilisés. Le galactose, un monosaccharide de type aldose, et la pectine, un polysaccharide anionique riche en groupes carboxyle et hydroxyle, interagissent différemment avec les ions calcium et phosphate présents dans le milieu réactionnel. Ces interactions influencent la cinétique de nucléation ainsi que la directionnalité de la croissance cristalline, favorisant la formation de l'apatite, une phase cristalline moins ordonnée mais plus souple sur le plan structural. L'apatite se distingue par sa capacité à intégrer divers ions substituants (CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , Mg^{2+} , Na^+ , etc.), ce qui permet une croissance cristalline plus tolérante à l'hétérogénéité chimique introduite par ces agents organiques.

En revanche, le fructose, un cétose à la structure plus compacte, présente une réactivité chimique qui semble favoriser une organisation plus rigide et ordonnée du réseau cristallin, aboutissant ainsi à la formation prédominante d'hydroxyapatite. Ce comportement différentiel met en lumière l'influence majeure du type de sucre utilisé sur la nature structurale des phases formées.

Ce comportement peut être interprété à la lumière des travaux de Sahoo et al. (2016), qui ont caractérisé des membranes à base d'apatite élaborées en conditions modifiées (pH acide et supports argileux). Ils ont démontré que la nature de l'apatite obtenue dépend fortement de l'environnement réactionnel, en particulier de la disponibilité des ions OH^- , du pH et de la dynamique de précipitation. La substitution ou l'absence de groupements hydroxyle dans la structure cristalline peut ainsi conduire à la formation d'apatite au lieu de l'hydroxyapatite, comme cela semble être le cas ici avec le galactose et la pectine (282).

Les résultats sont également cohérents avec ceux de Wingender et al. (2021), qui ont étudié l'effet de la substitution carbonatée sur la structure des apatites. Ils montrent que l'incorporation d'ions CO_3^{2-} à la place des groupements OH^- ou PO_4^{3-} altère non seulement la cristallinité, mais aussi la nature même de la phase précipitée, conduisant à des apatites moins ordonnées ou partiellement carbonatées. Or, les sucres utilisés dans ce cas – notamment la pectine, riche en groupes carboxyliques – peuvent favoriser localement l'incorporation de carbonates, expliquant ainsi la substitution observée (283).

De plus, les observations faites par Bang et al. (2015) sur des matériaux composites à base de phosphate tricalcique et apatite carbonatée mettent en évidence que certaines conditions peuvent stabiliser une apatite riche en carbonates, distincte de l'hydroxyapatite stœchiométrique. Ce phénomène est renforcé lorsque les agents de structuration ou les matrices contiennent des fonctions acides ou oxygénées susceptibles de complexer le calcium ou de modifier la cristallisation (285).

D'un point de vue complémentaire, les diffractogrammes confirment également la présence de magnétite, comme en témoignent les pics aux environs de $35,7^\circ$ (311) et 64° (440). Cette identification est en accord avec les profils DRX décrits par Yan et al. (2019) et Soares et al. (2019), qui ont respectivement étudié le comportement de l'ozone sur différentes surfaces

d'oxydes de fer, et la synthèse de nanoparticules $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$. Dans ces deux cas, les pics de diffraction liés à la magnétite sont présents aux mêmes positions que dans mes échantillons, confirmant la conservation de cette phase malgré la complexité du milieu réactionnel induit par les polysaccharides (280,286).

Enfin, les résultats obtenus rejoignent les observations de Pietrzyk et al. (2022), qui ont synthétisé des nanoparticules de Fe_3O_4 dopées au zinc dans un contexte similaire. Ils ont souligné que la présence de ligands organiques et de groupes fonctionnels pouvait influencer la stabilité de la magnétite et sa distribution dans la matrice composite, sans pour autant altérer sa signature cristalline dans les profils DRX (284).

Afin de quantifier précisément les paramètres structuraux, la taille cristalline et la distribution des phases, un raffinement selon la méthode de Rietveld a été réalisé. Le tableau ci-après présente les résultats détaillés obtenus pour chaque échantillon analysé.

Tableau 9: Résultats du raffinement Rietveld des nanocomposites synthétisés avec le galactose (G4, G8) et la pectine (P4, P8).

Ncp	Phase	Proportion (%)	Paramètres cristallins (Å)	Déviations relatives (%)	L (nm)	RMS (%)
G4	Apatite	78,20	a= 9,4531 ; c= 6,9016	$\Delta a = 0,38$; $\Delta c = 0,037$	14,86	0,76
	Fe ₃ O ₄	21,8	a= 8.3363	$\Delta a = - 1,06$	43,24	1,08
G8	Apatite	62,6	a= 9.4215 ; c= 6.8952	$\Delta a = 0,047$; $\Delta c = -0,055$	12,95	0,24
	Fe ₃ O ₄	37,4	a= 8.9404	$\Delta a = 6,1$	21,64	29
P4	Apatite	61,87	a= 9.4094 ; c= 6.9138	$\Delta a = - 0,08$; $\Delta c = 0,21$	29,44	0,22
	Fe ₃ O ₄	38,13	a= 8.3711	$\Delta a = - 0,65$	9.2	0,10
P8	Apatite	87,66	a= 9.41346 ; c= 6.90316	$\Delta a = - 0,037$; $\Delta c = 0,06$	61,66	0,10
	Fe ₃ O ₄	12,33	a= 8.433156	$\Delta a = 0,083$	50	0,82

Les résultats obtenus pour les échantillons G4, G8 (galactose) et P4, P8 (pectine) montrent des proportions variables de ces phases, la teneur en apatite oscillant entre 61,87 % et 87,66 %, traduisant des variations significatives dans la dynamique de formation des nanostructures.

Les échantillons issus des synthèses réalisées avec le galactose (échantillons G4 et G8) et avec la pectine (échantillons P4 et P8) présentent, selon les résultats obtenus par raffinement de Rietveld, des phases bien définies d'apatite et de magnétite. Les paramètres cristallins déterminés (a et c) pour la phase apatite sont en bon accord avec les valeurs théoriques attendues ($a \approx 9,42 \text{ \AA}$; $c \approx 6,88\text{--}6,90 \text{ \AA}$). L'évaluation de la cristallinité a été réalisée en calculant l'écart relatif entre les paramètres mesurés et les valeurs théoriques, selon la formule suivante :

$$\Delta a = \frac{a_{\text{mesuré}} - a_{\text{Théorique}}}{a_{\text{Théorique}}} \times 100$$

Les faibles écarts observés confirment une bonne qualité cristalline des phases. Par exemple, pour l'échantillon G8, l'écart relatif du paramètre de maille a pour l'apatite est de +0,047 %, ce qui indique une structure très proche de l'apatite idéale. En revanche, la magnétite dans ce même échantillon présente un écart plus important de +6,1 %, suggérant soit l'incorporation d'éléments de substitution, soit une légère distorsion structurale probablement induite par les conditions spécifiques du milieu réactionnel.

Les tailles moyennes des cristallites (L), obtenues via l'équation de Scherrer, varient de 12,95 nm (apatite, G8) à 61,66 nm (apatite, P8), et traduisent une cristallisation plus marquée dans les échantillons pectiniques. Cette observation est renforcée par les indices de raffinement (R_{wp} , R_b , R_{exp} , Sig) très satisfaisants, indiquant un bon ajustement des données expérimentales au modèle cristallographique.

La distribution pondérale des phases montre que la proportion d'apatite est systématiquement dominante : elle atteint 87,66 % dans l'échantillon P8, tandis que la magnétite ne représente que 12,33 %. Ces résultats confirment que les conditions de synthèse, en particulier la nature du stabilisant utilisé, favorisent nettement la formation de l'apatite lorsque du galactose ou de la pectine est employé. Ce comportement peut être attribué à la capacité de ces composés à interagir avec les ions précurseurs, moduler le pH local et former des complexes intermédiaires qui orientent la précipitation vers des structures plus flexibles et moins ordonnées que l'hydroxyapatite.

Le galactose et la pectine induisent la formation d'apatite en raison de leur aptitude à stabiliser des configurations cristallines moins rigides et à favoriser l'incorporation d'éléments étrangers, contrairement au fructose qui, par sa structure plus compacte et son interaction différente avec les précurseurs ioniques, oriente la cristallisation vers la formation de l'hydroxyapatite. Cette distinction souligne l'influence déterminante de la nature chimique des agents de stabilisation sur le devenir structural des nanocomposites synthétisés.

2.2.1.2 Raffinement Rietveld des nanocomposites synthétisés avec fructose

Étant donné la quasi-identité des diffractogrammes des nanocomposites synthétisés avec fructose, un affinement par la méthode de Rietveld a été utilisé pour affiner les données structurales et microstructurales. Ce processus permet de quantifier avec précision les proportions des phases et d'optimiser les paramètres de maille, tout en tenant compte du recouvrement des pics. Les légères variations dans les paramètres cristallins et la composition des phases entre les échantillons sont principalement liées aux différentes conditions de synthèse (272,277).

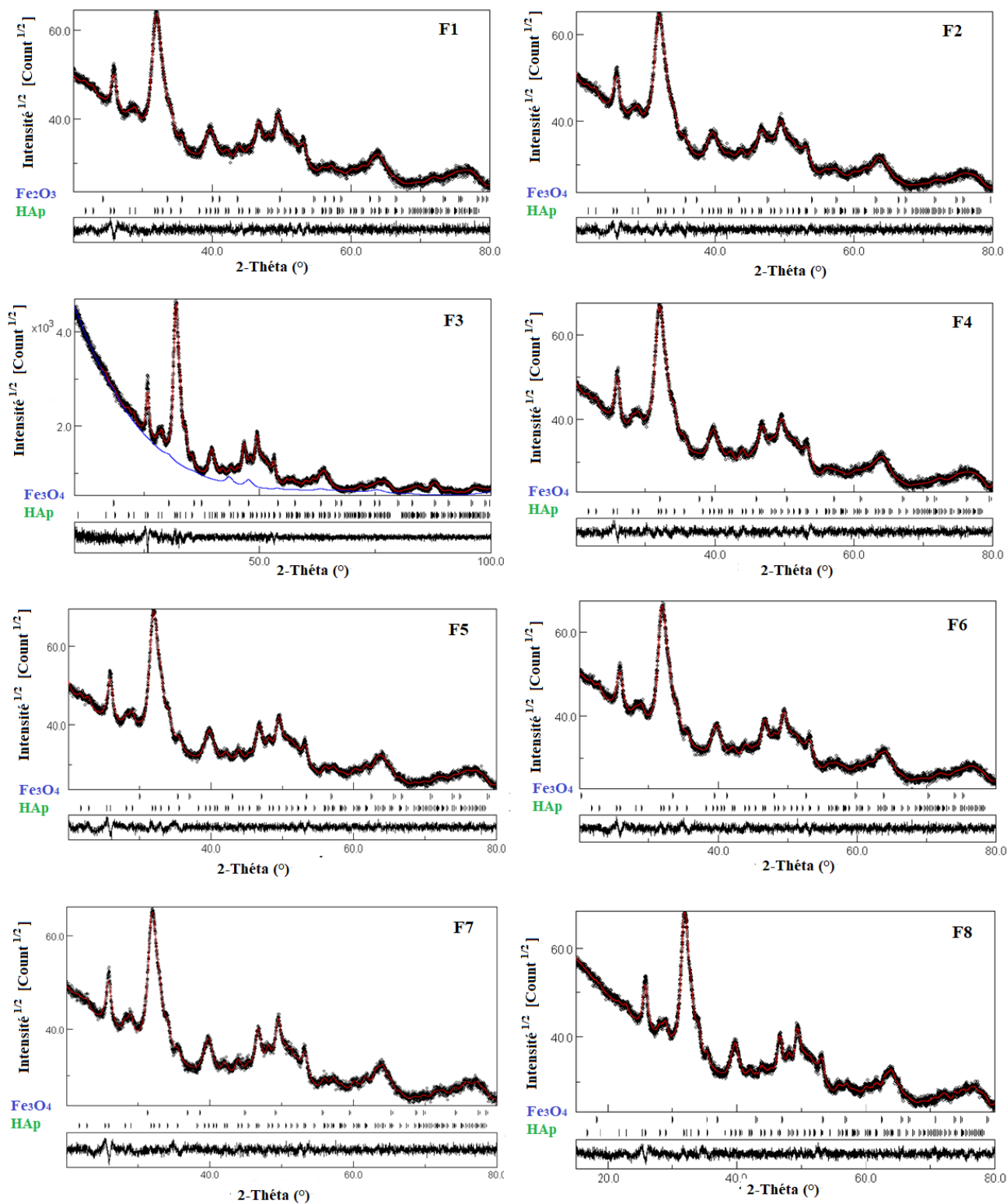


Figure 36: Le raffinement Rietveld des nanocomposites synthétisés avec fructose.

Les principaux résultats de l'affinement Rietveld sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10: Les principaux résultats du raffinement Rietveld.

Ncp	Phase	Proportion (%)	Paramètres cristallins (Å)	Déviation relative (%)	L (nm)	RMS (%)	Indices de qualité d'affinement			
							Sig	Rwp (%)	Rb (%)	Rexp (%)
1	HAp Fe ₂ O ₃	90	a= 9,425189 ; c= 6,878294	$\Delta a= 0,06$; $\Delta c= -0,04$	11,67	0,52	1,158	3,258	2,544	2,812
		10	a= 5,0335865 ; c= 13,512235	$\Delta a= - 0,067$; $\Delta c= -1,87$	39,94	0,74				
2	HAp Fe ₃ O ₄	88,35	a= 9,428994 ; c= 6,8809767	$\Delta a= 0,1$; $\Delta c= -0,003$	10,25	0,52	1,173	3,291	2,617	2,804
		11,65	a= 8,4135	$\Delta a= -0,14$	49,58	1,20				
3	HAp Fe ₃ O ₄	78,35	a= 9,437435 ; c= 6,8879414	$\Delta a= 0,19$; $\Delta c= -0,01$	13,65	0,51	1,226	3,414	2,654	2,783
		21,65	a= 8,3124075	$\Delta a= -1,34$	7,67	0,25				
4	HAp Fe ₃ O ₄	79,40	a= 9,428747 ; c= 6,865812	$\Delta a= 0,10$; $\Delta c= -0,22$	11,5	0,42	1,359	3,892	3,061	2,862
		20,60	a= 8,740986	$\Delta a= 3,73$	49,58	1,20				
5	HAp Fe ₃ O ₄	85,55	a= 9,4119 ; c= 6,87886	$\Delta a= 0,007$; $\Delta c= -0,03$	12,5	0,39	1,227	3,433	2,714	2,796
		14,45	a= 8,41038	$\Delta a= -0,18$	12,6	0,34				
6	HAp Fe ₃ O ₄	85,3	a= 9,415921 ; c= 6,8842506	$\Delta a= -0,03$; $\Delta c= 0,044$	11,5	0,46	1,196	3,379	2,649	2,825
		14,7	a= 7,573747	$\Delta a= - 10,11$	4,0	0,36				
7	HAp Fe ₃ O ₄	87,6	a= 9,413516 ; c= 6,8769436	$\Delta a= -0,006$; $\Delta c= -0,061$	10,67	0,05	1,237	3,506	2,727	2,833
		12,4	a= 8,078751	$\Delta a= -4,12$	2,45	13				
8	HAp Fe ₃ O ₄	80,85	a= 9,4265 ; c= 6,8935	$\Delta a= 0,07$; $\Delta c= 0,17$	13	0,42	1,2	3,26	2,53	2,67
		19,5	a= 8,4164	$\Delta a= -0,11$	74,5	0,28				

2.2.1.2.a Proportions des phases

Le graphique ci-dessous illustre la répartition proportionnelle des phases d'hydroxyapatite et de magnétite dans les nanocomposites étudiés.

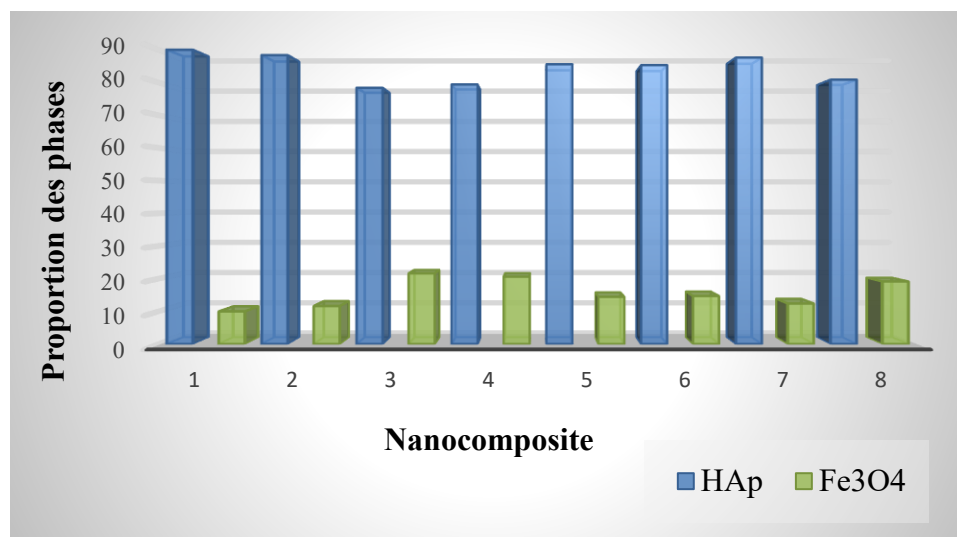


Figure 37: Répartition des phases dans les nanocomposites.

Les huit échantillons présentent des proportions variables d'hydroxyapatite et de magnétite, reflétant des différences dans les conditions de synthèse. Les échantillons 1 et 2 se distinguent par une proportion élevée d'hydroxyapatite, respectivement 90 % et 88,35 %, tandis que l'échantillon 3 contient la plus grande quantité de magnétite, avec 21,65 %. En revanche, les échantillons 4, 5, 6, et 7 montrent des proportions intermédiaires de magnétite, allant de 12,4 % à 20,60 %, ce qui indique une présence significative de cette phase. L'échantillon 8 présente également une proportion notable de magnétite, avec 19,15 %, et 80,85 % d'hydroxyapatite. Ces variations dans les proportions de phases suggèrent que les ajustements des paramètres de synthèse, tels que la température de calcination, le rapport molaire entre les réactifs, influencent la distribution relative des deux phases dans les nanocomposites. Cela peut également affecter les propriétés fonctionnelles des matériaux, notamment leurs propriétés magnétiques et biologiques.

2.2.1.2.b Paramètres cristallins de l'hydroxyapatite

Les paramètres de maille déterminés pour l'hydroxyapatite synthétisée dans les différents échantillons sont relativement constants, avec des valeurs de paramètre a comprises entre 9,4119 Å et 9,4289 Å, et de c variant de 6,8658 Å à 6,8935 Å. Ces légères fluctuations peuvent être interprétées comme résultant de contraintes résiduelles ou de distorsions du réseau cristallin induites par les conditions spécifiques de synthèse. En comparaison avec les valeurs théoriques de l'hydroxyapatite stœchiométrique, généralement admises comme $a = 9,41898$ Å et $c = 6,88119$ Å, les écarts observés demeurent modestes, suggérant une conservation de la structure hexagonale de type $P6_3/m$. L'échantillon 5, présentant les plus faibles valeurs ($a = 9,4119$ Å ; $c = 6,8789$ Å), pourrait témoigner d'un léger compactage cristallin, probablement lié à une substitution ionique partielle ou à une densification locale du réseau (277).

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Zawisza et al. (2020) (277), qui ont synthétisé des bio-nanocomposites à base d'hydroxyapatite dans un objectif d'activité antibactérienne. Les auteurs ont déterminé des paramètres cristallins similaires, avec des valeurs légèrement inférieures aux idéaux théoriques, notamment $a \approx 9,415$ Å et $c \approx 6,878$ Å, ce qui suggère également une légère contraction de la maille par rapport à l'HAp pure. Ils attribuent cette variation à des effets structuraux liés à l'incorporation d'espèces ioniques mineures, ainsi qu'à la nature des précurseurs utilisés. Cette interprétation rejoint celle proposée ici, notamment pour l'échantillon 5, dont les valeurs de $a = 9,4119$ Å et $c = 6,8789$ Å sont les plus basses de la série, traduisant possiblement un compactage cristallin local ou une densification du réseau induite par une substitution partielle (par exemple de CO_3^{2-} à la place de OH^- ou PO_4^{3-}).

Par ailleurs, les valeurs du Root Mean Square (RMS), indicateur de la qualité cristalline, se situent entre 0,05 % et 0,52 % pour l'ensemble des échantillons. Cette faible dispersion des écarts quadratiques moyens reflète une très bonne cohérence structurale des réseaux formés. L'échantillon 7 se distingue particulièrement par une qualité cristalline remarquable, affichant un RMS de 0,05 %, ce qui traduit une homogénéité structurale exceptionnelle et une dispersion minimale des positions des pics de diffraction. Bien que les autres échantillons présentent des RMS légèrement supérieurs, ces derniers demeurent faibles, confirmant une bonne cristallinité et une structure bien ordonnée de l'hydroxyapatite au sein des différents nanocomposites.

2.2.1.2.c Taille des cristallites de l'hydroxyapatite

Le graphique ci-dessous illustre les variations de la taille des cristallites d'hydroxyapatite dans les différents nanocomposites analysés.

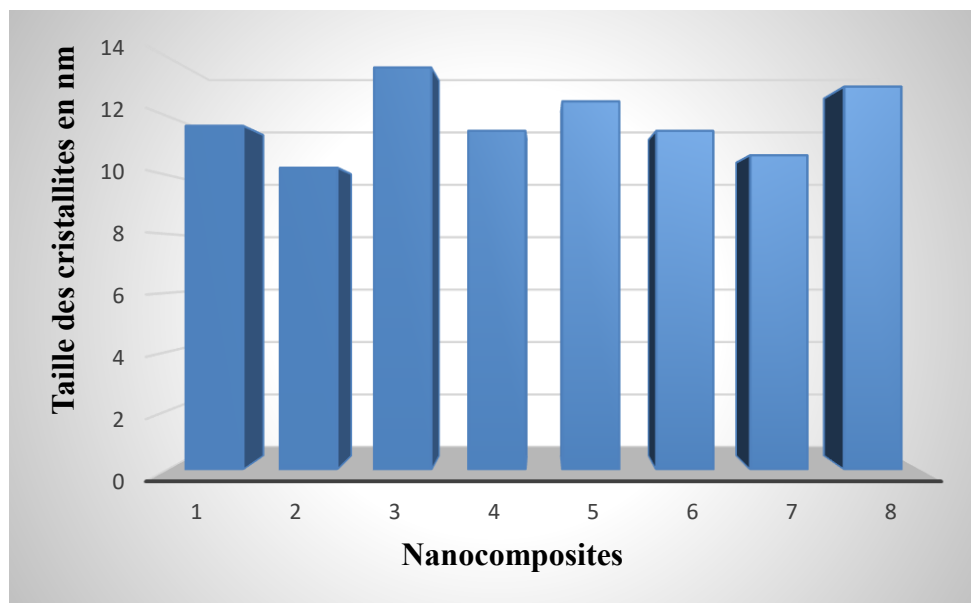


Figure 38: Taille des cristallites d'hydroxyapatite dans les nanocomposites.

La taille des cristallites d'hydroxyapatite ($\langle L \rangle$) varie de manière notable entre les huit échantillons, illustrant l'influence des conditions de synthèse sur la croissance cristalline. Les échantillons 1, 5 et 8 présentent des cristallites relativement grandes, avec des tailles de 11,67 nm, 12,5 nm, et 13 nm respectivement, indiquant une cristallinité plus élevée. Cela pourrait être lié à des conditions de synthèse favorables, telles qu'une température de calcination plus élevée. En revanche, les échantillons 2 et 7 présentent les plus petites tailles de cristallites, avec des dimensions de 10,25 nm et 10,67 nm. Les échantillons 3, 4 et 6 montrent des tailles intermédiaires, comprises entre 11,5 nm et 13,65 nm. Ces différences de taille reflètent les variations dans les paramètres de calcination et de préparation, qui influencent la dynamique de croissance des cristallites, impactant ainsi la structure cristalline et potentiellement les propriétés mécaniques et biologiques des nanocomposites.

2.2.1.2.d Phase de magnétite

Le graphique ci-dessous illustre les variations de la taille des cristallites de magnétite dans les différents nanocomposites analysés.

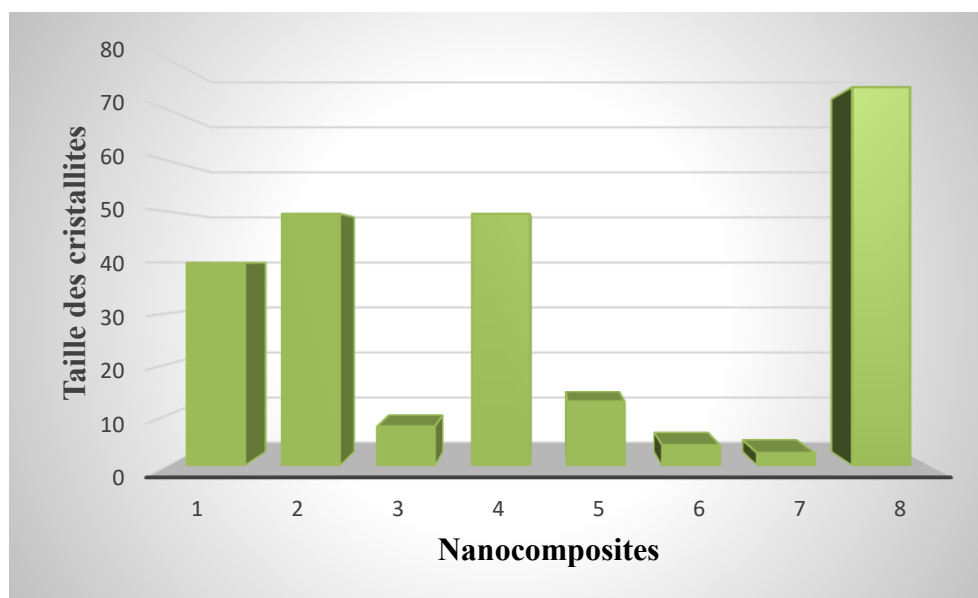


Figure 39: Taille des cristallites de magnétite dans les nanocomposites.

La magnétite présente des variations notables dans ses paramètres de maille et la taille de ses cristallites entre les échantillons. Le paramètre de maille a varie de 7,5737 Å pour l'échantillon 6 à 8,4164 Å pour l'échantillon 8, reflétant des différences dans la structure cristalline de la magnétite en fonction des conditions de synthèse. Les échantillons 6 et 7 montrent les plus petites tailles de cristallites de magnétite, avec des dimensions respectives de 4 nm et 2,45 nm, ce qui suggère une surface spécifique plus importante, favorable pour certaines applications telles que la libération prolongée de médicaments, sans pour autant indiquer une cristallinité réduite.

À l'inverse, l'échantillon 8 présente des cristallites beaucoup plus grandes, atteignant 74,5 nm, ce qui pourrait refléter des conditions de calcination favorisant une croissance cristalline plus développée. Les échantillons 1 à 5, quant à eux, présentent des cristallites de magnétite de tailles comprises entre 12,6 nm et 49,58 nm, indiquant une variabilité modérée dans la croissance cristalline. Ces différences de taille des cristallites pourraient être attribuées aux variations dans les conditions de synthèse, telles que la concentration des réactifs, la température de calcination

ou la durée du processus, influençant ainsi l'évolution de la structure de la magnétite dans les nanocomposites.

Les variations de RMS sont plus prononcées pour la magnétite, oscillant entre 0,28 % pour l'échantillon 8 et 1,20 % pour les échantillons 2 et 4. Ces valeurs indiquent une hétérogénéité plus marquée dans la taille des cristallites de magnétite, notamment dans les échantillons présentant des RMS plus élevés. Les échantillons 6 et 8 affichent des RMS relativement faibles pour la magnétite (0,36 % et 0,28 %, respectivement), suggérant une meilleure régularité dans la distribution des cristallites de magnétite, tandis que les échantillons 2 et 4 montrent une plus grande dispersion, traduisant une structure cristalline moins homogène pour cette phase.

2.2.1.2.e Les indices de la qualité du raffinement

Les valeurs du paramètre Sig, comprises entre 1,158 et 1,359, traduisent un ajustement satisfaisant. En théorie, un Sig idéal se rapproche de 1 ; les écarts observés, légèrement supérieurs, suggèrent soit une surestimation marginale de l'erreur expérimentale, soit de faibles imperfections dans l'ajustement du modèle. Toutefois, ces valeurs demeurent parfaitement acceptables.

Le facteur Rwp varie entre 3,26 % et 3,892 %, des valeurs nettement inférieures au seuil de 10 % généralement considéré comme très bon pour des données de diffraction sur poudre standards. De même, le facteur de Bragg (Rb) se situe entre 2,53 % et 3,061 %, ce qui correspond à un ajustement de haute qualité des intensités diffractées associées aux pics de Bragg, la plage optimale étant comprise entre 2 % et 5 %.

Enfin, les valeurs de Rexp, comprises entre 2,67 % et 2,862 %, apparaissent légèrement inférieures aux Rwp, ce qui est attendu. L'écart réduit entre Rwp et Rexp confirme ainsi la robustesse et la fiabilité des ajustements réalisés.

2.2.2 Propriétés morphologiques

L'analyse des échantillons synthétisés avec fructose, réalisée par MEB-FEG et EDS, permet une caractérisation détaillée de la morphologie, de la distribution des phases et de la composition élémentaire des nanocomposites. Les images MEB-FEG révèlent des structures

faiblement agglomérées dans l'ensemble, avec quelques zones montrant des regroupements modérés probablement attribuées à la calcination, avec des particules de forme sphérique pour certaines et des structures irrégulières pour d'autres, présentant des dimensions nanométriques comprises entre 15 et 20 nm. Ces observations suggèrent une croissance cristalline maîtrisée, en accord avec les caractéristiques typiques des nanocomposites HAp/Fe₃O₄, où l'hydroxyapatite peut adopter des morphologies allongées ou amorphes, tandis que Fe₃O₄ tend à former des structures sphériques (287). Ces observations sont globalement en accord avec celles rapportées par Hai et al. (2023), qui ont étudié un nanocomposite similaire à base d'hydroxyapatite et de nanoparticules superparamagnétiques d'oxyde de fer (SPION) pour l'adsorption du colorant Rouge de Congo. Dans leur étude, les images MEB montrent des agglomérats sphéroïdaux et densément empilés, où les particules de Fe₃O₄ apparaissent également sous forme quasi-sphérique, avec un diamètre moyen de l'ordre de 15–25 nm, ce qui est très proche des dimensions observées dans mes échantillons. Les auteurs notent également la présence de structures plus dispersées ou filamenteuses, correspondant à la phase apatitique, confirmant ainsi la tendance de l'HAp à cristalliser en morphologies irrégulières ou allongées, en fonction de l'environnement réactionnel (287).

Par ailleurs, Hai et al. soulignent que la nature du procédé de synthèse et notamment l'utilisation de surfactants ou de stabilisants naturels peut influencer l'agencement et la répartition des deux phases. Dans mon cas, l'utilisation du fructose comme agent réducteur et stabilisant semble jouer un rôle similaire à celui des agents de surface mentionnés dans leur étude, en limitant la croissance excessive des grains tout en maintenant une distribution relativement homogène des phases. Le contraste de densité observé au MEB dans certains domaines pourrait également refléter la coexistence de Fe₃O₄ à haute densité électronique et d'HAp plus légère, comme cela a été discuté par Hai et al. dans leur interprétation croisée MEB–EDS.

De plus, la structure observée est granuleuse et poreuse, ce qui peut favoriser une meilleure interaction avec l'environnement biologique ainsi qu'avec les molécules thérapeutiques, en facilitant leur adsorption et leur libération contrôlée.

Les images en contraste de composition obtenues en mode CBS montrent une répartition claire entre les phases : les zones brillantes correspondent à la magnétite (Fe₃O₄), tandis que les zones sombres dominantes sont attribuées à l'hydroxyapatite (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂).

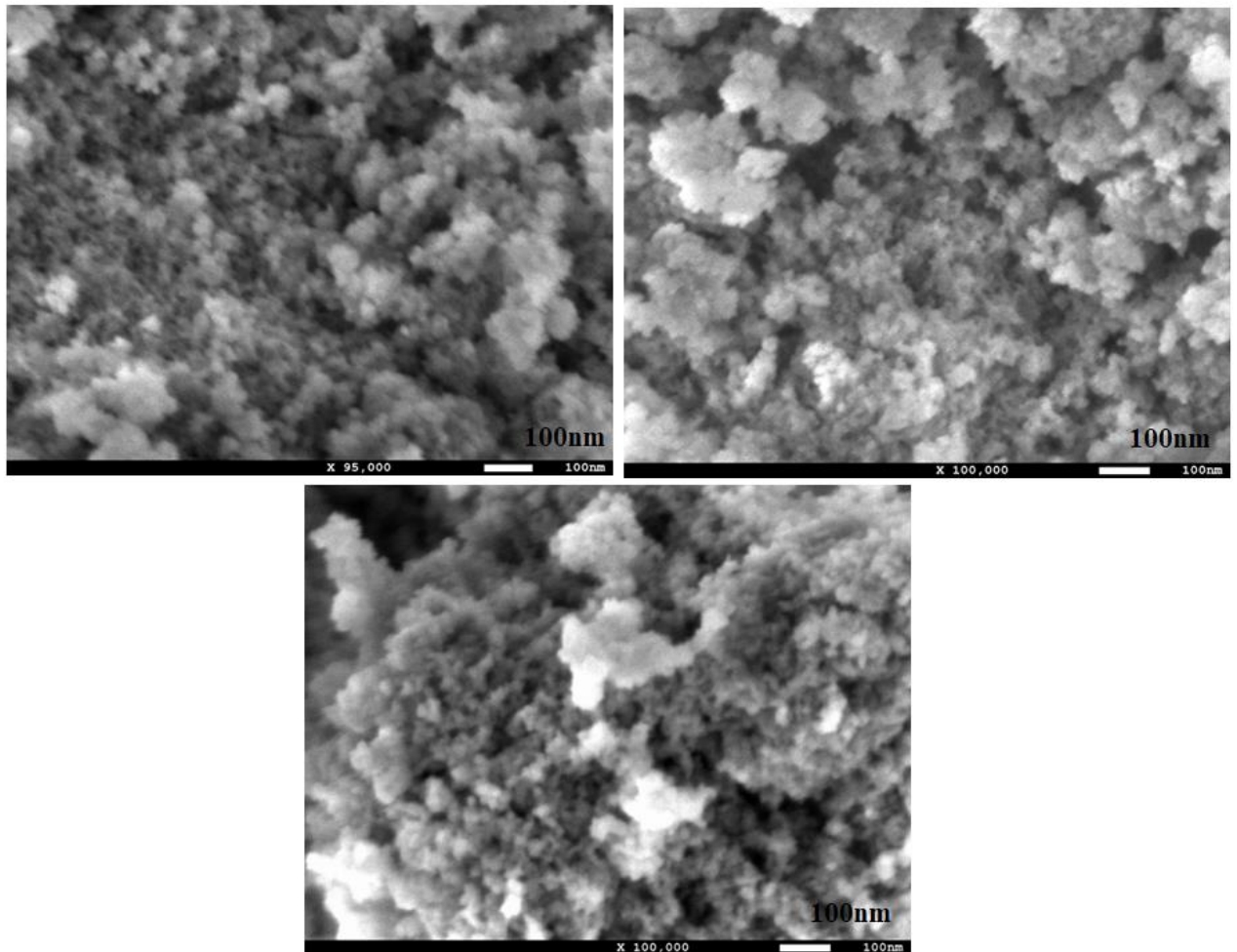


Figure 40: Analyse morphologique par MEB FEG des nanocomposites synthétisés avec fructose.

La prédominance des zones sombres indique une majoration d'hydroxyapatite dans les échantillons, soutenue par la cartographie obtenue par EDS (figure 42) qui montre une répartition homogène des éléments calcium (53%), phosphore (31%), oxygène (13%) et fer (2%). La faible proportion de fer suggère une incorporation secondaire de magnétite, contribuant aux propriétés magnétiques des nanocomposites tout en conservant la structure majoritaire de l'hydroxyapatite. L'intégration réussie de ces phases et éléments dans un matériau nanométrique démontre l'efficacité du fructose dans la synthèse de nanocomposites aux propriétés biomédicales et fonctionnelles optimisées.

L'analyse par spectroscopie de dispersion d'énergie des rayons X (EDS), réalisée en complément des observations en microscopie électronique à balayage, permis d'identifier les

éléments constitutifs du nanocomposite HAp/Fe₃O₄ et de confirmer leur répartition dans la matrice

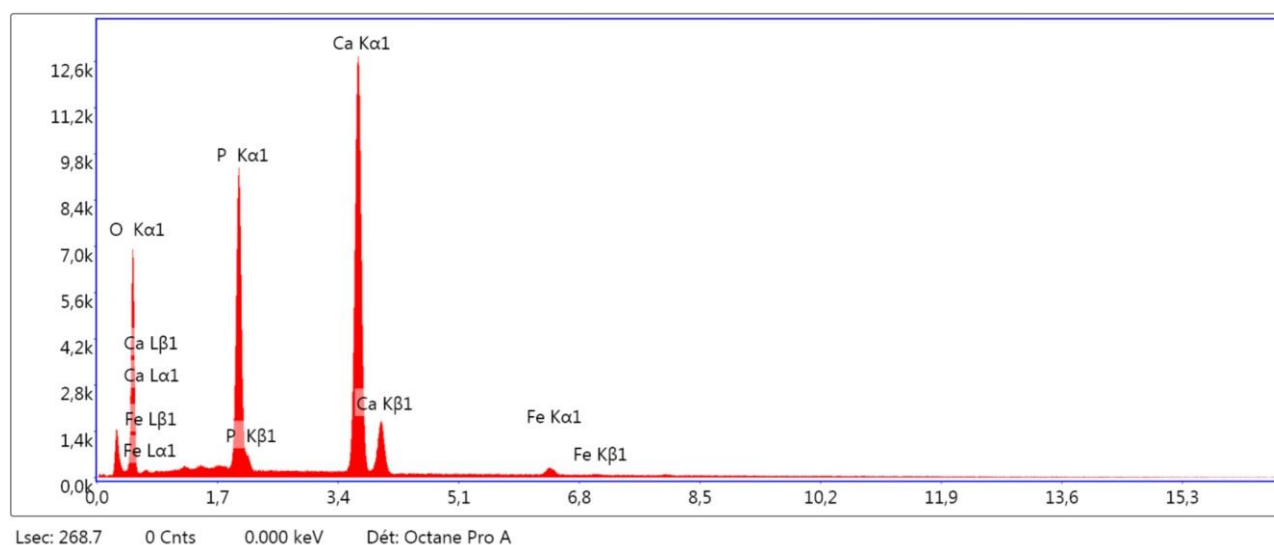


Figure 41: Spectre EDS des nanocomposite synthétisé à base de fructose.

Les résultats de l'analyse élémentaire par EDS des différents nanocomposites synthétisés sont regroupés dans le tableau suivant, mettant en évidence les pourcentages atomiques des éléments majeurs (O, P, Ca, Fe) ainsi que le rapport molaire Ca/P caractéristique de la phase apatite.

Tableau 11: Composition élémentaire des nanocomposites à base de fructose et rapport Ca/P.

Ncp	% atomique O	% atomique P	% atomique Ca	% atomique Fe	Rapport Ca/P
F1	84,80	6,43	8,64	0,12	1.34
F2	48,83	19,08	31,65	0,44	1.66
F3	79,17	9,25	11,44	0,13	1.24
F4	81,97	7,12	10,84	0,06	1.52
F5	78,33	9,95	11,51	0,21	1.16
F6	82,84	6,86	10,20	0,10	1.49
F7	82,83	7,25	9,81	0,12	1.35
F8	78,57	9,16	12,01	0,26	1.31

L'analyse des compositions atomiques et du rapport Ca/P des nanocomposites synthétisés avec fructose fournit des informations importantes sur la stœchiométrie et les phases présentes dans chaque échantillon. En se basant sur les données obtenues, plusieurs observations pertinentes peuvent être faites.

1. **Oxygène (O) :** La concentration en oxygène varie considérablement d'un échantillon à l'autre, avec des valeurs allant de 48,83 % (échantillon 2) à 84,80 % (échantillon 1). Cette variation pourrait être attribuée à la présence de composés oxygénés différents dans les échantillons, tels que l'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) et la magnétite (Fe_3O_4), qui contiennent de l'oxygène dans leurs structures cristallines. L'hydroxyapatite, étant un matériau fortement oxygéné, contribue de manière significative à la concentration en oxygène dans les échantillons. La magnétite, bien qu'elle contienne de l'oxygène sous forme de liaisons Fe-O, peut également influencer cette concentration, bien que dans une moindre mesure en raison de sa faible proportion.
2. **Phosphore (P) :** Le phosphore présente une concentration relativement variable, allant de 6,43 % (échantillon 1) à 19,08 % (échantillon 2). Le phosphore est un élément clé de la formation de l'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), et cette variation indique que la proportion de cette phase dans les échantillons peut être influencée par le rapport entre les réactifs utilisés lors de la synthèse. L'échantillon 2, avec un pourcentage élevé de phosphore, pourrait être celui dans lequel l'hydroxyapatite est le plus abondant.
3. **Calcium (Ca) :** La concentration en calcium varie entre 8,64 % (échantillon 1) et 31,65 % (échantillon 2). Le calcium est un élément constitutif majeur de l'hydroxyapatite, et cette variation peut indiquer une présence plus marquée de cette phase dans certains échantillons. Les échantillons présentant des valeurs élevées de calcium, comme l'échantillon 2, sont susceptibles de contenir une proportion plus élevée d'hydroxyapatite, alors que ceux avec des concentrations plus faibles peuvent présenter une plus grande diversité de phases ou de cristaux.
4. **Fer (Fe) :** Les pourcentages de fer sont relativement faibles, variant de 0,06 % (échantillon 4) à 0,44 % (échantillon 2), ce qui suggère que la magnétite (Fe_3O_4) est présente en faibles quantités dans ces échantillons. Étant donné la faible concentration de fer, l'impact de la magnétite sur les propriétés magnétiques des échantillons est probablement limité.
5. **Rapport Ca/P :** Le rapport entre le calcium et le phosphore est un paramètre crucial pour l'identification de l'hydroxyapatite. Pour un hydroxyapatite stœchiométrique, ce rapport est idéalement de 1,67. L'examen des rapports Ca/P dans les échantillons montre des valeurs variant de 1,16 (échantillon 5) à 1,66 (échantillon 2), ce qui indique une composition proche de celle de l'hydroxyapatite pour la majorité des échantillons, bien que certains présentent un rapport légèrement inférieur. Les échantillons avec un rapport

Ca/P plus proche de 1,67 (échantillon 2 et échantillon 4) suggèrent une meilleure stœchiométrie et une prépondérance de l'hydroxyapatite, tandis que ceux avec un rapport inférieur (échantillon 1 et échantillon 5) pourraient contenir davantage de phases secondaires ou des défauts dans la structure cristalline.

L'analyse EDS menée dans cette étude a confirmé la présence des éléments caractéristiques des deux phases : le calcium, le phosphore et l'oxygène pour l'hydroxyapatite, ainsi que le fer pour la magnétite. Leur répartition spatiale s'avère cohérente avec les zones d'intérêt morphologiques identifiées. Ces observations concordent avec les résultats rapportés par Hai et al.(2023), qui ont également mis en évidence une co-localisation élémentaire comparable dans les régions où les deux phases s'entrecroisent.

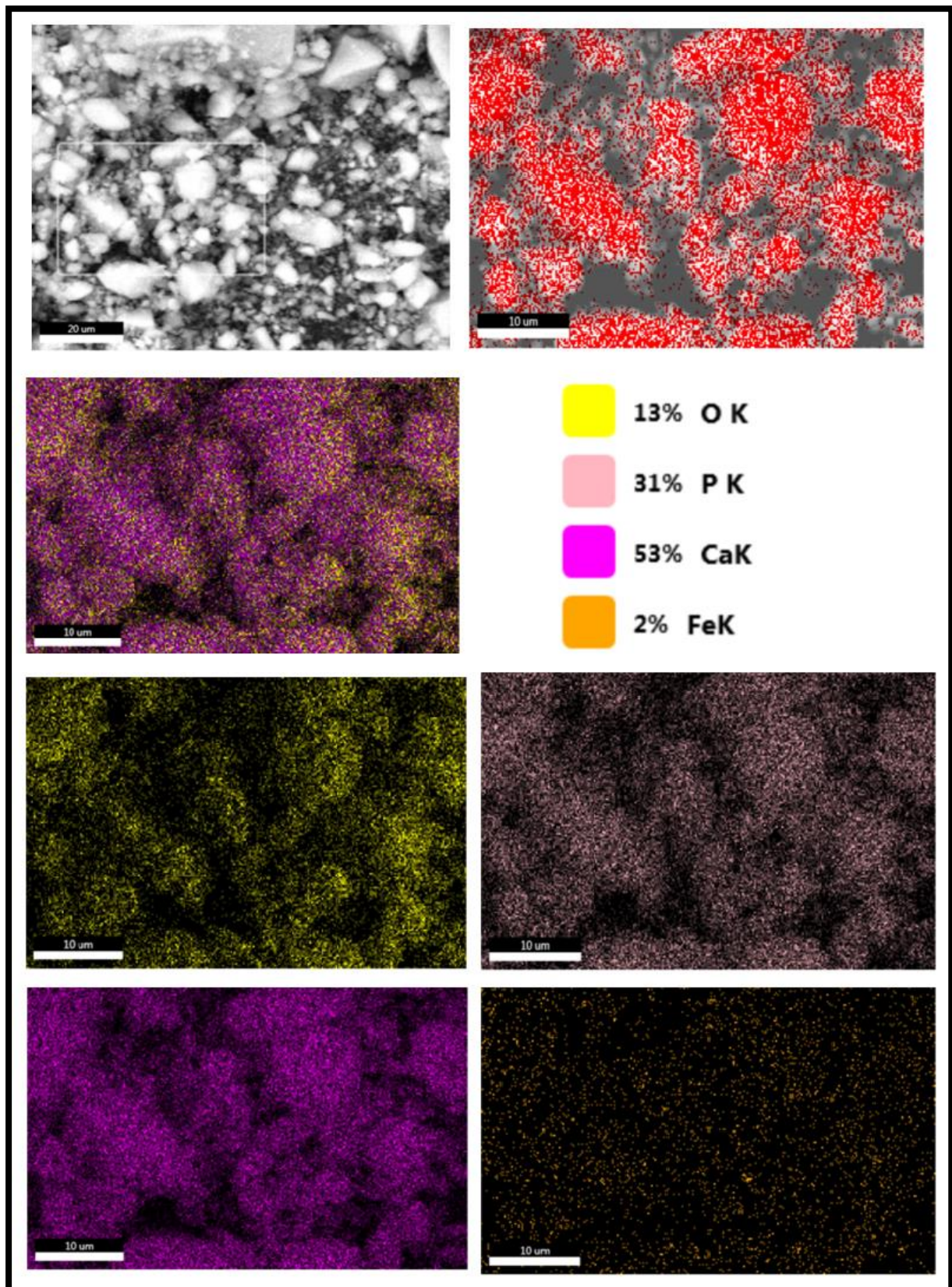


Figure 42: Cartographie de la distribution élémentaire des nanocomposites par EDS.

Les images MEB des nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine (Figures 43) révèlent une morphologie plus grossière et hétérogène, marquée par une forte agglomération des particules. Contrairement aux structures plus homogènes observées pour les nanocomposites obtenus avec le fructose, ces échantillons présentent des agrégats de tailles variables et une texture irrégulière, suggérant une croissance cristalline moins contrôlée.

L'organisation des particules semble plus dense et désordonnée, ce qui pourrait résulter d'une coalescence accrue au cours de la synthèse. Cette tendance à l'agglomération peut être attribuée à un effet moindre de stabilisation des précurseurs minéraux par le galactose et la pectine, entraînant une formation moins uniforme des nanostructures. Toutefois, il est important de noter que l'utilisation d'un MEB conventionnel, plutôt qu'un MEB FEG, pourrait influencer la perception de cette morphologie en raison d'une résolution plus limitée. Une analyse à plus haute résolution pourrait révéler des détails plus fins sur l'arrangement des particules et la distribution des phases.

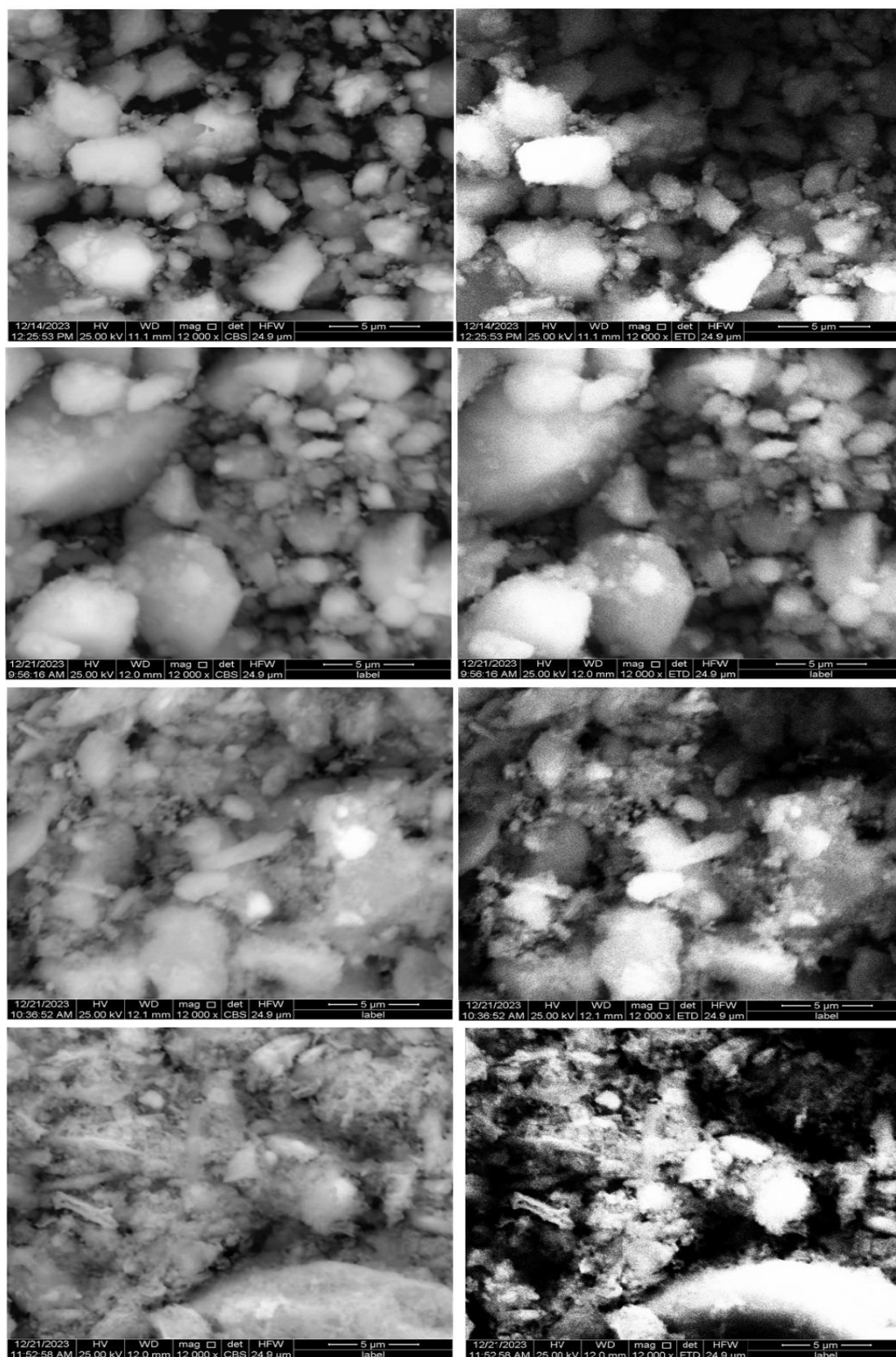


Figure 43: Morphologie des nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine observée en MEB (détecteurs ETD et CBS).

2.2.3 Propriétés magnétiques

L'analyse des propriétés magnétiques des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine, réalisée par VSM, révèle des comportements similaires caractérisés par une magnétisation à saturation, une coercivité et une rétentivité nettement inférieures à celles de la magnétite pure (Fe_3O_4), dont la magnétisation à saturation (M_s) mesurée à 300 K atteint $61,414 \text{ uem.g}^{-1}$, en accord avec les valeurs rapportées dans la littérature (284,288,289). La magnétisation à saturation (M_s) mesurée pour la magnétite pure (Fe_3O_4) dans cette étude atteint $61,414 \text{ uem.g}^{-1}$ à 300 K. Cette valeur est élevée et caractéristique d'une bonne cristallinité, d'un équilibre $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ optimal et d'une taille cristalline bien contrôlée, inférieure à la limite de transition superparamagnétique. Ce résultat est en accord avec la littérature, notamment avec Pietrzyk et al. (2022), qui rapportent une M_s de $60,89 \text{ uem.g}^{-1}$ pour des nanoparticules de Fe_3O_4 non dopées, synthétisées par coprécipitation. Leur étude montre également une augmentation progressive de M_s avec le dopage au zinc, atteignant $68,72 \text{ uem.g}^{-1}$ à 10 % Zn, ce qui est attribué à une meilleure organisation des moments magnétiques dans la structure (284).

Dagdelen et al. (2023) rapportent quant à eux une M_s de 86 uem.g^{-1} pour des nanoparticules de Fe_3O_4 non modifiées intégrées dans des microgels. Cette valeur supérieure reflète probablement une cristallinité optimisée et une taille légèrement plus grande, renforçant la réponse magnétique nette (288). De même, Osial et al. (2022) mesurent une M_s de 82 uem/g dans des suspensions magnéto-rhéologiques contenant des nanoparticules de Fe_3O_4 bien dispersées (289). Ces deux études représentent des cas extrêmes d'optimisation où les particules sont parfaitement cristallisées, avec une faible densité de défauts de surface, ce qui maximise la M_s .

En revanche, dans l'étude de Mortazavi-Derazkola et al. (2017), la magnétisation à saturation de la magnétite pure est légèrement plus faible, avec une M_s de $57,42 \text{ uem/g}$. Ce résultat reste dans la plage acceptable pour des nanoparticules de Fe_3O_4 , mais peut refléter une structure un peu moins ordonnée ou une taille cristalline légèrement inférieure. Leur travail illustre également l'effet drastique de l'enrobage successif : la M_s chute à $24,5 \text{ uem/g}$ pour $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$, et à $4,36 \text{ uem/g}$ pour $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{HAp}$, démontrant clairement que l'encapsulation ou la formation de nanocomposites dilue significativement le signal magnétique (130).

Par conséquent, la valeur de M_s de 61,414 uem/g obtenue ici se situe dans une plage très respectable, conforme aux meilleures synthèses de magnétite pure non dopée. Elle constitue une référence solide pour comparer ensuite les effets induits par l'incorporation dans des matrices non magnétiques comme l'HAp dans les systèmes nanocomposites. Les variations constatées dans la littérature mettent en évidence le rôle crucial de la taille des cristallites, de la cristallinité, du dopage, et surtout de la présence de phases inertes qui diluent l'effet collectif magnétique.

Le tableau ci-dessous synthétise l'ensemble des paramètres magnétiques obtenus.

Tableau 12: Résultats des paramètres magnétiques.

Ncp	M_s (uem/g)	Hci (Oe)	Mr (uem/g)	RMS (uem/g)
F1	1,1836	19,557	46,682E-3	1,0883
F2	1,0734	24,671	54,873E-3	0,98627
F3	1,1222	24,715	55,805E-3	1,0321
F4	0,83555	25,326	42,949E-3	0,76718
F5	1,1445	24,158	52,568E-3	1,0481
F6	1,1284	25,762	61,477E-3	1,0360
F7	1,1825	23,706	57,764E-3	1,0832
F8	0,94709	24,693	48,600E-3	0,87032
G4	1,0576	25,596	55,736E-3	0,97127
G8	1,0836	30,411	65,891E-3	0,99105
P4	1,0840	54,476	87,677E-3	0,96495
P8	1,4785	55,429	0,12420	1,3038
Fe ₃ O ₄	61,414	23,629	2,8028	56,423

Ces résultats indiquent la présence d'une phase magnétique faiblement concentrée au sein d'une matrice majoritairement composée d'hydroxyapatite dans les nanocomposites synthétisés avec fructose, et d'apatite pour ceux obtenus avec galactose et pectine. Cette configuration structurelle entraîne une atténuation des propriétés magnétiques globales. L'analyse comparative des données met en évidence des différences notables entre les nanocomposites F, G et P en termes de M_s , Hci et Mr, ces variations étant directement corrélées à la proportion et à la distribution des phases magnétiques (Fe₃O₄) et non magnétiques (hydroxyapatite ou apatite).

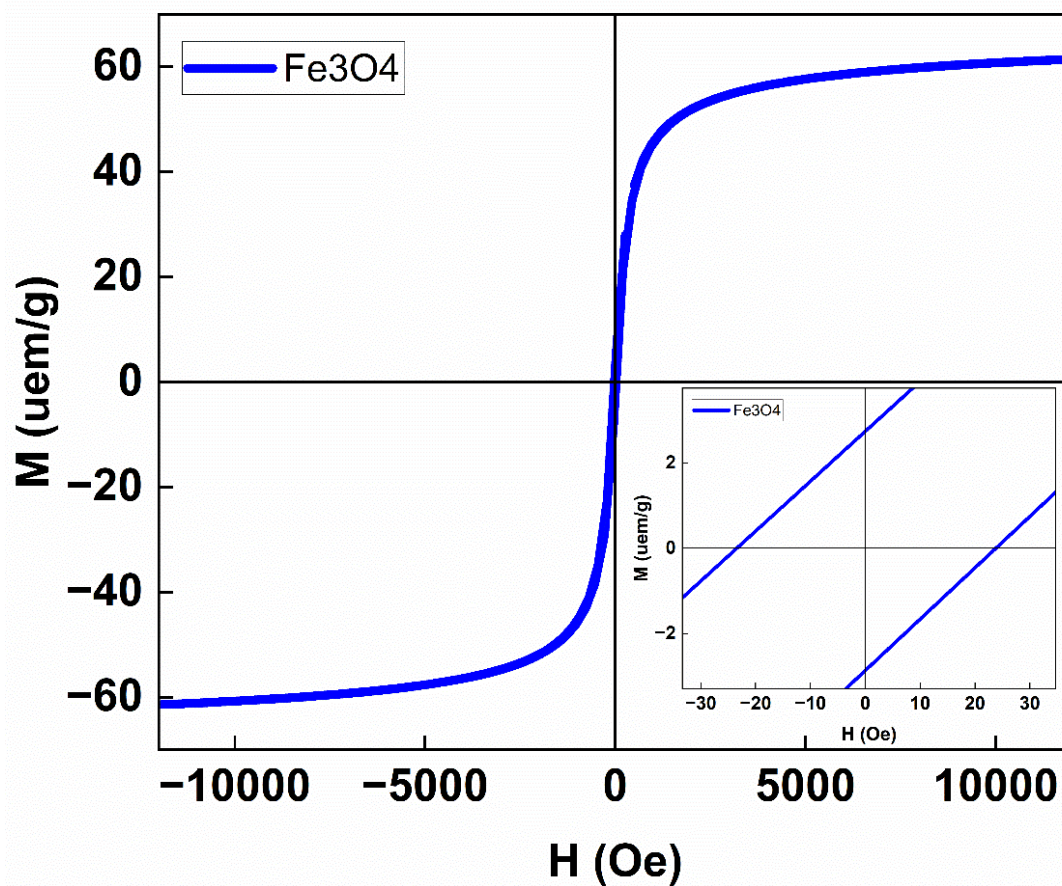


Figure 44: Hystérésis de la magnétite pure.

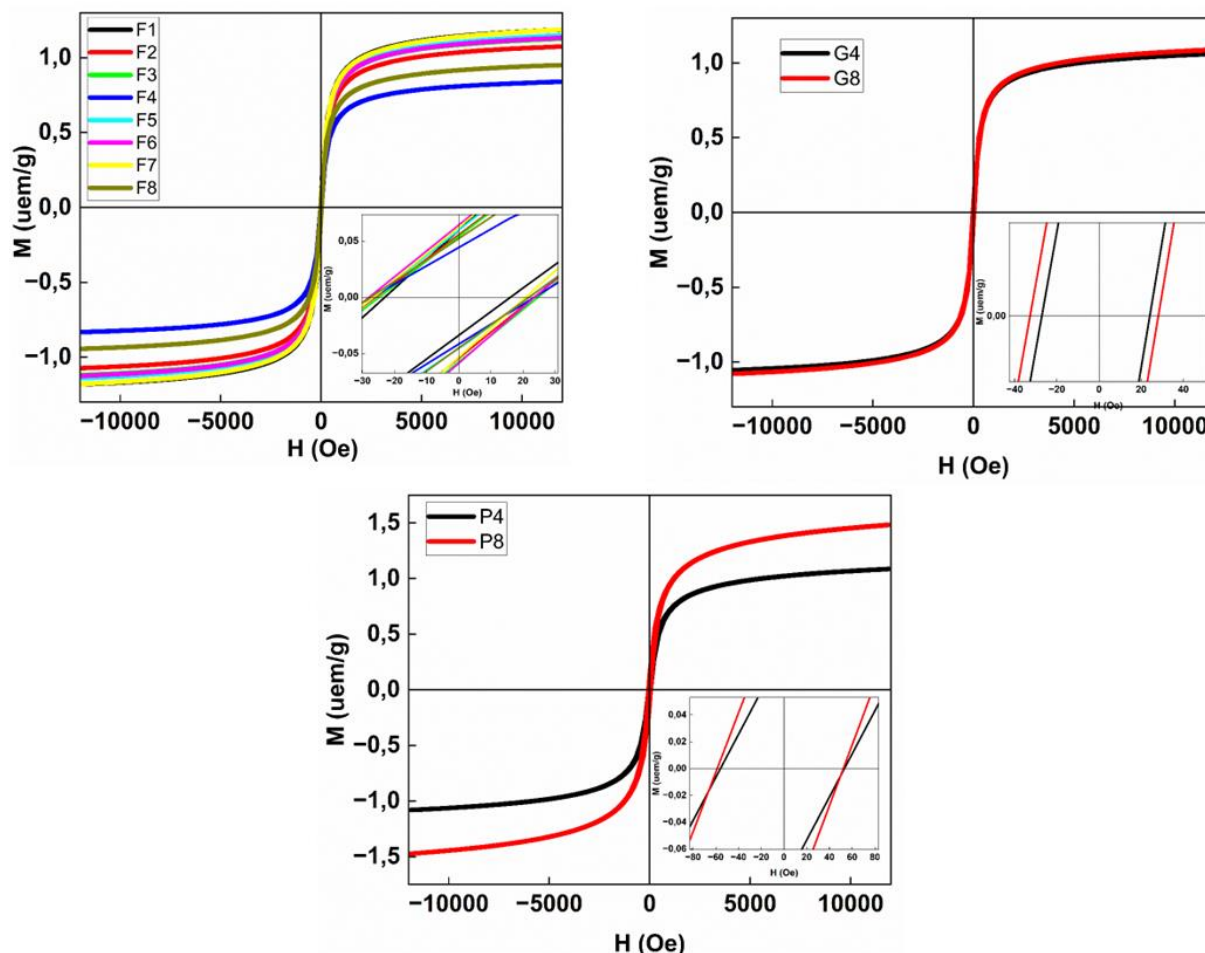


Figure 45: Hystérésis des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine.

2.2.3.1 Magnétisation à saturation (M_s)

La magnétisation à saturation des nanocomposites varie entre 0,83555 uem/g et 1,1836 uem/g pour les échantillons synthétisés avec fructose, entre 1,0576 uem/g et 1,0836 uem/g pour ceux avec galactose, et atteint des valeurs plus élevées, jusqu'à 1,4785 uem/g pour les échantillons synthétisés avec pectine. Ces valeurs restent considérablement inférieures à celle de la magnétite pure (61,414 uem/g), ce qui met en évidence une forte dilution de la phase magnétique au sein de la matrice non magnétique, majoritairement composée d'hydroxyapatite pour les nanocomposites synthétisés avec fructose et d'apatite pour ceux obtenus avec galactose et pectine.

Cette réduction significative de la magnétisation à saturation traduit une interaction significative entre les particules de magnétite et la matrice non magnétique (hydroxyapatite ou apatite), qui peut limiter l'alignement des moments magnétiques sous l'effet d'un champ externe. En effet, l'encapsulation des nanoparticules magnétiques dans la phase non magnétique peut induire une dilution de l'effet dipolaire et restreindre les interactions d'échange entre les grains magnétiques, réduisant ainsi l'aimantation globale du matériau.

Les nanocomposites synthétisés avec pectine présentent des valeurs de magnétisation à saturation légèrement plus élevées que ceux issus du fructose et du galactose, ce qui suggère soit une incorporation plus efficace des nanoparticules de magnétite dans la structure apatite, soit une meilleure dispersion de ces particules au sein de la matrice, favorisant un couplage magnétique plus important. Une distribution plus homogène des particules magnétiques peut minimiser les effets de couplage dipolaire défavorable et permettre une meilleure réponse magnétique. Toutefois, ces valeurs restent largement en deçà de celles de la magnétite pure, confirmant que la fraction volumique de magnétite demeure faible et que l'effet global est principalement influencé par la phase apatite, qui domine les propriétés structurales et magnétiques des nanocomposites.

2.2.3.2 Coercivité (H_{ci})

Les valeurs de coercivité des nanocomposites synthétisés avec fructose, comprises entre 19,557 Oe et 25,762 Oe, restent proches de celle de la magnétite pure (23,629 Oe), indiquant que la taille des nanoparticules magnétiques et leurs interactions restent relativement similaires à celles d'un matériau faiblement contraint. La légère augmentation observée dans les échantillons synthétisés avec galactose, atteignant 30,411 Oe, pourrait être attribuée à une diminution de la taille des particules de magnétite par rapport à la taille des particules non magnétique ou à une augmentation des interactions dipolaires entre celles-ci en raison d'une distribution plus homogène ou d'une meilleure dispersion au sein de la matrice apatite.

En revanche, les échantillons synthétisés avec pectine présentent des valeurs de coercivité significativement plus élevées (54,476 Oe – 55,429 Oe), traduisant une modification substantielle des propriétés magnétiques. Cette augmentation suggère une réduction de la taille des nanoparticules magnétiques, conformément à la relation entre la coercivité et l'inverse du

diamètre des particules dans le régime des tailles critiques. Par ailleurs, elle pourrait également résulter d'une augmentation des contraintes internes dans la structure cristalline de la magnétite, induites par la matrice apatite, limitant la mobilité des parois de domaines magnétiques. Une autre explication possible réside dans l'agglomération partielle des nanoparticules magnétiques, conduisant à des interactions d'échange plus fortes qui influencent la dynamique de renversement de l'aimantation.

2.2.3.3 Rétentivité (M_r)

La rétentivité, qui caractérise la capacité des nanocomposites à conserver une aimantation résiduelle après suppression du champ magnétique externe, suit une évolution en corrélation avec celle de la coercivité. Pour les échantillons synthétisés avec fructose et galactose, les valeurs de rétentivité restent relativement faibles ($42,949E-3$ uem/g à $65,891E-3$ uem/g), ce qui traduit une faible interaction magnétique entre les nanoparticules et suggère un comportement partiellement superparamagnétique. Ce phénomène est typique des systèmes dans lesquels les particules de magnétite possèdent une taille suffisamment réduite pour que l'énergie thermique soit comparable à l'énergie d'anisotropie magnétique, favorisant ainsi l'inversion aléatoire de l'aimantation en l'absence de champ appliqué.

À l'inverse, les échantillons synthétisés avec pectine présentent une rétentivité significativement plus élevée ($87,677E-3$ uem/g à $0,12420$ uem /g). Cette augmentation traduit un renforcement des interactions dipolaires entre particules magnétiques, résultant soit d'une meilleure dispersion et d'une densité plus élevée de la phase magnétique, soit d'une augmentation de la taille des cristallites de magnétite. Une plus grande rétentivité est souvent associée à un état dans lequel l'énergie d'anisotropie dépasse l'énergie thermique, conduisant à une stabilisation partielle de l'aimantation résiduelle. Par ailleurs, la matrice apatite, en influençant la répartition et l'environnement structural des nanoparticules de magnétite, pourrait contribuer à modifier l'état magnétique global du nanocomposite en limitant les fluctuations thermiques et en favorisant des interactions collectives entre particules voisines.

2.2.3.4 Symétrie des cycles d'hystérésis

Les boucles d'hystérésis des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine montrent une symétrie quasi parfaite entre les branches positives et négatives, indiquant une

distribution homogène des particules magnétiques au sein de la matrice d'hydroxyapatite. Cette symétrie est comparable à celle observée pour la magnétite pure, bien que la magnétisation soit drastiquement réduite. La combinaison d'une faible coercivité et d'une rétentivité quasi nulle confirme que ces nanocomposites conservent les caractéristiques de la magnétite tout en atténuant son aimantation globale, ce qui est essentiel pour des applications nécessitant un contrôle magnétique réversible et biocompatible.

2.2.3.5 Variabilité des tailles de cristallites et RMS

Les tailles de cristallites de magnétite dans les nanocomposites varient entre 2,45 nm et 74,5 nm, influençant directement leurs propriétés magnétiques. Dans ces nanocomposites, les particules de plus petite taille (≤ 20 nm) présentent un comportement superparamagnétique, tandis que celles de plus grande taille ($\sim 74,5$ nm) conservent une aimantation plus stable, bien que très inférieure à celle de la magnétite pure.

Le RMS (Root Mean Square) varie entre 0,87032 uem/g et 1,3038 uem/g, alors que pour la magnétite pure, il atteint 56,423 uem/g. Cette chute significative confirme la forte dilution de la phase magnétique, entraînant une dispersion modérée des valeurs de magnétisation. L'homogénéité des propriétés magnétiques est particulièrement notable dans les échantillons présentant des cristallites plus petites, qui offrent une meilleure stabilité et une interaction plus uniforme avec la matrice hôte.

2.2.3.6 Effet des agents stabilisants sur les propriétés magnétiques

Les variations observées entre les nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine peuvent être attribuées aux différences dans l'interaction entre la magnétite et la matrice non magnétique (hydroxyapatite ou apatite), influencées par la nature des agents stabilisants utilisés lors de la synthèse.

Les nanocomposites synthétisés avec fructose et galactose présentent des propriétés magnétiques très proches, avec une faible M_s et H_{ci} modérée, suggérant une dispersion relativement homogène des nanoparticules de magnétite dans la matrice hôte.

Les nanocomposites synthétisés avec pectine affichent une coercivité plus élevée et une rétentivité accrue, ce qui indique soit une plus forte contrainte structurale exercée sur les nanoparticules de magnétite, soit une agglomération plus importante des particules magnétiques.

2.2.4 Propriétés structurales et fonctionnelles

Les spectres FTIR des nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine mettent en évidence des différences spectrales révélatrices de variations dans leur composition chimique et leur structure. Ces différences résultent de l'influence d'agent stabilisant utilisé lors de la synthèse, affectant la formation des phases minérales, la présence de carbonates et de magnétite, ainsi que d'éventuels résidus organiques. L'analyse des bandes spectrales permet ainsi d'identifier les groupes fonctionnels présents et d'évaluer les interactions entre hydroxyapatite et magnétite.

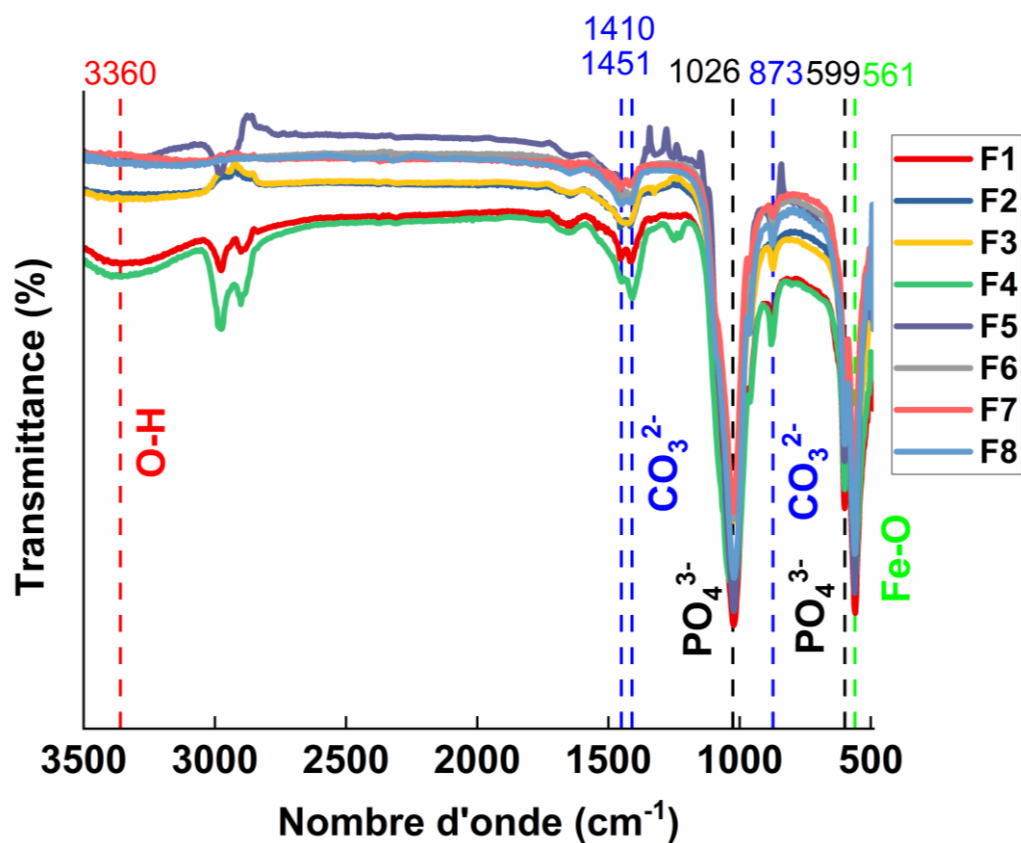


Figure 46: Spectres infrarouges des nanocomposites synthétisés avec fructose.

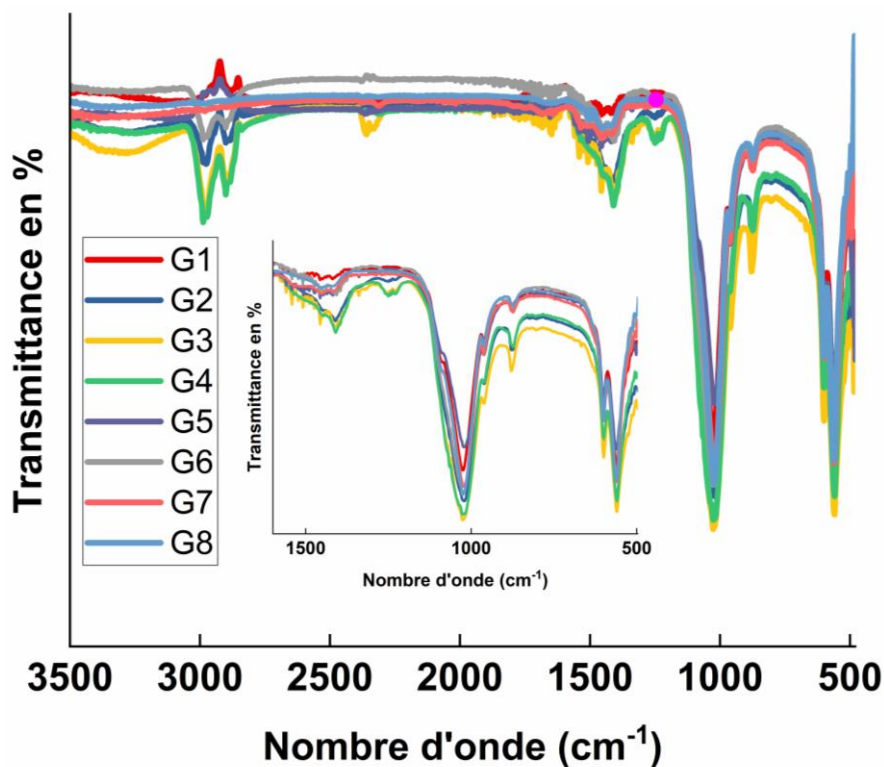


Figure 47: Spectres infrarouges des nanocomposites synthétisés avec galactose.

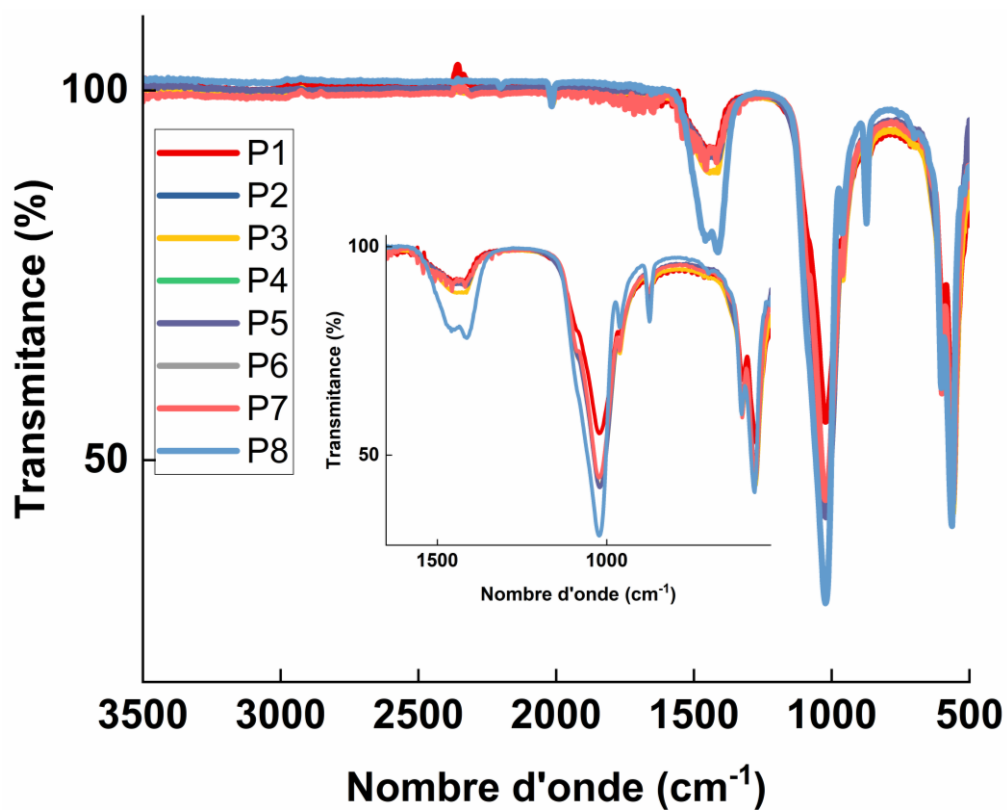


Figure 48: Spectres infrarouges des nanocomposites synthétisés avec pectine.

Dans tous les nanocomposites, les pics caractéristiques observés autour de 561 cm^{-1} et 599 cm^{-1} sont associés aux vibrations de déformation des liaisons Fe-O. Ces bandes indiquent la présence d'oxydes de fer, principalement sous forme de magnétite (Fe_3O_4) ou d'hématite (Fe_2O_3), qui sont des composants essentiels des nanocomposites étudiés. La constance de ces pics à travers tous les échantillons confirme la présence stable des phases d'oxydes de fer dans les différents nanocomposites. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux rapportés par Hai et al. (2023), qui ont étudié un nanocomposite HAp/ Fe_3O_4 destiné à l'adsorption de colorants organiques. Dans leur analyse FTIR, les auteurs observent des bandes typiques autour de 570 cm^{-1} et 590 cm^{-1} , qu'ils attribuent à la vibration d'élongation Fe-O dans la structure spinelle de la magnétite. Leur interprétation confirme que ces bandes sont des marqueurs fiables de la présence de Fe_3O_4 , même en phase dispersée dans une matrice composite, et que leur intensité peut légèrement varier en fonction de la proportion de la phase magnétique

De manière complémentaire, Jamshidiyan et al. (2017), qui ont synthétisé des nanoparticules de Fe_3O_4 par voie solvothermale en modifiant les sources de sel de sodium, ont également identifié une bande large et intense autour de 580 cm^{-1} dans tous leurs échantillons. Cette bande, commune à toutes les variantes synthétiques testées, est clairement attribuée à la vibration de la liaison Fe-O et constitue un critère essentiel de confirmation structurale de la magnétite. Ils soulignent également que cette bande est peu affectée par la morphologie ou le traitement thermique, ce qui confirme sa robustesse en tant que signature vibratoire de la phase magnétique. Ainsi, les bandes FTIR observées à ~ 561 et $\sim 599\text{ cm}^{-1}$ dans notre étude s'inscrivent dans la plage spectrale typique des vibrations Fe-O rapportées dans la littérature et confirment de manière solide la présence effective et stable de la phase magnétique dans tous les nanocomposites. Cette stabilité est essentielle pour garantir le comportement magnétique des matériaux, et elle corrobore les résultats obtenus par VSM et DRX (287,290).

La Bande à 873 cm^{-1} est typiquement attribuée à la vibration des groupements carbonates (CO_3^{2-}), plus précisément à l'absorption du mode ν_2 des carbonates substituant les groupements hydroxyles (type B) dans l'apatite carbonatée. Sa présence dans les nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine confirme la formation d'une apatite carbonatée, suggérant une incorporation partielle des carbonates dans le réseau cristallin de l'apatite. En revanche, pour les nanocomposites issus du fructose, cette bande est moins marquée, indiquant une

incorporation plus limitée des carbonates et suggérant la formation d'une hydroxyapatite plus proche de la phase pure.

La bande à 1026 cm^{-1} est associée aux vibrations d'élongation asymétrique des groupements phosphates (PO_4^{3-}), typiques de la structure de l'hydroxyapatite et de l'apatite carbonatée. Son intensité et sa position légèrement variable entre les nanocomposites traduisent des différences dans la cristallinité et la composition des phases apatitiques formées. Pour les nanocomposites issus du fructose, cette bande est bien définie, confirmant la présence de l'hydroxyapatite. Ce comportement est en parfait accord avec les observations de Nam et al. (2015), qui ont étudié l'électrodéposition d'hydroxyapatite sur des substrats métalliques. Ils rapportent une bande PO_4^{3-} intense et étroite autour de 1030 cm^{-1} , caractéristique d'un dépôt d'HAp de haute cristallinité. La proximité des valeurs spectrales confirme la similarité structurale des phases apatitiques obtenues. Dans les nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine, un léger élargissement et un décalage peuvent être observés, ce qui est caractéristique de la substitution partielle des phosphates par les carbonates, cohérent avec la nature de l'apatite carbonatée identifiée dans ces systèmes (291,292).

Ce comportement est typique des apatites carbonatées, comme décrit dans l'étude de Antonakos et al. (2007), qui ont comparé des échantillons naturels et synthétiques d'apatite. Ils montrent que la substitution de PO_4^{3-} par CO_3^{2-} dans la maille induit :

- un élargissement des bandes ν_2 ($1020\text{--}1040\text{ cm}^{-1}$),
- un décalage vers les basses fréquences,
- et une perte de symétrie spectrale liée à la distorsion de l'environnement local des groupements phosphate.

Ce phénomène est pleinement cohérent avec la structure des échantillons préparés à base de galactose et pectine, dans lesquels la présence de groupements carboxyliques ou hydroxyles des sucres utilisés comme agents de structuration peut favoriser l'incorporation de carbonates dans la maille apatitique, au détriment des groupements phosphate.

Ces observations corroborent les résultats obtenus par DRX et confirment que les conditions de synthèse influencent la nature de l'apatite formée, avec une hydroxyapatite majoritaire dans les

nanocomposites issus du fructose, tandis que ceux issus du galactose et de la pectine conduisent à une apatite carbonatée.

Les bandes situées entre 1410 cm^{-1} et 1456 cm^{-1} jouent un rôle clé dans l'identification des groupements carbonates (CO_3^{2-}) présents dans les nanocomposites synthétisés avec fructose, galactose et pectine. Leur présence et leur intensité permettent de distinguer les différentes formes d'apatite présentes dans les échantillons et d'évaluer le degré de substitution des phosphates par les carbonates dans la structure de l'apatite.

Dans les nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine, ces bandes sont bien marquées et indiquent une apatite carbonatée, où une substitution partielle des ions phosphates (PO_4^{3-}) par les ions carbonates (CO_3^{2-}) a eu lieu. Cette incorporation des carbonates dans la structure cristalline modifie légèrement la symétrie des groupements phosphates, ce qui peut entraîner un élargissement et un léger déplacement des bandes d'absorption.

Dans les nanocomposites synthétisés avec fructose, les bandes restent visibles mais avec une intensité plus faible comparée aux composites issus du galactose et de la pectine. Cela suggère une faible incorporation des carbonates, confirmant ainsi la présence majoritaire d'une hydroxyapatite pure ou faiblement carbonatée. Cette différence indique que les conditions de synthèse spécifiques au fructose limitent la substitution des groupements phosphates par les carbonates, contrairement aux systèmes utilisant galactose et pectine. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Benataya et al. (2020), qui ont synthétisé une hydroxyapatite carbonatée de type B par dissolution-précipitation. Ils montrent que l'intensité des bandes CO_3^{2-} autour de 1450 cm^{-1} est directement corrélée au degré de substitution des groupements PO_4^{3-} par les carbonates. Dans leurs matériaux faiblement carbonatés, ces bandes apparaissent peu marquées, comme c'est le cas dans les systèmes fructose de cette étude. Cela indique que les conditions de synthèse utilisées, notamment la température, et la nature du sucre, influencent fortement la substitution ionique.

En revanche, dans les nanocomposites à base de galactose et pectine, ces bandes sont plus intenses, larges et mieux définies, ce qui indique une substitution significative des groupes phosphates par des carbonates. Ce comportement est comparable aux observations faites par Anutrasakda et al. (2021), qui ont étudié l'effet du rapport $\text{CO}_3^{2-} / \text{PO}_4^{3-}$ sur la structure et les propriétés de l'apatite. Ils démontrent qu'un rapport élevé conduit à une intensification des

bandes carbonatées, à une diminution de la cristallinité, et à des modifications morphologiques notables, tendances également observées dans les systèmes galactose et pectine.

Par ailleurs, Abifarín et al. (2019), qui ont caractérisé des hydroxyapatites issues de déchets biologiques, notent que la présence accrue de carbonates est systématiquement associée à un élargissement des bandes PO_4^{3-} et à une distorsion de la structure apatitique, ce qui corrobore les observations spectroscopiques effectuées sur les échantillons synthétisés à partir de galactose et de pectine dans la présente étude.

Enfin, les travaux de Landi et al. (2004), portant sur l'influence des paramètres de synthèse sur les apatites carbonatées, confirment que des conditions douces, comme celles associées à l'utilisation du fructose, tendent à limiter l'incorporation carbonatée. En revanche, des précurseurs riches en fonctions acides ou hydroxyles, comme le galactose ou la pectine, favorisent l'intégration du CO_3^{2-} en substitution du PO_4^{3-} , modifiant à la fois la cristallinité et la signature vibratoire de la phase formée (293–296).

L'intensité plus marquée de ces bandes dans les nanocomposites issus du galactose et de la pectine suggère une influence de ces agents réducteurs sur l'incorporation des carbonates, probablement en modifiant le pH ou les conditions de précipitation de l'apatite. En revanche, dans les échantillons dérivés du fructose, la faible intensité de ces bandes est cohérente avec la formation d'une hydroxyapatite plus proche de sa forme pure, avec une incorporation limitée des carbonates.

Ces résultats sont en accord avec les observations faites sur les bandes à 873 cm^{-1} et 1026 cm^{-1} , confirmant que les nanocomposites issus du galactose et de la pectine sont des apatites carbonatées, tandis que ceux issus du fructose présentent une hydroxyapatite avec une incorporation minimale des carbonates.

Les bandes comprises entre 2885 cm^{-1} et 2976 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'élongation des liaisons C–H des résidus organiques, sont nettement plus marquées pour les nanocomposites synthétisés avec fructose et galactose, alors qu'elles sont absentes dans ceux à base de pectine. La persistance de ces bandes dans les échantillons issus du fructose et du galactose suggère une rétention partielle de résidus carbonés après la synthèse, probablement en raison d'une interaction plus forte avec la phase minérale. En revanche, leur absence dans

les nanocomposites obtenus à partir de la pectine indique une élimination complète des résidus organiques, ce qui pourrait être dû à une meilleure dégradation thermique des agents stabilisants ou à des différences dans les interactions organo-minérales au cours de la synthèse (259).

Les bandes situées entre 3280 cm^{-1} et 3360 cm^{-1} sont caractéristiques des vibrations d'élongation des liaisons O–H, indiquant la présence de groupements hydroxyles (OH^-) dans les nanocomposites. Ces bandes sont observées dans tous les échantillons, ce qui confirme l'incorporation de ces groupes dans la structure des phases minérales présentes. Cependant, leur intensité diffère selon l'agent stabilisant organique utilisé, ce qui traduit des variations dans la composition des phases hydroxylées et leur environnement structural (297).

Pour les nanocomposites issus du fructose (Hydroxyapatite et Magnétite), l'intensité des bandes dans cette région est plus marquée dans les échantillons synthétisés avec le fructose, ce qui indique une forte présence de groupes hydroxyles (OH^-). Cette observation est cohérente avec la formation d'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), où les groupes hydroxyles sont une composante essentielle de la structure cristalline.

La forte intensité des bandes pourrait également suggérer que l'hydroxyapatite est moins carbonatée, car une substitution des OH^- par des carbonates (CO_3^{2-}) dans une apatite carbonatée entraîne généralement une diminution de l'intensité des bandes OH^- .

Pour les nanocomposites issus du galactose et de la pectine (Apatite carbonatée et Magnétite), les bandes dans la région $3280\text{ cm}^{-1} - 3360\text{ cm}^{-1}$ sont moins intenses que dans ceux issus du fructose. Cette atténuation est attribuable à la substitution partielle des hydroxyles (OH^-) par des carbonates (CO_3^{2-}) dans la structure de l'apatite, ce qui correspond à la formation d'une apatite carbonatée, plutôt qu'une hydroxyapatite pure. La diminution de l'intensité des bandes O–H corrobore donc la plus forte incorporation des carbonates dans ces échantillons, ce qui est en accord avec l'analyse des bandes situées à 873 cm^{-1} , 1026 cm^{-1} et $1410\text{-}1456\text{ cm}^{-1}$ (298–300).

La magnétite présente dans tous les nanocomposites ne contient pas de groupes hydroxyles dans sa structure cristalline. Toutefois, elle peut interagir avec la phase apatite via des liaisons hydrogène entre les groupes hydroxyles de l'apatite et les sites de surface de la magnétite, ce qui pourrait influencer l'intensité et l'élargissement des bandes O–H dans cette région spectrale.

L'analyse comparative des spectres FTIR suggère des interactions possibles entre l'hydroxyapatite et la magnétite. En effet, dans les nanocomposites issus du fructose, l'intensité relative des bandes Fe–O autour de $560\text{-}580\text{ cm}^{-1}$ est plus élevée, ce qui pourrait indiquer une meilleure dispersion ou une interaction plus forte entre les phases HAp et Fe_3O_4 . La faible incorporation de carbonates dans ces échantillons pourrait favoriser une meilleure compatibilité entre la structure cristalline de l'hydroxyapatite et la phase magnétique.

En revanche, dans les nanocomposites issus du galactose et de la pectine, l'incorporation plus importante de carbonates modifie la structure apatite, ce qui pourrait influencer l'interaction avec la magnétite. La présence de carbonates peut induire des distorsions dans le réseau cristallin de l'apatite, ce qui pourrait affecter l'adhésion ou l'intégration des particules de magnétite au sein de la matrice. Cela expliquerait la moindre intensité relative des bandes Fe–O dans ces échantillons, suggérant une dispersion moins homogène de cette phase.

2.2.5 Propriétés thermiques

2.2.5.1 Nanocomposites synthétisés avec fructose

Les thermogrammes des nanocomposites synthétisés avec fructose révèlent des caractéristiques thermiques distinctes, mettant en évidence des variations dans les pertes de masse et les transitions thermiques au cours des différents intervalles de température, ce qui reflète la complexité chimique et structurale de chaque échantillon.

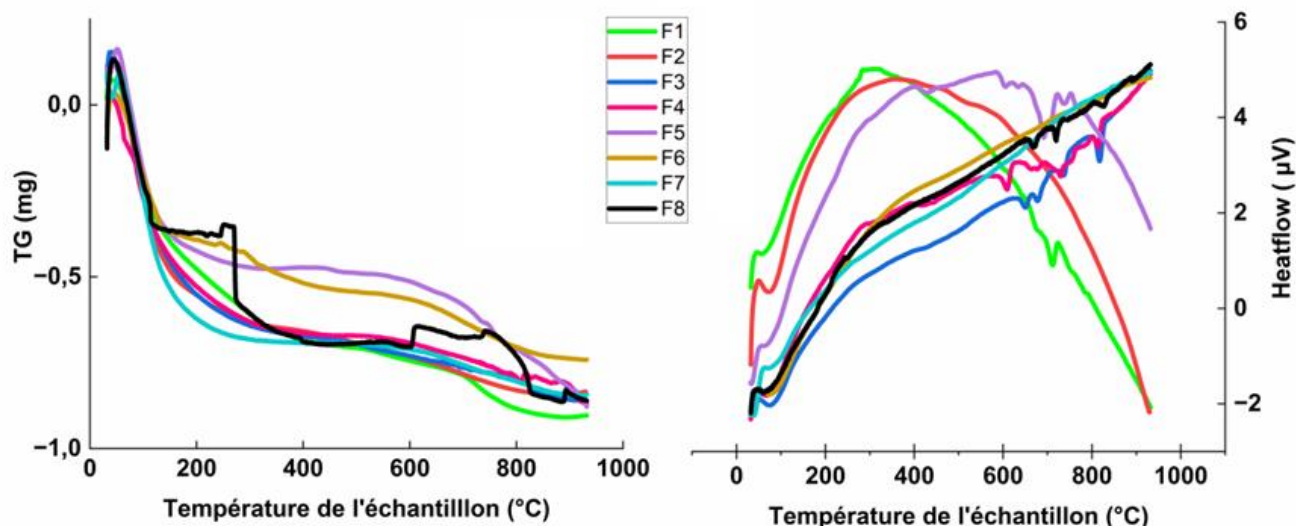


Figure 49: Thermogramme DSC et TG des nanocomposites synthétisés avec fructose.

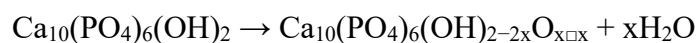
Dans la zone de température de 25 à 200°C, tous les échantillons, contenant de l'hydroxyapatite et de la magnétite, présentent une perte de masse due à la désorption de l'eau physiquement adsorbée et à l'élimination des molécules d'eau de surface. L'échantillon 4 affiche la plus grande perte, indiquant une porosité plus élevée et une capacité d'adsorption d'eau supérieure. Les échantillons 2, 3 et 5 enregistrent également des pertes importantes, tandis que les échantillons 1, 6, 7 et 8 montrent des diminutions moindres, suggérant une hydratation plus faible. Cette plage est marquée par des pics endothermiques associés à l'évaporation de l'eau libre et adsorbée, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'eau retenue dans chaque échantillon.

Cette observation est conforme à Sundaram & Murugesan (2015), qui rapportent également une perte liée à l'eau excès dans leurs nanocomposites $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HAp}$, caractérisée par un pic endothermique dans la même plage de température.

Entre 200 et 500°C, les pertes de masse sont liées à la dégradation des résidus organiques, à la décarbonatation partielle et aux modifications structurales des phases présentes. L'hydroxyapatite amorphe subit une réorganisation progressive, tandis que les carbonates instables se décomposent. Les échantillons 1 et 8 enregistrent les pertes les plus marquées, traduisant une quantité plus importante de précurseurs organiques ou de carbonates faiblement liés. Les autres échantillons montrent des pertes comprises entre -0,4% et -1,3%, reflétant des

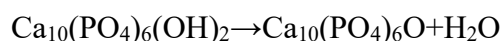
différences dans la teneur en matières organiques résiduelles. Cette plage est caractérisée par des pics endothermiques correspondant à la décomposition des carbonates amorphes et à la transformation de certaines phases minérales transitoires, marquant une évolution progressive de la structure des échantillons. Bulina et al. (2021) ont rapporté que l'HAp pure est stable jusqu'à environ 1300 °C ; cependant, ils soulignent également que la présence de substituants ou d'impuretés (comme les carbonates ou des éléments métalliques) peut considérablement réduire sa stabilité thermique. Ce comportement est confirmé dans nos échantillons, en particulier pour les échantillons 1 et 8, où la perte observée suggère une quantité plus au moins importante de carbone résiduel ou de phases apathiques partiellement substituées.

Entre 500 à 900°C, la déshydroxylation de l'hydroxyapatite et la décarbonatation avancée deviennent prédominantes. Dans un premier temps, entre 500 et 850°C, la perte progressive des groupements hydroxyles suit la réaction :

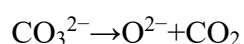


Ou \Box est la lacune du groupe OH.

Lorsque $x = 1$, la transformation atteint son maximum, conduisant à la formation de l'oxyapatite totalement déshydroxylée selon la réaction :



Parallèlement, la décomposition thermique des carbonates cristallins se traduit par la réaction :



La magnétite, présente dans tous les échantillons, demeure thermiquement stable dans cette plage, bien qu'elle puisse interagir avec l'hydroxyapatite selon les conditions thermiques.

Les échantillons 2 et 5 enregistrent une perte de masse plus marquée, traduisant une libération plus importante des groupements hydroxyles et carbonatés. Ce comportement suggère une structure apathique moins stable ou plus riche en défauts cristallins. Ce constat rejoint les résultats de Bulina et al. (2021), qui ont démontré que les substitutions ioniques, notamment carbonatées, influencent négativement la stabilité thermique de l'HAp en abaissant la température de déshydroxylation et en accentuant la perte de masse. De plus, les travaux d'Oseh et al. (2023) sur des systèmes HAp modifiés en milieux sodiques et calciques ont également

mis en évidence une déshydroxylation avancée entre 600 et 800 °C, similaire à celle observée dans mes échantillons riches en carbonates.

Pour les autres échantillons, les pertes varient entre -0,3% et -0,9%, illustrant des différences dans la stabilité des phases minérales présentes. Cette hypothèse est cohérente avec les observations d'Ali et al. (2023), qui ont montré que des structures HAp bien cristallisées incorporant des phases magnétiques stables (comme Co/Fe) conservent leur intégrité thermique dans cette plage sans pertes majeures.

Cette plage est caractérisée par des pics endothermiques, associés à la déshydroxylation de l'hydroxyapatite et à la décomposition des carbonates, reflétant une transformation avancée de la structure minérale (301–304).

2.2.5.2 Nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine

L'analyse thermique des nanocomposites synthétisés avec galactose et pectine met en évidence plusieurs événements caractérisant leur évolution structurale sous l'effet de la température. Ces transformations traduisent la déstabilisation progressive des phases présentes et l'interaction des espèces chimiques impliquées, en particulier les groupes hydrogénophosphate (HPO_4^{2-}) et carbonate (CO_3^{2-}), caractéristiques des apatites non stœchiométriques déficientes en calcium.

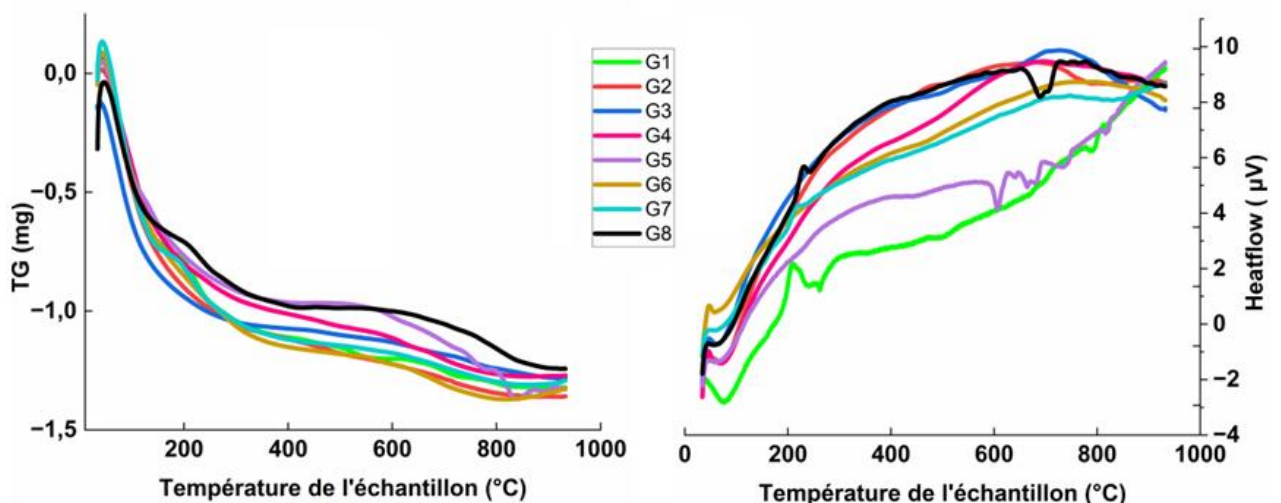


Figure 50: Thermogramme DSC et TG des nanocomposites synthétisés avec galactose.

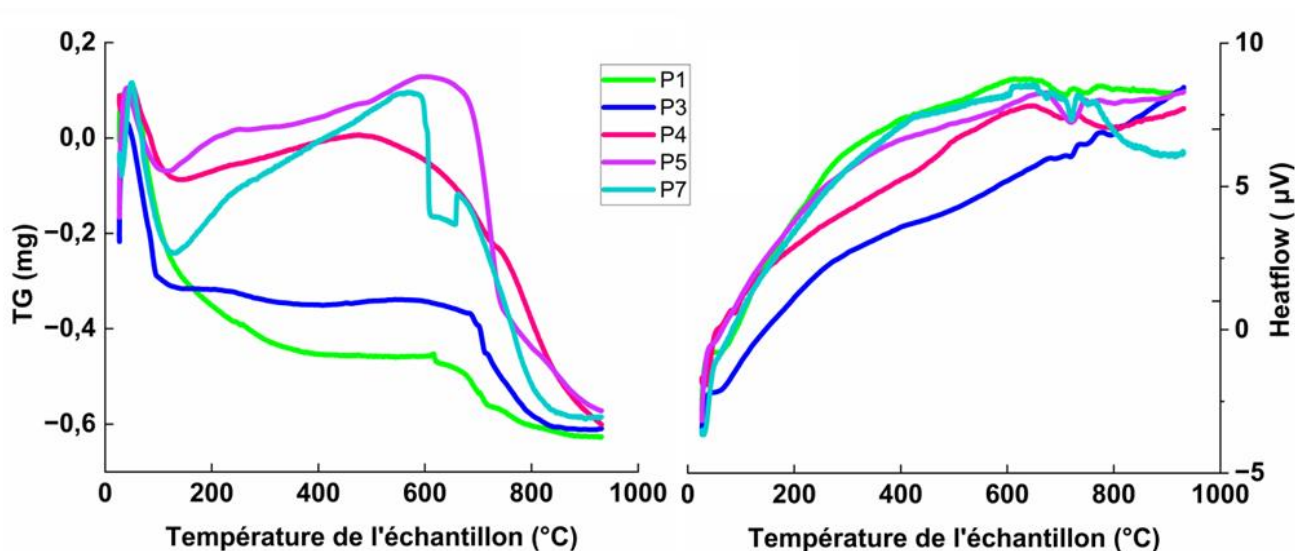
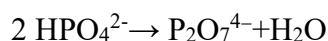


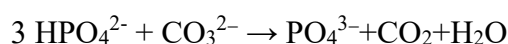
Figure 51: Thermogramme des nanocomposites synthétisés avec pectine.

Entre 25- 200°C, une perte de masse systématique est enregistrée, accompagnée d'un pic endothermique autour de 42°C. Ce phénomène est attribué à la désorption de l'eau physiquement adsorbée et à la libération des molécules d'eau faiblement liées aux surfaces des particules. Une seconde perte de masse dans cet intervalle traduit la déshydratation progressive des groupes hydroxyles et des espèces hydratées associées aux apatites déficientes en calcium. Cette étape est bien corrélée aux pertes de masse observées dans les échantillons entre 35,42°C et 178,95°C, avec un total de perte de -6,514 %, confirmant un relâchement significatif d'eau.

Dans l'intervalle de 200 - 500°C, la décomposition thermique des groupes hydrogénophosphate (HPO_4^{2-}) devient prépondérante, conduisant à la formation d'ions pyrophosphate ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) et à la libération d'eau selon la réaction :

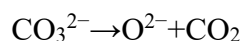


En parallèle, la présence des ions carbonate (CO_3^{2-}) dans la structure des apatites favorise une déstabilisation progressive du réseau cristallin, amorçant une libération partielle de CO_2 . Lorsque les groupes HPO_4^{2-} et CO_3^{2-} coexistent, des réactions croisées sont susceptibles de se produire, générant des ions phosphate (PO_4^{3-}) et libérant CO_2 et H_2O selon :

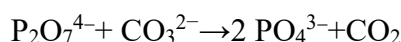


Ces transformations sont en accord avec la seconde perte de masse observée entre 172,27°C et 355,89°C (-1,196 %), ainsi que la troisième entre 353,27°C et 570,71°C (-0,694 %). De plus, la présence de pics exothermiques dans certains échantillons confirme la conversion des phosphates en phases plus stables avec réarrangement structural.

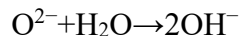
Au-delà de 500°C, la décomposition avancée des carbonates (CO_3^{2-}) conduit à une libération marquée de CO_2 , selon la réaction :



Cette transformation est attestée par la succession de pics endothermiques entre 596,91°C et 771,23°C, en lien avec la déstabilisation progressive du réseau cristallin. En parallèle, les pyrophosphates ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) formés précédemment peuvent réagir avec les carbonates résiduels, entraînant une réorganisation structurale impliquant la formation de phosphate (PO_4^{3-}) et une émission supplémentaire de CO_2 :



L'apparition d' O^{2-} libre lors de cette décomposition permet également un hydroxylation secondaire de l'apatite, selon le mécanisme :



Ce phénomène favorise la relocalisation des ions carbonate, influençant la cristallinité et la stabilité des phases obtenues. Les pics endothermiques observés entre 604°C et 877,9°C dans les échantillons sont ainsi directement liés à ces réarrangements thermiques et à la formation de CaO en fin de transformation (305,306).

2.3 Analyse statistique des résultats expérimentaux

2.3.1 Plan d'expérimentation et influence des paramètres sur la formation des phases

Le plan expérimental retenu est présenté dans le Tableau 13. Les conditions de synthèse ont été établies en faisant varier trois paramètres principaux : le ratio molaire fructose/nitrate de calcium, la vitesse d'agitation et la température de calcination. Étant donné que seul le fructose a permis la formation de l'hydroxyapatite (HAp), l'analyse statistique a été réalisée exclusivement sur les nanocomposites obtenus avec cet agent stabilisant.

Les proportions relatives des phases HAp et Fe₃O₄, ainsi que les tailles cristallines respectives (TC), ont été déterminées pour évaluer l'influence des conditions expérimentales sur la structure finale des matériaux.

Tableau 13: Plan d'expérimentation.

Ncp	Ratio	Vitesse d'agitation (tr/min)	Température de calcination (°C)	% HAp	% Fe ₃ O ₄	TC HAp (nm)	TC Fe ₃ O ₄ (nm)
1	0,50	250	400	84,00	16,00	14,11	39,94
2	2,00	250	400	88,35	11,65	10,25	49,58
3	0,50	350	400	92,50	7,50	12,57	18,60
4	2,00	350	400	79,40	20,60	11,50	49,58
5	0,50	250	500	85,55	14,45	12,50	12,60
6	2,00	250	500	85,30	14,70	11,50	4,00
7	0,50	350	500	87,60	12,40	10,67	2,45
8	2,00	350	500	80,85	19,15	13,00	74,50

2.3.2 Effet des variables sur le pourcentage d'HAp

2.3.2.1 Estimations et analyse statistique des coefficients pour le pourcentage d'HAp

L'analyse statistique des coefficients de régression issus du plan de criblage met en évidence l'influence relative des différents paramètres expérimentaux sur la proportion d'HAp dans les nanocomposites HAp/Fe₃O₄. En l'absence d'effets spécifiques, la teneur moyenne en HAp est estimée à 85,44 % (b_0).

Les résultats montrent que le ratio fructose/nitrate de calcium (b_1) a un effet négatif ($-1,969$) sur la proportion d'HAp, mais sans atteindre le seuil critique de significativité. En revanche, son interaction avec la vitesse d'agitation ($b_{12} = -2,994$) dépasse largement la valeur limite et s'avère statistiquement significative, traduisant une déstabilisation de la phase HAp lorsque les deux paramètres augmentent simultanément.

La vitesse d'agitation seule ($b_2 = -0,356$) et la température de calcination ($b_3 = -0,619$) exercent des effets négligeables, tout comme les interactions binaires ($b_{13} = 0,219$ et $b_{23} = -0,244$), dont les valeurs sont inférieures aux seuils de significativité. Enfin, l'interaction triple ($b_{123} = 1,369$) dépasse légèrement la valeur critique ($1,125$), suggérant une influence synergique modérée mais réelle sur la formation de l'HAp.

Tableau 14: Estimation des coefficients, valeurs limites et significativité pour la réponse Y_1 (pourcentage d'HAp).

Coefficient	Valeur estimée	Valeur limite	Significativité
b_0 (Moyenne)	85,444	–	–
b_1 (Ratio fructose/nitrate de Ca)	-1,969	2,320	Non significatif
b_2 (Vitesse d'agitation)	-0,356	1,828	Non significatif
b_3 (Température de calcination)	-0,619	1,336	Non significatif
b_{12} (Ratio \times Vitesse)	-2,994	1,125	Significatif
b_{13} (Ratio \times Température)	0,219	1,828	Non significatif
b_{23} (Vitesse \times Température)	-0,244	1,336	Non significatif
b_{123} (Ratio \times Vitesse \times Température)	1,369	1,125	Significatif

La représentation graphique des coefficients (Figure 52) permet de visualiser plus clairement l'impact relatif des variables. Les barres les plus longues, associées aux coefficients b_1 et b_{12} , soulignent l'importance du ratio et de son interaction avec la vitesse d'agitation comme principaux facteurs influençant négativement la formation d'HAp. Les interactions secondaires (b_{13} et b_{23}) apparaissent marginales, tandis que l'interaction triple (b_{123}) confirme son rôle synergique potentiel dans l'optimisation des conditions expérimentales.

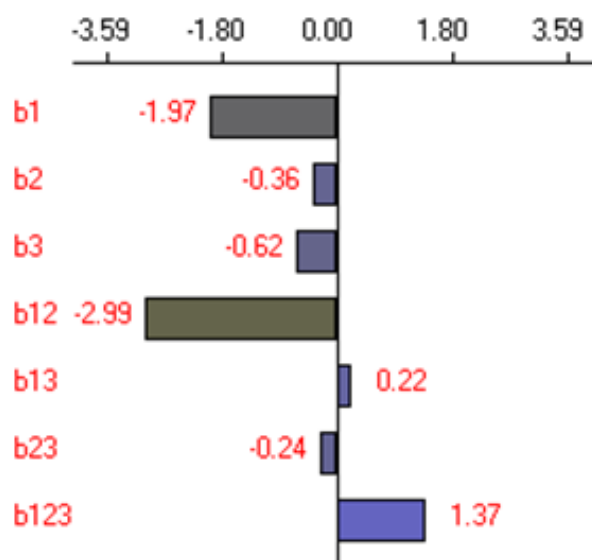


Figure 52: Représentation graphique des coefficients de régression.

En conclusion, les résultats démontrent que la teneur en HAp est principalement modulée par le ratio fructose/nitrate de calcium et par son interaction avec la vitesse d'agitation. Les autres

paramètres exercent un effet limité, sauf lorsqu'ils sont combinés simultanément, conformément aux principes des plans factoriels complets décrits par Montgomery (2017) (268).

2.3.2.2 Évaluation de la normalité des résidus pour la validation du modèle

La qualité de l'ajustement statistique et la validité du modèle ont été examinées à travers deux représentations graphiques classiques : le Normal Plot et le Half-Normal Plot, conformément aux recommandations méthodologiques de Montgomery (2017) (268).

Le Normal Plot permet de vérifier la normalité des résidus, condition essentielle à la validité d'une régression issue d'un plan factoriel. L'alignement des points le long de la droite de référence traduit une distribution normale des résidus, confirmant que le modèle respecte les hypothèses statistiques et peut être utilisé de manière fiable pour interpréter l'influence des facteurs sur la teneur en HAp. Dans le cas présent, les résidus suivent une tendance linéaire satisfaisante, corroborant l'hypothèse de normalité.

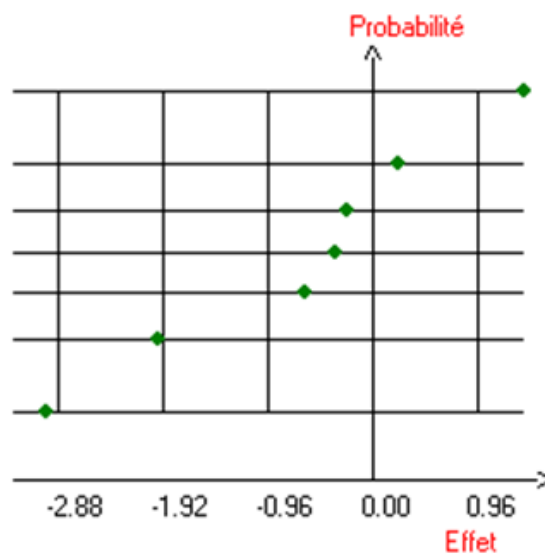


Figure 53: Normal Plot des résidus standardisés.

Le Half-Normal Plot, quant à lui, permet d'identifier les effets significatifs parmi les facteurs étudiés. Les effets majeurs apparaissent par leur éloignement de la ligne théorique, tandis que les effets non significatifs restent regroupés à proximité de l'origine. L'analyse de ce graphique met en évidence le rôle prépondérant du ratio fructose/nitrate de calcium (b_1) ainsi que de son

interaction avec la vitesse d'agitation (b_{12}), confirmant leur influence déterminante sur la formation de l'HAp.

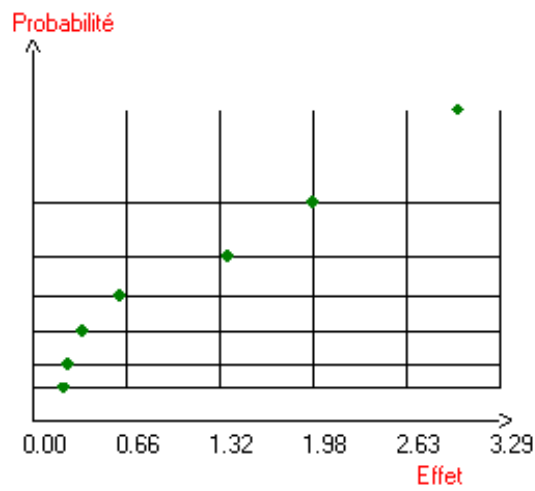


Figure 54: Half-Normal Plot des effets des facteurs.

2.3.2.3 Diagramme d'interaction pour le pourcentage d'HAp

2.3.2.3.a Etude graphique de l'interaction entre ratio et vitesse d'agitation

L'évaluation conjointe du ratio fructose/nitrate de calcium et de la vitesse d'agitation met en évidence une interaction significative entre ces deux facteurs sur la proportion d'hydroxyapatite (HAp).

Les diagrammes d'interaction présentés ci-dessous montrent que la variation simultanée de ces paramètres influence fortement le rendement en HAp. Ainsi :

- à ratio faible, une augmentation de la vitesse d'agitation entraîne une amélioration du pourcentage d'HAp ;
- à ratio élevé, cette même augmentation provoque au contraire une diminution de la teneur en HAp.

De façon complémentaire, l'analyse révèle que :

- à vitesse d'agitation faible (250 tr/min), l'augmentation du ratio favorise la formation d'HAp ;
- à vitesse élevée (350 tr/min), l'augmentation du ratio conduit à une baisse du pourcentage d'HAp.

Ces résultats graphiques confirment l'existence d'un effet d'interaction, conformément aux principes de l'analyse factorielle décrits par Montgomery (2017) (268), où la visualisation des courbes permet de distinguer clairement l'impact croisé de deux facteurs sur la variable de réponse.

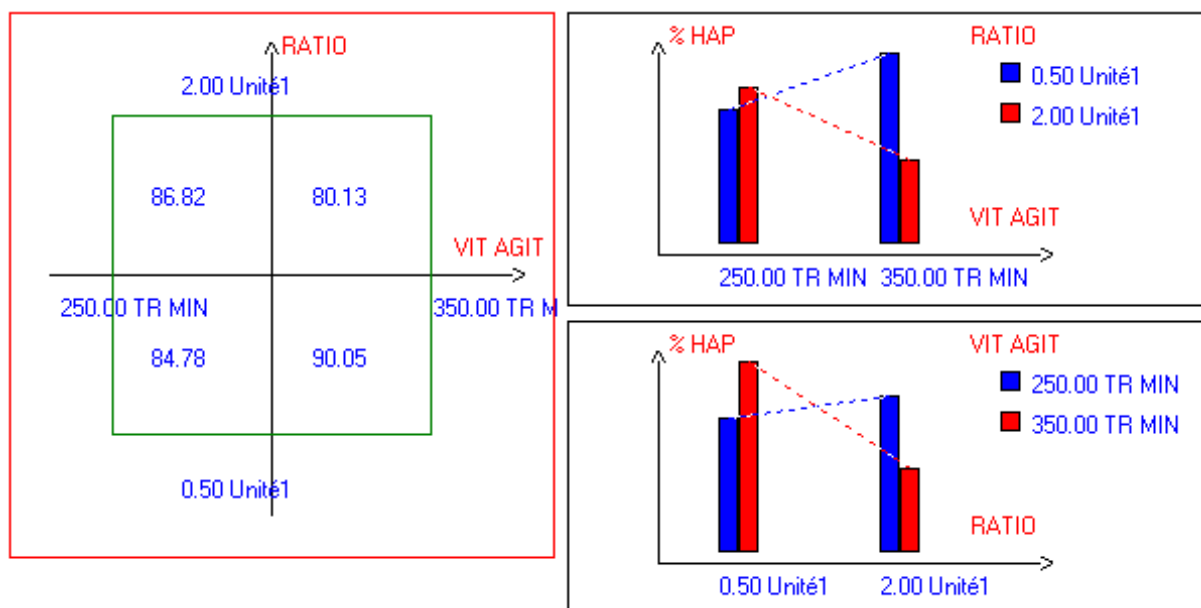


Figure 55 : Etude graphique de l'interaction entre ratio et vitesse d'agitation.

2.3.2.3.b Etude graphique de l'interaction entre ratio et température de calcination

L'analyse conjointe du ratio fructose/nitrate de calcium et de la température de calcination met en évidence leur effet croisé sur la proportion d'hydroxyapatite (HAp) dans les nanocomposites.

Le diagramme matriciel (gauche) montre qu'un ratio faible (0,50) favorise une proportion plus élevée d'HAp (88,25 % à 400 °C et 86,58 % à 500 °C). À l'inverse, un ratio élevé (2,00) réduit la teneur en HAp (83,87 % à 400 °C et 83,08 % à 500 °C), confirmant l'impact négatif de l'augmentation du ratio sur la formation de la phase apatite.

Les diagrammes en barres (droite) précisent ces tendances :

- le graphique supérieur indique une diminution modérée du pourcentage d'HAp lorsque la température augmente de 400 °C à 500 °C ;
- le graphique inférieur met en évidence que la baisse la plus marquée résulte de l'élévation du ratio, indépendamment de la température appliquée.

Ces observations soulignent que le ratio constitue le facteur prédominant, dont l'effet négatif sur la formation d'HAp est plus marqué que celui de la température de calcination. Cette conclusion s'inscrit dans la logique des plans factoriels, où la divergence des courbes

d'interaction met en évidence les effets dominants et leurs interactions, comme le recommande Montgomery (2017) (268).

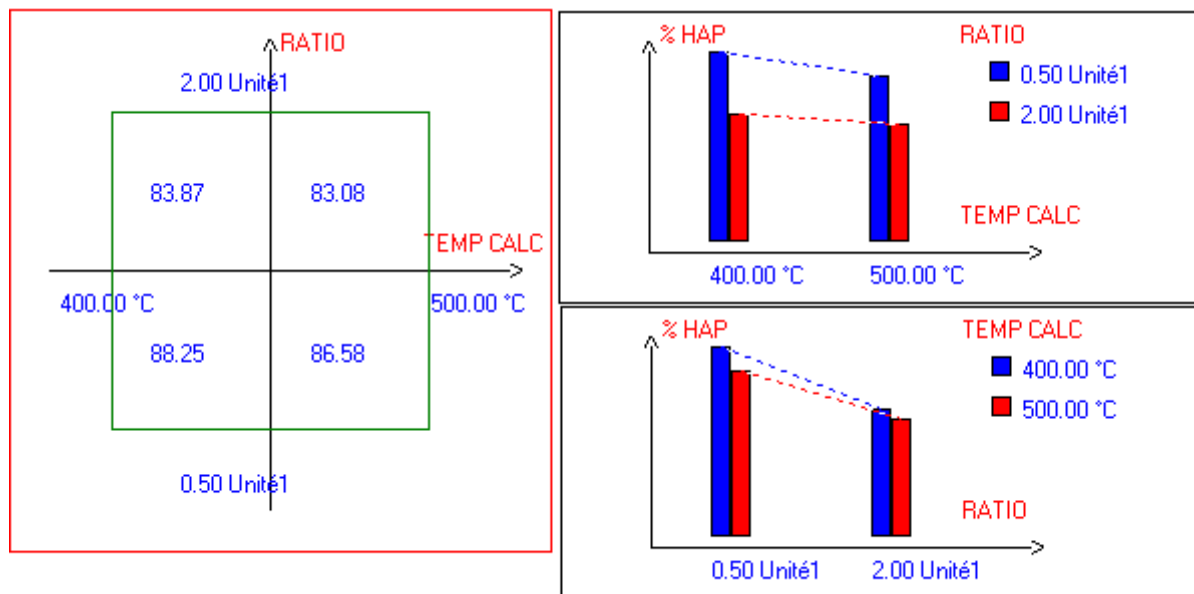


Figure 56: Etude graphique de l'interaction entre ratio et température de calcination.

2.3.2.3.c Etude graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et température de calcination

L'analyse conjointe de la vitesse d'agitation et de la température de calcination met en évidence leur influence croisée sur la teneur en hydroxyapatite (HAp) dans les nanocomposites.

Le diagramme matriciel (Figure 57) montre qu'une vitesse d'agitation faible (250 tr/min) favorise une teneur légèrement plus élevée en HAp (86,17 % à 400 °C et 85,43 % à 500 °C). En revanche, une vitesse élevée (350 tr/min) conduit à une diminution modérée du pourcentage d'HAp (85,95 % à 400 °C et 84,22 % à 500 °C).

L'effet de la température apparaît relativement limité, bien qu'une augmentation de 400 °C à 500 °C tende à réduire légèrement la proportion d'HAp. Cette tendance est plus marquée lorsque la vitesse d'agitation est élevée, ce qui suggère que la combinaison de ces deux paramètres peut altérer la stabilisation de la phase apatite.

Les diagrammes en barres renforcent cette conclusion :

- le graphique supérieur indique une baisse du pourcentage d'HAp avec l'augmentation de la température, surtout à 350 tr/min ;
- le graphique inférieur révèle que la diminution de la teneur en HAp est plus sensible à l'élévation de la vitesse d'agitation, indépendamment de la température appliquée.

Ainsi, la vitesse d'agitation apparaît comme un facteur influent sur la proportion d'HAp, bien que son impact reste modéré comparativement à d'autres paramètres comme le ratio fructose/nitrate de calcium.

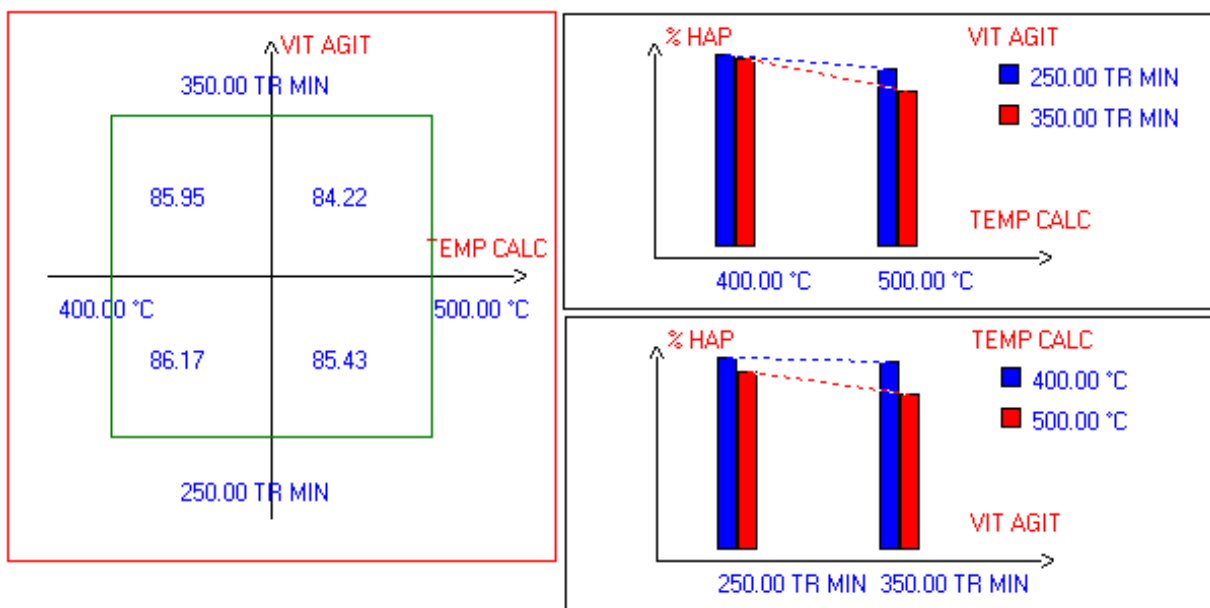


Figure 57: Etude graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.

2.3.2.4 Approche bayésienne pour la réponse Y_1 : Pourcentage d'HAp

L'évaluation bayésienne a permis d'analyser l'effet individuel et combiné des paramètres expérimentaux sur la proportion d'HAp dans les nanocomposites HAp/Fe₃O₄. Le diagramme en barres (Figure 58) illustre la contribution relative de chaque facteur et de leurs interactions.

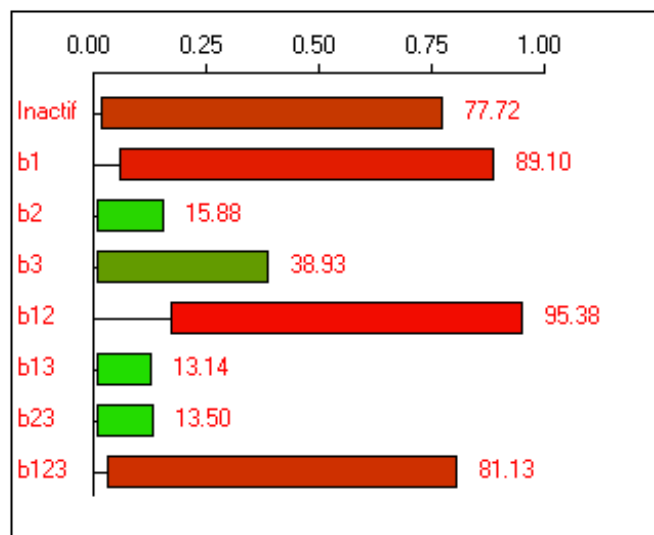


Figure 58: Approche bayésienne pour l'analyse du pourcentage d'HAp (Y1).

2.3.2.4.a Analyse des effets individuels

Parmi les facteurs étudiés, le ratio molaire (b_1) se révèle être le paramètre le plus influent, avec une contribution de 89,10 %. Cela indique qu'un ratio correctement ajusté favorise fortement la cristallisation de l'hydroxyapatite.

La température de calcination (b_3) exerce une influence modérée, évaluée à 38,93 %, mais reste moins déterminante que le ratio. Quant à la vitesse d'agitation (b_2), son effet est très faible (15,88 %), suggérant qu'elle n'a pas d'impact significatif lorsqu'elle est considérée isolément.

2.3.2.4.b Analyse des interactions

L'interaction la plus marquée est celle entre le ratio et la vitesse d'agitation (b_{12}), avec une contribution de 95,38 %, soulignant que l'optimisation simultanée de ces deux facteurs est cruciale pour maximiser la proportion d'HAp.

Les interactions ratio \times température ($b_{13} = 13,14$ %) et vitesse \times température ($b_{23} = 13,50$ %) sont nettement moins significatives, ce qui montre que la température seule, combinée à un des deux autres paramètres, n'améliore pas notablement la formation d'HAp.

Enfin, l'interaction triple b_{123} atteint 81,13 %, traduisant une synergie relativement élevée mais inférieure à celle obtenue avec l'interaction ratio \times vitesse (b_{12}). Cela suggère que l'ajout de la

température ne renforce pas systématiquement l'effet synergique observé entre le ratio et la vitesse d'agitation.

2.3.3 Effets des variables sur le pourcentage de la magnétite

2.3.3.1 Estimations et analyse statistique des coefficients pour le pourcentage de la magnétite

L'analyse statistique met en évidence le rôle prépondérant du ratio fructose/nitrate de calcium ($b_1 = 1,969$) dans l'augmentation de la proportion de magnétite (Fe_3O_4) au sein des nanocomposites. Une élévation de ce paramètre favorise significativement la formation de la phase magnétique. La vitesse d'agitation ($b_2 = 0,356$) et la température de calcination ($b_3 = 0,619$) contribuent également à l'accroissement du pourcentage de Fe_3O_4 , mais de manière plus modérée.

Les interactions révèlent des comportements contrastés. L'interaction ratio \times vitesse d'agitation ($b_{12} = 2,994$) exerce l'effet le plus marqué, renforçant fortement la formation de magnétite. À l'inverse, l'interaction ratio \times température ($b_{13} = -0,219$) a un impact négatif, bien que faible, tandis que vitesse \times température ($b_{23} = 0,244$) exerce une influence positive mais limitée. Enfin, l'interaction triple ($b_{123} = -1,369$) induit une diminution notable de la proportion de magnétite, suggérant un effet antagoniste défavorable à sa stabilisation.

Ces observations sont corroborées par l'analyse statistique des valeurs limites : une médiane élevée (0,619) et un écart-type important (0,928) s'accompagnent de valeurs critiques plus fortes ($\approx 2,32$), traduisant une formation accrue de Fe_3O_4 . À l'inverse, des valeurs médianes faibles (0,300) et des écarts-types réduits (0,450) se traduisent par des seuils de significativité plus bas ($\approx 1,125$), correspondant à une proportion réduite de magnétite.

Tableau 15: Estimations, valeurs limites et significativité des coefficients pour la réponse Y_2 (pourcentage de magnétite).

Coefficient	Valeur estimée	Valeur limite	Significativité
b_0 (Moyenne)	14,556	–	–
b_1 (Ratio fructose/nitrate de Ca)	1,969	2,320	Non significatif
b_2 (Vitesse d'agitation)	0,356	1,828	Non significatif
b_3 (Température de calcination)	0,619	1,336	Non significatif
b_{12} (Ratio \times Vitesse)	2,994	1,125	Significatif
b_{13} (Ratio \times Température)	-0,219	1,828	Non significatif
b_{23} (Vitesse \times Température)	0,244	1,336	Non significatif
b_{123} (Ratio \times Vitesse \times Température)	-1,369	1,125	Significatif (effet négatif)

La représentation graphique des coefficients (Figure 59) confirme ces tendances : les barres associées aux coefficients b_1 et surtout b_{12} apparaissent nettement plus longues que les autres, soulignant leur rôle dominant dans la formation de la magnétite. L'interaction triple b_{123} est également visible, illustrant son effet antagoniste lorsque les trois paramètres varient simultanément.

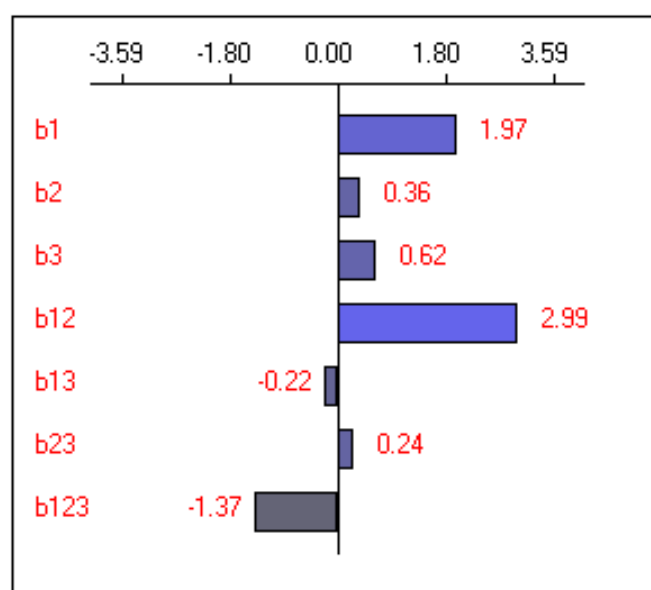


Figure 59: Analyse graphique des effets sur la réponse Y_2 : Pourcentage de magnétite.

En conclusion, le ratio fructose/nitrate de calcium et son interaction avec la vitesse d'agitation constituent les principaux déterminants de la formation de Fe_3O_4 . Toutefois, leur combinaison

avec la température de calcination peut induire un effet négatif, traduisant une possible compétition entre la stabilisation des phases HAp et Fe_3O_4 dans les nanocomposites.

2.3.3.2 Évaluation de la normalité des résidus pour la validation du modèle

L'évaluation de la normalité des résidus a été réalisée à l'aide du Normal Plot et du Half-Normal Plot, conformément aux approches méthodologiques classiques recommandées dans les plans factoriels.

Le Normal Plot (Figure 60) met en évidence un écart marqué pour le ratio (b_1) et l'interaction ratio \times vitesse d'agitation (b_{12}), confirmant leur rôle majeur dans la formation de la magnétite.

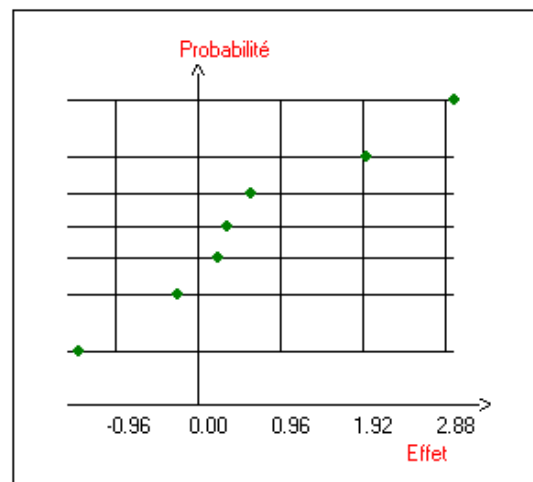


Figure 60: Normal Plot des résidus standardisés.

Le Half-Normal Plot (Figure 61) confirme ces résultats : l'interaction b_{12} apparaît comme l'effet le plus significatif, suivie du ratio b_1 . La température de calcination (b_3) n'est pas un facteur dominant, bien qu'elle conserve une influence modérée. La vitesse d'agitation (b_2), prise isolément, a un effet limité, mais son interaction avec le ratio renforce son importance.

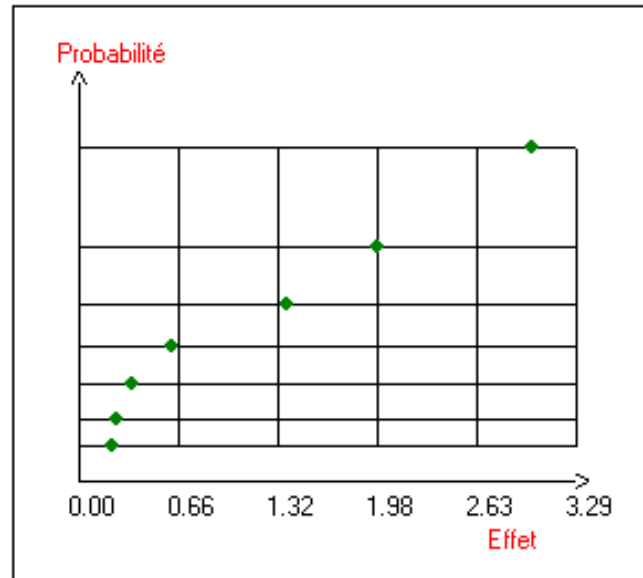


Figure 61: Half-Normal Plot des effets des facteurs.

La comparaison de ces résultats avec l'analyse des coefficients estimés confirme que l'interaction b_{12} demeure l'effet le plus influent, suivie du ratio b_1 . En revanche, les interactions b_{13} et b_{123} apparaissent marginales, traduisant une influence négligeable sur la formation de la magnétite.

Ces graphiques corroborent donc les analyses statistiques : la température de calcination (b_3) et surtout le ratio (b_1) constituent les facteurs déterminants, tandis que la vitesse d'agitation (b_2) exerce un impact limité lorsqu'elle est considérée isolément.

2.3.3.3 Diagramme d'interaction pour la proportion de la magnétite

2.3.3.3.a Etude graphique de l'interaction ratio et vitesse d'agitation

L'étude de l'interaction entre le ratio fructose/nitrate de calcium et la vitesse d'agitation permet d'évaluer leur effet combiné sur la proportion de magnétite dans les nanocomposites (Figure 62).

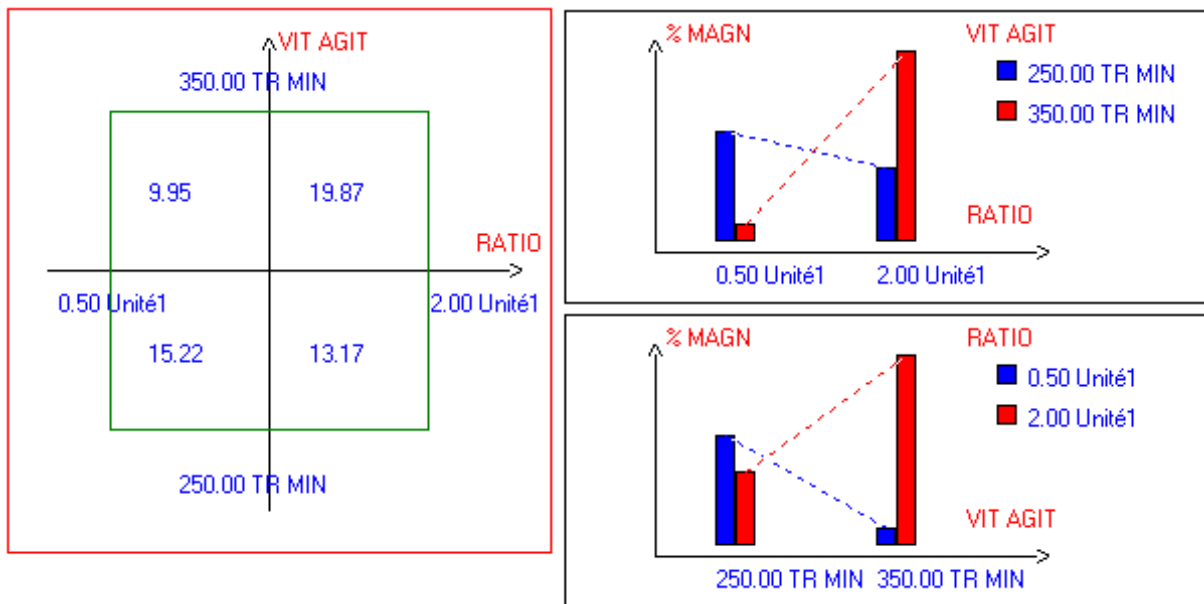


Figure 62: Diagrammes d'interaction pour le pourcentage de la magnétite.

Les valeurs reportées aux coins du diagramme indiquent la proportion de magnétite obtenue pour chaque combinaison expérimentale. La teneur maximale (19,87 %) est observée pour un ratio élevé (2,00) associé à une vitesse élevée (350 tr/min), tandis que la valeur minimale (9,95 %) correspond au ratio faible (0,50) combiné à la même vitesse élevée.

L'analyse met en évidence une interaction marquée :

- À vitesse faible (250 tr/min), l'augmentation du ratio tend à réduire légèrement la formation de magnétite.
- À vitesse élevée (350 tr/min), l'augmentation du ratio favorise au contraire fortement la proportion de magnétite.

De manière complémentaire :

- À ratio faible (0,50), l'augmentation de la vitesse d'agitation entraîne une diminution de la magnétite.
- À ratio élevé (2,00), l'augmentation de la vitesse induit une hausse significative de la proportion de magnétite.

Ces résultats confirment que l'effet du ratio dépend directement de la vitesse d'agitation, et inversement, traduisant une interaction forte entre ces deux facteurs dans la formation de la phase magnétique Fe_3O_4 .

2.3.3.3.b Etude graphique de l'interaction ratio et température de calcination

Le diagramme d'interaction (Figure 63) illustre l'effet combiné du ratio fructose/nitrate de calcium et de la température de calcination sur la proportion de magnétite dans les nanocomposites.

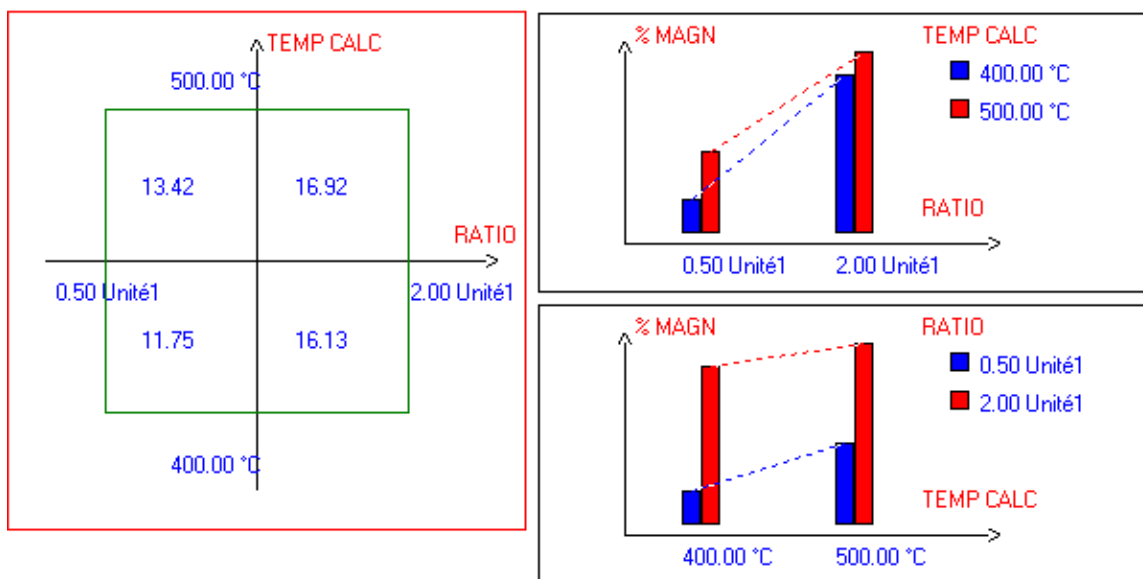


Figure 63: Etude graphique de l'interaction entre ratio et température de calcination.

Les valeurs indiquées aux coins du graphique mettent en évidence une proportion maximale de magnétite (16,92 %) obtenue à 500 °C avec un ratio élevé (2,00), tandis que la valeur minimale (11,75 %) correspond à la combinaison 400 °C – ratio faible (0,50).

L'analyse confirme que :

- une augmentation du ratio accroît systématiquement la proportion de magnétite, avec un effet plus marqué à température élevée (500 °C) ;
- l'effet de la température est plus significatif lorsque le ratio est élevé, traduisant une interaction renforcée entre ces deux paramètres.

De façon complémentaire :

- à 400 °C, l'augmentation du ratio entraîne une hausse modérée de la magnétite ;
- à 500 °C, cette augmentation est beaucoup plus prononcée, confirmant le rôle amplificateur de la température sur l'effet du ratio.

Ces résultats indiquent que l'influence du ratio devient plus déterminante à haute température, et que la synergie ratio-température constitue un facteur essentiel dans la stabilisation et la proportion finale de Fe_3O_4 .

2.3.3.3.c Etude graphique de l'interaction entre vitesse d'agitation et température de calcination

L'analyse graphique (Figure 64) met en évidence une interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination sur la proportion de magnétite formée dans les nanocomposites.

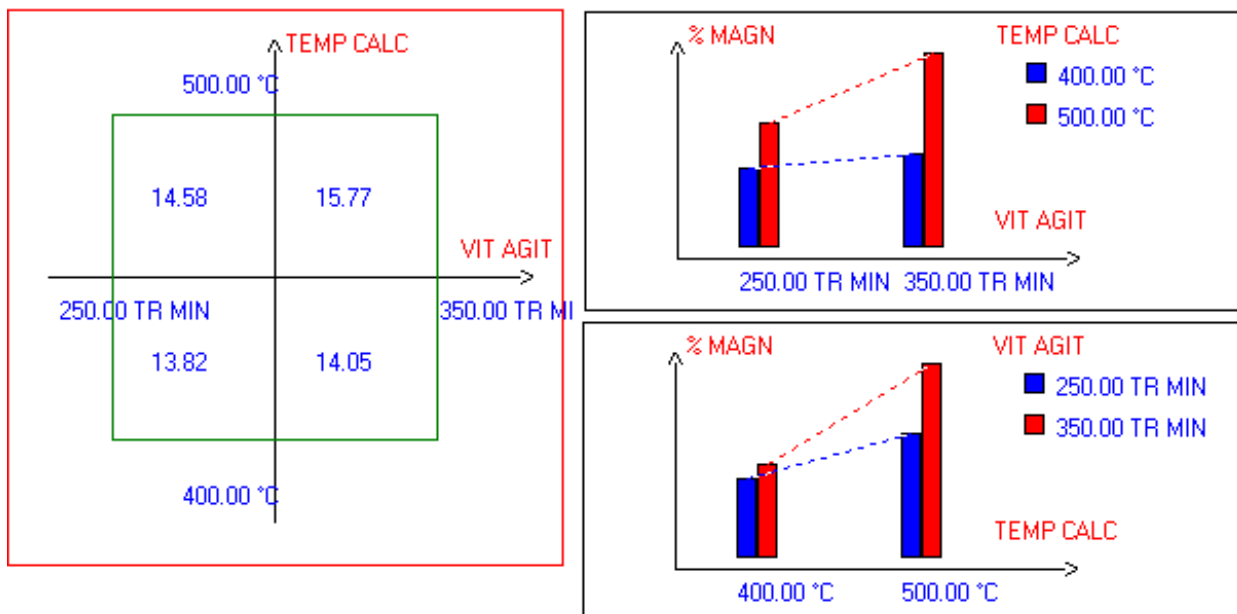


Figure 64: Analyse graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.

Les résultats montrent qu'une élévation de la température favorise globalement la formation de magnétite, particulièrement lorsque la vitesse d'agitation est élevée. À 400 °C, la proportion de magnétite reste légèrement inférieure à celle obtenue à 500 °C, indépendamment de la vitesse appliquée.

L'examen croisé des effets confirme que :

- à 400 °C, l'augmentation de la vitesse d'agitation n'a pas d'effet significatif sur la formation de magnétite ;
- à 500 °C, l'accroissement de la vitesse d'agitation entraîne une augmentation notable de la proportion de magnétite.

Inversement :

- à faible vitesse (250 tr/min), la température exerce un effet modéré sur la magnétite ;
- à haute vitesse (350 tr/min), l'augmentation de la température accroît sensiblement la formation de magnétite.

Ces observations soulignent une synergie entre vitesse et température, où l'effet positif de la température sur la stabilisation de Fe_3O_4 est amplifié en conditions de forte agitation.

2.3.3.4 Approche bayésienne pour le pourcentage de magnétite

L'approche bayésienne appliquée à la variable Y_2 (proportion de magnétite) permet d'évaluer la contribution relative des différents facteurs et de leurs interactions (Figure 65).

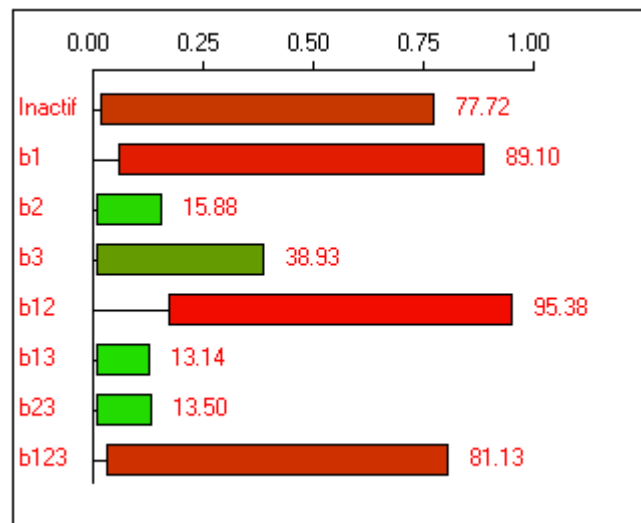


Figure 65: Diagramme de l'approche bayésienne pour le pourcentage de magnétite.

L'analyse met en évidence que les conditions b_1 (ratio, 89,10 %) et surtout b_{12} (ratio \times vitesse d'agitation, 95,38 %) sont les plus déterminantes pour la formation de la magnétite, confirmant leur rôle majeur dans la stabilisation de cette phase. Une contribution notable est également observée pour l'interaction triple b_{123} (81,13 %), tandis que la température de calcination (b_3 , 38,93 %) exerce un effet modéré.

En revanche, les effets liés à la vitesse d'agitation seule (b_2 , 15,88 %) et aux interactions b_{13} (ratio \times température, 13,14 %) et b_{23} (vitesse \times température, 13,50 %) apparaissent faibles, traduisant une influence marginale sur la proportion de magnétite formée.

La valeur relativement élevée de la condition Inactif (77,72 %) suggère qu'une quantité significative de magnétite se forme spontanément, indépendamment de l'activation explicite de certains facteurs.

En conclusion, l'approche bayésienne confirme que le ratio (b_1) et son interaction avec la vitesse d'agitation (b_{12}) constituent les paramètres les plus influents sur la formation de la magnétite, tandis que les autres effets jouent un rôle secondaire, voire négligeable. Effets des variables sur la taille des cristallites de l'HAp

2.3.4 Effets des variables sur la taille des cristallites de l'HAp

2.3.4.1 Analyse des coefficients et de leur influence sur la taille des cristallites

L'analyse statistique des coefficients met en évidence que certains facteurs exercent une influence marquée sur la taille des cristallites d'HAp, tandis que d'autres présentent un effet négligeable.

Les coefficients négatifs $b_1 = -0,450$, $b_2 = -0,077$, $b_3 = -0,095$ et $b_{23} = -0,005$ traduisent une tendance à réduire la taille cristalline, l'effet le plus marqué étant attribué au ratio (b_1). À l'inverse, les interactions $b_{12} = 0,765$ et $b_{13} = 0,782$ exercent une influence positive notable, suggérant qu'elles favorisent la croissance des cristallites. Le coefficient $b_{123} = 0,068$, bien que positif, reste faible et n'indique qu'un impact limité.

Ainsi, l'augmentation de la taille cristalline semble principalement liée aux interactions b_{12} et b_{13} , tandis que le ratio (b_1) constitue le facteur individuel le plus influent dans la réduction de la taille des cristallites.

Tableau 16: Estimations et analyse statistique des coefficients pour la réponse Y3 : Taille des cristallites d'HAp.

Nom	Coefficient	F.Inflation
b0	12,012	
b1	-0,450	1,00
b2	-0,077	1,00
b3	-0,095	1,00
b12	0,765	1,00
b13	0,782	1,00
b23	-0,005	1,00
b123	0,068	1,00

L'analyse graphique (Figure 66) confirme ces résultats :

- Les coefficients b_{12} (0,76) et b_{13} (0,78) apparaissent avec les barres les plus longues du côté positif, mettant en évidence leur rôle déterminant dans l'augmentation de la taille cristalline.
- Le coefficient b_1 (-0,45) se distingue par la barre la plus marquée du côté négatif, confirmant son effet inhibiteur sur le développement des cristallites.
- Les effets associés à b_2 (-0,08), b_3 (-0,09), b_{23} (-0,01) et b_{123} (0,07) apparaissent marginaux, traduisant une influence limitée sur la réponse.

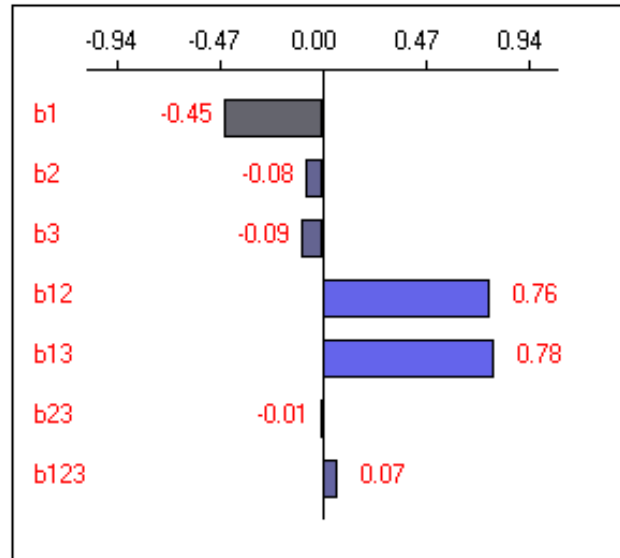


Figure 66: Analyse graphique des effets sur la taille des cristallites d'HAp.

En conclusion, les interactions ratio \times vitesse d'agitation (b_{12}) et ratio \times température (b_{13}) constituent les principaux facteurs favorisant la croissance cristalline, tandis que le ratio seul (b_1) agit comme un facteur limitant majeur.

2.3.4.2 Interprétation des graphiques de normalité (Normal Plot) et de demi-normalité (Half-Normal Plot)

L'examen des graphiques de normalité et de demi-normalité permet d'identifier les facteurs exerçant une influence significative sur la taille des cristallites de l'HAp.

Le Normal Plot (Figure 67) illustre la distribution des effets en fonction d'une loi normale théorique. La majorité des points se situent autour de zéro, traduisant des effets faibles ou négligeables. Toutefois, deux points situés à l'extrémité droite du graphique indiquent des effets significatifs, suggérant que certains facteurs influencent fortement la réponse.

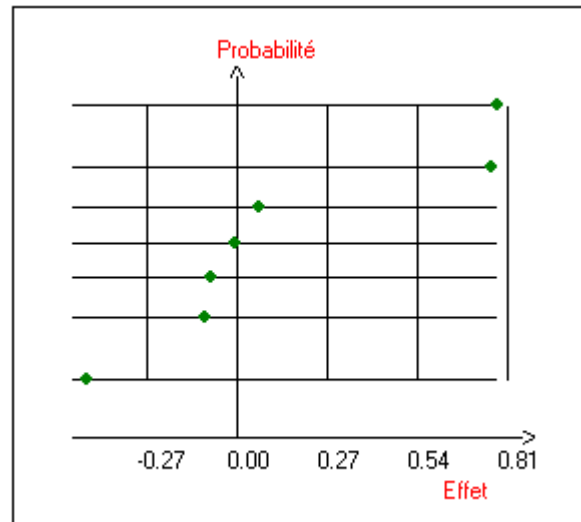


Figure 67: Diagramme de normalité des résidus (Normal Plot).

Le Half-Normal Plot (Figure 68) met en évidence l'intensité relative des effets. L'effet b_1 apparaît en rouge, confirmant son importance notable sur la variation de la taille cristalline. Les points situés à droite du graphique traduisent des effets significatifs, tandis que ceux proches de l'origine correspondent à des facteurs dont l'influence est marginale.

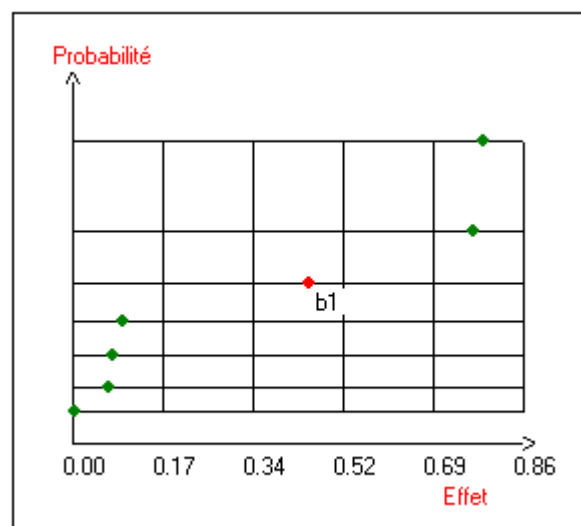


Figure 68: Diagramme demi-normal des effets (Half-Normal Plot).

L'analyse combinée de ces deux représentations confirme que certains facteurs, et en particulier le ratio (b_1), jouent un rôle déterminant dans la variation de la taille des cristallites d'HAp, tandis que d'autres effets restent secondaires.

2.3.4.3 Diagramme d'interaction pour la taille des cristallites d'HAp

2.3.4.3.a Etude graphique de l'interaction entre ratio et vitesse d'agitation

Le graphique ci-dessous (Figure 69) illustre l'effet combiné du ratio fructose/nitrate de calcium et de la vitesse d'agitation sur la taille des cristallites de l'HAp.

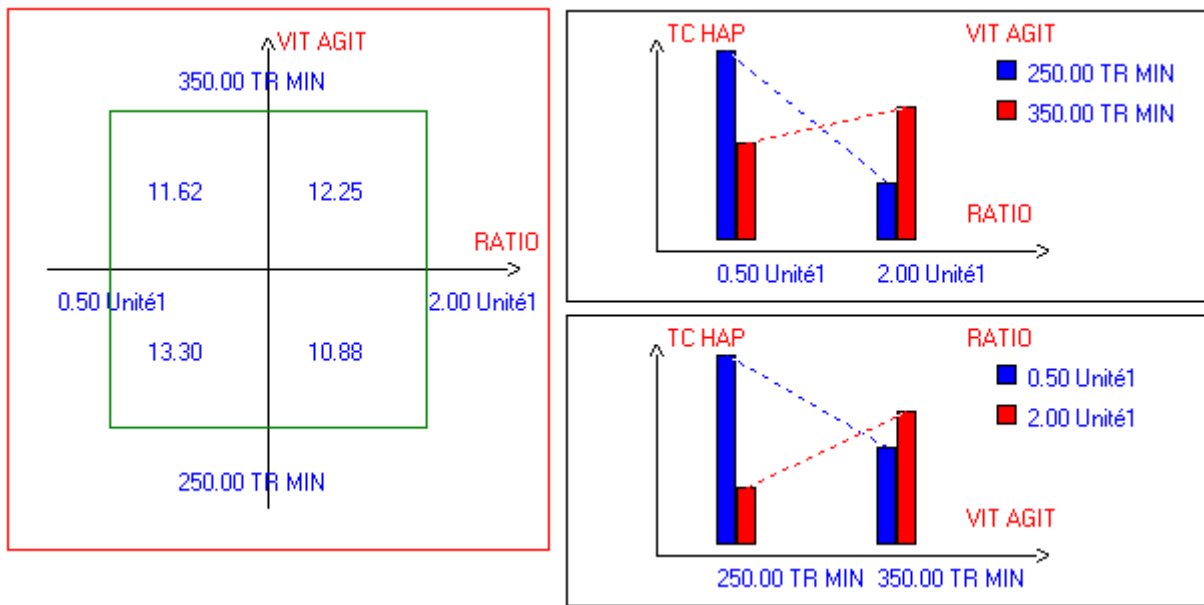


Figure 69: Graphiques de l'interaction ratio et vitesse d'agitation.

Les valeurs numériques indiquent la taille cristalline (en nm) obtenue pour chaque combinaison expérimentale. L'analyse révèle un comportement non linéaire : l'augmentation simultanée du ratio et de la vitesse d'agitation n'entraîne pas un effet additif mais une réponse dépendante de la combinaison des deux paramètres.

Les graphiques en barres mettent en évidence ces interactions :

- Pour l'effet du ratio à deux vitesses différentes :
 - à 250 tr/min, l'augmentation du ratio réduit la taille des cristallites ;
 - à 350 tr/min, l'effet inverse est observé, l'augmentation du ratio favorisant la croissance cristalline.
- Pour l'effet de la vitesse d'agitation à deux ratios distincts :
 - à ratio faible (0,50), l'augmentation de la vitesse diminue la taille cristalline ;
 - à ratio élevé (2,00), l'augmentation de la vitesse accroît la taille des cristallites.

Ces résultats démontrent que la taille cristalline de l'HAp est fortement influencée par l'interaction entre le ratio et la vitesse d'agitation, chaque facteur modulant l'effet de l'autre. Ce comportement non additif souligne l'importance d'une optimisation simultanée de ces paramètres pour un contrôle précis de la taille des cristallites d'hydroxyapatite.

2.3.4.3.b Etude graphique de l'interaction ratio et température de calcination

Le graphique ci-dessous (Figure 70) illustre l'effet combiné du ratio fructose/nitrate de calcium et de la température de calcination sur la taille des cristallites de l'HAp.

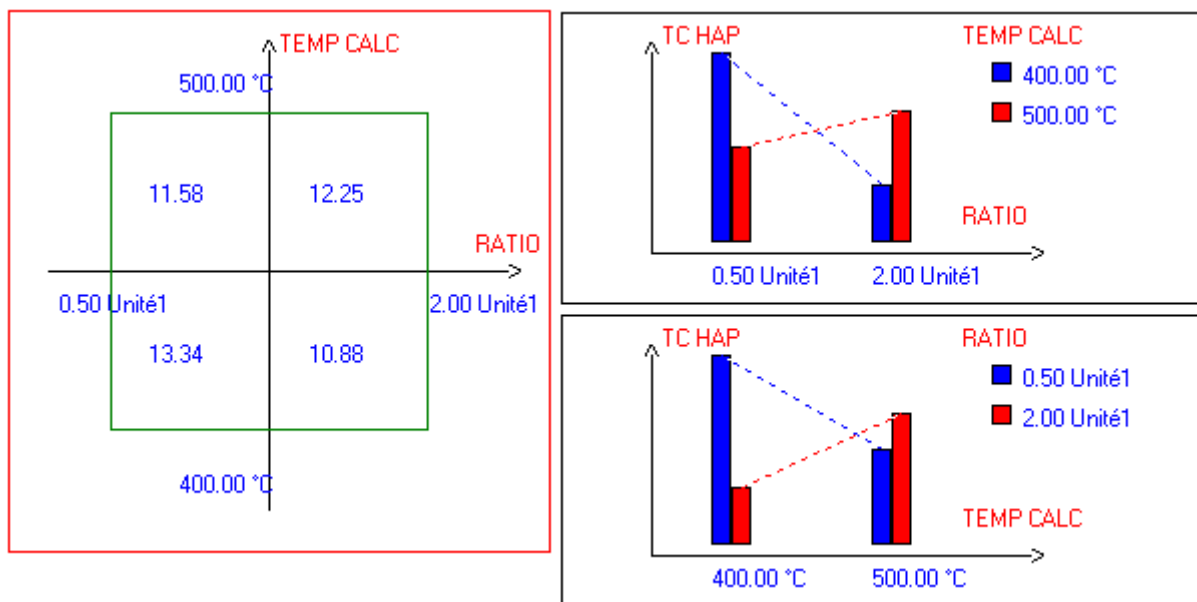


Figure 70: Analyse graphique de l'interaction entre le ratio et la température de calcination.

Les valeurs numériques mettent en évidence une interaction significative : l'effet de chaque paramètre varie selon le niveau de l'autre.

- Graphique supérieur (effet du ratio selon la température de calcination) :
 - à 400 °C, l'augmentation du ratio conduit à une diminution de la taille des cristallites ;
 - à 500 °C, l'effet s'inverse, une hausse du ratio favorisant la croissance cristalline.
- Graphique inférieur (effet de la température selon le ratio) :

- pour un ratio faible (0,50), l'augmentation de la température de 400 à 500 °C accroît la taille des cristallites ;
- pour un ratio élevé (2,00), l'effet de la température demeure présent mais plus modéré.

Ces résultats traduisent un comportement non additif : la taille des cristallites dépend de l'interdépendance entre la température de calcination et le ratio. L'optimisation simultanée de ces paramètres apparaît donc essentielle pour un contrôle précis de la cristallinité de l'hydroxyapatite.

2.3.4.3.c Etude graphique de l'interaction entre vitesse d'agitation et la température de calcination

Le graphique ci-dessous (Figure 71) illustre l'effet combiné de la vitesse d'agitation et de la température de calcination sur la taille des cristallites de l'HAp.

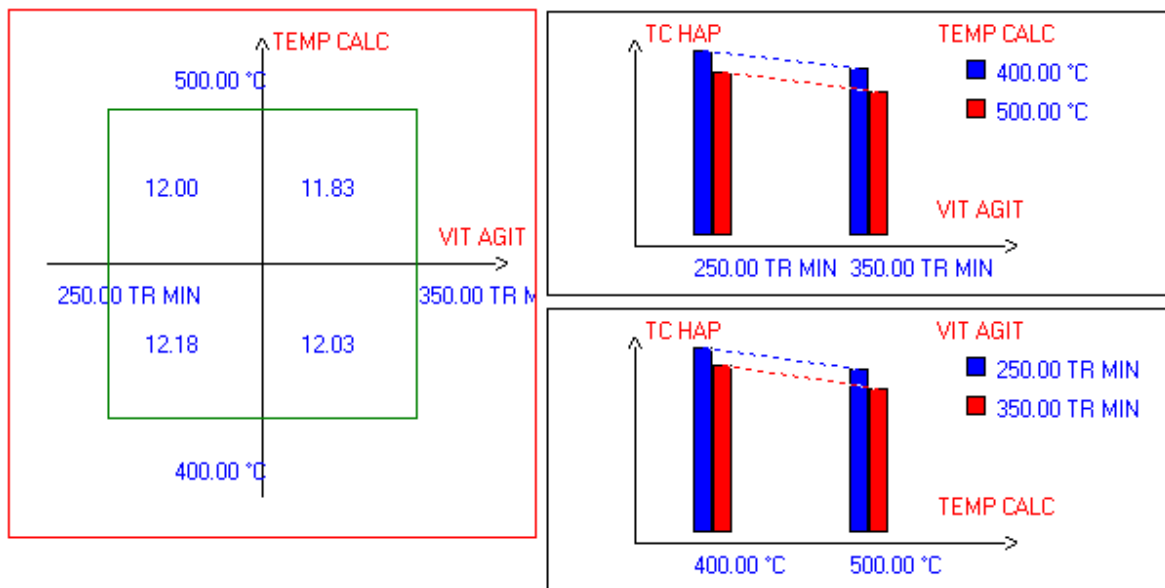


Figure 71: Analyse graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.

L'analyse met en évidence une interaction modérée entre ces deux paramètres :

- Graphique supérieur (effet de la vitesse selon la température de calcination) :
 - à 400 °C, l'augmentation de la vitesse d'agitation entraîne une légère diminution de la taille des cristallites ;

- à 500 °C, l'effet s'inverse, une vitesse plus élevée favorisant une croissance cristalline plus importante.
- Graphique inférieur (effet de la température selon la vitesse d'agitation) :
 - à 250 tr/min, l'élévation de la température de 400 à 500 °C augmente la taille des cristallites, mais de manière modérée ;
 - à 350 tr/min, l'augmentation de la température exerce un effet amplifié, traduisant une interaction plus marquée entre ces deux paramètres.

Ainsi, la taille des cristallites d'HAp est influencée conjointement par la vitesse d'agitation et la température de calcination, leur combinaison conditionnant la croissance cristalline. Ce comportement non additif souligne la nécessité d'une optimisation simultanée des deux paramètres pour maîtriser les propriétés structurales de l'hydroxyapatite.

2.3.4.4 Influence des interactions entre facteurs sur la taille des cristallites d'HAp par l'approche bayésienne

Le graphique ci-dessous représente une analyse bayésienne de l'effet des différents facteurs et de leurs interactions sur la taille des cristallites d'HAp. L'axe horizontal indique l'intensité de l'effet, tandis que les barres colorées illustrent l'influence relative de chaque facteur ou combinaison de facteurs.

Le facteur b1 a un effet dominant avec une valeur de 98.04, indiquant une influence majeure sur la taille des cristallites.

Les interactions b12 et b13 présentent les effets les plus élevés (99.10 et 99.14), soulignant une interaction significative entre les facteurs concernés.

Le facteur "Inactif" affiche une valeur de 58.11, suggérant que certaines conditions expérimentales n'ont qu'un effet modéré.

Les facteurs b2, b3, b23 et b123 montrent des contributions plus faibles (entre 11,78 et 18,36), indiquant qu'ils jouent un rôle moindre dans la variation observée.

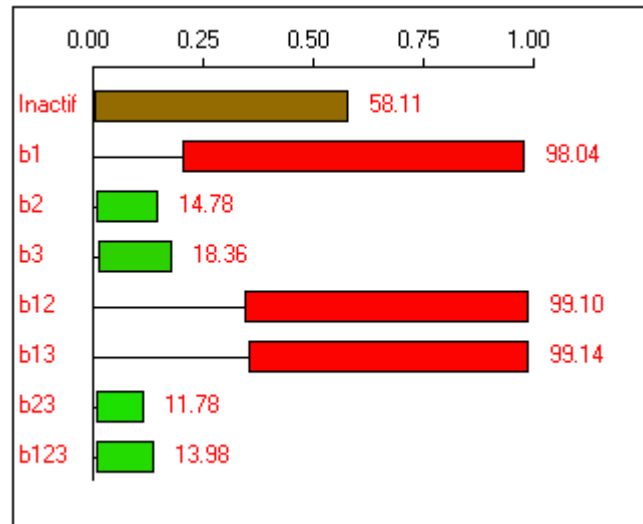


Figure 72 : Analyse bayésienne de l'effet des facteurs sur la taille des cristallites d'HAp.

Ces résultats mettent en évidence l'importance des interactions entre facteurs dans le contrôle de la taille des cristallites et soulignent la nécessité d'une optimisation multi-paramétrique.

2.3.5 Effets des variables sur la taille des cristallites de la magnétite

2.3.5.1 Interprétation des coefficients pour la taille des cristallites de la magnétite

L'analyse statistique du modèle permet d'identifier les facteurs influençant la taille des cristallites de la magnétite. Les résultats sont présentés dans le Tableau 18, où les facteurs d'inflation de la variance (F. Inflation), tous égaux à 1, indiquent l'absence de multicolinéarité entre les variables.

Tableau 17: Estimations des coefficients et analyse statistique de la taille des cristallites de la magnétite.

Coefficient	Valeur estimée	F. Inflation	Interprétation
b₀	31,406	–	Valeur moyenne estimée lorsque les facteurs sont au niveau central.
b₁ (Ratio)	13,009	1,00	Effet positif marqué : le ratio favorise fortement la croissance cristalline.
b₂ (Vitesse d'agitation)	4,876	1,00	Effet positif modéré : une vitesse plus élevée stimule la croissance.
b₃ (Température de calcination)	–8,019	1,00	Effet négatif : les températures plus élevées réduisent la taille cristalline, probablement par augmentation de la nucléation.
b₁₂ (Ratio × Vitesse)	12,749	1,00	Interaction fortement positive, amplifiant la croissance cristalline.
b₁₃ (Ratio × Température)	2,854	1,00	Interaction faible mais positive.
b₂₃ (Vitesse × Température)	10,211	1,00	Interaction positive notable : la vitesse module l'effet de la température.
b₁₂₃ (Ratio × Vitesse × Température)	7,414	1,00	Interaction significative, traduisant un effet conjoint des trois paramètres.

Ces résultats indiquent que le ratio (b_1) constitue le facteur le plus influent, suivi par l'interaction ratio × vitesse d'agitation (b_{12}). La température de calcination (b_3) exerce un effet négatif important, confirmant qu'une élévation de température tend à réduire la croissance cristalline. Les interactions b_{23} et b_{123} jouent également un rôle significatif, soulignant la complexité des relations entre paramètres.

Les statistiques associées confirment la robustesse du modèle (Médiane = 8,02 ; S_0 = 12,03 (écart-type estimé des résidus) ; Valeur limite = 30,07), attestant de la validité des coefficients estimés.

L'analyse graphique (Figure 71) illustre ces tendances :

- le ratio ($b_1 = 13,01$) et l'interaction ratio × vitesse ($b_{12} = 12,75$) génèrent les barres les plus marquées du côté positif, confirmant leur rôle central dans la croissance cristalline ;
- la température ($b_3 = -8,02$) apparaît comme le facteur le plus négatif ;

- les interactions b_{23} (10,21) et b_{123} (7,41) traduisent une influence conjointe importante, alors que b_{13} (2,85) reste marginale.

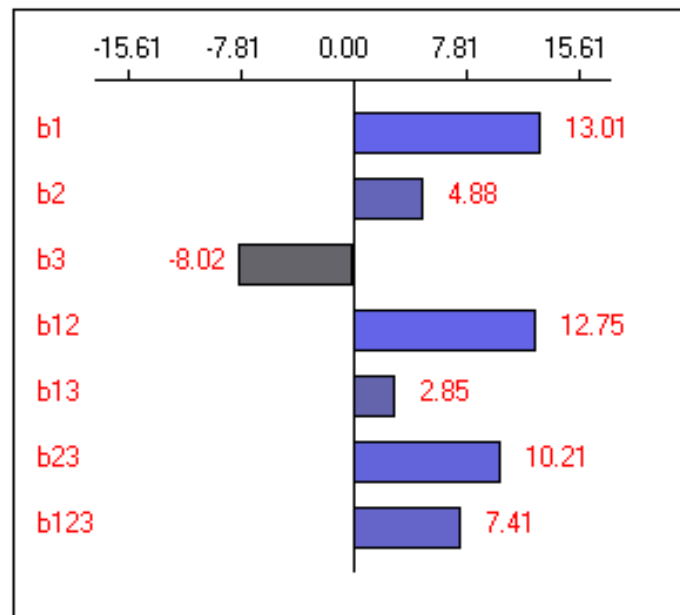


Figure 73: Analyse graphique des effets des facteurs sur la taille des cristallites de la magnétite.

En conclusion, la taille des cristallites de Fe_3O_4 dépend à la fois des effets principaux et des interactions. Le ratio et la vitesse d'agitation, pris séparément ou combinés, favorisent la croissance cristalline, tandis que la température de calcination agit comme un facteur limitant. L'optimisation repose donc sur un équilibre entre ces trois paramètres afin de contrôler finement la taille cristalline de la magnétite.

2.3.5.2 Interprétation des graphiques Normal Plot et Half-Normal Plot pour la taille des cristallites de la magnétite

L'évaluation de la normalité et de l'intensité des effets a été réalisée à l'aide des représentations graphiques Normal Plot et Half-Normal Plot.

Le Normal Plot (Figure 74) montre que certains effets s'écartent nettement de la ligne centrale, traduisant une influence significative sur la taille des cristallites de la magnétite. Les effets proches de l'axe, en revanche, apparaissent négligeables et n'ont qu'un impact marginal sur la réponse.

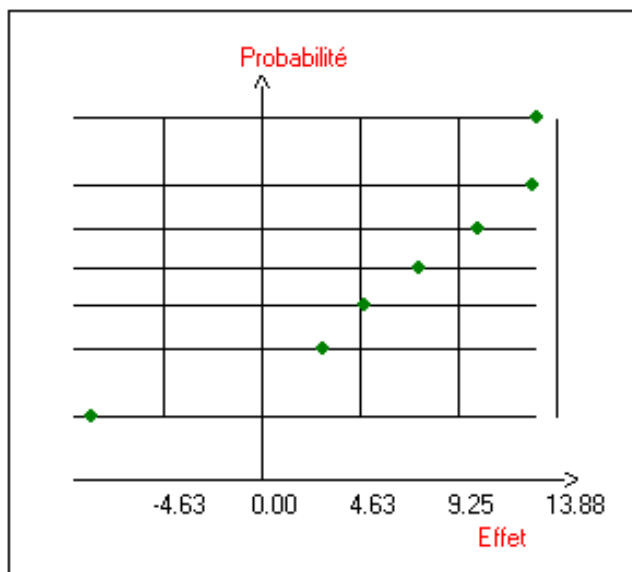


Figure 74: Graphique de probabilité normale des effets.

Le Half-Normal Plot (Figure 75) met en évidence que les effets les plus importants se situent sur la partie droite du graphique. En particulier, le ratio (b_1), l'interaction ratio \times vitesse d'agitation (b_{12}) et l'interaction vitesse d'agitation \times température de calcination (b_{23}) se distinguent clairement comme les facteurs les plus influents sur la taille cristalline de Fe_3O_4 .

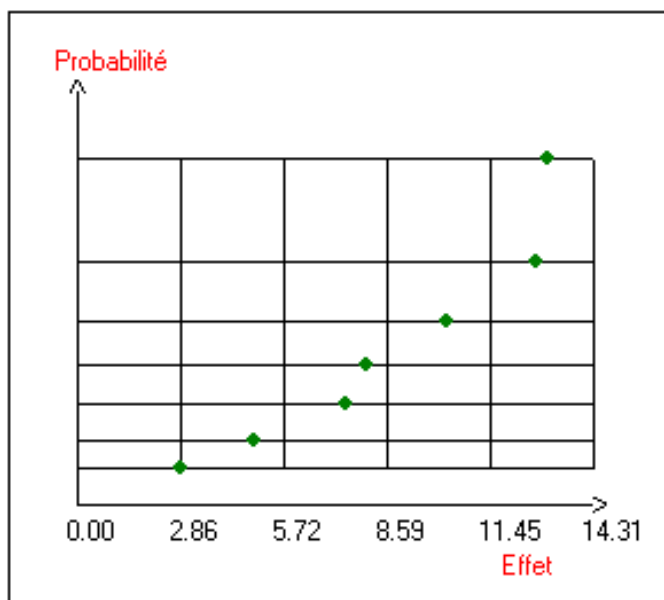


Figure 75: Graphique de probabilité demi-normale des effets.

L'analyse combinée confirme que le ratio (b_1) constitue le facteur prédominant dans la croissance des cristallites de magnétite, suivi des interactions b_{12} et b_{23} . À l'inverse, la température de calcination seule (b_3) apparaît moins influente, avec un effet globalement négatif, suggérant qu'une élévation de température tend à limiter la taille des cristallites.

2.3.5.3 Diagramme d'interaction de la taille des cristallites de la magnétite

2.3.5.3.a Analyse graphique de l'interaction entre le ratio et la vitesse d'agitation

Le graphique ci-dessous (Figure 76) illustre l'effet combiné du ratio fructose/nitrate de calcium et de la vitesse d'agitation sur la taille des cristallites de la magnétite.

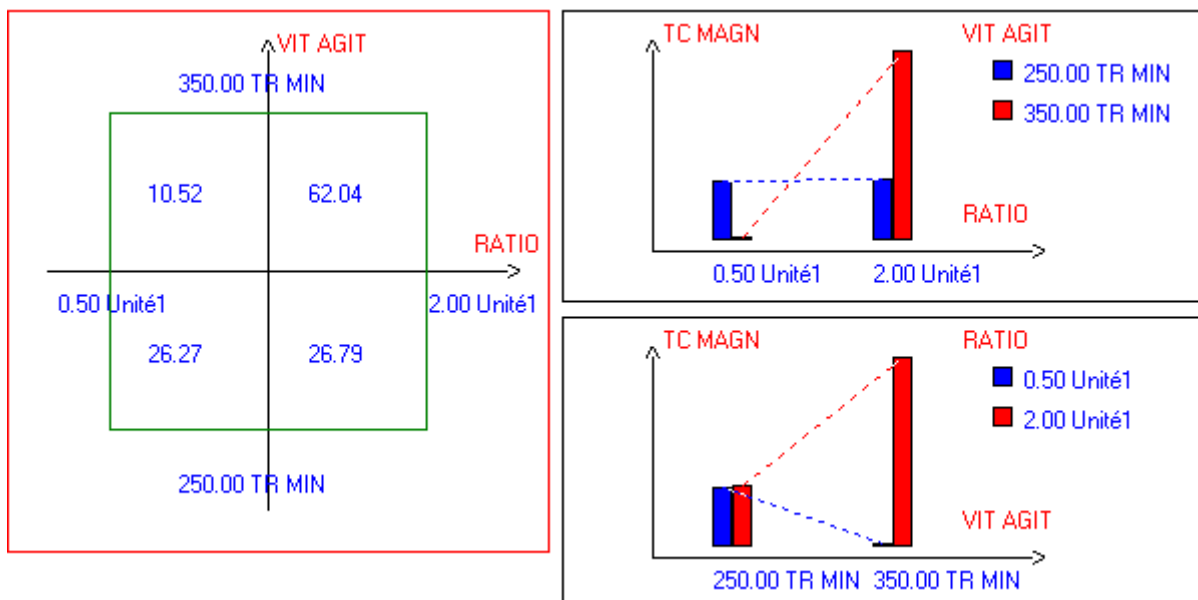


Figure 76: Graphique des interactions entre le ratio et la vitesse d'agitation.

L'analyse met en évidence un effet marqué de l'augmentation simultanée du ratio et de la vitesse d'agitation, qui entraîne une hausse significative de la taille cristalline (de 10,52 nm à 62,04 nm).

- Graphique matriciel (gauche) : les valeurs numériques indiquent que la taille des cristallites varie fortement selon la combinaison des deux facteurs.
- Graphique supérieur (effet du ratio selon la vitesse d'agitation) :
 - à vitesse faible (250 tr/min), l'augmentation du ratio entraîne une variation limitée de la taille cristalline ;

- à vitesse élevée (350 tr/min), l'augmentation du ratio conduit à une croissance marquée des cristallites, traduisant une interaction significative.
- Graphique inférieur (effet de la vitesse selon le ratio) :
 - à ratio faible (0,50), la variation de la vitesse a peu d'impact ;
 - à ratio élevé (2,00), l'augmentation de la vitesse amplifie fortement la taille cristalline.

Ces résultats démontrent que l'effet du ratio est conditionné par la vitesse d'agitation. À vitesse élevée, son influence est amplifiée, tandis qu'à vitesse faible, il reste limité. Cette interaction traduit un effet synergique entre le ratio et la vitesse d'agitation, déterminant pour la croissance des cristallites de magnétite.

2.3.5.3.b Graphique des interactions entre le ratio et la température de calcination

L'analyse graphique (Figure 77) met en évidence l'effet combiné du ratio fructose/nitrate de calcium et de la température de calcination sur la taille des cristallites de la magnétite.

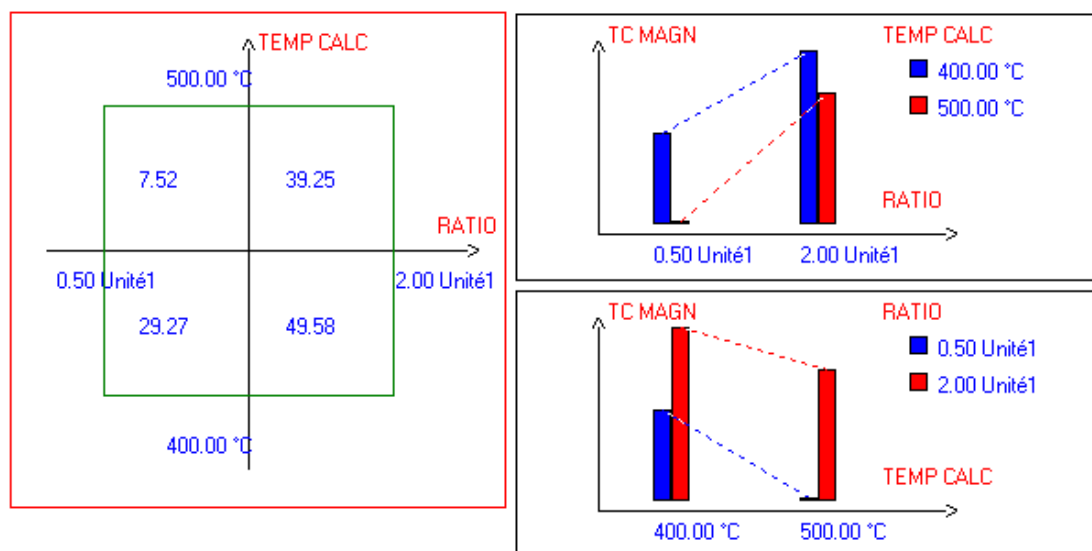


Figure 77 : Interaction entre le ratio et la température de calcination.

Le graphique matriciel (à gauche) indique que la taille cristalline la plus élevée (49,58 nm) est obtenue pour la combinaison ratio = 2,00 et température = 400 °C, tandis que la valeur la plus faible (7,52 nm) correspond à ratio = 0,50 et température = 500 °C.

- Graphique supérieur (effet du ratio selon la température) :

- à 500 °C, l'augmentation du ratio entraîne une croissance marquée de la taille cristalline ;
- à 400 °C, cet effet est présent mais plus limité.
- Graphique inférieur (effet de la température selon le ratio) :
 - à ratio faible (0,50), l'augmentation de la température (400 → 500 °C) accroît légèrement la taille des cristallites ;
 - à ratio élevé (2,00), l'augmentation de la température diminue la taille, traduisant une interaction négative dans ces conditions.

Ces résultats confirment que l'interaction ratio × température influence fortement la taille des cristallites de Fe_3O_4 . Une température élevée favorise la croissance cristalline lorsque le ratio est faible, mais cet effet devient limité, voire défavorable, lorsque le ratio est élevé. L'optimisation de la taille cristalline nécessite donc un ajustement conjoint de ces deux paramètres en fonction des conditions de synthèse visées.

2.3.5.3.c Diagramme d'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination sur la taille des cristallites de la magnétite

Le graphique ci-dessous (Figure 78) illustre l'effet combiné de la vitesse d'agitation et de la température de calcination sur la taille des cristallites de la magnétite.

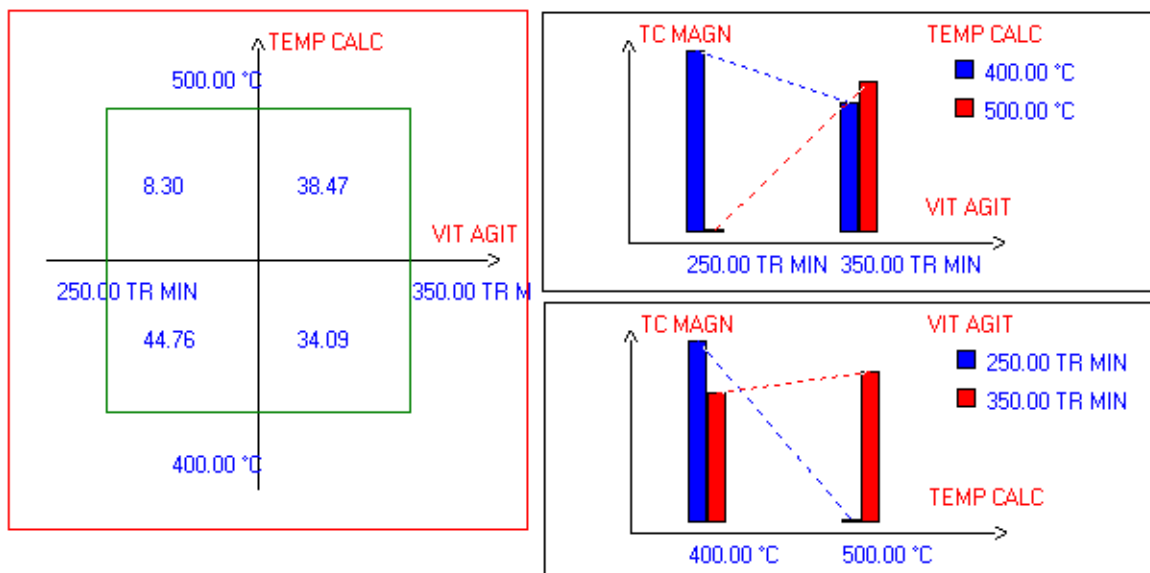


Figure 78 : Graphique de l'interaction entre la vitesse d'agitation et la température de calcination.

Le graphique matriciel (à gauche) montre que la taille cristalline maximale (44,76 nm) est obtenue à 250 tr/min et 400 °C, tandis que la valeur minimale (8,30 nm) est observée pour la même vitesse mais à 500 °C. Lorsque la vitesse est augmentée à 350 tr/min, la taille cristalline atteint 34,09 nm à 400 °C et 38,47 nm à 500 °C. Ces résultats indiquent que l'effet combiné des deux facteurs est complexe et dépend fortement des conditions expérimentales.

- Graphique supérieur (effet de la vitesse selon la température) :
 - à 400 °C, l'augmentation de la vitesse (250 → 350 tr/min) entraîne une diminution de la taille cristalline ;
 - à 500 °C, l'effet s'inverse, une vitesse plus élevée favorisant une croissance cristalline plus importante.
- Graphique inférieur (effet de la température selon la vitesse) :
 - à 250 tr/min, une augmentation de la température (400 → 500 °C) réduit fortement la taille cristalline (de 44,76 nm à 8,30 nm) ;
 - à 350 tr/min, l'élévation de la température entraîne au contraire une augmentation de la taille cristalline (de 34,09 nm à 38,47 nm).

Ces observations mettent en évidence une interaction significative entre la température de calcination et la vitesse d'agitation : à faible vitesse, la température élevée limite la croissance cristalline, tandis qu'à vitesse élevée, elle favorise au contraire une augmentation de la taille des cristallites. Ce comportement souligne la nécessité d'une optimisation conjointe de ces deux paramètres pour ajuster les propriétés structurales et magnétiques des nanocomposites à base de Fe_3O_4 .

2.3.5.4 Analyse bayésienne de la taille de cristallites de la magnétite

L'approche bayésienne a permis d'évaluer l'impact des facteurs expérimentaux et de leurs interactions sur la taille des cristallites de Fe_3O_4 . Le graphique en barres (Figure 79) compare les effets des coefficients au scénario Inactif, considéré comme référence.

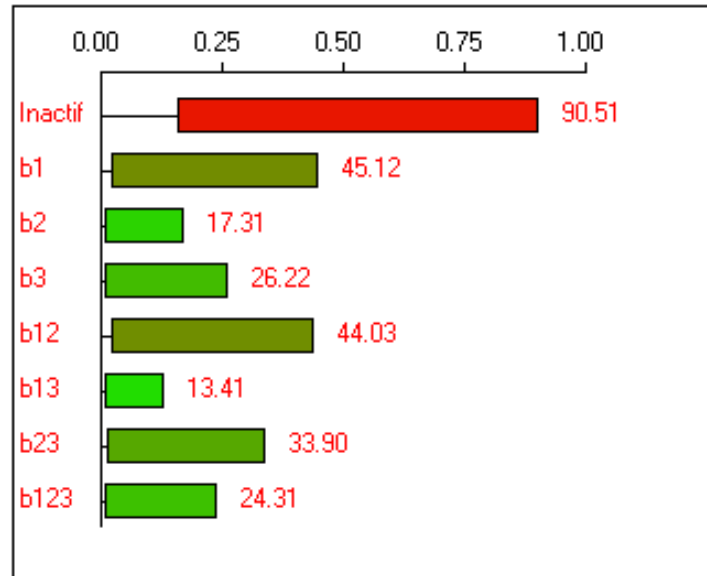


Figure 79: Estimation bayésienne de la taille des cristallites de la magnétite.

L'état inactif présente la valeur la plus élevée (90,51), indiquant que, sans action des facteurs étudiés, la taille cristalline reste maximale.

- Effets individuels :
 - b_1 (45,12) : impact majeur, réduisant de près de moitié la valeur de référence.
 - b_3 (26,22) : effet intermédiaire, indiquant une influence modérée.
 - b_2 (17,31) : effet plus faible, traduisant une influence limitée.
- Effets combinés :
 - b_{13} (13,41) : combinaison ratio \times température, dont l'effet est plus faible que celui du ratio seul, indiquant une atténuation.
 - b_{23} (33,90) : interaction vitesse \times température, plus marquée que la vitesse seule, traduisant une synergie entre ces deux facteurs.
 - b_{123} (24,31) : interaction triple, sans effet additif clair, ce qui suggère une interaction complexe entre les trois paramètres.

Ces résultats soulignent que la taille des cristallites de Fe_3O_4 est fortement modulée par le ratio (b_1) et ses interactions avec les autres paramètres. Toutefois, l'effet global dépend de combinaisons spécifiques, révélant un comportement non additif et confirmant la nécessité d'une optimisation multifactorielle pour contrôler la croissance cristalline.

2.4 Analyse statistique des contributions des facteurs influençant la synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄

L'analyse statistique réalisée permet d'identifier les facteurs expérimentaux ayant le plus d'impact sur la synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄, ainsi que les interactions significatives entre eux. Cette approche met en évidence la contribution individuelle et combinée des trois paramètres étudiés :

- A : ratio fructose/nitrate de calcium,
- B : vitesse d'agitation,
- C : température de calcination.

Les réponses considérées concernent les proportions relatives des phases (HAp, Fe₂O₃ et Fe₃O₄), les paramètres cristallographiques de l'HAp (a et c), ainsi que la taille des cristallites de l'hydroxyapatite et de la magnétite.

Tableau 18: Contribution des facteurs et de leurs interactions sur la composition et les propriétés structurales des nanocomposites.

Facteur / Interaction	HAp (%)	Fe ₂ O ₃ (%)	Fe ₃ O ₄ (%)	a_HAp	c_HAp	Taille cristallites HAp	Taille cristallites Fe ₃ O ₄
A – Ratio	25,285	28,382	45,258	0,003	0,307	14,264	28,92
B – Vitesse d'agitation	0,828	3,713	3,784	2,089	4,424	0,423	4,06
C – Température	2,498	28,382	23,778	71,993	13,047	0,636	10,98
AB	58,468	3,713	7,012	1,560	0,009	41,223	27,77
AC	0,312	28,382	18,730	20,162	47,504	43,131	1,39
BC	0,388	3,713	1,260	3,009	21,080	0,002	17,46
ABC	12,222	3,713	0,176	1,184	13,628	0,321	9,39

Interprétation des résultats

- **Formation de phases cristallines :**
 - La proportion d'HAp est fortement influencée par l'interaction ratio × vitesse (AB, 58,47 %), suivie du ratio seul (25,29 %).

- La proportion de Fe_3O_4 dépend principalement du ratio (45,26 %) et de la température (23,78 %), confirmant leur rôle dans la stabilisation de la phase magnétique.
- La formation de Fe_2O_3 est dominée par les contributions du ratio et de la température (28,38 % chacun), traduisant une compétition directe avec les phases HAp et Fe_3O_4 .
- **Paramètres cristallographiques de l'HAp :**
 - Le paramètre a_{HAp} est contrôlé principalement par la température de calcination (71,99 %), traduisant son rôle majeur dans la structuration du réseau cristallin.
 - Le paramètre c_{HAp} est fortement influencé par l'interaction ratio \times température (47,50 %), suivi de la température seule (13,05 %).
- **Taille des cristallites :**
 - Pour l'HAp, la croissance cristalline est dominée par les interactions ratio \times température (43,13 %) et ratio \times vitesse (41,22 %), confirmant le rôle déterminant des effets combinés.
 - Pour la Fe_3O_4 , les contributions majeures proviennent du ratio (28,92 %) et de l'interaction ratio \times vitesse (27,77 %), tandis que la température (10,98 %) joue un rôle secondaire.

L'ensemble de ces résultats démontre que la synthèse des nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 est fortement modulée par le ratio fructose/nitrate de calcium et ses interactions avec les autres paramètres, en particulier avec la vitesse d'agitation. La température de calcination apparaît comme un facteur clé pour la structuration du réseau cristallin de l'HAp, tandis que la formation de Fe_3O_4 est surtout conditionnée par le ratio et ses interactions. L'optimisation des conditions de synthèse nécessite donc une prise en compte synergique de ces trois paramètres afin d'obtenir des nanocomposites homogènes, bien cristallisés et présentant des propriétés structurales adaptées aux applications biomédicales.

Conclusion

La synthèse et la caractérisation des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ ont montré que le choix de l'agent stabilisant naturel joue un rôle déterminant dans la formation des phases. Parmi les stabilisants testés, seul le fructose a permis d'obtenir une structure biphasée HAp/ Fe₃O₄ bien définie, confirmée par les analyses combinées de DRX, MEB/EDS, FTIR et DSC/TG. En revanche, le galactose et la pectine ont conduit à des phases non optimales, n'assurant pas la formation d'hydroxyapatite.

Les travaux menés dans ce chapitre ont mis en évidence l'impact majeur des conditions de synthèse sur la composition, la structure et les propriétés des nanocomposites. L'approche adoptée, basée sur un plan factoriel et une analyse statistique approfondie, a permis d'identifier les paramètres critiques et leurs interactions dans la cristallisation des phases et l'évolution structurale des matériaux.

Il ressort que le ratio fructose/nitrate de calcium est le facteur le plus déterminant, influençant à la fois la proportion relative des phases (HAp et Fe₃O₄) et la taille cristalline. Son interaction avec la vitesse d'agitation s'est révélée particulièrement significative, favorisant la stabilisation de la magnétite mais réduisant la teneur en HAp. À l'inverse, la température de calcination agit surtout sur les paramètres cristallographiques et la croissance cristalline, jouant un rôle modulateur clé dans l'organisation structurale de l'hydroxyapatite.

L'analyse comparative des résultats met en évidence une compétition entre la phase apatite et la phase magnétique, modulée par les conditions de synthèse : un ratio élevé et une agitation forte favorisent la formation de Fe₃O₄, tandis que des conditions plus modérées privilégient la stabilisation de l'HAp. De plus, la croissance des cristallites est largement conditionnée par les interactions synergiques entre facteurs expérimentaux, confirmant le caractère non additif des influences observées.

Enfin, l'utilisation d'outils statistiques robustes, incluant l'analyse bayésienne et les tests de normalité, a validé la pertinence des modèles établis. Ces résultats constituent une base solide pour l'optimisation des conditions de synthèse, ouvrant la voie à la production de nanocomposites homogènes, bien cristallisés et adaptés à des applications biomédicales

avancées, notamment en régénération osseuse, vectorisation thérapeutique et pour des systèmes à double fonctionnalité bioactive et magnétique.

CHAPITRE II

Optimisation de la synthèse des nanocomposites HAp- Fe₃O₄ et étude de l'incorporation du 5-Fluorouracile

La mise au point de systèmes nanostructurés à base de biomatériaux hybrides constitue aujourd'hui une voie prometteuse pour la vectorisation de principes actifs à visée thérapeutique ciblée. Parmi ces systèmes, les nanocomposites associant l'hydroxyapatite (HAp), matériau biocompatible et bioactif, et la magnétite (Fe_3O_4), aux propriétés superparamagnétiques, suscitent un intérêt croissant en raison de la complémentarité de leurs propriétés physicochimiques et biologiques. L'hydroxyapatite, grâce à sa similitude chimique avec la phase minérale de l'os et sa capacité d'adsorption de molécules bioactives, constitue une matrice idéale pour l'incorporation de médicaments. La magnétite, quant à elle, confère aux nanocomposites des propriétés magnétiques utiles pour l'imagerie et la vectorisation guidée, ouvrant la voie à des applications de thérapie ciblée dite « theranostique ».

Dans ce contexte, le présent chapitre est consacré à l'optimisation des conditions de synthèse de nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 en présence d'un stabilisant naturel (le fructose), et à l'évaluation de leurs performances en tant que systèmes de libération contrôlée. L'originalité de ce travail réside dans l'adoption d'une approche statistique rigoureuse, basée sur un plan composite central, permettant d'explorer de manière rationnelle l'influence de facteurs expérimentaux (rapport molaire fructose/ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et température de calcination) sur les propriétés structurales, morphologiques, magnétiques et fonctionnelles des nanocomposites.

Afin de limiter les contraintes liées à la manipulation directe de molécules cytotoxiques, l'acide barbiturique a été choisi comme molécule modèle pour les phases exploratoires. Sa structure chimique, proche de celle du 5-Fluorouracile (5-FU), offre des groupes fonctionnels analogues susceptibles d'interagir avec la matrice minérale. Cette stratégie permet d'optimiser les conditions de synthèse et de chargement avant de passer au médicament anticancéreux lui-même, réduisant ainsi les risques associés à sa manipulation. Une fois les paramètres optimaux identifiés, le 5-FU est ensuite incorporé dans le nanocomposite sélectionné afin d'évaluer ses profils de libération et d'envisager son potentiel dans des applications pharmaceutiques anticancéreuses.

En parallèle, une analyse approfondie des données expérimentales par des méthodes chimiométriques (ACP, CAH, désirabilité) et statistiques (ANOVA, modélisation cinétique) permet non seulement de sélectionner l'échantillon optimal, mais aussi de comprendre les relations complexes entre la composition, la structure et les performances de libération des

nanocomposites. Cette démarche intégrative garantit une meilleure reproductibilité des résultats et contribue à l'établissement d'une base rationnelle pour le développement de systèmes de vectorisation innovants.

Ainsi, ce chapitre ambitionne de démontrer la pertinence d'une approche combinant synthèse optimisée, caractérisation multi-technique et analyse chimiométrique pour aboutir à un nanocomposite multifonctionnel HAp/Fe₃O₄ apte à l'encapsulation et à la libération contrôlée de molécules anticancéreuses, en particulier le 5-Fluorouracile.

1 Matériels et méthodes

1.1 Matériels

Les réactifs et équipements utilisés pour la synthèse et la caractérisation des nanocomposites sont identiques à ceux décrits dans le chapitre précédent. Pour les essais de chargement des agents thérapeutiques et l'étude de la cinétique de dissolution, les réactifs et matériaux spécifiques, ainsi que les équipements analytiques mobilisés, sont présentés ci-dessous.

Tableau 19: Liste des réactifs.

Réactifs et matériaux	Fournisseur	Pureté et spécification
5-Fluorouracile (5-FU)	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
Acide barbiturique	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
Phosphate disodique dihydraté (Na₂HPO₄·2H₂O)	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
Phosphate monopotassique (KH₂PO₄)	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
Chlorure de sodium (NaCl)	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
Membrane de dialyse (PM = 8000–14000 Da)	Scientific Research Special – Viskase	Conforme aux spécifications

Tableau 20: Liste des équipements utilisés pour la caractérisation et l'essai de dissolution.

Équipements	Référence/Fournisseur
Dissolutest	Electrolab
Spectrophotomètre UV-Visible	LABINDIA UV3092
Spectromètre FTIR	Shimadzu IRSpirit

1.2 Méthodes expérimentales

1.2.1 Optimisation des conditions de synthèse (plan composite central)

L'optimisation des conditions de synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ a été réalisée à l'aide d'un plan d'expériences composite central (Central Composite Design, CCD), conformément aux recommandations de Montgomery (268) (2017). Ce type de plan est largement utilisé pour explorer l'espace expérimental de manière efficace et modéliser la réponse en fonction de plusieurs variables, en tenant compte à la fois des effets linéaires, quadratiques et d'interaction.

Deux facteurs principaux ont été sélectionnés :

- **Facteur A** : le rapport molaire fructose / Ca(NO₃)₂, étudié à trois niveaux codés (-1, 0, +1) correspondant aux valeurs réelles 0,5 ; 1,25 et 2.
- **Facteur B** : la température de calcination, explorée également à trois niveaux (400, 450 et 500 °C).

Le plan composite central a inclus :

- un plan factoriel complet 2² (4 essais),
- 4 points axiaux (« étoiles »),
- 5 répétitions au point central, permettant d'estimer l'erreur pure et d'évaluer la reproductibilité.

Au total, 13 expériences ont été menées, incluant 9 nouvelles synthèses et 4 échantillons issus de la série précédente afin d'assurer la continuité de l'analyse.

➤ **Protocole expérimental**

1. **Préparation de la solution réactionnelle** : les précurseurs (Ca(NO₃)₂ et Fe₃O₄) ont été dissous dans une solution aqueuse contenant du fructose, utilisé comme stabilisant et agent complexant. Le ratio fructose/Ca(NO₃)₂ a été ajusté selon les niveaux définis par le plan expérimental.
2. **Précipitation** : l'addition progressive d'ammoniaque (NH₃) a permis d'induire la coprécipitation des phases d'hydroxyapatite et de magnétite. Le précipité obtenu a été filtré puis soigneusement lavé.

3. **Traitement thermique** : les poudres ont été séchées à 80 °C, puis calcinées aux températures prédéfinies (400, 450 ou 500 °C).

Cette méthodologie a permis d'explorer l'effet combiné des deux facteurs sur les propriétés structurales, morphologiques et magnétiques des nanocomposites, et d'identifier les conditions optimales pour obtenir un matériau homogène, stable et adapté à l'encapsulation de principes actifs (268,307).

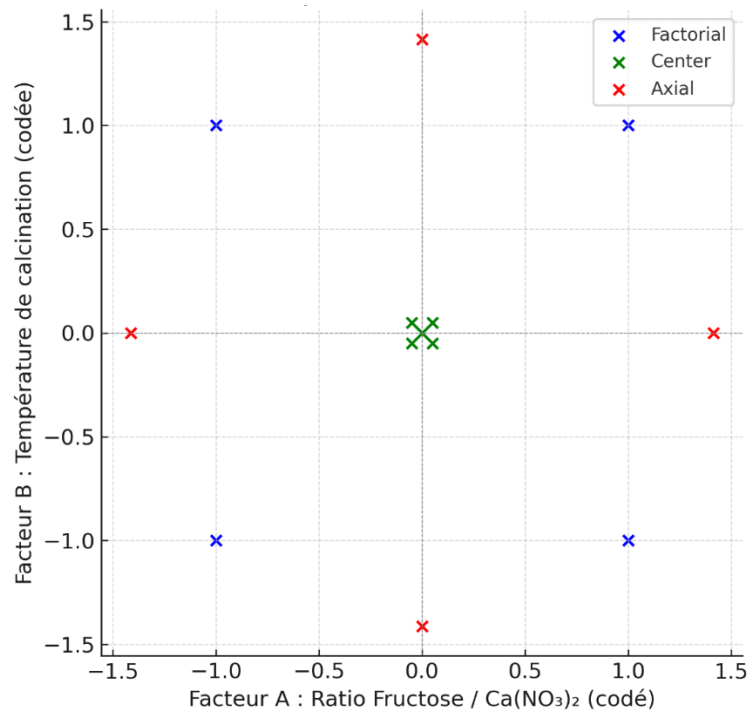


Figure 80: Représentation graphique du plan composite central à deux facteurs.

(Figure schématique montrant la distribution des points factoriels, axiaux et centraux dans l'espace expérimental)

Tableau 21: Plan composite central.

N° exp.	Codé A (Ratio fructose/Ca)	Codé B (T °C)	Décodé A (Ratio fructose/Ca)	Décodé B (T °C)
1	-1	-1	0,5	400
2	+1	-1	2,0	400
3	-1	+1	0,5	500
4	+1	+1	2,0	500
5	-1	0	0,5	450
6	+1	0	2,0	450
7	0	-1	1,25	400
8	0	+1	1,25	500
9-13	0	0	1,25	450

➤ Considérations statistiques

L'analyse statistique a été effectuée par Analyse de la Variance (ANOVA), permettant d'évaluer la significativité des effets principaux et des interactions. Les résultats de modélisation quadratique, basés sur la méthodologie de surface de réponse, ont permis d'identifier les paramètres les plus influents sur la composition, la cristallinité et la magnétisation des nanocomposites.

La qualité des ajustements a été vérifiée selon les critères de fiabilité décrits par Young (1993) (269) dans *The Rietveld Method*, en particulier l'analyse des facteurs d'ajustement (Rwp, Rexp, Sig).

1.2.2 Chargement des nanocomposites en acide barbiturique (molécule modèle)

Le choix de l'acide barbiturique comme molécule modèle s'explique par sa structure chimique présentant des analogies avec celle du 5-Fluorouracile (5-FU), notamment la présence de groupes fonctionnels carbonyles et imides capables d'interagir avec les groupements phosphates et hydroxyles de l'hydroxyapatite (HAp) et les sites métalliques de la magnétite (Fe₃O₄). Cette stratégie vise à établir, dans un premier temps, les conditions optimales de chargement et de relargage avec une molécule non cytotoxique, avant d'étendre l'étude au 5-FU.

➤ **Protocole expérimental**

Le chargement a été réalisé par une méthode d'adsorption simple, selon les étapes suivantes :

1. **Pesée des nanocomposites** : 180 mg de chaque échantillon (issus du plan composite central) ont été prélevés.
2. **Préparation de la solution de chargement** : 20 mg d'acide barbiturique ont été dissous dans 250 mL d'eau distillée sous agitation magnétique continue, permettant d'obtenir une solution homogène grâce à la bonne solubilité du composé.
3. **Contact solide/liquide** : les nanocomposites ont été dispersés dans la solution de chargement et maintenus sous agitation magnétique à température ambiante pendant 24 heures. Cette durée a été choisie afin d'assurer l'équilibre adsorption/surface entre la molécule et la matrice.
4. **Récupération et séchage** : après agitation, les poudres ont été filtrées, puis séchées dans une étuve à 80 °C pour éliminer toute trace d'humidité résiduelle, garantissant la stabilité des échantillons chargés.

➤ **Caractérisation après chargement**

Les échantillons chargés ont été caractérisés par :

- **DRX** (diffraction des rayons X), pour vérifier l'intégrité structurale des phases après adsorption ;
- **FTIR** (spectroscopie infrarouge), pour identifier les bandes caractéristiques de l'acide barbiturique adsorbé ;
- **MEB/EDS**, pour évaluer la morphologie et la composition élémentaire après interaction ;
- **VSM** (magnétométrie à échantillon vibrant), pour déterminer l'impact du chargement sur les propriétés magnétiques.

➤ **Détermination du taux de chargement**

Le taux de chargement a été déterminé par spectroscopie FTIR, en comparant les spectres avant et après adsorption. La méthode s'appuie sur l'intensité des bandes caractéristiques de l'acide

barbiturique (groupes C=O et N-H), rapportée à une bande interne stable de l'HAp (ν_3 PO₄³⁻ à ~1030 cm⁻¹) servant de référence interne.

L'équation appliquée est :

$$\text{Taux de chargement en \%} = \frac{I_{\text{après chargement}} - I_{\text{avant chargement}}}{I_{\text{avant chargement}}} \times 100$$

où :

- I_{avant} : intensité normalisée de la bande de l'acide barbiturique avant adsorption,
- $I_{\text{après}}$: intensité normalisée de la bande après adsorption.

Cette approche spectroscopique, largement rapportée dans la littérature pour l'évaluation des interactions molécule–matrice (308,309), permet une estimation fiable de la quantité d'acide barbiturique fixée sur les nanocomposites

1.2.3 Caractérisation physico-chimique et magnétique avant/après chargement

Afin d'évaluer l'effet des conditions de synthèse et du chargement en acide barbiturique sur les propriétés des nanocomposites HAp/Fe₃O₄, une caractérisation approfondie a été réalisée. Les techniques mobilisées ont permis de déterminer la composition structurale, la morphologie, les propriétés magnétiques et thermiques, avant et après l'adsorption de la molécule modèle.

1.2.3.1 Diffraction des rayons X (DRX) et affinement Rietveld

La DRX a été utilisée pour identifier les phases cristallines présentes et évaluer leur proportion relative. L'affinement Rietveld, selon la méthodologie décrite par Young (1993), a permis de déterminer avec précision les paramètres de maille, la taille des cristallites et la stabilité cristalline. Cette approche fournit également des indices de qualité d'ajustement (Rwp, Rexp, Sig) pour juger de la robustesse des modèles.

1.2.3.2 Microscopie électronique à balayage (MEB/EDS)

La morphologie et la taille des particules ont été étudiées par MEB en modes ETD et CBS, permettant de visualiser les agglomérats nanométriques caractéristiques des composites

HAp/Fe₃O₄. L'analyse élémentaire par spectroscopie EDS a confirmé la présence des éléments constitutifs (Ca, P, O, Fe) ainsi que des modifications du rapport Ca/P après adsorption.

1.2.3.3 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La FTIR a permis d'identifier les groupements fonctionnels caractéristiques des phases HAp (νPO_4^{3-}) et Fe₃O₄ ($\nu\text{Fe-O}$), ainsi que les bandes spécifiques de l'acide barbiturique après adsorption ($\nu\text{C=O}$, $\nu\text{N-H}$, $\nu\text{C-N}$). Les spectres obtenus avant et après chargement ont été comparés afin d'évaluer les interactions molécule-matrice.

1.2.3.4 Magnétométrie à échantillon vibrant (VSM)

Les propriétés magnétiques ont été déterminées par VSM, permettant de mesurer la coercivité (H_c), la magnétisation à saturation (M_s) et la rémanence (M_r). L'effet du chargement sur la réponse magnétique a été analysé en comparant les courbes d'hystérésis avant et après adsorption.

1.2.3.5 Analyses thermiques (DSC/TG)

Les propriétés thermiques ont été étudiées par analyse thermogravimétrique (TG) et calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Ces méthodes permettent d'évaluer la stabilité thermique, la déshydratation, la décarbonatation et la décomposition de l'acide barbiturique dans la matrice.

1.2.4 Étude de la cinétique de libération (acide barbiturique)

L'évaluation de la capacité des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ à relarguer un agent thérapeutique a été réalisée à l'aide de l'acide barbiturique utilisé comme molécule modèle. L'objectif était de caractériser le profil de libération in vitro et d'identifier les paramètres influençant la diffusion du principe actif depuis la matrice minérale.

➤ **Protocole expérimental**

1. **Préparation de l'essai de dissolution :**

- 500 mg de nanocomposites préalablement chargés en acide barbiturique ont été placés dans 500 mL de solution tampon phosphate (PBS, pH 7,4), simulant les conditions physiologiques.
- La température a été maintenue à $37 \pm 0,5$ °C et le milieu agité à 100 tr/min à l'aide d'un dissolvest (Electrolab).

2. **Prélèvements :**

- Des aliquotes ont été prélevées à intervalles réguliers (0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 12 h et 24 h).
- Après chaque prélèvement, un volume équivalent de PBS frais a été réintroduit afin de maintenir un volume constant dans la cuve.

3. **Analyse spectrophotométrique :**

- La concentration en acide barbiturique libéré a été déterminée par spectroscopie UV-Visible après identification de la longueur d'onde maximale d'absorption ($\lambda_{\max} \approx 257$ nm).
- Une courbe d'étalonnage a été établie à partir de solutions standard d'acide barbiturique pour quantifier les concentrations en solution.

4. **Exploitation des données :**

- Les résultats obtenus (pourcentage cumulé de relargage en fonction du temps) ont été exprimés sous forme de profils cinétiques de libération.
- Les données ont ensuite été ajustées à différents modèles cinétiques (ordre 0, ordre 1, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer–Peppas) afin d'identifier le mécanisme prédominant de diffusion du principe actif (268).

➤ **Modélisation mathématique de la cinétique**

Les profils de libération ont été ajustés aux modèles cinétiques d'ordre zéro, d'ordre un, de Higuchi, de Hixson-Crowell et de Korsmeyer-Peppas afin d'identifier les mécanismes de transport impliqués. Les équations de ces modèles ont été présentées et discutées dans la partie théorique (voir section 7.1).

➤ **Considérations méthodologiques**

L'analyse des profils de dissolution permet non seulement de comparer l'efficacité d'encapsulation et de relargage des échantillons synthétisés, mais également d'identifier les nanocomposites présentant une cinétique de libération prolongée, recherchée pour une application en vectorisation thérapeutique.

L'intégration de modèles cinétiques constitue une étape essentielle, car elle permet de distinguer un mécanisme de diffusion Fickien (contrôlé par la diffusion dans la matrice) d'un mécanisme non-Fickien ou combiné (incluant désagrégation et érosion de la matrice) (268).

1.2.5 Approches statistiques et chimiométriques (ANOVA, ACP, CAH, désirabilité)

L'optimisation d'un procédé de synthèse et l'évaluation des performances d'un nanocomposite nécessitent une approche intégrée, combinant méthodes statistiques et chimiométriques. Ces outils permettent :

- d'identifier les facteurs ayant une influence significative sur les réponses étudiées,
- de visualiser les corrélations entre variables physicochimiques,
- de regrouper les échantillons selon leur similarité,
- et enfin de sélectionner l'échantillon optimal par une approche multicritère.

Dans ce travail, quatre méthodes complémentaires ont été utilisées : l'ANOVA, l'Analyse en Composantes Principales (ACP), la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) et la méthode de désirabilité.

1.2.5.1 Analyse de la variance (ANOVA)

L'ANOVA constitue une méthode statistique paramétrique permettant de tester la significativité des effets d'un ou plusieurs facteurs expérimentaux sur une variable réponse (268). Dans le cadre de ce travail :

- Les facteurs étudiés sont le rapport molaire fructose/ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et la température de calcination.

- Les réponses considérées incluent : les paramètres cristallographiques (DRX), les propriétés magnétiques (VSM), les caractéristiques morphologiques (MEB/EDS), le taux de chargement et les profils de libération.

Un modèle quadratique de surface de réponse a été ajusté, permettant de prendre en compte les effets linéaires, quadratiques et d'interaction. La significativité des coefficients a été évaluée à l'aide de la statistique de Fisher (F-test) et des valeurs de probabilité associées ($p < 0,05$ considéré comme significatif).

1.2.5.2 Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'ACP est une méthode de réduction de dimensionnalité qui permet de transformer un grand nombre de variables corrélées en un petit nombre de composantes principales, expliquant la majeure partie de la variance observée (310).

Dans ce travail, l'ACP a servi à :

- identifier les variables physicochimiques les plus discriminantes,
- visualiser les regroupements entre échantillons (issus du plan composite central),
- détecter d'éventuelles corrélations entre propriétés structurales, magnétiques et taux de relargage.

➤ Prétraitement et analyse statistique

Avant l'application de l'analyse en composantes principales (ACP), les données ont été vérifiées afin de détecter d'éventuelles valeurs aberrantes et de compléter les valeurs manquantes. Les variables étudiées (% HAp, % Fe₃O₄, tailles des cristallites d'HAp et Fe₃O₄, coercivité, aimantation et taux de chargement) ont été soumises à un centrage et une réduction (standardisation), selon la formule :

$$X' = \frac{X - \bar{X}}{\sigma X}$$

où X est la valeur observée, \bar{X} la moyenne de la variable et σX son écart-type. Cette étape permet de rendre les variables comparables en neutralisant les différences d'échelle et d'unité et d'assurer que l'ACP soit basée sur la matrice de corrélation. L'analyse a été réalisée

conformément aux recommandations méthodologiques proposées par Montgomery (2017) (268).

L'analyse a été réalisée avec les packages FactoMineR et Factoextra sous R. Le diagramme d'éboulis a permis de déterminer le nombre optimal de composantes principales à retenir, tandis que les cartes factorielles ont mis en évidence les contributions relatives des variables (311).

1.2.5.3 Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

La CAH a été utilisée pour compléter l'ACP en permettant une classification non supervisée des échantillons sur la base de leurs caractéristiques globales. La distance euclidienne a été retenue comme mesure de similarité et la méthode de Ward comme critère d'agrégation, afin de minimiser l'inertie intra-classe.

Cette approche a permis de mettre en évidence trois grands groupes d'échantillons :

- un groupe caractérisé par une libération rapide,
- un groupe présentant une libération modérée,
- et un groupe optimal avec une libération prolongée et contrôlée.

1.2.5.4 Méthode de désirabilité

La sélection d'un échantillon optimal repose sur des critères multiples et parfois contradictoires (ex. maximiser le taux de chargement tout en ralentissant la cinétique de libération). Pour répondre à cette problématique, la méthode de désirabilité de Derringer et Suich (1980) a été appliquée (312).

- Chaque réponse est transformée en une fonction de désirabilité variant de 0 (résultat inacceptable) à 1 (résultat optimal).
- La désirabilité globale (DG) est calculée comme la moyenne géométrique des désirabilités individuelles.
- L'échantillon présentant la DG la plus élevée est considéré comme optimal.

Cette approche permet de combiner en une seule métrique la performance de plusieurs critères (structuraux, magnétiques et cinétiques) (313).

1.2.6 Validation expérimentale du nanocomposite optimal

La sélection du nanocomposite optimal a été réalisée à l'issue de l'analyse statistique (ANOVA) et chimiométrique (ACP, CAH, désirabilité). Ce matériau combine les meilleures performances en termes de stabilité structurale, propriétés magnétiques, taux de chargement et profil de libération contrôlée. Afin de confirmer la validité de ce choix, une série d'expériences de validation expérimentale a été menée.

➤ Protocole de validation

1. Synthèse en conditions optimales

Le nanocomposite identifié comme optimal a été resynthétisé selon les conditions déterminées par la méthodologie de surface de réponse (rapport fructose/ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et température de calcination). Cette étape visait à évaluer la reproductibilité du procédé.

2. Caractérisation multi-technique

Les échantillons obtenus ont été caractérisés par les mêmes techniques que précédemment (DRX/Rietveld, FTIR, MEB/EDS, VSM, DSC/TG), afin de comparer les résultats expérimentaux aux valeurs prédites par les modèles statistiques.

3. Étude du chargement et de la libération

Le taux de chargement en acide barbiturique, ainsi que la cinétique de relargage, ont été déterminés. Ces résultats ont été confrontés aux prédictions issues des modèles de Higuchi et de Korsmeyer–Peppas (sections 1.2.4 et 2.4).

4. Analyse statistique de validation

Les données expérimentales ont été traitées par ANOVA et comparaison des moyennes (test de Student t et intervalle de confiance à 95 %), afin de confirmer l'absence de différence significative entre les résultats prédits et les résultats observés.

➤ **Considérations méthodologiques**

La validation expérimentale constitue une étape critique dans tout protocole d'optimisation basé sur un plan d'expériences. Elle permet de vérifier que :

- les conditions optimales identifiées par les modèles statistiques sont robustes et reproductibles,
- les propriétés du nanocomposite optimal sont bien conformes aux attentes,
- le modèle prédictif conserve sa validité dans des conditions expérimentales réelles.

Cette approche intégrative renforce la crédibilité scientifique des résultats et s'aligne sur les recommandations internationales en matière de validation des méthodes expérimentales et statistiques (268).

1.2.7 Chargement et évaluation du 5-Fluorouracile

Après validation du nanocomposite optimal à l'aide de l'acide barbiturique comme molécule modèle, le protocole a été appliqué au 5-Fluorouracile (5-FU), un agent anticancéreux de référence largement utilisé en chimiothérapie. Cette étape a permis de confirmer la capacité des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ à encapsuler et à relarguer une molécule cytotoxique d'intérêt thérapeutique.

1.2.7.1 Sécurité et procédure de désactivation lors de la manipulation du 5-Fluorouracile

En raison de la cytotoxicité du 5-Fluorouracile (5-FU), toutes les manipulations ont été réalisées en atmosphère confinée au sein des laboratoires de l'entreprise pharmaceutique *Democedes Ain Mlila Oum El Bouaghi*, conformément aux protocoles de sécurité en vigueur. Les opérations ont été conduites sous une enceinte de pesée ventilée, avec port obligatoire des équipements de protection individuelle (EPI) : surblouse, gants stériles, lunettes de protection et masque FFP3. Ce dispositif rigoureux a permis d'assurer la prévention des risques d'exposition et de contamination, tant pour l'opérateur que pour l'environnement expérimental.

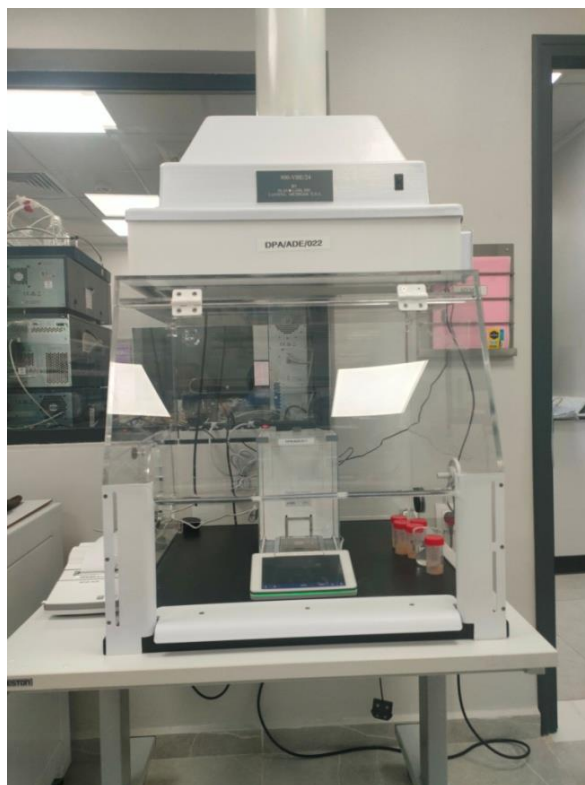


Figure 81: Enceinte de pesée ventilée utilisée pour la pesée des échantillons en milieu contrôlé.

La procédure de désactivation a été appliquée immédiatement après chaque manipulation. Les surfaces de travail et les matériaux potentiellement contaminés ont été traités avec une solution d'hypochlorite de sodium, reconnue pour son efficacité dans la neutralisation des agents cytotoxiques. Après le temps de contact recommandé, les zones traitées ont été rincées avec de l'eau distillée pour éliminer les résidus et garantir la sécurité des manipulations ultérieures.

Cette organisation expérimentale a permis de réaliser les travaux sur le 5-FU en assurant à la fois la sécurité du personnel, la préservation de l'environnement de travail et la conformité aux normes de biosécurité appliquées dans les laboratoires pharmaceutiques.

1.2.7.2 Procédure de chargement

1. Préparation de la solution de 5-FU

- Dissoudre le 5-Fluorouracile dans de l'eau distillée pour obtenir une solution à la concentration de 0,4 mg/mL.
- Maintenir la solution sous agitation magnétique à 300 tr/min jusqu'à homogénéisation complète.

2. Dispersion des nanocomposites

- Introduire 900 mg de nanocomposite HAp/Fe₃O₄ (échantillons optimaux issus de la validation avec l'acide barbiturique) dans la solution préparée.
- Assurer une dispersion complète du solide dans le milieu liquide.

3. Agitation et adsorption

- Maintenir le mélange sous agitation constante pendant 42 heures.
- Effectuer cette étape à l'abri de la lumière afin de prévenir toute dégradation photo-induite du 5-FU.

4. Séchage de l'échantillon

- Filtrer le mélange puis sécher la poudre obtenue à 80 °C pendant 10 heures.
- Conserver la poudre homogène obtenue pour les analyses ultérieures (structurales, magnétiques et cinétiques) (314).



Figure 82: Chargement du 5-FU sur les nanocomposites sous agitation continue.

La figure 83 illustre le processus de chargement du 5-Fluorouracile (5-FU) sur les nanocomposites HAp/Fe₃O₄, mettant en évidence les interactions possibles entre la molécule anticancéreuse et la surface du nanomatériau.

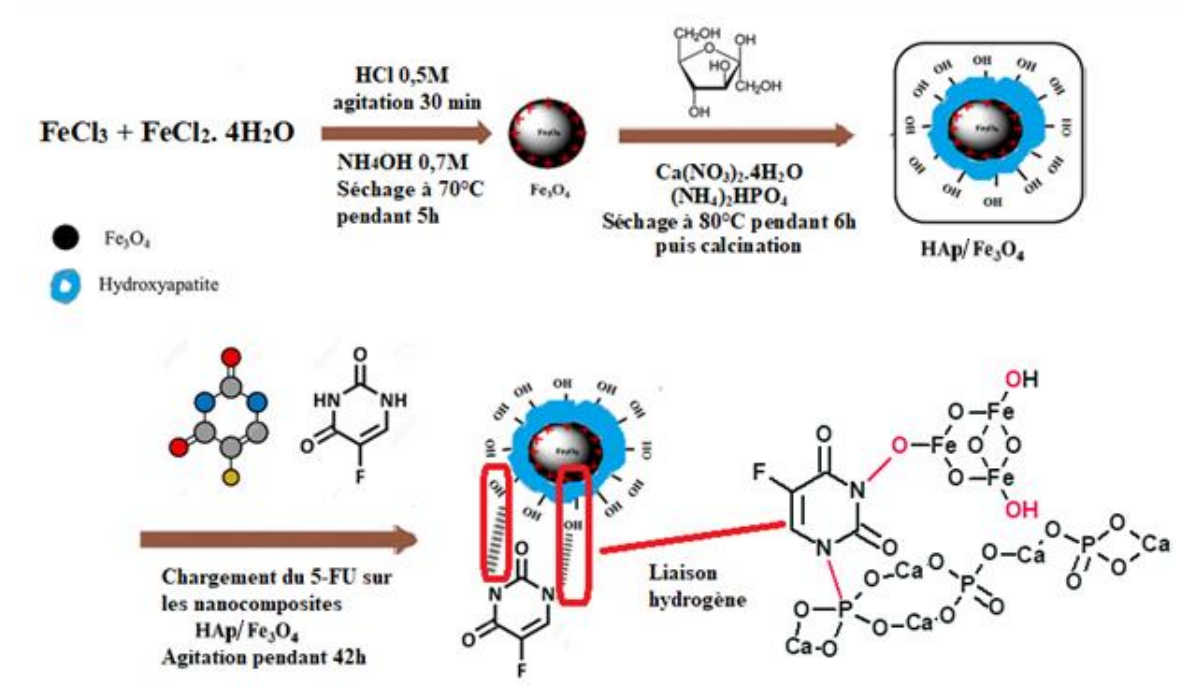


Figure 83: Schéma du processus de chargement du 5-Fluorouracile (5-FU) sur les nanocomposites HAp/Fe₃O₄, illustrant les étapes de synthèse et les interactions moléculaires impliquées.

1.2.7.3 Caractérisation des nanocomposites chargés

La poudre obtenue a été caractérisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) à l'aide d'un spectrophotomètre LABINDIA. Les analyses ont été réalisées dans la plage spectrale 4000–400 cm⁻¹, avec une résolution de 16 cm⁻¹. En parallèle, un spectre de référence du 5-Fluorouracile pur a été enregistré, afin de détecter d'éventuelles modifications structurales ou interactions moléculaires entre le principe actif et la matrice nanocomposite.

1.2.7.4 Détermination du taux de chargement

L'évaluation du taux de chargement en 5-Fluorouracile (5-FU) a été réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), en comparant les spectres enregistrés avant et après l'incorporation du principe actif. Afin d'assurer la fiabilité des mesures, les spectres ont été normalisés en prenant comme référence une bande caractéristique du nanocomposite, choisie pour sa stabilité et son invariance vis-à-vis du processus d'adsorption du 5-FU.

L'analyse de l'intensité relative de la bande spécifique au 5-FU, après normalisation, a permis de quantifier la fraction de molécule fixée à la surface du nanocomposite. Le taux de chargement a ensuite été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Taux de chargement en \%} = \frac{I_{\text{après chargement}} - I_{\text{avant chargement}}}{I_{\text{avant chargement}}} \times 100$$

où :

- I_{avant} : intensité normalisée de la bande avant adsorption,
- $I_{\text{après}}$: intensité normalisée de la bande après adsorption.

1.2.7.5 Étude de la cinétique de libération du 5-FU

La cinétique de libération a été réalisée selon le même protocole que pour l'acide barbiturique: dissolution dans PBS (pH 7,4, 37 °C), prélèvements séquentiels et quantification UV-Visible.

Les données ont été ajustées aux modèles cinétiques de Higuchi (1963) et Korsmeyer–Peppas (1983), afin de déterminer le mécanisme de diffusion prédominant (Fickien, non-Fickien ou anomalous transport).



Figure 84: Appareil de dissolution in vitro des échantillons encapsulés dans des sacs de dialyse.

Des aliquotes de 10 mL ont été prélevées à des intervalles de temps prédéfinis (0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 12 ; 18 et 24 heures), puis remplacées immédiatement par un volume équivalent de PBS frais, de manière à maintenir constantes les conditions de dissolution. La concentration du 5-FU libéré a été déterminée par spectrophotométrie UV-Visible en mesurant l'absorbance des échantillons à 266 nm, ce qui a permis de tracer la cinétique de libération du principe actif.

En parallèle, une suspension de 50 mg de 5-FU libre a été soumise au même protocole expérimental, servant de référence pour comparer les profils de dissolution entre la molécule sous forme libre et sa forme encapsulée dans les nanocomposites. Cette comparaison met en évidence l'impact de l'encapsulation du 5-FU sur sa cinétique de libération et fournit des indications sur sa biodisponibilité potentielle.

1.2.7.6 Dosage du 5-FU résiduel

La quantification du 5-FU libéré a été réalisée à l'aide d'une courbe d'étalonnage construite à partir d'une solution mère de 50 mg/L, soumise à une série de dilutions successives afin de couvrir l'intervalle linéaire de détection. L'analyse spectrophotométrique a été effectuée à la longueur d'onde de 266 nm, choisie après détermination expérimentale du maximum d'absorption du 5-FU.

1.2.8 Modélisation de la cinétique de libération de l'acide barbiturique et du 5-Fluorouracile

La modélisation de la cinétique de libération a été réalisée en deux étapes complémentaires. Dans un premier temps, l'acide barbiturique a été utilisé comme molécule modèle, et sa libération a été étudiée sur l'ensemble des 13 échantillons chargés, afin d'évaluer l'influence des paramètres de synthèse sur les profils de relargage. Dans un second temps, l'étude a porté sur le 5-Fluorouracile (5-FU), appliquée exclusivement à l'échantillon optimal identifié après validation expérimentale, avec trois répétitions indépendantes pour garantir la reproductibilité des résultats.

Dans les deux cas, les données expérimentales ont été ajustées à différents modèles cinétiques classiques (ordre zéro, ordre un, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer–Peppas), dans le but de déterminer le mécanisme prédominant de diffusion et/ou d'érosion régissant la libération du principe actif à partir de la matrice nanocomposite.

2 Résultats et discussion

2.1 Caractérisation des nanocomposites (avant et après chargement en acide barbiturique)

L'évaluation des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ obtenus selon le plan composite central a été réalisée par un ensemble de techniques complémentaires visant à déterminer leur composition structurale, morphologique, magnétique et fonctionnelle. Ces analyses sont essentielles pour vérifier la réussite de la synthèse et évaluer l'impact des paramètres expérimentaux (rapport fructose/Ca (NO₃)₂ et température de calcination) sur les propriétés finales du matériau.

2.1.1 Analyse structurale par DRX et affinement Rietveld

Les diffractogrammes des nanocomposites HAp/ Fe₃O₄ obtenus avant et après chargement en acide barbiturique (Figure 85 et Figure 86) présentent les pics caractéristiques des deux phases principales, confirmant la formation d'un matériau biphasique. Les pics de l'hydroxyapatite (25,94° ; 28,91° ; 32,05° ; 39,70° ; 46,74° ; 49,55° et 53,15° assignés aux plans (002), (210), (211), (310), (222), (213) et (004)) et de la magnétite (35,65° ; 43,77° ; 57,22° ; 63,93° attribués aux plans (311), (400), (511), (440)) sont clairement identifiables et conservent leurs positions après le chargement. L'absence de décalage significatif des pics après adsorption de l'acide barbiturique suggère que la molécule n'est pas intégrée dans les réseaux cristallins, mais reste fixée en surface ou piégée dans les pores des nanocomposites (269,315).

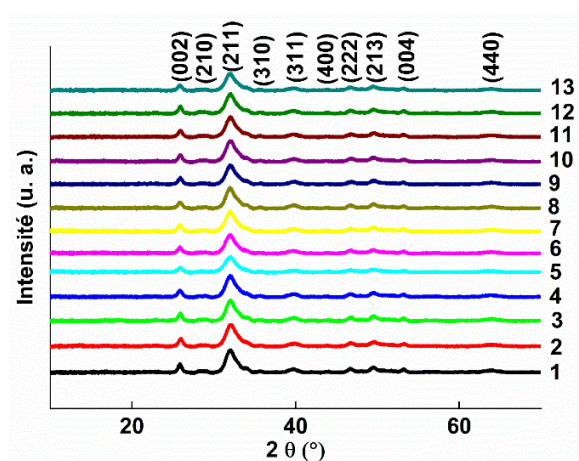


Figure 85 : Diffractogrammes des nanocomposites avant chargement

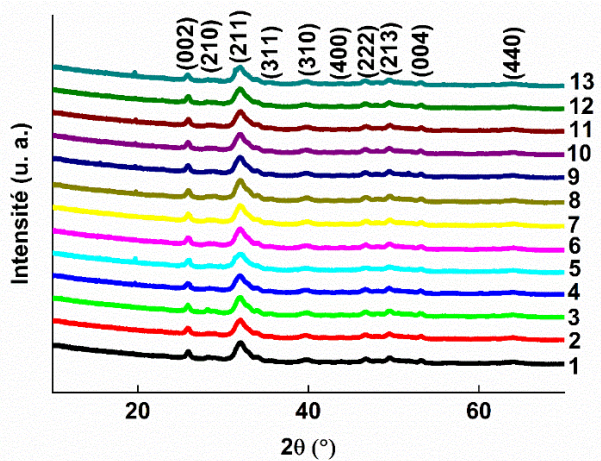


Figure 86: Diffractogrammes des nanocomposites après chargement.

Cette stabilité cristallographique peut s'expliquer par la faible réactivité chimique de l'acide barbiturique vis-à-vis de la structure des matériaux hôte. Ainsi, son incorporation semble se limiter à une interaction de surface, ce qui permet de préserver les propriétés structurales et, en conséquence, les propriétés magnétiques et biologiques des nanocomposites. En outre, la taille des cristallites des deux phases reste inchangée, confirmant que l'ajout de l'acide barbiturique n'induit pas de déformation du réseau ou de recristallisation.

Ainsi, le chargement en acide barbiturique s'effectue sans modification majeure des caractéristiques cristallographiques des nanocomposites d'hydroxyapatite et de magnétite, préservant leur intégrité structurale tout en permettant un potentiel d'interaction biologique accru grâce à l'adsorption de la molécule active.

Un affinement Rietveld a été réalisé pour l'ensemble des 13 nanocomposites, avant et après chargement, et les figures correspondantes sont présentées en annexe.

➤ **Influence des conditions de synthèse et du chargement sur les paramètres cristallins**

Avant chargement, l'augmentation de la température de calcination favorise une meilleure cristallinité de l'HAp, traduite par l'expansion progressive de la maille hexagonale ($a = 9,4135\text{--}9,4610 \text{ \AA}$; $c = 6,8658\text{--}6,9096 \text{ \AA}$). Ces résultats sont cohérents avec les observations de Tite et al. (2018) (309), qui soulignent que l'élévation de température améliore la stabilité structurale mais réduit la porosité. La magnétite montre des variations plus marquées de son paramètre de maille cubique ($a = 7,3771\text{--}8,7410 \text{ \AA}$), reflétant une sensibilité accrue aux conditions de synthèse (Tableau 22).

Après chargement, une tendance générale à l'augmentation des paramètres a et c de l'HAp est observée (Tableau 23), indiquant une légère expansion du réseau cristallin. Cette variation pourrait résulter d'interactions électrostatiques ou de liaisons hydrogène entre les groupements carbonyles de l'acide barbiturique et les ions Ca^{2+} de l'HAp. En revanche, la magnétite présente des variations plus contrastées de son paramètre de maille, traduisant des interactions plus complexes avec l'acide barbiturique, probablement limitées à la surface des cristallites.

Tableau 22: Paramètres structuraux issus de l'affinement Rietveld (a, c, taille cristallite, Rwp, χ^2)

Ncp	Ratio	T de calcination (°C)	Phase	% massique	Paramètres de la maille (Å)	L (nm)	Déviation relative (%)	Indices de qualité d'affinement			
								Sig	Rwp (%)	Rb (%)	Rexp (%)
1	1	-1	HAP Fe ₃ O ₄	78,35 21,65	a= 9,437435 ; c= 6,8879414 a= 8,3124075	13,65 7,67	$\Delta a=0,19$; $\Delta c=0,01$ $\Delta a= -1,34$	1,226	3,414	2,654	2,783
2	+1	-1	HAP Fe ₃ O ₄	79,40 20,60	a= 9,428747 ; c= 6,865812 a= 8,740986	11,5 49,58	$\Delta a=0,10$; $\Delta c=-0,22$ $\Delta a= 3,73$	1,359	3,892	3,061	2,862
3	-1	+1	HAP Fe ₃ O ₄	87,6 12,4	a= 9,413516 ; c= 6,8769436 a= 8,078751	10,67 2,45	$\Delta a=-0,006$; $\Delta c=-0,06$ $\Delta a= -4,12$	1,237	3,506	2,727	2,833
4	+1	+1	HAP Fe ₃ O ₄	85,3 14,7	a= 9,415921, c= 6,8842506 a= 7,573747	11,5 4,0	$\Delta a=-0,03$; $\Delta c=0,044$ $\Delta a= -10,11$	1,196	3,379	2,649	2,825
5	-1	0	HAP Fe ₃ O ₄	84,15 15,85	a = 9,451281 ; c= 6,909628 a= 7,3770905	8,55 22,4	$\Delta a= 0,34$; $\Delta c=0,41$ $\Delta a= -12,44$	1,138	3,094	2,355	2,717
6	1	0	HAP Fe ₃ O ₄	79 21	a=9,436145 ; c= 6,881126 a=8,413312	13,3 14,6	$\Delta a= 0,18$; $\Delta c= 0$ $\Delta a= -0,15$	1,131	3,058	2,344	2,704
7	0	-1	HAP Fe ₃ O ₄	91,14 8,86	a= 9,443939 ; c= 6,892763 a=8,377452	11,8 21,6	$\Delta a= 0,26$; $\Delta c=0,16$ $\Delta a= -0,57$	1,141	3,113	2,381	2,728
8	0	1	HAP Fe ₃ O ₄	91,11 8,89	a= 9,43834 ; c= 6,90166 a=8,36723	11,9 9,75	$\Delta a= 0,20$; $\Delta c=0,29$ $\Delta a= -0,69$	1,087	2,955	2,273	2,717
9	0	0	HAP Fe ₃ O ₄	95,20 4,80	a= 9,455714 ; c= 6,9086337 a=8,424683	11,5 18,6	$\Delta a= 0,38$; $\Delta c=0,39$ $\Delta a= -0,01$	1,183	3,214	2,447	2,715
10	0	0	HAP Fe ₃ O ₄	87,77 12,23	a= 9,449954 ; c= 6,90459 a=8,419653	11,57 9,4	$\Delta a= 0,32$; $\Delta c=0,34$ $\Delta a= -0,07$	1,149	3,123	2,417	2,715
11	0	0	HAP Fe ₃ O ₄	93,23 6,77	a= 9,452473 ; c= 6,903587 a=8,423174	10,75 19,43	$\Delta a= 0,35$; $\Delta c= 0,32$ $\Delta a= -0,03$	1,184	3,209	2,455	2,710
12	0	0	HAP Fe ₃ O ₄	93,0 7,00	a= 9,461047 ; c= 6,896259 a=8,426671	11,65 19,87	$\Delta a= 0,44$; $\Delta c=0,21$ $\Delta a= 0,006$	1,204	3,224	2,453	2,676
13	0	0	HAP Fe ₃ O ₄	94,00 6,00	a= 9,45069 ; c= 6,90784 a=8,42194	11,8nm 8,85	$\Delta a= 0,33$; $\Delta c=0,38$ $\Delta a= -0,04$	1,125	3,093	2,346	2,749

Tableau 23: Paramètres cristallographiques des nanocomposites après chargement en acide barbiturique.

Ncp	Ratio	T (°C)	Composition	% massique	Paramètres de la maille (Å)	L (nm)	Déviation relative (%)	Les indices de qualité d'affinement			
								Sig	Rwp (%)	Rb (%)	Rexp (%)
1	-1	-1	HAp Fe ₃ O ₄	89,80 10,20	a= 9,440918 ; c= 6,887962 a= 8,421984	14,3 9,8	Δa= 0,23 ; Δc= 0,098 Δa= -0,048	1.262	3.365	2.583	2.665
2	+1	-1	HAP Fe ₃ O ₄	94,15 5,85	a= 9,456167 ; c= 6,8959036 a= 8,421794	14,2 17,3	Δa= 0,39 ; Δc= 0,21 Δa= -0,051	1.187	3.219	2.472	2.711
3	-1	+1	HAp Fe ₃ O ₄	85,9 14,1	a= 9,441547 ; c= 6,8922553 a= 8,430794	14,11 11,5	Δa= 0,23 ; Δc= 0,16 Δa= 0,055	1.240	3.379	2.572	2.724
4	+1	+1	HAp Fe ₃ O ₄	88,5 11,5	a= 9,430685 ; c= 6,8806276 a= 8,425758	15,4 15,7	Δa= 0,018 ; Δc= -0,0081 Δa= -0,004	1.215	3.307	2.502	2.720
5	-1	0	HAp Fe ₃ O ₄	95,54 4,46	a = 9,465255 ; c= 6,883695 a= 8,428492	13,4 16,6	Δa= 0,49 ; Δc= 0,036 Δa= 0,028	1.399	3.738	2.749	2.670
6	1	0	HAp Fe ₃ O ₄	96,30 3,70	a=9,444582 ; c= 6,887802 a=8,428548	14 13,6	Δa= 0,27 ; Δc= 0,036 Δa= 0,029	1.233	3.266	2.477	2.646
7	0	-1	HAp Fe ₃ O ₄	94,5 5,5	a= 9,429729 ; c= 6,886518 a=8,426753	14,25 18,23	Δa= 0,11 ; Δc= 0,077 Δa= 0,0077	1.269	3.495	2.663	2.753
8	0	1	HAp Fe ₃ O ₄	93,75 6,25	a= 9,438903 ; c= 6,8929725 a=8,427868	14,75 12,84	Δa= 0,21 ; Δc= 0,17 Δa= 0,02	1.243	3.397	2.566	2.731
9	0	0	HAp Fe ₃ O ₄	95,16 4,84	a= 9,446599 ; c= 6,8905716 a=8,426066	15,25 10,12	Δa= 0,29 ; Δc= 0,13 Δa= -0,0004	1.298	3.470	2.617	2.672
10	0	0	HAp Fe ₃ O ₄	87,00 13,00	a= 9,445345 ; c= 6,894279 a=8,406438	14,4 6,2	Δa= 0,27 ; Δc= 0,19 Δa= -0,23	1.229	3.249	2.483	2.643
11	0	0	HAp Fe ₃ O ₄	95,83 4,17	a= 9,440592 ; c= 6,889243 a=8,421906	14,1 14,2	Δa= 0,22 ; Δc= 0,11 Δa= -0,049	1.259	3.379	2.525	2.683
12	0	0	HAp Fe ₃ O ₄	94,35 5,65	a= 9,452207 ; c= 6,891292 a=8,426252	13,43 10,36	Δa= 0,35 ; Δc= 0,14 Δa= 0,0152	1.243	3.298	2.509	2.653
13	0	0	HAp Fe ₃ O ₄	88,4 11,6	a= 9,431132 ; c= 6,880539 a=8,428492	15,11 16,58	Δa= 0,12 ; Δc= -0,0094 Δa= 0,028	1.328	3.604	2.664	2.714

➤ Évolution de la taille cristalline et des proportions relatives des phases

La taille des cristallites d'HAp tend à augmenter après le chargement, suggérant une stabilisation structurale favorisée par l'adsorption de la molécule. En parallèle, la taille des cristallites de Fe_3O_4 varie de manière plus hétérogène : certains échantillons montrent une diminution, traduisant une possible désorganisation superficielle, tandis que d'autres restent stables. Ces résultats indiquent une interaction plus marquée entre l'acide barbiturique et la phase magnétique, comme l'ont également rapporté Antonakos et al. (2007 et 2017) dans le cas de substitutions ioniques sur l'HAp (292,308). Ces observations sont en accord avec les études antérieures rapportées par Cescon et al., 2023 ; Sarda et al., 2016 ayant montré que le chargement d'ions ou l'adsorption de molécules sur l'hydroxyapatite peuvent modifier sa cristallinité et ses paramètres de maille (316,317), et avec les travaux de Lesiak et al, 2019 sur la fonctionnalisation de Fe_3O_4 mettant en évidence des altérations de surface de la phase magnétique (318).

Un autre aspect notable est l'évolution de la proportion massique des phases : avant chargement, l'HAp représentait entre 78,35 % et 95,20 %, tandis que Fe_3O_4 variait entre 4,80 % et 21,65 %. Après chargement, la proportion d'HAp s'élève (89,80–96,30 %), alors que celle de Fe_3O_4 diminue (3,70–14,10 %) (Tableau 23). Cette redistribution apparente suggère une interaction préférentielle entre l'acide barbiturique et l'HAp, stabilisant cette phase au détriment de la magnétite.

➤ Indices de qualité de l'affinement Rietveld

Les indices de qualité obtenus lors de l'affinement confirment la robustesse et la fiabilité des résultats structuraux. Avant chargement, les valeurs du facteur de pondération du profil (Rwp) varient entre 2,955 % et 3,892 %, tandis que le facteur de Bragg (Rb) se situe entre 2,273 % et 3,061 %. Ces valeurs, toutes inférieures au seuil de 5 %, traduisent une excellente concordance entre les profils expérimentaux et les profils calculés. Dans la littérature, il est généralement admis qu'un $Rwp < 10\%$ constitue une valeur acceptable pour les matériaux cristallins complexes, et qu'un intervalle de 3–5 % reflète un ajustement de haute qualité (269). Les résultats obtenus pour les nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 s'inscrivent donc dans la catégorie des ajustements de premier ordre, comparables à ceux rapportés pour des systèmes modèles bien cristallisés.

Après chargement en acide barbiturique, les valeurs de Rwp demeurent inférieures à 4 % (maximum 3,738 %), ce qui confirme que l'incorporation du principe actif n'altère pas significativement la qualité globale de l'ajustement. La légère augmentation observée peut être attribuée à l'introduction de micro-hétérogénéités de surface ou de contraintes locales générées par l'adsorption du principe actif, sans pour autant modifier la structure cristalline globale.

Le paramètre Sig varie entre 1,187 et 1,399, traduisant une très bonne cohérence entre les données expérimentales et le modèle. Idéalement, une valeur proche de 1 suggère que les écarts résiduels proviennent essentiellement du bruit statistique inhérent à la mesure. Les valeurs obtenues, légèrement supérieures à 1, confirment la présence d'une variabilité modeste mais attendue dans les matériaux multiphasiques comme les nanocomposites.

Enfin, les valeurs du facteur d'écart attendu (R_{exp}), comprises entre 2,643 % et 2,753 %, se rapprochent étroitement de celles du Rwp. Ce rapprochement démontre que les écarts entre les intensités observées et calculées sont minimes et non significatifs, et qu'il n'y a pas eu de surajustement artificiel des données.

Dans l'ensemble, ces résultats attestent que la méthode de Rietveld appliquée aux nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 permet une description fiable des paramètres cristallins, et que l'adsorption de l'acide barbiturique n'introduit pas de perturbations majeures sur la structure globale. Ce constat est en accord avec d'autres études de matériaux hybrides bioactifs, où l'incorporation de molécules organiques conduit à de modifications superficielles ou de surface, détectables par des techniques spectroscopiques mais rarement par DRX (309,315).

En synthèse, l'analyse structurale met en évidence :

- une stabilité cristallographique globale des phases HAp et Fe_3O_4 après adsorption de l'acide barbiturique,
- une légère expansion de la maille de l'HAp (Tableau 23), traduisant des interactions superficielles avec la molécule,
- des variations contrastées de la magnétite, suggérant une plus forte sensibilité de cette phase aux interactions de surface,
- une redistribution apparente des proportions relatives des phases (Tableau 22 et Tableau 23), indiquant une affinité préférentielle de l'acide barbiturique pour l'HAp,

- et une qualité constante de l'affinement Rietveld, attestant de la préservation des propriétés cristallographiques après chargement.

Ces résultats confirment que l'acide barbiturique est majoritairement adsorbé en surface, sans incorporation structurale profonde, ce qui permet de conserver les propriétés fonctionnelles initiales des nanocomposites tout en leur conférant une capacité d'interaction pharmaceutique accrue.

2.1.2 Propriétés morphologiques (MEB/EDS)

Les observations réalisées par microscopie électronique à balayage (MEB) ont permis d'évaluer la morphologie et l'organisation des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ avant et après chargement en acide barbiturique. Les images représentatives sont présentées dans la Figure 87 (avant chargement) et la Figure 88 (après chargement).

Avant chargement, les particules présentent une morphologie hétérogène et une tendance marquée à l'agglomération, typique des poudres nanométriques. En mode ETD (électrons secondaires), les images révèlent une texture rugueuse et la formation d'agglomérats de 300 à 800 nm, constitués de nanoparticules plus fines (<100 nm). Cette organisation peut être attribuée à des forces électrostatiques et aux interactions magnétiques générées par la présence de Fe₃O₄. En mode CBS (électrons rétrodiffusés), les contrastes de composition permettent de distinguer des zones plus riches en HAp et d'autres en magnétite, traduisant une répartition hétérogène mais complémentaire des phases.

Après chargement en acide barbiturique (Figure 88), la morphologie générale reste conservée, mais l'on observe une augmentation de la compacité des agglomérats et une réduction apparente de la rugosité de surface. Ces observations suggèrent que l'acide barbiturique, adsorbé à la surface des nanoparticules, contribue à colmater partiellement les pores interparticulaires, réduisant ainsi l'hétérogénéité topographique. Cette tendance est cohérente avec les observations de Kumar et al. (2016) (319), qui ont rapporté que le chargement de molécules organiques dans l'HAp entraîne une homogénéisation morphologique liée à l'adsorption de surface. Des travaux récents de Kawsar et al. (2024) confirment également que l'introduction de modificateurs organiques dans l'HAp induit des ajustements structuraux et morphologiques, tandis que Shah et al. (2022) ont mis en évidence des modifications superficielles comparables

sur la phase Fe_3O_4 après fonctionnalisation organique, ce qui appuie l'hypothèse d'une interaction marquée entre l'acide barbiturique et la surface des cristallites (320,321).

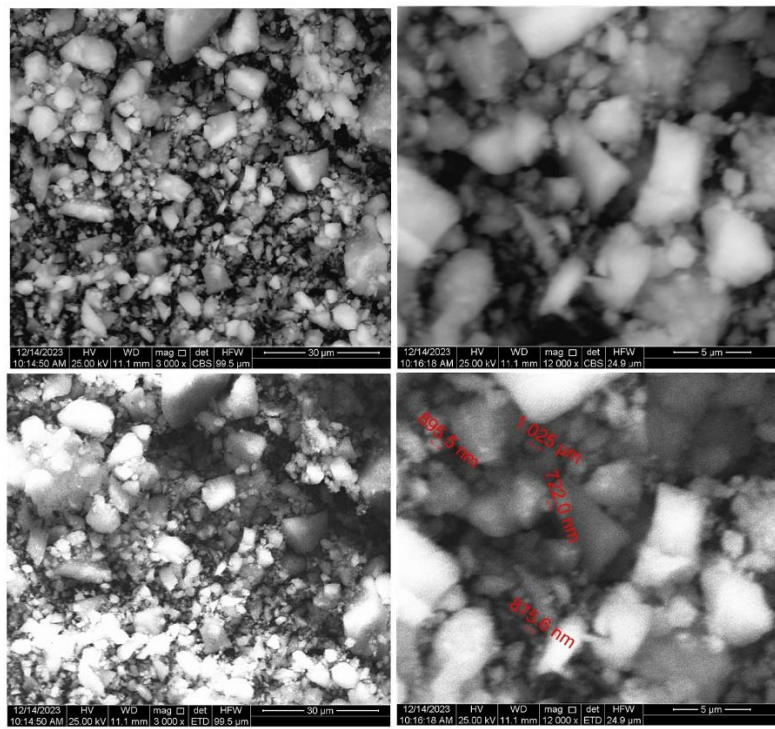


Figure 87: Analyse morphologique et compositionnelle des nanocomposites par MEB (modes ETD et CBS).

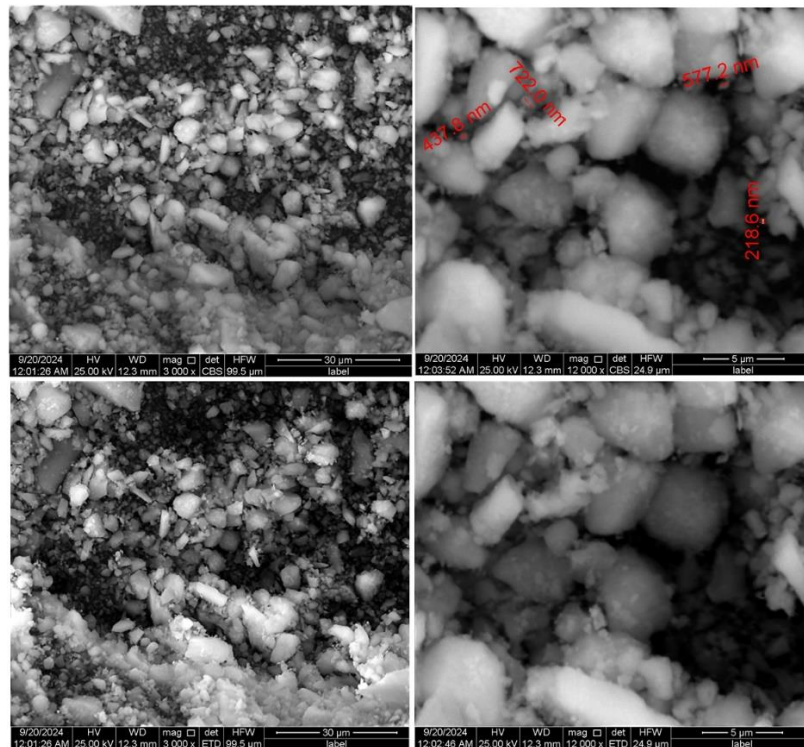


Figure 88: Images MEB des échantillons après chargement en acide barbiturique.

➤ **Analyse élémentaire par EDS**

L'analyse EDS (spectres présentés en Figure 89) confirme la présence des éléments constitutifs majeurs (Ca, P, O, Fe) dans tous les échantillons, validant la coexistence des phases identifiées par DRX. Le Tableau 24 présente les teneurs élémentaires ainsi que les rapports Ca/P calculés avant et après chargement.

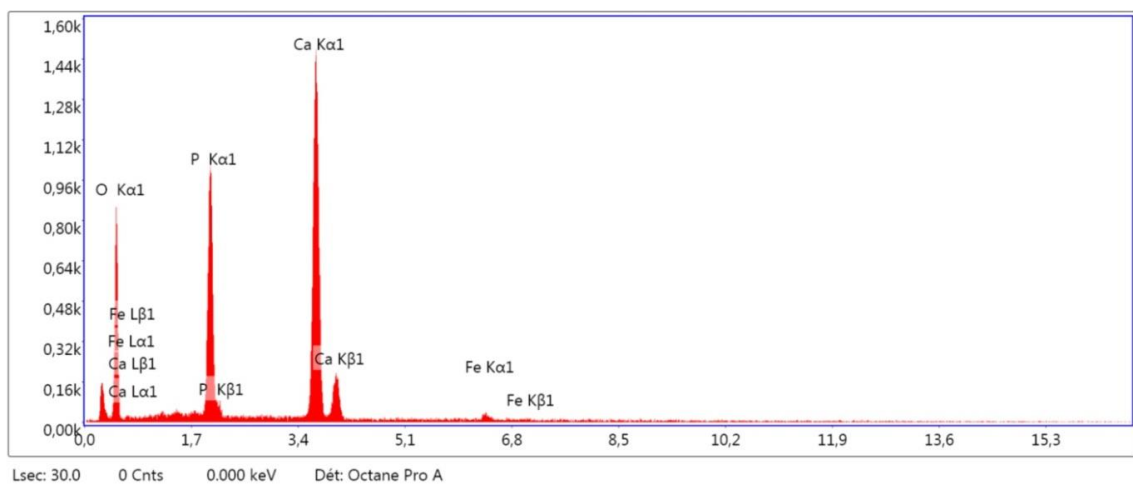


Figure 89: Spectres EDS confirmant la composition élémentaire (Ca, P, O, Fe).

Tableau 24: Rapports Ca/P et compositions élémentaires (massiques et atomiques) déterminés par EDS.

Ncp	% Atomique O	% Atomique P	% Atomique Ca	% Atomique Fe	Rapport molaire Ca/P
1	79,17	9,25	11,44	0,13	1,24
2	81,97	7,12	10,84	0,06	1,52
3	82,83	7,25	9,81	0,12	1,35
4	82,84	6,86	10,20	0,10	1,49
5	74,16	9,99	10,20	0,28	1,02
6	71,20	11,26	9,27	0,32	0,82
7	72,81	8,84	9,63	0,18	1,09
8	73,74	8,73	10,47	0,30	1,20
9	68,46	7,53	8,59	0,18	1,14
10	74,33	9,85	10,94	0,24	1,11
11	68,47	8,76	10,43	0,23	1,19
12	65,10	6,57	6,72	0,17	1,02
13	65,30	6,65	6,77	0,16	1,02

Avant chargement, le rapport Ca/P varie entre 0,82 et 1,52, avec une moyenne légèrement inférieure à la valeur théorique de l'HAp (1,67). Ces écarts traduisent des substitutions ioniques ou des déficiences en calcium. Ainsi :

- les rapports élevés observés dans les échantillons 2 et 4 ($\geq 1,49$) sont attribués à une substitution carbonatée de type B ($\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{PO}_4^{3-}$), confirmée par l'analyse FTIR ;
- les rapports faibles ($\leq 1,05$), relevés notamment pour les échantillons 6, 12 et 13, indiquent une substitution partielle de Ca^{2+} par Fe^{3+} dans la structure apatite, phénomène bien documenté par Antonakos et al. (2017) (308).

Après chargement en acide barbiturique, une stabilisation des rapports Ca/P est observée, avec une réduction des écarts extrêmes. Les valeurs tendent à se regrouper dans un intervalle plus restreint (1,03–1,23), traduisant une redistribution ionique locale et une homogénéisation de la composition élémentaire (Tableau (25)). Cette évolution peut être expliquée par l'adsorption de l'acide barbiturique sur les sites calciques de surface, réduisant ainsi la variabilité des substitutions observées avant chargement.

L'intensité relative des signaux du fer (Fe $K\alpha$, $K\beta$ et $L\alpha$) reste globalement faible (< 1 % atomique), confirmant que la magnétite est présente en proportion minoritaire dans la matrice et dispersée sous forme de nanoparticules. Après chargement, une légère diminution des

signaux de Fe est observée, probablement due à un masquage partiel de la surface des cristallites de magnétite par l'acide barbiturique.

Tableau 25: Composition élémentaire des nanocomposites après chargement en acide barbiturique (analyse EDS).

Ncp	C (%)	O (%)	P (%)	Ca (%)	Fe (%)	Ca/P
1	10,21	73,46	7,96	8,23	0,14	1,03
2	11,06	74,06	6,93	7,83	0,12	1,13
3	5,71	72,73	10,25	11,07	0,25	1,08
4	4,27	75,01	10,13	10,41	0,19	1,03
5	11,56	72,25	7,37	8,70	0,12	1,18
6	7,12	73,35	9,34	10,01	0,18	1,07
7	1,99	67,36	13,61	16,80	0,24	1,23
8	0,99	71,97	12,74	14,06	0,24	1,10
9	36,26	54,11	4,66	4,83	0,14	1,04
10	8,10	75,63	7,74	8,37	0,16	1,08
11	9,34	74,38	7,53	8,55	0,20	1,14
12	12,90	73,75	6,02	7,17	0,16	1,19
13	13,15	69,92	8,25	8,51	0,16	1,03

En résumé, les résultats MEB/EDS mettent en évidence que :

- la morphologie reste dominée par des particules nanométriques agglomérées, avec une taille élémentaire <100 nm,
- le chargement en acide barbiturique réduit la rugosité de surface et augmente la compacité des agglomérats (Figure 88),
- les rapports Ca/P, initialement dispersés (0,82–1,52), tendent à se stabiliser après chargement (1,03–1,23) (Tableau 24 et 25),
- les signaux du fer sont faiblement affectés par le chargement, traduisant une interaction préférentielle de l'acide barbiturique avec l'HAp plutôt qu'avec la magnétite (Figure 89).

Ces observations corroborent celles obtenues par DRX, qui avaient montré une affinité préférentielle de l'acide barbiturique pour l'HAp, confirmant que ce composé est principalement adsorbé sur la phase apatitique, tout en préservant l'intégrité structurale et morphologique des nanocomposites.

2.1.3 Propriétés magnétiques (VSM)

Les propriétés magnétiques des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ avant et après chargement en acide barbiturique ont été étudiées par magnétométrie à échantillon vibrant (VSM). Les courbes d'hystérésis représentatives sont présentées dans la Figure 90 (avant chargement) et la Figure 91 (après chargement), tandis que les valeurs de magnétisation à saturation (M_s), de coercivité (H_c) et de rémanence (M_r) sont regroupées dans le Tableau 23.

Avant chargement, les courbes présentent une forme typique de nanomatériaux superparamagnétiques, caractérisée par une absence de cycle d'hystérésis marqué, traduisant une aimantation réversible. Les valeurs de coercivité mesurées se situent entre 20,177 et 26,611 Oe, ce qui demeure faible par rapport aux matériaux ferrimagnétiques classiques. Cette faible coercivité indique que les nanocomposites se situent à la frontière entre un état superparamagnétique et un état ferrimagnétique faiblement coercitif. Les échantillons 2, 4, 6 et 11 présentent des H_c légèrement plus élevées (>25 Oe), suggérant une résistance modérée à la désaimantation, tandis que la majorité des autres échantillons restent proches du comportement superparamagnétique.

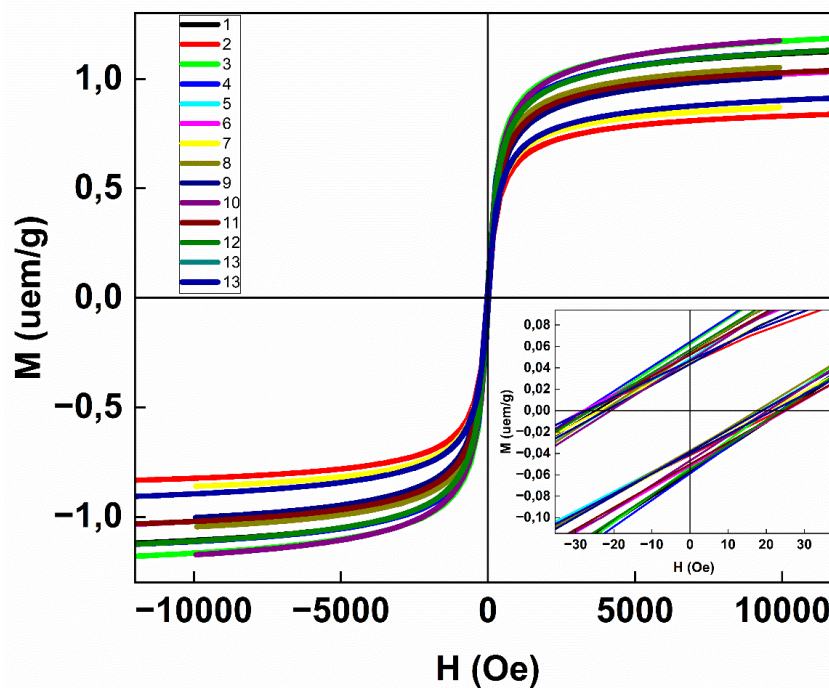


Figure 90: Hystérésis des nanocomposites avant chargement.

Tableau 26: Paramètres magnétiques (Ms, Hc, Mr) des échantillons.

Ncp	Ms (uem/g)	Hci (Oe)	Mr (uem/g)	RMS (uem/g)
1	1,1222	24,715	55,805E-3	1,0321
2	0,83555	25,326	42,949E-3	0,76718
3	1,1825	23,706	57,764E-3	1,0832
4	1,1284	25,762	61,477E-3	1,0360
5	1,0310	20,446	43,702E-3	0,93815
6	1,0391	26,611	52,362E-3	0,95152
7	0,86570	22,206	42,838E-3	0,78955
8	1,0493	20,177	45,242E-3	0,95650
9	1,0059	20,527	41,043E-3	0,91060
10	1,1743	20,613	46,930E-3	1,0627
11	1,0354	25,514	51,220E-3	0,94920
12	1,1279	24,975	56,020E-3	1,0316
13	0,90950	24,587	43,569E-3	0,82960

Les valeurs de magnétisation à saturation (Ms) varient de 0,83555 à 1,1825 uem/g, ce qui confirme la faible proportion de Fe₃O₄ dans la matrice majoritairement constituée d'HAp. Bien que les échantillons 3 et 10 présentent les Ms les plus élevées ($\approx 1,18$ uem/g), ces valeurs demeurent bien inférieures à celles des matériaux purement ferrimagnétiques. Cette magnétisation réduite est cohérente avec la dilution de la phase magnétique dans une matrice non magnétique et l'absence d'interactions dipolaires fortes entre les particules de Fe₃O₄.

Concernant la rémanence (Mr), les valeurs mesurées restent très faibles ($< 61,477 \times 10^{-3}$ uem/g), confirmant l'absence de mémoire magnétique significative après suppression du champ externe. Les échantillons 4, 12 et 3 présentent les Mr les plus élevées, mais elles restent dans un intervalle compatible avec un comportement superparamagnétique atténué.

Après chargement en acide barbiturique (Figure 91, Tableau 27), une diminution globale des valeurs de Ms et de Mr est observée. La magnétisation à saturation se réduit en moyenne de 10–15 %, ce qui traduit une atténuation de la contribution magnétique de Fe₃O₄. Ce phénomène peut être attribué à :

- un masquage partiel des sites magnétiques par l'adsorption du principe actif,
- et/ou à une réduction de l'accessibilité des particules de magnétite, piégées dans une matrice plus compacte après chargement.

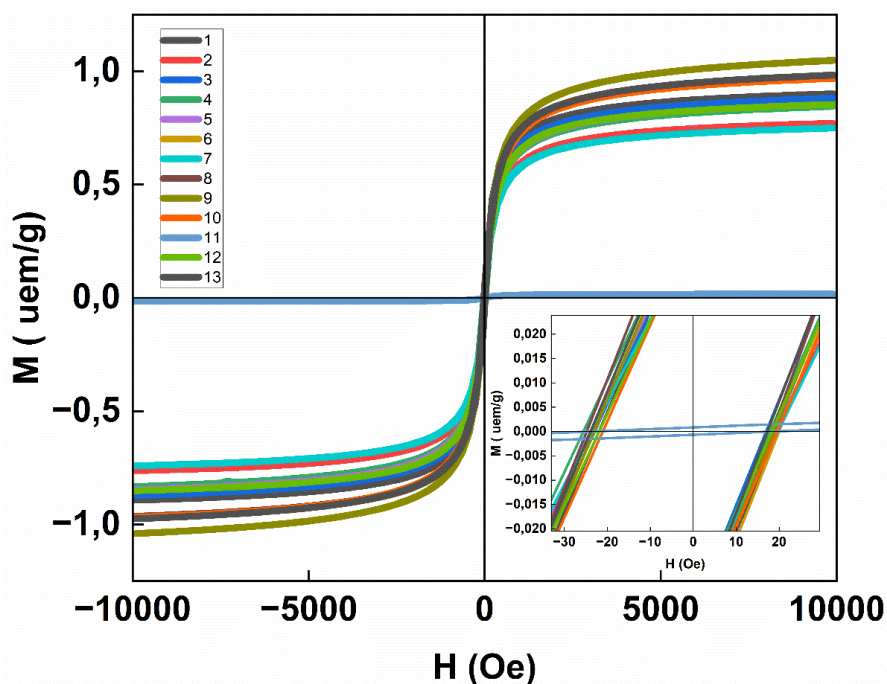


Figure 91: Hystérésis des nanocomposites après chargement.

Tableau 27: Paramètres magnétiques des nanocomposites après chargement.

Ncp	Ms (uem/g)	Hci (Oe)	Mr (uem/g)	RMS (uem/g)
1	0,89640	20,848	43,487E-3	0,82715
2	0,76585	21,436	37,955E-3	0,70535
3	0,87630	19,944	40,749E-3	0,80505
4	0,83925	21,734	42,338E-3	0,76755
5	0,84930	21,569	40,878E-3	0,77880
6	0,97740	21,507	46,324E-3	0,89405
7	0,74495	21,669	37,818E-3	0,68505
8	0,97010	21,566	49,832E-3	0,88920
9	1,0439	21,005	44,514E-3	0,94910
10	0,96825	20,320	40,820E-3	0,88345
11	16,399E-3	21,187	75,12E-6	15,012E-3
12	0,85200	20,100	39,475E-3	0,78275
13	0,97870	20,582	45,057E-3	0,89420

Les valeurs de coercivité (H_c), en revanche, restent relativement stables après adsorption, avec des variations faibles (20–27 Oe). Cette stabilité suggère que la structure magnétique intrinsèque des nanoparticules de Fe_3O_4 n'a pas été modifiée en profondeur par l'acide barbiturique. Les petites fluctuations observées peuvent s'expliquer par des réorganisations de surface ou des contraintes locales générées lors du processus de chargement.

Enfin, la diminution de M_r après chargement confirme que l'acide barbiturique favorise une réversibilité accrue de l'aimantation, ce qui peut être interprété comme un effet de surface atténuant les interactions dipolaires entre particules.

En résumé, l'étude magnétique montre que :

- avant chargement, les nanocomposites présentent un comportement superparamagnétique atténué, adapté aux applications biomédicales (vectorisation, hyperthermie, ciblage dirigé),
- après chargement, une réduction des valeurs de M_s et M_r est observée (Tableau 27), confirmant que l'acide barbiturique se fixe préférentiellement sur la surface des particules de Fe_3O_4 , réduisant leur réponse magnétique globale,
- la coercivité (H_c) reste quasi inchangée, indiquant que la structure magnétique interne des nanoparticules n'est pas affectée par le processus de chargement.

Ces résultats corroborent les observations structurales et morphologiques, qui avaient montré une affinité préférentielle de l'acide barbiturique pour la surface de l'HAp et une interaction secondaire avec la magnétite. La préservation du comportement proche du superparamagnétisme, malgré une légère réduction de l'intensité magnétique, constitue un atout pour une application biomédicale, puisqu'elle garantit une manipulation externe sous champ magnétique tout en évitant une rémanence excessive responsable d'agrégations irréversibles.

2.1.4 Propriétés fonctionnelles (FTIR)

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a été réalisée afin d'identifier les groupes fonctionnels présents dans les nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 avant et après chargement en acide barbiturique. Les spectres FTIR représentatifs sont présentés dans la Figure 92 (avant chargement) et la Figure 93 (après chargement), tandis que les positions des principales bandes d'absorption sont récapitulées dans le Tableau 28.

➤ Spectres avant chargement

Avant chargement (Figure 92), les spectres révèlent :

- les bandes caractéristiques de l'HAp :

- vibrations d'élongation symétrique et asymétrique des groupements PO_4^{3-} à $962,48 \text{ cm}^{-1}$ (ν_1) et $1024,20\text{--}1090 \text{ cm}^{-1}$ (ν_3),
- vibrations de flexion ν_4 entre $561,29$ et $601,79 \text{ cm}^{-1}$,
- bandes OH^- à 3570 et 632 cm^{-1} , confirmant la présence d'hydroxyapatite bien cristallisée ;
- les bandes caractéristiques de la magnétite (Fe_3O_4), avec des vibrations Fe-O à $561,29$ et $601,79 \text{ cm}^{-1}$, en accord avec Antonakos et al. (2017) ;
- des bandes supplémentaires liées aux carbonates : $877,61 \text{ cm}^{-1}$ ($\nu_2 \text{ CO}_3^{2-}$) et $1409,96\text{--}1452,40 \text{ cm}^{-1}$, indiquant une substitution de type B ($\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{PO}_4^{3-}$) dans la structure apatite ;
- enfin, une large bande centrée à $3317,58 \text{ cm}^{-1}$, attribuée aux vibrations d'élongation O-H , traduisant la présence d'eau adsorbée ou d'hydratation résiduelle.

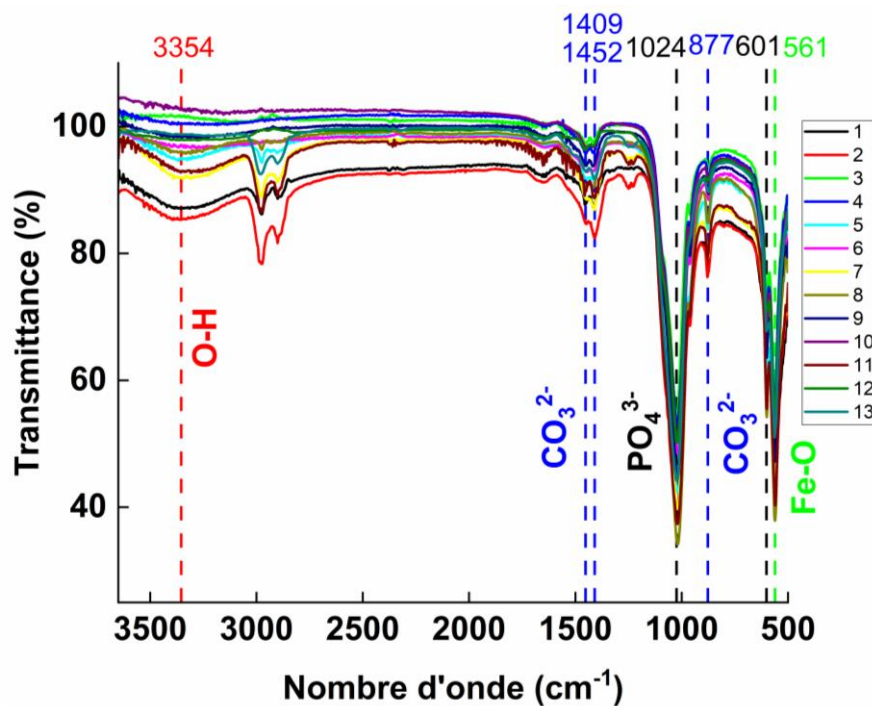


Figure 92: Spectres FTIR des nanocomposites avant chargement.

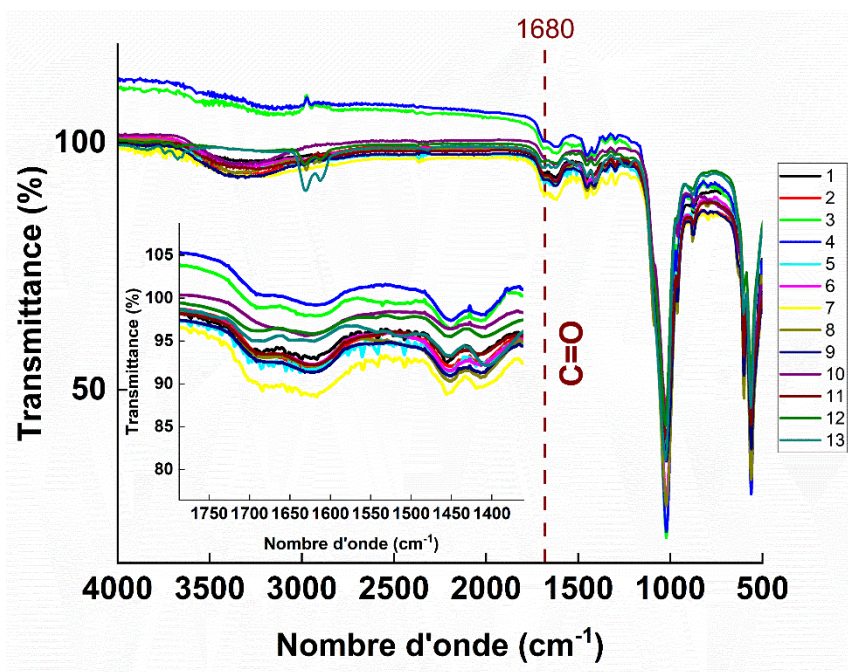


Figure 93: Spectres infrarouges des nanocomposites après chargement.

➤ Spectres après chargement

Après chargement en acide barbiturique (Figure 93), les spectres conservent les bandes caractéristiques de l'HAp et de la magnétite, confirmant la stabilité structurale globale du nanocomposite. Toutefois, de nouvelles bandes apparaissent ou s'intensifient, témoignant de l'adsorption de la molécule organique :

- une bande marquée à 1710–1725 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'élongation du groupe C=O de l'acide barbiturique,
- des vibrations supplémentaires dans la zone 2800–3000 cm^{-1} , attribuées aux liaisons C–H de la molécule,
- une intensification relative des bandes de déformation autour de 1635 cm^{-1} , traduisant une interaction entre les groupements carbonyles du principe actif et les sites OH^- de surface de l'HAp.

Ces modifications confirment que l'acide barbiturique est principalement adsorbé à la surface du nanocomposite, par liaisons hydrogène et interactions électrostatiques avec les groupements Ca^{2+} et OH^- de l'HAp.

Le Tableau 24 résume la comparaison avant/après chargement : il met en évidence la conservation des bandes caractéristiques de l'HAp et de la magnétite, mais aussi l'apparition de nouvelles bandes assignées à l'acide barbiturique, preuve de son adsorption effective sans altération de la structure cristalline initiale.

Tableau 28: Comparaison des spectres FTIR avant et après chargement en acide barbiturique.

Bande (cm ⁻¹)	Attribution	Avant chargement	Après chargement
561–602	Vibrations Fe–O (magnétite) + v4 PO ₄ ³⁻	Présent (fort)	Présent (inchangé)
632	Vibrations OH ⁻ (HAp)	Présent	Présent
962	v1 PO ₄ ³⁻ (HAp)	Présent	Présent
1024–1090	v3 PO ₄ ³⁻ (HAp)	Présent	Présent
1409–1452	v3 CO ₃ ²⁻ (substitution type B)	Présent (substitution carbonatée)	Présent (inchangé)
1635	Déformation OH ⁻ / interaction C=O–H	Faible	Intensité accrue
1710–1725	v C=O (acide barbiturique)	Absent	Apparition (C=O)
2800–3000	v C–H (acide barbiturique)	Absent	Apparition (C–H)
3317	v O–H (eau, groupements hydroxyles)	Large bande présente	Intensité accrue
3570	v OH ⁻ structuraux (HAp)	Présent	Présent

L'analyse FTIR montre clairement que :

- les bandes caractéristiques de l'HAp et de la magnétite restent inchangées (Tableau 28), confirmant la préservation de la structure du nanocomposite,
- l'apparition de nouvelles bandes (C=O, C–H) après chargement constitue un marqueur direct de l'adsorption de l'acide barbiturique,
- l'intensification de certaines bandes (1635 cm⁻¹, 3317 cm⁻¹) suggère des interactions hydrogène et électrostatiques entre la molécule et la surface apatite,
- la substitution carbonatée déjà présente avant chargement n'est pas affectée, indiquant que l'acide barbiturique se fixe principalement en surface, sans modification profonde de la structure cristalline.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par DRX, qui avaient montré l'absence de décalage des pics cristallins après adsorption. Ils confirment que le mécanisme de chargement repose sur une interaction de surface plutôt qu'une intégration dans le réseau cristallin.

2.1.5 Propriétés thermiques (DSC/TG)

L'analyse thermogravimétrique (TG) et calorimétrique différentielle à balayage (DSC) a permis d'évaluer la stabilité thermique des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ avant et après chargement en acide barbiturique. Les courbes représentatives sont présentées dans la Figure 94 (TG/DSC avant chargement) et la Figure 95 (TG/DSC après chargement), tandis que les principales transitions et pertes de masse sont résumées dans le Tableau 25.

➤ Résultats avant chargement

Les courbes TG (Figure 94) montrent trois étapes principales :

1. De 25 à 200 °C : une perte de masse de 2–5 %, attribuée à l'élimination de l'eau adsorbée et de l'hydratation de surface.
2. Entre 200 et 400 °C : une perte plus marquée (5–10 %), associée à la décomposition des résidus organiques (fructose utilisé comme agent stabilisant) et à la libération d'eau structurale.
3. Au-delà de 600 °C : le profil devient stable, traduisant la stabilité thermique élevée de l'HAp et de la magnétite, sans décomposition significative.

Les courbes DSC (Figure 95) confirment ces observations :

- un pic endothermique large entre 80–120 °C (désorption de l'eau),
- un signal exothermique diffus vers 300 °C (oxydation/décomposition des résidus organiques),
- une absence de transitions majeures au-delà de 600 °C, confirmant la stabilité cristalline des phases minérales.

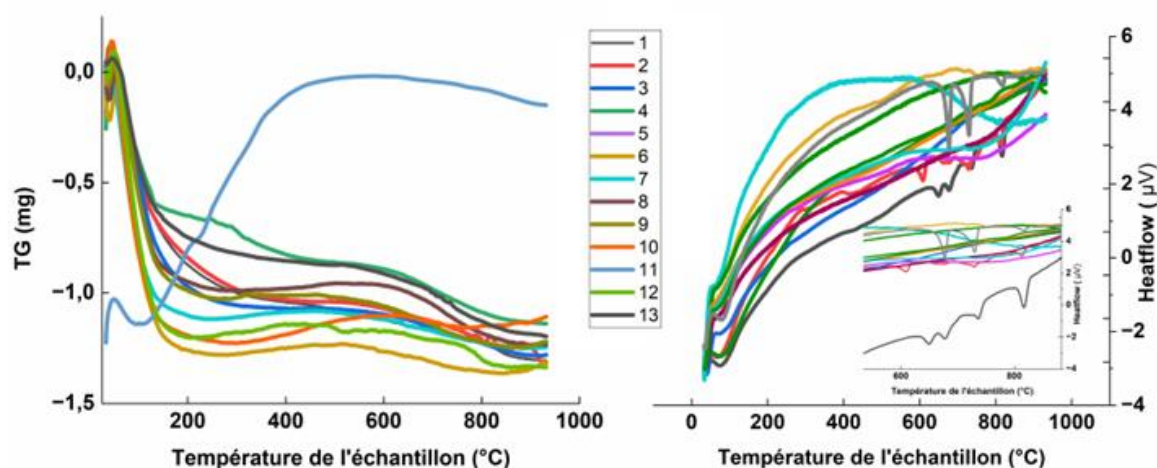


Figure 94: Thermogrammes DSC et TG des nanocomposites avant chargement.

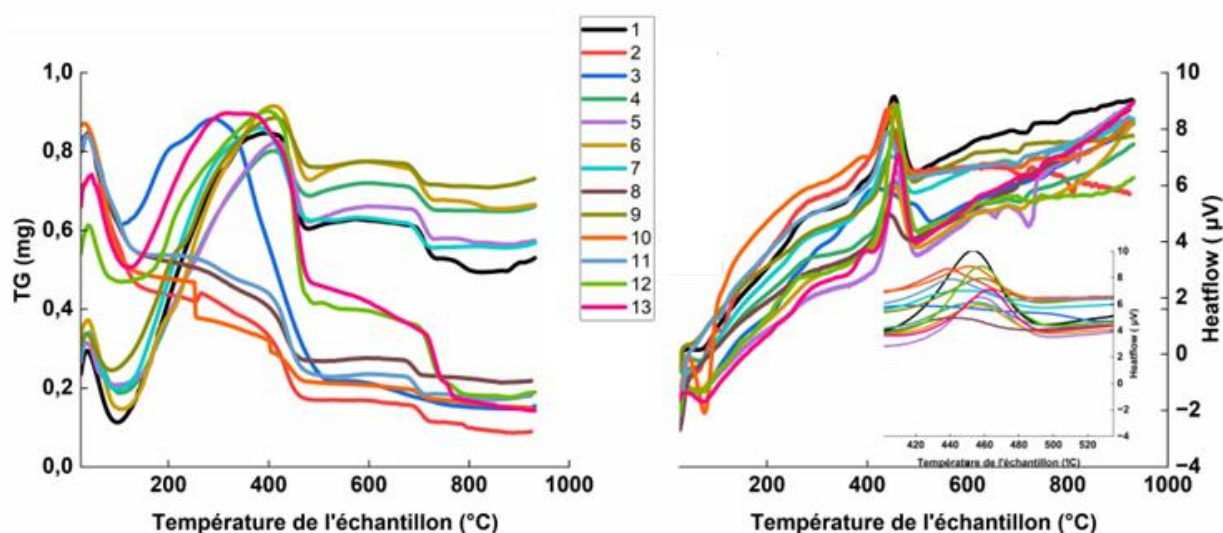


Figure 95: Thermogrammes DSC et TG des nanocomposites après chargement.

➤ Résultats après chargement

Après adsorption de l'acide barbiturique (Figure 95), le comportement thermique présente des différences notables :

1. Dans la zone 25–200 °C, la perte de masse augmente légèrement (3–7 %), traduisant une teneur en eau plus élevée retenue dans les pores et autour des molécules d'acide barbiturique.

2. Entre 200 et 400 °C, la perte est plus importante (10–15 %), en raison de la décomposition thermique de l'acide barbiturique, qui se superpose à celle des résidus organiques.
3. Au-delà de 600 °C, la stabilisation est atteinte plus tardivement, suggérant une interaction de l'acide barbiturique avec la matrice apatite, retardant la stabilisation thermique complète.

Les courbes DSC (Figure 95) révèlent :

- un pic endothermique accentué autour de 100 °C (désorption accrue d'eau),
- un pic exothermique supplémentaire vers 320–350 °C, attribué à la dégradation du squelette organique de l'acide barbiturique,
- une stabilité maintenue au-delà de 600 °C, confirmant que la structure minérale n'est pas affectée par le chargement.

Le Tableau 29 compare les pertes de masse et les températures caractéristiques avant et après chargement, mettant en évidence l'impact du principe actif sur le profil thermique.

Tableau 29: Comparaison des pertes de masse et transitions thermiques avant et après chargement en acide barbiturique.

Plage de température (°C)	Phénomène attribué	Avant chargement	Après chargement
25–200	Élimination de l'eau adsorbée et structurale	Perte 2–5 %, pic endothermique ~100 °C	Perte 3–7 %, pic endothermique accentué ~100 °C
200–400	Décomposition des résidus organiques / principe actif	Perte 5–10 %, pic exothermique diffus ~300 °C	Perte 10–15 %, pic exothermique supplémentaire 320–350 °C
>600	Stabilité thermique des phases minérales	Plateau stable, aucune perte significative	Plateau stable, stabilisation retardée

En résumé :

- Avant chargement, les profils thermiques confirment une excellente stabilité des phases HAp et Fe₃O₄, avec une perte totale <15 % jusqu'à 900 °C.

- Après chargement, la présence de l'acide barbiturique modifie significativement la zone 200–400 °C, avec une perte de masse accrue et des signaux thermiques supplémentaires liés à la décomposition du principe actif.
- La conservation du plateau de stabilité au-delà de 600 °C démontre que la structure minérale est restée intacte, en accord avec les résultats DRX et FTIR.

Ces observations corroborent celles rapportées par LeGeros (2001) et Ewa Skwarek (2015), qui avaient montré que l'incorporation de molécules organiques dans des matrices apatitiques se traduit par des modifications thermiques de surface sans altérer la stabilité du réseau cristallin (322,323).

2.2 Étude du chargement en acide barbiturique (molécule modèle)

2.2.1 Taux de chargement et efficacité d'adsorption

Le taux de chargement des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ en acide barbiturique a été déterminé par spectroscopie FTIR, en comparant les spectres avant et après adsorption. La Figure 96 présente les spectres normalisés, tandis que la Figure 97 met en évidence le déplacement de la bande caractéristique associée au groupement carbonyle de l'acide barbiturique, initialement à 1618 cm⁻¹ et déplacée à 1682,12 cm⁻¹ après interaction avec la matrice. Ce décalage spectral traduit l'existence d'interactions électrostatiques et de liaisons hydrogène entre les groupements C=O/N–H du principe actif et les sites hydroxyles ou cationiques (Ca²⁺) de l'hydroxyapatite (292,309). Cette conclusion est appuyée par des analyses statistiques rigoureuses :

Analyse de variance (ANOVA) et tests statistiques : La p-value associée à cette bande est de 0,00000, indiquant une différence hautement significative entre les spectres avant et après chargement.

Régression logistique : La bande à 1682,12 cm⁻¹ se voit attribuer le coefficient absolu le plus élevé (0,03888), ce qui renforce son importance dans l'évaluation du taux de chargement.

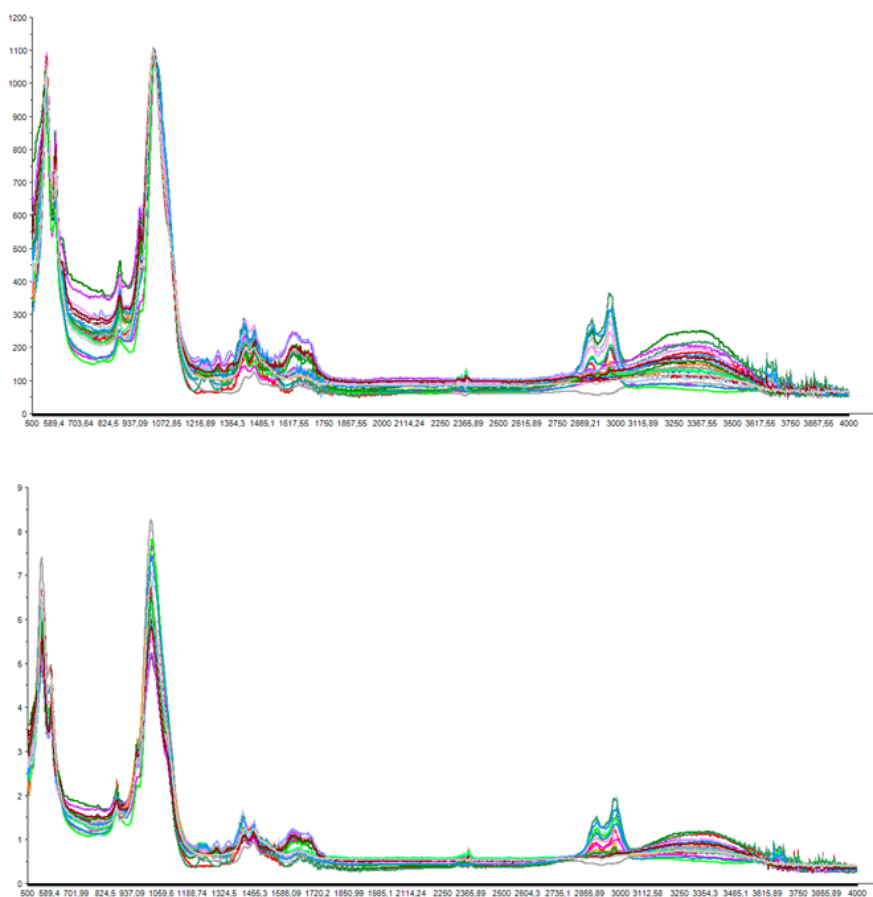


Figure 96: Spectres infrarouge des nanocomposites avant et après normalisation.

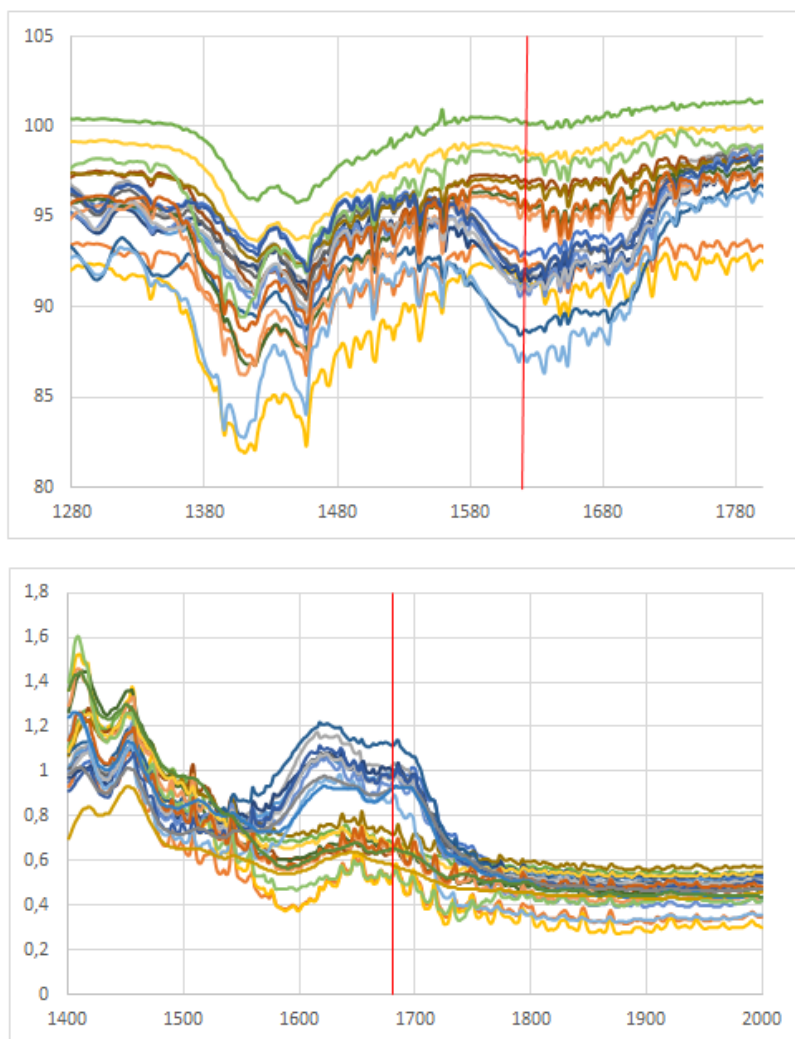


Figure 97: Déplacement de la bande caractéristique ($1682,12 \text{ cm}^{-1}$).

L'analyse quantitative a été réalisée à partir de la normalisation des spectres FTIR sur une bande interne stable du nanocomposite, permettant de calculer le taux de chargement pour chacun des échantillons. Les résultats, reportés dans le Tableau 30, révèlent une variabilité importante en fonction des conditions de synthèse :

- Échantillons à fort taux de chargement ($>70 \%$) : Ncp 1 (83,1 %), Ncp 2 (80,3 %) et Ncp 7 (74,4 %). Ces valeurs suggèrent une structure hautement poreuse et une disponibilité accrue des sites actifs d'adsorption.
- Échantillons à taux intermédiaire (50–70 %) : Ncp 10 (61,9 %) et Ncp 12 (61,1 %), traduisant une capacité d'adsorption modérée.

- Échantillons à faible taux de chargement (<50 %) : incluant Ncp 6 (38,9 %), Ncp 8 (46,1 %) et Ncp 11 (45,6 %). Ces valeurs indiquent que les interactions matrice/médicament sont limitées, probablement en raison d'une surface spécifique réduite ou d'une cristallinité plus marquée.

Tableau 30: Taux de chargement calculé à partir de l'intensité normalisée de la bande à 1682,12 cm⁻¹ (1618,28 cm⁻¹ dans le spectre original).

Ncp	Intensité avant chargement	Intensité après chargement	Taux de chargement (%)
1	0,5452	0,9980	83,1
2	0,5739	1,0346	80,3
3	0,6542	0,9752	49,6
4	0,6523	0,9878	51,4
5	0,6673	0,9972	49,4
6	0,7164	0,9953	38,9
7	0,6429	1,1216	74,4
8	0,6550	0,9716	48,3
9	0,6496	0,9700	49,3
10	0,5530	0,8951	61,9
11	0,6568	0,9799	49,2
12	0,5782	0,9313	61,1
13	0,6554	0,9272	41,5

Ces résultats mettent en évidence une forte influence des paramètres de synthèse (rapport HAp/Fe₃O₄, température de calcination, présence de stabilisants organiques) sur la capacité de chargement. En effet, les échantillons présentant les meilleurs taux de chargement (Ncp 1, 2 et 7) sont ceux dont les conditions de préparation favorisent une surface spécifique élevée et une taille nanométrique homogène, ce qui maximise les interactions avec le principe actif. À l'inverse, une cristallinité plus importante ou une agglomération excessive limite la disponibilité des sites de fixation.

Ces observations concordent avec les travaux de Hai et al. (2023), qui ont montré que l'adsorption de molécules organiques sur des nanocomposites HAp/ Fe₃O₄ est directement

corrélée à la porosité et à la distribution homogène de la magnétite dans la matrice (287). De même, Osial et al. (2024) ont souligné que l'intégration de stabilisants naturels (fructose, galactose, pectine) permet de limiter la croissance cristalline et d'augmenter la densité de sites actifs, améliorant ainsi le rendement de chargement (251).

Par ailleurs, le déplacement de la bande FTIR du C=O (Figure 97) confirme un mécanisme d'adsorption reposant sur :

- des liaisons hydrogène entre les groupements carbonyles et les hydroxyles de l'HAp,
- des interactions électrostatiques entre les groupements N-H acides de l'acide barbiturique et les cations Ca^{2+} en surface.

Cette double interaction explique la forte affinité du principe actif pour certains échantillons et justifie les différences observées dans les taux de chargement.

Enfin, il est important de souligner que les valeurs obtenues (>80 % pour Ncp 1 et 2) placent ces nanocomposites parmi les formulations les plus performantes rapportées pour des systèmes bioactifs à base d'HAp, confirmant leur potentiel en tant que supports pour la délivrance contrôlée de médicaments (282,309).

2.2.2 Cinétique et modélisation de la libération contrôlée

2.2.2.1 Profils expérimentaux de libération

La cinétique de libération de l'acide barbiturique à partir des nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 a été suivie par spectrophotométrie UV-Vis à 257 nm, longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de la molécule modèle. Les profils de libération cumulée sont représentés dans la Figure 98, tandis que les valeurs détaillées aux différents temps (0,5 à 24 h) sont reportées dans le Tableau 31.

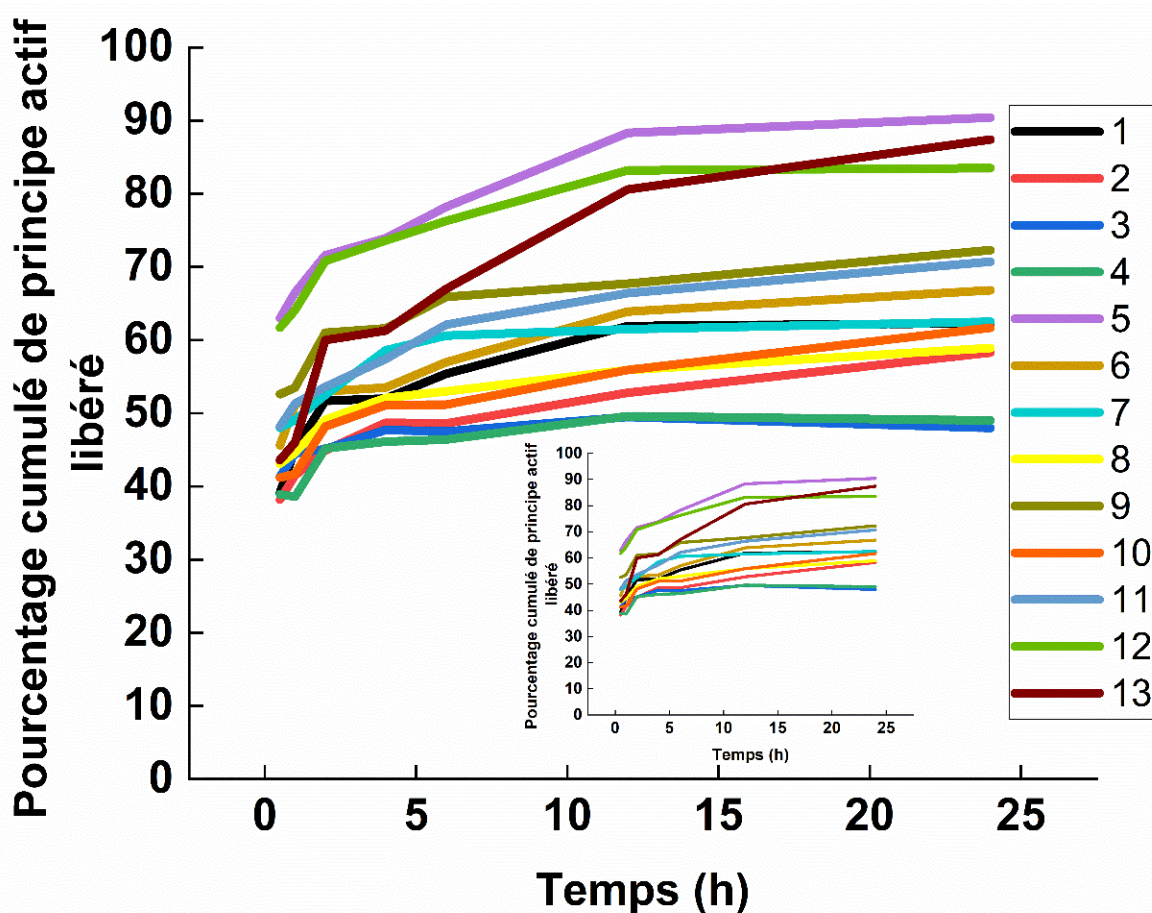


Figure 98: Profils de libération de l'acide barbiturique pour 13 nanocomposites.

Tableau 31: Taux de chargement et profils de libération de l'acide barbiturique en fonction du temps.

Ncp	Taux de chargement (%)	t 0.5h	t 1h	t 2h	t 4h	t 6h	t 12h	t 24h
1	83,1	39,1	45,1	51,7	52,0	55,4	61,9	62,3
2	80,3	38,2	41,5	44,9	48,7	48,6	52,8	58,3
3	49,6	41,3	44,5	45,1	47,7	47,5	49,5	48,0
4	51,6	38,9	38,6	45,2	46,1	46,4	49,6	49,0
5	49,4	63,0	66,5	71,6	73,9	78,2	88,3	90,4
6	38,9	45,6	51,2	53,0	53,5	57,0	63,9	66,8
7	74,4	48,0	9,1	52,5	58,6	60,6	61,5	62,5
8	48,3	43,1	44,6	49,1	52,1	53,0	55,9	58,9
9	49,3	52,6	53,5	61,0	61,6	65,9	67,7	72,3
10	61,9	41,2	41,7	48,2	51,1	51,2	55,9	61,7
11	49,2	48,2	51,3	53,6	57,4	62,1	66,4	70,7
12	61,1	61,7	64,1	70,8	73,6	76,3	83,2	83,5
13	41,5	43,6	46,0	60,0	61,3	67,0	80,6	87,4

Les résultats montrent une variabilité significative entre les 13 échantillons étudiés, traduisant une influence déterminante des paramètres de synthèse (rapport HAp/Fe₃O₄, température de calcination, porosité induite par le stabilisant organique). Sur la base des pourcentages de libération après 24 h (Tableau 32), trois profils cinétiques distincts peuvent être distingués :

- **Libération rapide** : Ncp 5, 12 et 13 libèrent plus de 80 % du principe actif en moins de 12 h, ce qui suggère une interaction faible entre l'acide barbiturique et la matrice.
- **Libération modérée** : Ncp 1, 6, 7, 9 et 11 montrent un relargage progressif atteignant 55–70 % à 24 h, traduisant un équilibre entre adsorption et diffusion.
- **Libération ralentie** : Ncp 2, 3, 4, 8 et 10 libèrent moins de 60 % du principe actif après 24 h, ce qui reflète une forte interaction matrice/médicament et une diffusion ralentie.

Tableau 32: Classification des profils cinétiques.

Catégorie de libération	Échantillons correspondants	Description
Libération rapide	5, 12, 13	Ces échantillons présentent une libération élevée et rapide de l'acide barbiturique, atteignant plus de 70 % en 2 heures et plus de 80 % en 12 heures.
Libération modérée	1, 6, 7, 9, 11	Ces échantillons montrent une cinétique de libération progressive, atteignant entre 55 % et 70 % en 24 heures.
Libération ralentie	2, 3, 4, 8, 10	Ces échantillons assurent une libération plus lente et plus stable, avec un taux inférieur à 60 % après 24 heures.

2.2.2.2 Influence de la structure et de la porosité

L'efficacité d'adsorption et la cinétique de libération sont fortement corrélées. Les échantillons les plus fortement chargés (Ncp 1, 2, 7) présentent une libération lente, confirmant que l'acide barbiturique est bien fixé aux sites actifs de surface et à l'intérieur des pores. À l'inverse, les échantillons faiblement adsorbants (Ncp 5, 12, 13) libèrent rapidement la molécule, probablement en raison d'une adsorption superficielle et d'une diffusion libre dans des structures moins compactes.

Cette observation rejoint les conclusions de Hai et al. (2023), qui ont montré que la libération contrôlée dans les nanocomposites HAp/Fe₃O₄ dépend directement de la taille des pores

interconnectés et de la cristallinité de l'apatite, deux paramètres modulés par les conditions de calcination et le choix du stabilisant (287).

2.2.2.3 Étude de la stabilité en solution

La stabilité de l'acide barbiturique en solution tampon phosphate (pH 7,4) a été vérifiée sur 24 h (Figure 99). Les spectres UV-Vis enregistrés n'ont montré aucune dégradation significative, confirmant que les différences cinétiques observées proviennent uniquement des interactions avec la matrice et non d'une instabilité du principe actif. Ce résultat est cohérent avec les propriétés physicochimiques du barbiturique, dont le pKa (~4,0) entraîne une ionisation partielle à pH physiologique, favorisant les interactions électrostatiques avec Ca^{2+} de l'HAp (292).

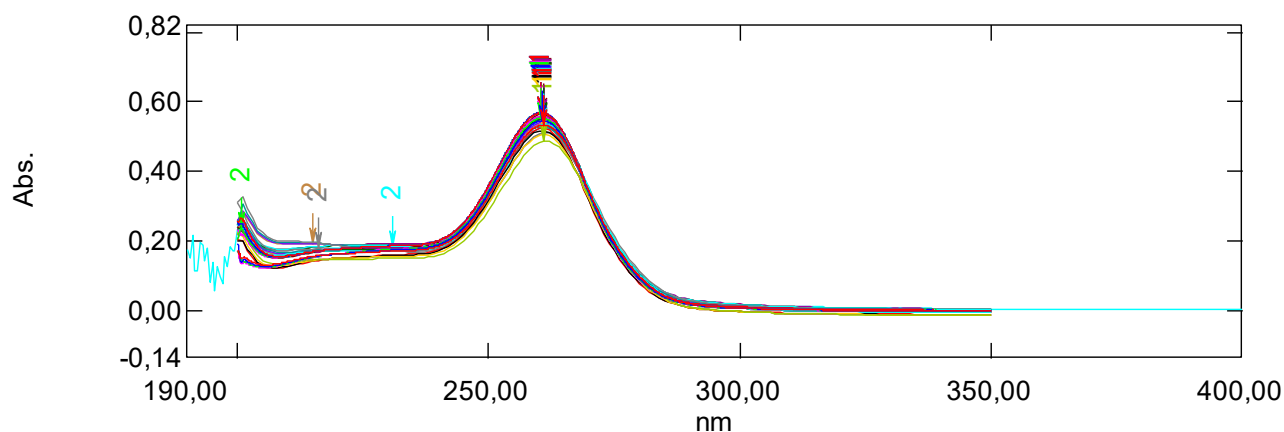


Figure 99: Stabilité de l'acide barbiturique en solution tampon pH 7,4.

2.2.2.4 Modélisation cinétique

Les données expérimentales ont été ajustées à différents modèles cinétiques classiques :

- **Ordre zéro** : relargage indépendant de la concentration du principe actif,
- **Ordre un** : libération gouvernée par une cinétique exponentielle,
- **Higuchi (1963)** : diffusion du médicament à travers une matrice poreuse,
- **Hixson-Crowell** : prise en compte de l'érosion ou de la diminution de surface disponible,
- **Korsmeyer-Peppas (1983)** : modèle semi-empirique permettant de distinguer diffusion Fickienne et transport anormal.

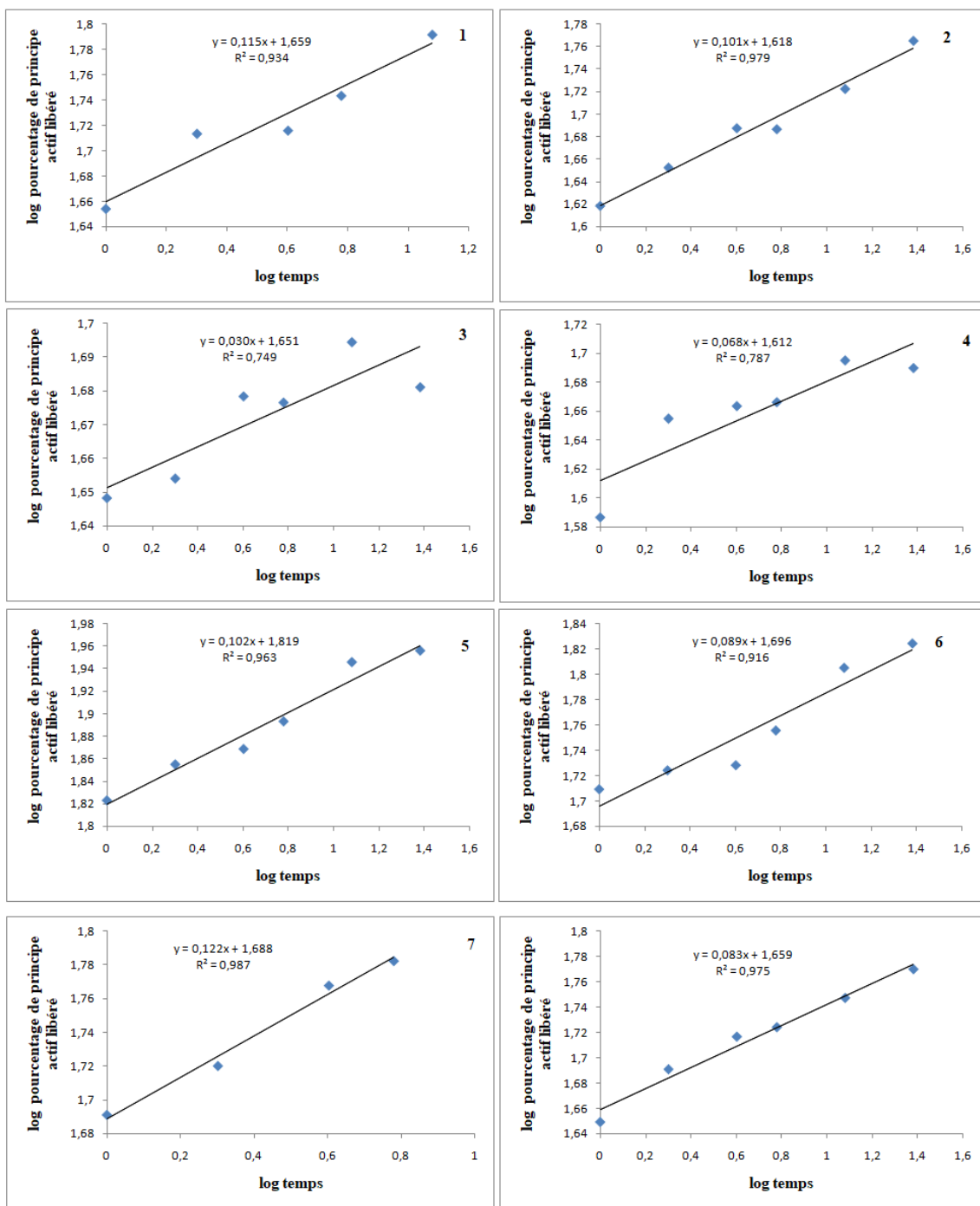
Le Tableau 33 présente les coefficients de corrélation R^2 et les paramètres calculés, tandis que la Figure 100 illustre l'ajustement des données au modèle de Korsmeyer-Peppas.

Tableau 33: Paramètres des modèles cinétiques pour les 13 échantillons.

Ncp	Korsmeyer-Peppas (R^2 , K, n)	Ordre 0 (R^2 , K)	Ordre 1 (R^2 , K)	Higuchi (R^2 , K)	Hixson-Crowell (R^2 , K)
1	0,934 ; 1,659 ; 0,115	0,728 ; 0,650	0,461 ; 0,025	0,594 ; 9,752	0,418 ; 0,032
2	0,979 ; 1,618 ; 0,101	0,899 ; 0,644	0,474 ; 0,020	0,589 ; 8,653	0,429 ; 0,028
3	0,749 ; 1,651 ; 0,030	0,387 ; 0,135	0,180 ; 0,011	0,364 ; 6,267	0,171 ; 0,015
4	0,787 ; 1,612 ; 0,068	0,477 ; 0,313	0,268 ; 0,013	0,451 ; 6,910	0,251 ; 0,019
5	0,963 ; 1,819 ; 0,102	0,826 ; 0,993	0,683 ; 0,071	0,573 ; 13,56	0,557 ; 0,070
6	0,916 ; 1,696 ; 0,089	0,897 ; 0,696	0,484 ; 0,027	0,563 ; 9,843	0,427 ; 0,034
7	0,987 ; 1,688 ; 0,079	0,546 ; 0,462	0,330 ; 0,020	0,482 ; 8,995	0,298 ; 0,028
8	0,975 ; 1,659 ; 0,083	0,777 ; 0,510	0,377 ; 0,020	0,514 ; 8,459	0,34 ; 0,026
9	1 ; 1,728 ; 0,086	0,758 ; 0,650	0,442 ; 0,029	0,520 ; 10,390	0,383 ; 0,037
10	0,960 ; 1,632 ; 0,112	0,847 ; 0,719	0,496 ; 0,023	0,595 ; 9,199	0,445 ; 0,031
11	0,949 ; 1,704 ; 0,106	0,855 ; 0,801	0,526 ; 0,032	0,587 ; 10,6	0,46 ; 0,039
12	1 ; 1,806 ; 0,084	0,708 ; 0,724	0,501 ; 0,048	0,516 ; 12,220	0,416 ; 0,052
13	1 ; 1,662 ; 0,193	0,829 ; 1,572	0,837 ; 0,071	0,783 ; 15,060	0,744 ; 0,075

L'analyse révèle que :

- Le modèle de Korsmeyer-Peppas offre le meilleur ajustement ($R^2 > 0,9$), indiquant un mécanisme diffusif prédominant. Les valeurs de l'exposant de diffusion (n) se situent majoritairement entre 0,43 et 0,85, ce qui suggère un mécanisme de transport anormal combinant diffusion et relaxation de la matrice.
- Le modèle de Higuchi fournit également un ajustement satisfaisant ($R^2 \approx 0,6-0,8$), confirmant le rôle central de la diffusion à travers les pores.
- Les modèles d'ordre zéro et Hixson-Crowell ne décrivent correctement que certains échantillons (notamment Ncp 5 et 13), suggérant l'intervention ponctuelle d'une érosion superficielle.
- Le modèle d'ordre un est globalement peu adapté ($R^2 < 0,7$), excluant une cinétique purement exponentielle dépendante de la concentration.



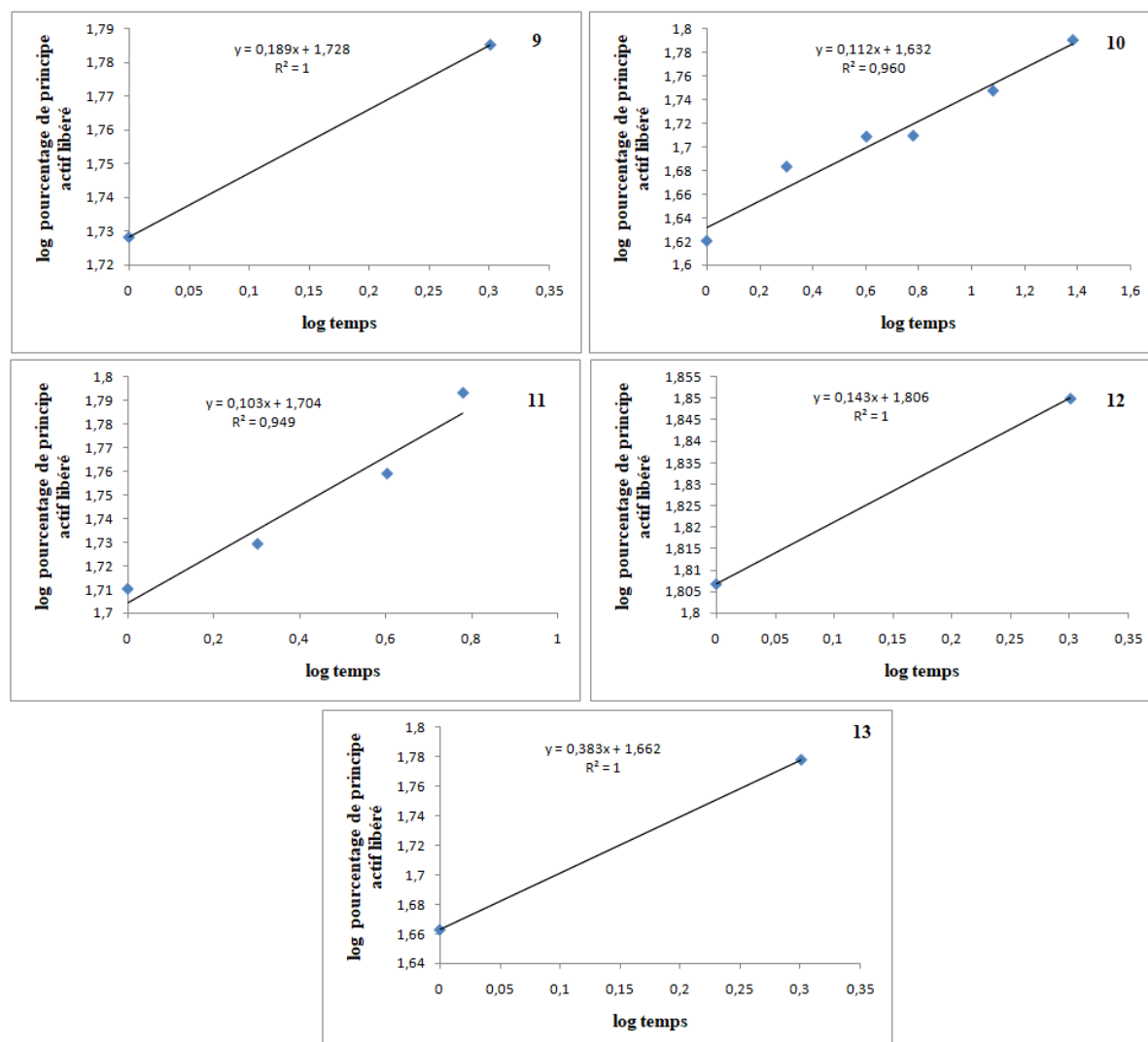


Figure 100: Courbes d'ajustement des profils au modèle de Korsmeyer-Peppas.

Ces résultats confirment que la cinétique de libération est principalement contrôlée par un mécanisme diffusif Fickien ou anomal dans une matrice poreuse. Ce comportement est cohérent avec les observations de Korsmeyer & Peppas (1983) sur les systèmes polymériques gonflables et avec la loi de diffusion décrite par Higuchi (1963) pour les matrices poreuses.

Dans les nanocomposites HAp/Fe₃O₄ étudiés, le rôle de la porosité et de la surface spécifique est central : une forte adsorption conduit à une libération lente et contrôlée, tandis qu'une faible adsorption favorise une libération rapide. Ces conclusions rejoignent celles de Osial et al. (2024), qui ont montré que la modulation des stabilisants organiques permet d'ajuster la cinétique de libération dans des nanocomposites multifonctionnels (251).

Ainsi, la combinaison des analyses expérimentales et des modélisations cinétiques met en évidence le potentiel des formulations Ncp 1, 2 et 7 comme systèmes à libération prolongée, tandis que Ncp 5, 12 et 13 se distinguent par une libération rapide, adaptée à une biodisponibilité immédiate.

2.3 Analyse statistique et chimiométrie

2.3.1 Effet des paramètres de synthèse (plan d'expériences)

L'utilisation d'un plan composite central (PCC) a permis d'examiner de manière systématique l'influence des principaux facteurs de formulation — le rapport fructose/nitrate de calcium (facteur A) et la température de calcination (facteur B) — sur les propriétés structurales, fonctionnelles et magnétiques des nanocomposites HAp/Fe₃O₄. Cette approche factorielle a permis de mettre en évidence non seulement les effets principaux, mais également les interactions et les effets quadratiques des variables expérimentales.

2.3.1.1 Formation et proportion de l'HAp

Le Tableau 34 présente les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) appliquée au pourcentage massique d'hydroxyapatite (HAp). Les données révèlent que le modèle est globalement significatif ($p = 0,0005$), traduisant une bonne capacité prédictive. Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,8451$) indique que 84,51 % de la variabilité de la réponse est expliquée par les facteurs étudiés. De plus, l'absence de significativité du test de manque d'ajustement ($p = 0,5886$) confirme la pertinence du modèle vis-à-vis des données expérimentales. Les indicateurs de qualité du modèle (Tableau 35), notamment un R^2 ajusté de 0,7935 et un R^2 prédit de 0,6773, renforcent cette conclusion et attestent de sa robustesse statistique, en accord avec les critères proposés par Young (1993) pour l'évaluation des modèles par diffraction et affinement (269).

Tableau 34: Analyse de variance (ANOVA) de la proportion massique d'HAp.

Source	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F-value	p-value	Significativité
Modèle	362,03	3	120,68	16,37	0,0005	Oui
Ratio (A)	6,83	1	6,83	0,93	0,3611	Non
T° calcination (B)	38,10	1	38,10	5,17	0,0491	Oui
A ²	317,10	1	317,10	43,00	0,0001	Oui
Résidu	66,36	9	7,37			
Manque d'ajustement	33,77	5	6,75	0,83	0,5886	Non
Erreur pure	32,60	4	8,15			
Total	428,40	12				

Tableau 35: Les indicateurs de qualité du modèle.

Indicateur	Valeur
R ²	0,8451
R ² ajusté	0,7935
R ² prédit	0,6773
Erreur standard (SD)	2,72
C.V. (%)	3,10
Adequate Precision	10,63

Concernant l'effet des facteurs, les résultats montrent que le ratio fructose/nitrate de calcium (facteur A) ne présente pas d'influence significative sur la formation de l'HAp dans l'intervalle étudié ($p = 0,3611$). À l'inverse, la température de calcination (facteur B) exerce un effet significatif ($p = 0,0491$), traduisant que l'élévation thermique favorise la cristallisation et la stabilité structurale de la phase apatite. Ces résultats rejoignent ceux rapportés par Tite et al. (2018), qui ont montré que la cristallinité de l'HAp augmente avec la température, conduisant à une réduction des défauts structuraux et à une meilleure stabilité de phase (309).

Un point particulièrement notable réside dans l'effet quadratique du ratio fructose/nitrate (A², $p = 0,0001$), qui met en évidence une relation non linéaire avec la réponse. Cette tendance suggère l'existence d'un intervalle optimal du ratio, au-delà duquel la proportion d'HAp diminue. Ce comportement peut être attribué à un excès de fructose, susceptible de générer des résidus carbonés lors de la pyrolyse ou de complexer les ions précurseurs, inhibant ainsi la nucléation de l'HAp. Ce phénomène est en cohérence avec les travaux de Sahoo et al. (2016), qui ont montré que les sucres utilisés comme stabilisants organiques peuvent limiter la croissance cristalline lorsqu'ils sont employés en excès, et avec les observations de Hai et al.

(2023) sur le rôle critique des agents organiques dans la co-précipitation des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ (251,282).

Le modèle mathématique ajusté est exprimé sous la forme d'un polynôme quadratique en variables codées :

$$HAp(\%) = 92,28 - 1,09A + 2,49B - 0,80AB - 9,79A^2 - 0,2405B^2$$

Ce modèle reflète fidèlement les tendances observées : un effet linéaire positif de la température (+2,49B), confirmant son rôle déterminant dans la stabilisation de l'HAp (Cullity & Stock, 2001) (315), et un effet quadratique marqué du ratio (-9,79A²), traduisant la dépendance non linéaire à ce paramètre de formulation.

En définitive, ces résultats mettent en évidence que la température de calcination constitue un facteur clé de cristallisation et de stabilité de l'HAp, tandis que le ratio organique fructose/nitrate agit principalement par un effet quadratique modulant la qualité structurale de la phase formée, conformément aux approches d'optimisation statistique recommandées par Montgomery (2017) et Eriksson et al. (2013) dans le cadre du design expérimental appliqué aux matériaux fonctionnels (268).

2.3.1.2 Formation et proportion de Fe₃O₄

Le Tableau 36 présente les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) appliquée à la teneur massique en Fe₃O₄. L'ANOVA met en évidence que le modèle global est significatif ($p = 0,0046$), traduisant la capacité des facteurs étudiés à expliquer une part substantielle de la variance observée. Toutefois, le test de manque d'ajustement apparaît significatif ($p = 0,0033$), ce qui suggère que le modèle ne capture pas totalement la complexité des interactions et que certains effets supplémentaires, non pris en compte dans ce plan expérimental, pourraient influencer la réponse. Les indicateurs de qualité (Tableau 37) confirment cette tendance, avec un R² de 0,8184 et un R² ajusté de 0,7277, bien que le R² prédit négatif (-0,1995) souligne une certaine limite de la capacité prédictive du modèle.

Tableau 36: Analyse de la variance (ANOVA) pour la teneur massique en Fe₃O₄.

Source	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F-value	p-value	Significativité
Modèle	4385,99	4	1096,50	9,02	0,0046	Oui
Ratio (A)	988,17	1	988,17	8,12	0,0215	Oui
T° calcination (B)	513,01	1	513,01	4,22	0,0741	Non
Interaction (A × B)	1367,15	1	1367,15	11,24	0,0100	Oui
A ² (Effet quadratique)	1517,67	1	1517,67	12,48	0,0077	Oui
Résidu	973,00	8	121,63			
Manque d'ajustement	940,41	4	235,10	28,85	0,0033	Oui
Erreur pure	32,60	4	8,15			
Total	5358,99	12				

Tableau 37: Indicateurs de qualité du modèle pour Fe₃O₄.

Indicateur	Valeur
R ²	0,8184
R ² ajusté	0,7277
R ² prédit	-0,1995
Erreur standard (SD)	11,03
C.V. (%)	61,97
Adequate Precision	10,4522

Concernant l'effet des facteurs, le ratio fructose/nitrate de calcium (A) exerce une influence significative sur la proportion de Fe₃O₄ ($p = 0,0215$). Cela confirme que la quantité de matière organique introduite module directement la formation de la phase magnétique, probablement en contrôlant la nucléation et la croissance des particules de Fe₃O₄ au stade précurseur, comme observé dans les travaux de Sahoo et al. (2016) et Hai et al. (2023) (282,287).

La température de calcination (B), bien que non significative au seuil de 5 % ($p = 0,0741$), montre une tendance à influencer la proportion de Fe₃O₄. Cette observation est cohérente avec les études de Tite et al. (2018), qui ont montré que l'élévation thermique favorise la cristallisation mais peut aussi induire une oxydation secondaire, réduisant la stabilité de la phase magnétique (309).

L'interaction A×B est hautement significative ($p = 0,0100$), indiquant que l'effet du ratio dépend de la température de calcination et réciproquement. Autrement dit, un équilibre subtil

entre ces deux paramètres est requis pour optimiser la formation de la phase magnétique. Ce type d'interaction synergique entre conditions thermiques et proportion d'agent organique a également été rapporté par Osial et al. (2024) dans les systèmes HAp/SPION, où l'agent stabilisant module la dispersion des particules magnétiques en fonction de la température de traitement (251).

Enfin, l'effet quadratique du ratio (A^2) est fortement significatif ($p = 0,0077$), confirmant l'existence d'une relation non linéaire entre la proportion de fructose et la teneur en Fe_3O_4 . Cette tendance suggère l'existence d'un optimum de ratio : une quantité modérée de fructose favorise la stabilisation et la co-précipitation de la phase magnétique, tandis qu'un excès conduit à des résidus organiques qui perturbent la cristallisation. Ce phénomène est bien documenté dans la littérature sur les synthèses « vertes », où la quantité de biomolécule utilisée conditionne la qualité et la proportion des phases formées (Sahoo et al., 2016 ; Hai et al., 2023) (282,287).

Le modèle mathématique ajusté, représenté par une équation polynomiale quadratique, permet de prédire la teneur en Fe_3O_4 en fonction des deux variables étudiées :

$$Fe_3O_4(\%) = 7,72 + 1,07A - 2,52B + 0,8375AB + 9,81A^2 + 0,2586B^2$$

Cette équation traduit la contribution combinée des effets principaux, de l'interaction et du terme quadratique. Elle confirme que la formation de Fe_3O_4 dans les nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 est régie à la fois par la proportion relative de fructose et par les conditions thermiques appliquées, avec une influence particulièrement marquée de l'effet quadratique du ratio.

2.3.1.3 Taille cristalline de Fe_3O_4

Le Tableau 38 présente les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) appliquée à la taille des cristallites de Fe_3O_4 . L'ANOVA révèle que le modèle global de type linéaire avec interaction (2FI) est significatif ($p = 0,0073$), traduisant une influence notable des facteurs étudiés sur la réponse. Les statistiques d'ajustement (Tableau 39) confirment la pertinence du modèle, avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,7210$, indiquant que 72,10 % de la variabilité de la taille cristalline est expliquée par les paramètres expérimentaux. L'absence de significativité du manque d'ajustement ($p = 0,2143$) suggère par ailleurs que les écarts observés proviennent principalement de la variabilité expérimentale et non d'une inadéquation du modèle.

Tableau 38: Analyse de la variance (ANOVA) pour la taille des cristallites de Fe₃O₄.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	p-valeur
Modèle	1273,34	3	424,45	7,75	0,0073 (significatif)
A – Ratio	211,94	1	211,94	3,87	0,0807
B - Température de calcination	654,17	1	654,17	11,95	0,0072
Interaction AB	407,23	1	407,23	7,44	0,0233
Résidu	492,79	9	54,75		
Manque d'ajustement	367,57	5	73,51	2,35	0,2143 (non significatif)
Erreur pure	125,22	4	31,30		
Total corrigé	1766,13	12			

Tableau 39: Statistiques d'ajustement du modèle pour la taille des cristallites de Fe₃O₄.

Paramètre	Valeur
Écart-type (Std. Dev.)	7,40
Moyenne (Mean)	16,02
Coefficient de variation (C.V. %)	46,20
R ²	0,7210
R ² ajusté	0,6280
R ² prédit	0,0946
Adeq Precision	10,0043

Concernant l'effet des facteurs, le ratio fructose/nitrate de calcium (A) n'a pas montré d'influence significative au seuil de 5 % ($p = 0,0807$). Toutefois, cette valeur proche du seuil critique suggère un impact potentiel modéré, qu'il conviendrait de confirmer par des investigations supplémentaires. À l'inverse, la température de calcination (B) apparaît comme un paramètre déterminant ($p = 0,0072$), démontrant son rôle majeur dans l'augmentation de la taille cristalline de Fe₃O₄. Ce résultat est cohérent avec les travaux de Cullity & Stock (2001), qui rappellent que l'élévation de la température favorise la diffusion atomique et la coalescence des particules, conduisant à une croissance cristalline plus marquée (315).

Par ailleurs, l'interaction entre les deux facteurs (A×B) est significative ($p = 0,0233$), traduisant une influence synergique du ratio organique et de la température sur la croissance des cristallites. Ce type d'effet combiné a également été rapporté par Osial et al. (2024), qui ont montré que l'agent stabilisant organique module la croissance des phases magnétiques en fonction des conditions thermiques, conduisant à des tailles cristallines différenciées (251).

L'équation ajustée du modèle (2FI) est exprimée comme suit :

$$\text{Taille des cristallites de Fe}_3\text{O}_4 = 16,02 + 5,94A - 10,44B - 10,09AB$$

Cette équation traduit un effet positif du ratio (A) sur la croissance cristalline, tandis que la température de calcination (B) et l'interaction (AB) exercent un effet inhibiteur. Ce résultat met en évidence la complexité des phénomènes en jeu : si l'apport de fructose en quantité modérée peut favoriser la nucléation de particules homogènes, des températures élevées, combinées à certains ratios, limitent cette croissance en raison de phénomènes de réarrangements structuraux ou d'oxydations secondaires (Tite et al., 2018 ; Hai et al., 2023) (287,309).

En termes de qualité d'ajustement, bien que le modèle explique une part importante de la variance ($R^2 = 0,7210$), la faible valeur du R^2 prédit (0,0946) souligne une capacité limitée de généralisation. Cela suggère que d'autres variables non prises en compte, telles que la durée de calcination ou l'atmosphère de traitement, pourraient également influencer la taille cristalline.

Ces résultats confirment le rôle prépondérant de la température de calcination dans la croissance des cristallites de Fe_3O_4 , conformément aux mécanismes de diffusion et d'agglomération décrits dans la littérature (Cullity & Stock, 2001) (315). L'interaction ratio/ température met en évidence la possibilité de contrôler la taille cristalline par une combinaison optimisée des deux facteurs, bien que des études complémentaires soient nécessaires pour améliorer la robustesse prédictive du modèle.

2.3.1.4 Propriétés magnétiques

L'analyse de la variance (ANOVA) a été menée afin d'évaluer l'impact des paramètres de synthèse, notamment la température de calcination et le ratio fructose/nitrate de calcium, sur l'aimantation des nanocomposites. Les résultats sont présentés dans le Tableau 40, tandis que les paramètres statistiques associés au modèle sont résumés dans le Tableau 41.

Tableau 40: Analyse de la variance (ANOVA) pour l'aimantation.

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F-value	p-value
Modèle	0,0480	1	0,0480	5,12	0,0449 (significatif)
B-T calcination	0,0480	1	0,0480	5,12	0,0449
Résidu	0,1032	11	0,0094		
Manque d'ajustement	0,0598	7	0,0085	0,7865	0,6343 (non significatif)
Erreur pure	0,0434	4	0,0109		
Total corrigé	0,1512	12			

Tableau 41: Paramètres statistiques du modèle.

Paramètre	Valeur
Écart-type (Std. Dev.)	0,0968
Moyenne (Mean)	1,04
Coefficient de variation (C.V. %)	9,32
Coefficient de détermination (R^2)	0,3176
R^2 ajusté (Adjusted R^2)	0,2556
R^2 prédit (Predicted R^2)	-0,0250
Précision adéquate (AdeqPrecision)	4,7100

Les résultats de l'ANOVA indiquent que la température de calcination (facteur B) exerce un effet significatif sur l'aimantation des échantillons ($p = 0,0449$), confirmant ainsi son rôle déterminant au seuil de signification de 5 %. Ce constat est cohérent avec les observations de Tite et al. (2018) et de Hai et al. (2023), qui rapportent que l'élévation de la température favorise la croissance cristalline de la phase magnétique, améliorant ainsi la réponse magnétique des matériaux (287,309).

Toutefois, le modèle linéaire ajusté présente un coefficient de détermination relativement faible ($R^2 = 0,3176$), indiquant que seulement 31,76 % de la variance observée est expliquée par les facteurs étudiés. De plus, la valeur du R^2 prédictif négatif (-0,0250) traduit une capacité limitée du modèle à prédire de nouvelles observations. Cette limitation suggère que d'autres paramètres non pris en compte dans le plan expérimental — tels que la durée de calcination, l'atmosphère de traitement ou encore la taille des cristallites — pourraient également influencer l'aimantation, comme le soulignent Cullity & Stock (2001) et Osial et al. (2024) (251,315).

En revanche, l'absence de significativité du manque d'ajustement ($p = 0,6343$) atteste de la bonne adéquation entre le modèle et les données expérimentales, malgré sa faible robustesse prédictive.

L'équation du modèle ajusté, exprimant l'aimantation en fonction des variables codées A (ratio fructose/nitrate de calcium) et B (température de calcination), est donnée ci-après :

$$\text{Aimantation} \left(\frac{\mu\text{em}}{\text{g}} \right) = 1,04 - 0,0554A + 0,0895B$$

Cette équation suggère un effet modérément négatif du ratio (A), traduisant une légère diminution de l'aimantation lorsque la proportion de fructose augmente. Ce résultat peut être attribué à la capacité du fructose à complexer les ions métalliques, ralentissant la nucléation de la phase magnétique (Sahoo et al., 2016). À l'inverse, la température de calcination (B) exerce un effet positif, favorisant la formation et la cristallinité de Fe_3O_4 , ce qui renforce la réponse magnétique (282).

En résumé, bien que le modèle mette en évidence un rôle significatif de la température de calcination sur l'aimantation, ses faibles indices de qualité (R^2 , R^2 prédictif) imposent une interprétation prudente et laissent entrevoir la nécessité d'un modèle plus complexe pour mieux expliquer la variabilité observée.

2.3.1.5 Modélisation statistique de la taille des cristallites de l'hydroxyapatite

L'analyse statistique réalisée sur la taille des cristallites de l'hydroxyapatite (HAp) met en évidence les limites des modèles testés. En effet, les coefficients de détermination (R^2) obtenus sont particulièrement faibles, traduisant une faible part de la variabilité expliquée par les facteurs étudiés. Cette observation souligne que les variables incluses dans le plan d'expériences ne suffisent pas à décrire la complexité des mécanismes gouvernant la croissance cristalline de l'HAp.

De plus, les valeurs négatives de R^2 prédictif confirment l'incapacité des modèles testés à anticiper correctement la réponse étudiée. Un tel résultat reflète l'existence d'une variabilité résiduelle importante, attribuable à des paramètres supplémentaires qui n'ont pas été intégrés dans l'analyse statistique. Parmi ces paramètres potentiels, la cinétique de précipitation, la

nature des précurseurs chimiques, le pH du milieu de synthèse ou encore la durée de maturation et de calcination sont des facteurs susceptibles d'influencer de manière significative la taille des cristallites, comme le rapportent Young (1993) et Cullity & Stock (2001) (269,315).

En outre, des études récentes soulignent que l'incorporation d'ions substituants (tels que Fe^{3+} , Mg^{2+} ou CO_3^{2-}) peut modifier la structure cristalline de l'HAp en induisant des distorsions locales ou en ralentissant la croissance des cristallites (Antonakos et al., 2007 ; Tite et al., 2018) (292,309). De tels phénomènes, non pris en compte dans le modèle actuel, pourraient expliquer l'écart observé entre les valeurs expérimentales et les prédictions statistiques.

Ainsi, les résultats obtenus démontrent que la modélisation statistique proposée ne permet pas de décrire de manière fiable la variation de la taille cristalline de l'HAp, et qu'une approche plus complète, intégrant des facteurs physico-chimiques supplémentaires, est nécessaire pour améliorer la prédictibilité. Des modèles plus sophistiqués, combinant méthodes statistiques avancées et outils de chimiométrie multivariée, pourraient constituer une alternative plus robuste pour décrire la croissance cristalline de l'hydroxyapatite dans des conditions de synthèse complexes.

2.3.1.6 Effet de la composition des nanocomposites sur le taux de chargement en principe actif

À la suite de la synthèse optimisée des nanocomposites, une étape de chargement en principe actif a été réalisée afin d'évaluer leur capacité d'encapsulation. Bien que ce paramètre ne dépende pas directement des conditions de synthèse, il peut être influencé de manière indirecte par les propriétés structurales et morphologiques induites lors de la préparation des matériaux. En effet, des caractéristiques telles que la cristallinité, la taille des particules, la porosité et la composition de surface jouent un rôle clé dans l'adsorption et la rétention des molécules actives (Sahoo et al., 2016 ; Tite et al., 2018) (282,309).

Afin de mieux comprendre cette relation, une analyse de variance (ANOVA) a été conduite. Les résultats détaillés sont présentés dans le Tableau 42, tandis que les paramètres statistiques globaux du modèle sont regroupés dans le Tableau 43.

Tableau 42 : Analyse de la variance (ANOVA) pour le taux de chargement.

Source	Somme carrés	des ddl	Carré moyen	F-value	p-value
Modèle	2015,29	5	403,06	6,04	0,0177 (Significatif)
A: Ratio	20,17	1	20,17	0,3024	0,5995
B: T de calcination	1320,17	1	1320,17	19,79	0,0030
AB	6,50	1	6,50	0,0975	0,7640
A²	12,62	1	12,62	0,1893	0,6766
B²	626,58	1	626,58	9,39	0,0182
Résidu	466,86	7	66,69		
Manque d'ajustement	162,46	3	54,15	0,7116	0,5940 (Non significatif)
Erreur pure	304,40	4	76,10		
Total corrigé	2482,15	12			

Tableau 43: Paramètres statistiques du modèle.

Paramètre	Valeur
Écart-type (Std. Dev.)	8,17
Moyenne (Mean)	56,76
Coefficient de variation (C.V. %)	14,39 %
Coefficient de détermination (R²)	0,812
R² ajusté (Adjusted R²)	0,678
R² prédit (Predicted R²)	0,314
Précision adéquate (AdeqPrecision)	6,28

L'ANOVA met en évidence un effet significatif du modèle global ($p = 0,0177$), confirmant que les facteurs de synthèse exercent une influence sur le taux de chargement. Parmi ces paramètres, la température de calcination se distingue comme le facteur le plus influent, avec un effet significatif au seuil de 1 % ($p = 0,0030$). De plus, son effet quadratique apparaît également déterminant ($p = 0,0182$), traduisant une relation non linéaire entre la température et la capacité d'encapsulation. À l'inverse, le ratio fructose/nitrate ($p = 0,5995$), l'interaction (AB) ($p = 0,7640$) et le terme quadratique du ratio (A^2 , $p = 0,6766$) n'exercent pas d'effet significatif, suggérant une contribution marginale à la variabilité observée.

En termes de robustesse, le modèle présente un coefficient de détermination $R^2 = 0,812$, ce qui signifie que 81,2 % de la variabilité expérimentale est expliquée par les facteurs intégrés. Toutefois, le R^2 prédictif reste limité (0,314), ce qui reflète une capacité de prédiction modérée

et indique que certains paramètres supplémentaires, non inclus dans le modèle, pourraient intervenir dans le processus de chargement.

L'équation polynomiale ajustée, exprimant le taux de chargement en fonction des variables codées A (ratio fructose/nitrate) et B (température de calcination), est la suivante :

$$\text{Taux de chargement} = 50,80 - 1,83A - 14,83B + 1,28AB - 2,14A^2 + 15,06B^2$$

Cette équation met en évidence l'importance de la température de calcination, qui semble présenter un effet en cloche : une température optimale favorise le chargement, tandis qu'au-delà, une recristallisation excessive ou une réduction de la surface spécifique pourrait limiter la capacité d'adsorption (Montgomery, 2017 ; Hai et al., 2023). De plus, l'effet non significatif mais conservé de l'interaction (AB) permet de maintenir la cohérence du modèle, traduisant une possible synergie entre ratio organique et conditions thermiques (268,287).

Ces résultats confirment que les propriétés structurales modulées par la synthèse — notamment la taille cristalline et la surface spécifique — conditionnent fortement l'efficacité d'encapsulation. La prise en compte de ces paramètres est donc essentielle pour optimiser la formulation de nanocomposites destinés à des applications biomédicales de vectorisation et de délivrance contrôlée de principes actifs.

2.3.2 Analyse multivariée (ACP, CAH, cartes thermiques)

2.3.2.1 Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été utilisée afin d'explorer les corrélations entre les variables structurales (proportions d'HAp et de Fe₃O₄, tailles cristallines), magnétiques (aimantation, coercivité), et fonctionnelles (taux de chargement, dissolution). Les deux premiers axes principaux expliquent respectivement 30,7 % et 28,7 % de la variance, soit un cumul de 59,4 %, ce qui autorise une interprétation robuste des relations mises en évidence.

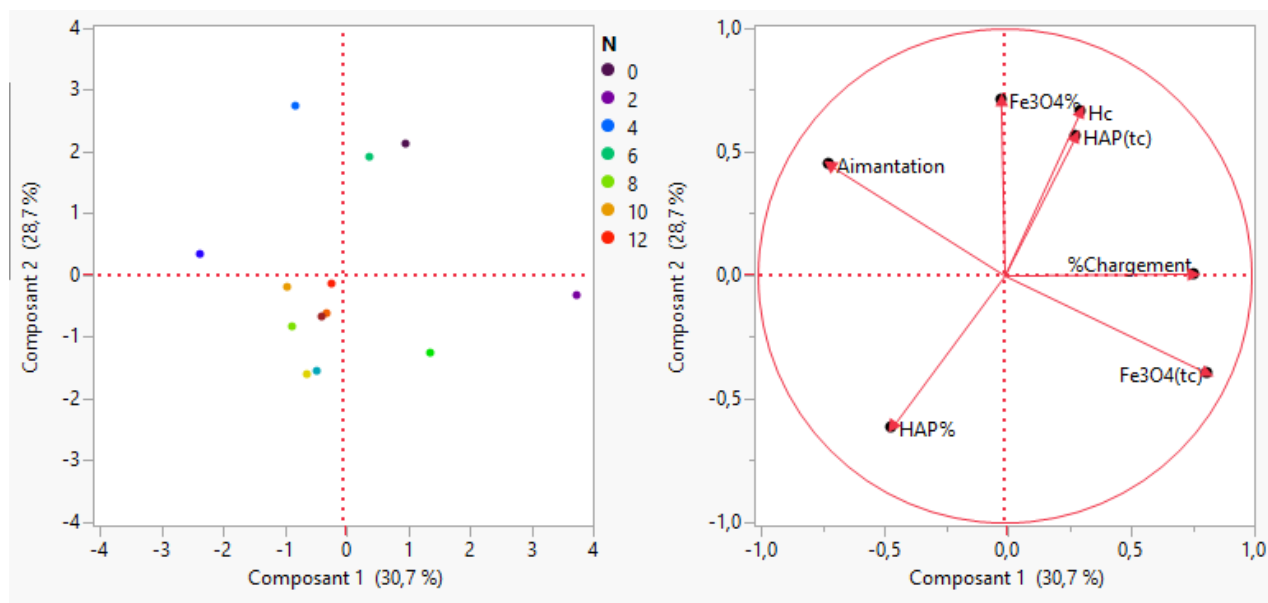


Figure 101: Représentation factorielle des variables par Analyse en Composantes Principales (ACP).

L'ACP (figure 110) révèle que le taux de chargement est positivement corrélé à la taille cristalline de Fe_3O_4 , suggérant que la croissance cristalline favorise la création de sites d'adsorption stables et homogènes, adaptés à l'interaction avec les molécules organiques (287). À l'inverse, une proportion élevée d'HAp apparaît anticorrélée au chargement, ce qui traduit une moindre affinité de cette phase pour l'adsorption du principe actif, en raison de sa nature diamagnétique et de la réactivité limitée de sa surface (292).

Par ailleurs, l'aimantation et la coercivité se positionnent dans le même plan factoriel, confirmant leur interdépendance et leur lien direct avec la proportion de Fe_3O_4 , conformément aux principes du magnétisme des nanopoudres (315). Enfin, les variables de dissolution forment un groupe indépendant, éloigné des vecteurs structuraux et magnétiques, ce qui indique que la libération du principe actif n'est pas directement gouvernée par ces paramètres mais par des phénomènes distincts tels que la porosité et l'énergie d'adsorption de surface (257).

2.3.2.2 Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

L'Analyse en Classification Hiérarchique (CAH) complète l'ACP en mettant en évidence les regroupements de variables (Figure 102). Trois classes principales émergent :

1. **Chargement – Taille cristalline de Fe₃O₄ – Proportion d’HAp** : Ce regroupement confirme que la capacité d’encapsulation résulte d’un équilibre entre la fraction magnétique (favorisant l’adsorption) et la fraction apatite (limitant le processus) (309).
2. **Aimantation – Coercivité (Hc)** : Ce cluster met en évidence l’interdépendance entre ces deux propriétés magnétiques, toutes deux gouvernées par la proportion et la distribution de Fe₃O₄.
3. **Dissolution** : Les variables liées à la libération de l’acide barbiturique forment un groupe distinct, suggérant une indépendance vis-à-vis des paramètres structuraux et magnétiques.

Ces observations rejoignent les résultats d’études antérieures montrant que la libération d’un principe actif est davantage influencée par des propriétés de surface (porosité, énergie d’adsorption) que par la composition cristallographique du matériau (255,257).

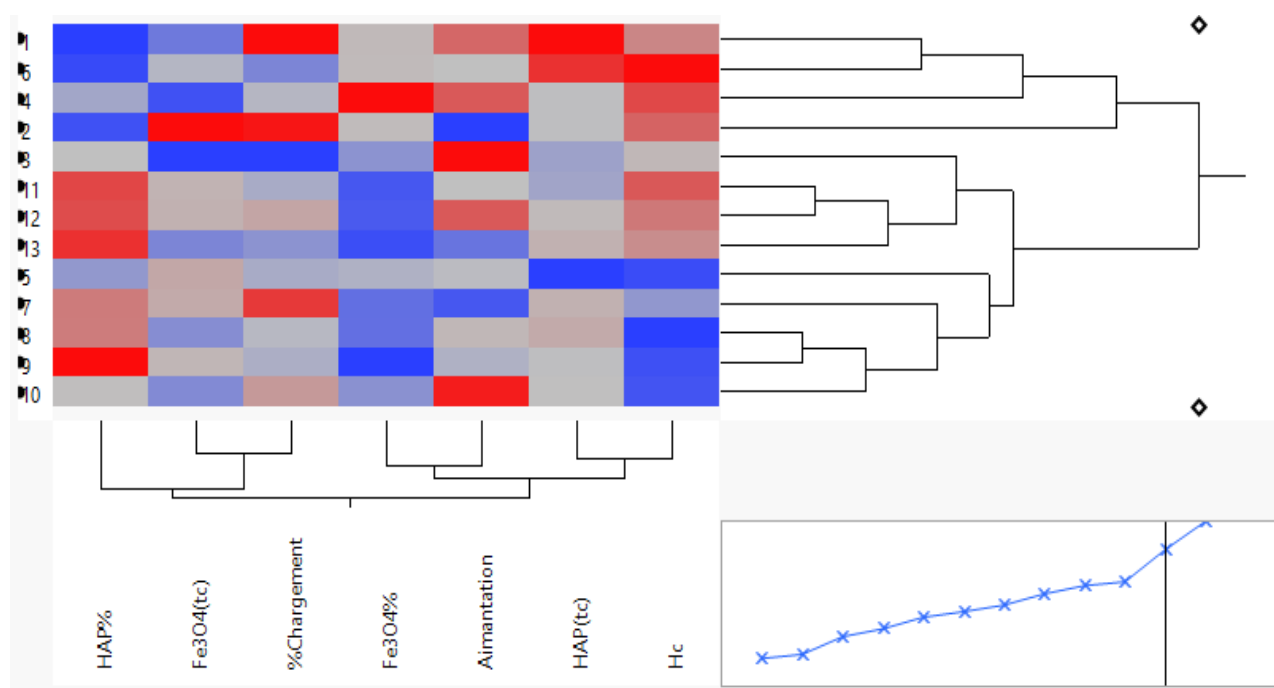


Figure 102: Regroupement des variables par analyse en classification hiérarchique (CAH).

2.3.2.3 Cartes thermiques : corrélations chargement/libération

L’utilisation de cartes thermiques constitue un outil puissant pour explorer de manière simultanée les relations entre le taux de chargement et la cinétique de libération de l’acide

barbiturique au sein des nanocomposites. La visualisation matricielle obtenue (Figure 103) permet d'identifier des tendances globales ainsi que des comportements spécifiques propres à certains échantillons.

%Chargement	0,082	0,001	0,102	0,252	0,123	0,000
Disso_t0,5	0,137	0,132	0,273	0,034	0,000	0,083
Disso_t1	0,051	0,168	0,197	0,042	0,000	0,034
Disso_t2	0,116	0,143	0,139	0,014	0,003	0,044
Disso_t4	0,155	0,192	0,186	0,038	0,016	0,061
Disso_t6	0,157	0,206	0,144	0,027	0,026	0,040
Disso_t12	0,090	0,168	0,113	0,016	0,026	0,012
Disso_t24	0,105	0,217	0,100	0,036	0,062	0,019

Figure 103: Carte thermique des corrélations entre taux de chargement et profils de dissolution à différents temps.

L'analyse révèle une variabilité inter-échantillons marquée. Certains nanocomposites, tels que Ncp 4 et Ncp 8, présentent un taux de chargement élevé mais une libération relativement limitée, traduisant des interactions fortes entre le principe actif et la matrice. Ce type de comportement est caractéristique de systèmes où les mécanismes d'adsorption reposent sur des liaisons électrostatiques ou des interactions de surface spécifiques, ralentissant le relargage du médicament (257).

À l'inverse, des échantillons comme Ncp 5, 12 et 13 montrent un chargement modéré mais une libération rapide, dépassant 80 % du principe actif en moins de 12 h. Ce profil suggère une adsorption superficielle faible, probablement favorisée par une porosité ouverte et une cristallinité réduite, permettant une désorption facilitée du médicament. Ce type de dynamique a été décrit dans les travaux de Higuchi (1963), où la libération est gouvernée principalement par un processus de diffusion contrôlé par la matrice (255).

Une troisième catégorie d'échantillons, tels que Ncp 2, 3 et 7, illustre une libération progressive et contrôlée (55–70 % en 24 h). Dans ce cas, la libération est modulée à la fois par la diffusion à travers la matrice et par la nature des interactions spécifiques entre la molécule active et les sites d'adsorption. De tels profils intermédiaires sont recherchés en vectorisation car ils assurent une biodisponibilité prolongée et une libération soutenue du principe actif (268).

La comparaison des profils obtenus suggère qu'il n'existe pas de corrélation linéaire simple entre le taux de chargement et la vitesse de libération. Cette dissociation est cohérente avec les observations de Hai et al. (2023) (287), qui ont montré que, dans des systèmes HAp/Fe₃O₄ stabilisés par des agents organiques, la libération du médicament dépend plus fortement de la morphologie, de la porosité et des propriétés de surface que du seul taux d'encapsulation. De plus, l'intégration de Fe₃O₄ dans la matrice peut influencer la libération par des effets indirects :

- modification de la surface spécifique,
- génération de sites actifs supplémentaires,
- interactions magnétiques susceptibles de retenir partiellement les molécules adsorbées (251).

Ainsi, la carte thermique constitue un outil complémentaire aux analyses univariées et multivariées. Elle met en évidence la nécessité de considérer les paramètres structuraux (taille des cristallites, porosité), les propriétés magnétiques, ainsi que les interactions matrice-médicament pour interpréter les profils de libération. Ces résultats confirment que le comportement de libération ne peut être prédit uniquement à partir du taux de chargement mais résulte d'une combinaison complexe de facteurs physico-chimiques.

➤ **Analyse intégrée des corrélations (ACP + CAH)**

L'intégration des résultats de l'ACP et de la ACH permet de proposer une lecture unifiée des relations entre variables.

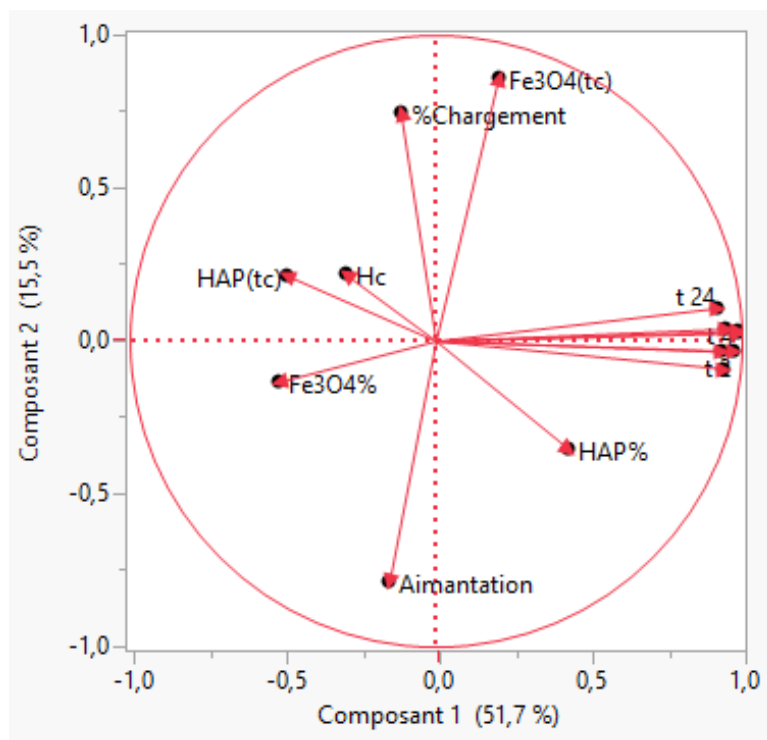


Figure 104: Analyse en Composantes Principales (ACP) complémentaire illustrant les corrélations entre paramètres structuraux, magnétiques et fonctionnels.

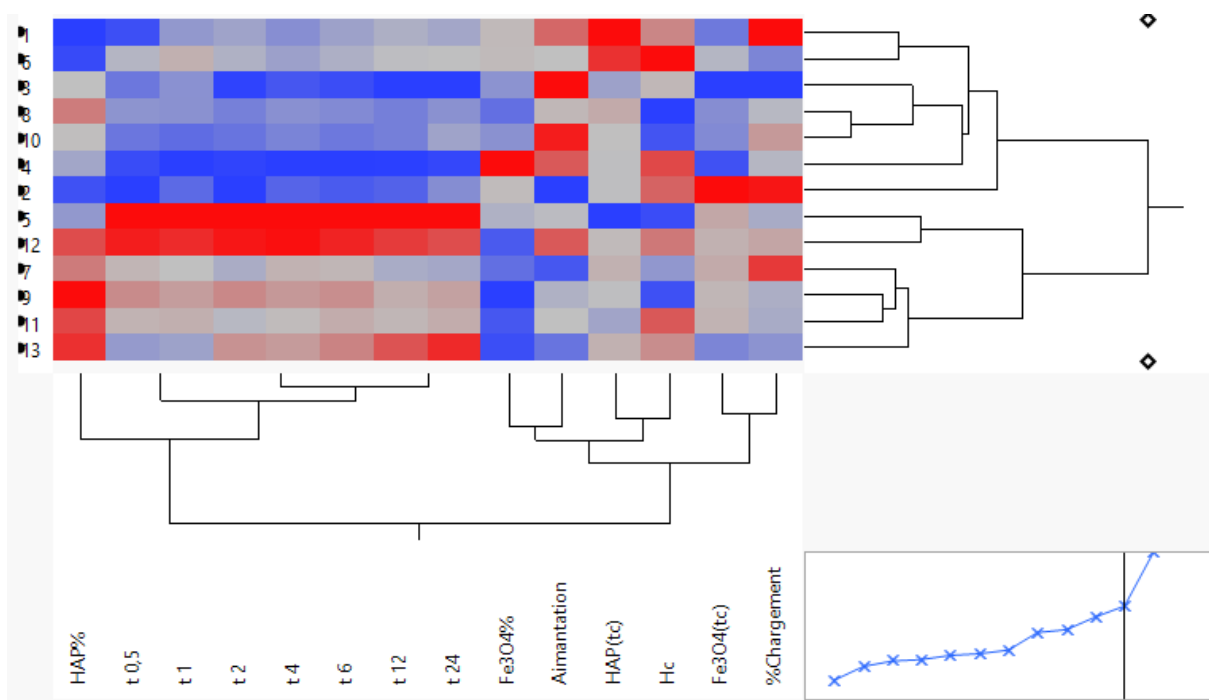


Figure 105: : Dendrogramme complémentaire de l'Analyse en Classification Hiérarchique (CAH) des relations entre les paramètres étudiés.

Les deux méthodes convergent pour mettre en évidence trois ensembles de corrélations principales :

1. **Chargement – Taille cristalline de Fe_3O_4 – Proportion d’HAp**

L’ACP révèle une corrélation positive entre le taux de chargement et la taille cristalline de Fe_3O_4 , confirmée par la CAH qui regroupe ces variables dans une même classe. À l’inverse, la proportion élevée d’HAp apparaît négativement corrélée au chargement, traduisant un rôle moins favorable de cette phase pour l’adsorption (292,309).

2. **Aimantation – Coercivité (H_c)**

Les propriétés magnétiques sont regroupées dans une même classe par la CAH et alignées sur le même axe factoriel dans l’ACP. Ce lien est attendu car l’aimantation à saturation (M_s) et la coercivité (H_c) dépendent directement de la proportion et de la distribution de la magnétite, ainsi que de la taille des domaines cristallins (287,315).

3. **Cinétique de libération – Dissolution**

Les variables liées à la libération de l’acide barbiturique forment un groupe indépendant dans la CAH, suggérant qu’elles dépendent de mécanismes distincts des seules propriétés structurales et magnétiques. La carte thermique (Figure 103) renforce cette interprétation en mettant en évidence la variabilité des profils de libération indépendamment des taux de chargement. Ces résultats sont cohérents avec les modèles de diffusion contrôlée (Higuchi, 1963 ; Korsmeyer & Peppas, 1983) (255,257) et confirment la nécessité de considérer la porosité et la surface spécifique comme paramètres clés (282).

Tableau 44: Synthèse des corrélations structurales, magnétiques et fonctionnelles issues de l'ACP et de la CAH.

Variable (cm ⁻¹ ou °C)	Attribution principale	Interprétation physico-chimique	Importance statistique (ACP/CAH)
~962 (FTIR)	cm ⁻¹ Élongation sym. PO ₄ ³⁻	Cristallinité de l'HAp	Discriminante
~1075 (FTIR)	cm ⁻¹ Vibration asym. PO ₄ ³⁻	Structuration du réseau apatitique	Importante (ACP)
~570 (FTIR)	cm ⁻¹ Flexion PO ₄ ³⁻	Stabilité du réseau cristallin	Moyenne (ACP/CAH)
Taille cristalline Fe ₃ O ₄	Domaine magnétique	Corrélée positivement au taux de chargement	Très importante
Proportion HAp	Phase apatitique	Inversement corrélée au taux de chargement	Très importante
Taux de chargement (%)	Fonctionnalité	Pivot, lié à Fe ₃ O ₄ et inverse à HAp	Pivot central
Aimantation (Ms)	Magnétisme global	Dépend de la fraction Fe ₃ O ₄	Moyenne
Coercivité (Hc)	Résistance magnétique	Variable indépendante	Faible
Dissolution (t _{0,5} → t _{24h})	Libération fonctionnelle	Groupe distinct, indépendante des paramètres	Distinct

L'approche combinée ACP–CAH met en évidence des relations structurantes qui permettent de mieux comprendre la multifonctionnalité des nanocomposites :

- Un compromis entre propriétés magnétiques (Fe₃O₄, Ms, Hc) et capacité d'encapsulation (taux de chargement), illustrant une dualité fonctionnelle déjà rapportée dans la littérature sur les nanocomposites hybrides (251).
- Le rôle pivot de la taille cristalline de Fe₃O₄, paramètre déterminant influençant simultanément la capacité d'adsorption et les performances magnétiques, ce qui confirme sa place centrale dans la conception rationnelle de systèmes HAp/ Fe₃O₄.
- L'indépendance relative des variables de libération contrôlée, suggérant que la cinétique de dissolution ne dépend pas uniquement de la composition ou des propriétés magnétiques, mais requiert la prise en compte de paramètres complémentaires tels que la porosité, la surface spécifique et les interactions matrice–médicament (282).

Ces résultats démontrent l'intérêt de l'approche chimiométrique multivariée dans l'optimisation des nanocomposites multifonctionnels, car elle permet de hiérarchiser les facteurs déterminants

et d'identifier des compromis pertinents entre biocompatibilité (HAp), propriétés magnétiques (Fe_3O_4) et fonctionnalité pharmaceutique (chargement et libération).

2.3.2.4 Identification des variables IR et DSC les plus discriminantes

Afin de compléter l'analyse multivariée et d'identifier les marqueurs physico-chimiques les plus pertinents, une hiérarchisation des variables issues de la spectroscopie infrarouge (FTIR) et de la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) a été réalisée. Les p-values associées à chaque variable ont été calculées afin d'évaluer leur pouvoir discriminant dans la différenciation des nanocomposites.

➤ Variables spectroscopiques (FTIR)

L'analyse statistique a révélé que plusieurs bandes FTIR présentaient un rôle discriminant majeur. Les dix bandes les plus significatives, avec des p-values inférieures à 1×10^{-11} , sont listées dans le Tableau 45, tandis que l'ensemble des 50 variables est présenté en annexe.

Tableau 45: Les dix bandes infrarouges les plus discriminantes identifiées par l'analyse univariée, classées par ordre croissant de p-value.

Nombre d'onde (cm^{-1})	p-value
1681,928	$1,26 \times 10^{-12}$
1683,856	$4,67 \times 10^{-12}$
1697,358	$6,42 \times 10^{-12}$
1695,429	$7,21 \times 10^{-12}$
1679,999	$8,83 \times 10^{-12}$
1647,209	$1,34 \times 10^{-11}$
1651,066	$1,42 \times 10^{-11}$
1645,280	$1,63 \times 10^{-11}$
1687,714	$1,77 \times 10^{-11}$
1693,500	$2,14 \times 10^{-11}$

Ces bandes se situent principalement dans la région des vibrations d'élongation des liaisons C=O ($1680\text{--}1700 \text{ cm}^{-1}$) et des modes de déformation N-H ou C=C conjugués ($1600\text{--}1650 \text{ cm}^{-1}$), caractéristiques du squelette uréidique de l'acide barbiturique. Leur forte significativité statistique confirme leur rôle dans la différenciation spectrale des échantillons.

La Figure 106 illustre la superposition des spectres IR des échantillons, avec mise en évidence de la région discriminante autour de 1690 cm^{-1} (encadré rose).

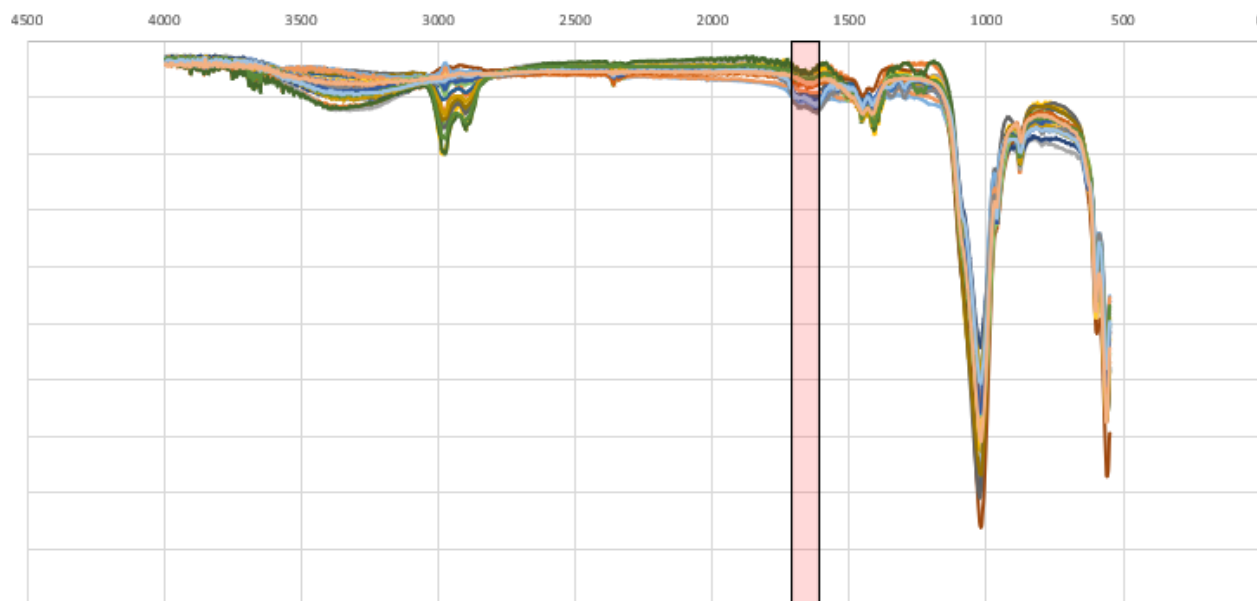


Figure 106: Superposition des spectres FTIR des échantillons, région discriminante (1680–1700 cm^{-1}).

En complément, l'ACP a montré que certaines bandes classiques de l'HAp et des phases substituées étaient également discriminantes :

- la bande à $\sim 962 \text{ cm}^{-1}$ (élongation symétrique PO_4^{3-}), indicatrice du degré de cristallinité (292);
- les bandes à $1400\text{--}1450 \text{ cm}^{-1}$, caractéristiques des carbonates substitués dans le réseau apatitique (309) ;
- la large bande $3300\text{--}3400 \text{ cm}^{-1}$ (O–H), reflétant l'hydratation résiduelle et les interactions hydrogène.

➤ Variables thermiques (DSC/TG)

L'analyse des profils thermiques (DSC/TG) a mis en évidence une série de variables discriminantes reflétant les processus de déshydratation, de décomposition organique et de réorganisation structurale des nanocomposites.

La plage $420\text{--}455 \text{ }^\circ\text{C}$ apparaît comme particulièrement déterminante (Tableau 46), correspondant à la décomposition complète de l'acide barbiturique chargé dans la matrice. Les variables de cette zone présentent des p-values inférieures à 0,025, confirmant leur forte significativité statistique.

Tableau 46 : Principales variables discriminantes issues des données DSC.

Variable DSC	p-value
DSC_455	0,019609
DSC_447	0,019673
DSC_449	0,020565
DSC_450	0,021079
DSC_448	0,021095
DSC_452	0,021541
DSC_454	0,021726
DSC_453	0,022715
DSC_459	0,022991
DSC_451	0,023061

Cette observation est corroborée par la Figure 107, qui illustre la superposition des courbes DSC et met en évidence (zone en rose) la transition exothermique associée à la rupture du cycle barbiturique et à la combustion des résidus organiques.

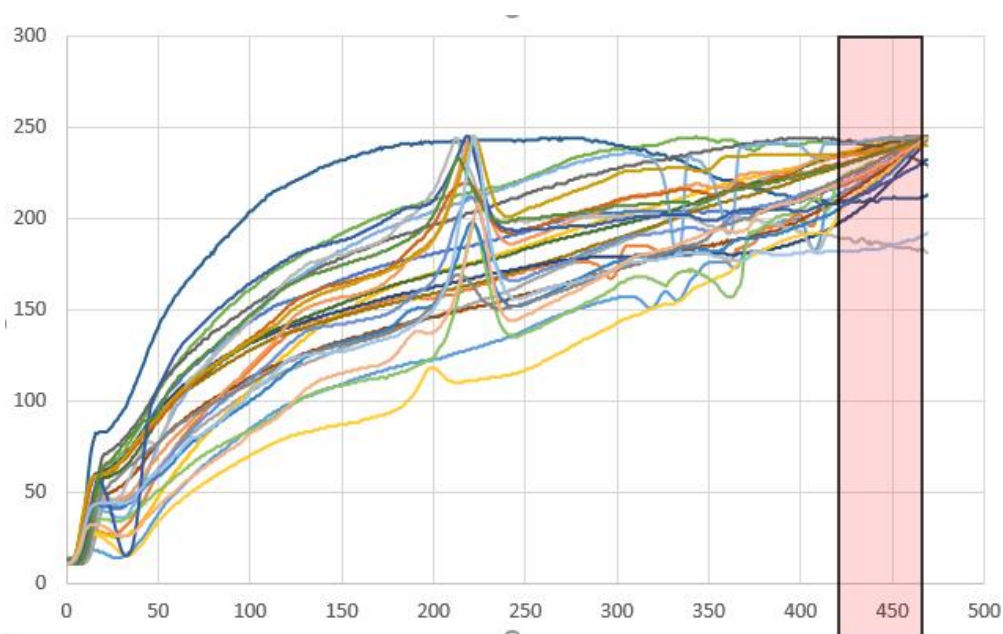


Figure 107: Courbes DSC/TG comparatives des nanocomposites, avec annotation de la zone discriminante (420–455 °C).

De manière plus globale, trois autres plages thermiques ont été identifiées comme discriminantes :

- 150–200 °C : pic endothermique attribué à la perte d'eau de surface et d'hydratation structurale. Sa variation en intensité traduit des différences de porosité et d'organisation des réseaux cristallins (304).
- 300–500 °C : événements thermiques liés à la décomposition des carbonates substitués dans la structure de l'HAp. Ces transitions sont directement corrélées aux bandes IR caractéristiques des carbonates ($1400\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$), confirmant l'importance des substitutions CO_3^{2-} dans la stabilité structurale (309).
- >600 °C : transitions associées à la stabilité globale des phases HAp et Fe_3O_4 , traduisant la robustesse de la matrice biphasique et sa résistance thermique. Cette zone permet de distinguer les formulations présentant une meilleure résistance structurale.

Ces résultats confirment que les données thermiques constituent un outil complémentaire aux analyses spectroscopiques (FTIR). L'association des deux approches met en évidence des variables cohérentes et physico-chimiquement pertinentes pour différencier les échantillons : hydratation, substitutions ioniques et stabilité thermique.

➤ **Corrélations croisées IR/DSC**

Les résultats montrent une forte corrélation entre les bandes FTIR liées aux groupements PO_4^{3-} et CO_3^{2-} et les événements thermiques identifiés. Ces concordances renforcent l'interprétation physico-chimique et confirment la complémentarité des approches spectroscopiques et thermiques dans la discrimination des échantillons.

Tableau 46: Variables spectroscopiques (FTIR) et thermiques (DSC/TG) discriminantes identifiées par ACP, CAH et ANOVA.

Variable (cm ⁻¹ ou °C)	Attribution principale	Interprétation physico-chimique	Importance statistique (ACP/CAH, ANOVA)
~962 cm ⁻¹ (FTIR)	Élongation symétrique PO ₄ ³⁻ (HAp)	Indicateur de la cristallinité et de l'intégrité structurale de l'hydroxyapatite (292).	Très discriminante (axe 1 ACP, p < 0,01)
1400–1450 cm ⁻¹ (FTIR)	Vibrations CO ₃ ²⁻ (substitution type B)	Témoigne de la substitution carbonatée au sein du réseau apatitique, influençant la stabilité et la solubilité (309).	Très discriminante (axe 2 ACP, p < 0,01)
3300–3400 cm ⁻¹ (FTIR)	Élongation O–H (groupes hydroxyles / eau adsorbée)	Hydratation résiduelle, interactions hydrogène, corrélées à la porosité et à la stabilité hydrique	Discriminante modérée (ACP)
150–200 °C (DSC)	Perte d'eau de surface et d'hydratation	Désorption de l'eau adsorbée et de l'eau de structure, indicateur de la stabilité hydrique et de la cristallinité (304).	Discriminante (p < 0,05, corrélée FTIR OH)
300–500 °C (DSC/TG)	Décomposition des carbonates substitués	Libération de CO ₂ liée aux substitutions CO ₃ ²⁻ → PO ₄ ³⁻ dans l'HAp ; impact direct sur la stabilité structurale (309).	Très discriminante (ACP + CAH, p < 0,01)
420–455 °C (DSC/TG)	Décomposition de l'acide barbiturique	Rupture du cycle barbiturique et combustion des résidus organiques ; étape critique de différenciation des échantillons	Hautement discriminante (p < 0,025)
>600 °C (DSC/TG)	Réorganisation structurale et stabilité biphasique (HAp + Fe ₃ O ₄)	Indice de robustesse thermique globale de la matrice nanocomposite	Discriminante secondaire (ACP/CAH)

La fusion des données spectroscopiques (FTIR) et thermiques (DSC/TG) met en évidence une complémentarité des variables discriminantes dans l'analyse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ chargés ou non en acide barbiturique.

- Les bandes FTIR autour de 962 cm⁻¹ et 1400–1450 cm⁻¹ constituent des marqueurs structuraux essentiels : la première reflète la cristallinité et l'intégrité du réseau apatitique (292), tandis que la seconde traduit l'incorporation de carbonates, une caractéristique fréquente des hydroxyapatites biomimétiques (309). Ces variables se

sont révélées très discriminantes dans l'ACP, différenciant clairement les matériaux selon leur degré de substitution et leur organisation cristalline.

- Les variables thermiques enrichissent cette lecture : la perte d'eau (150–200 °C) confirme l'importance de l'hydratation résiduelle déjà observée en FTIR par la bande OH, tandis que la décomposition des carbonates (300–500 °C) corrobore la substitution carbonatée identifiée spectroscopiquement.
- La plage 420–455 °C apparaît comme un marqueur unique de la décomposition du principe actif (acide barbiturique). Hautement discriminante, elle permet de distinguer les échantillons chargés des témoins, confirmant l'apport du couplage DSC/TG dans l'évaluation de l'efficacité d'encapsulation.
- Enfin, les transitions observées au-delà de 600 °C traduisent la robustesse de la matrice biphasique HAp/Fe₃O₄. Bien que secondaires dans l'ACP et la CAH, elles sont cruciales pour prédire la stabilité thermique et l'applicabilité biomédicale des nanocomposites (324).

Ainsi, la combinaison FTIR–DSC/TG ne se limite pas à une approche confirmatoire, mais offre une vision intégrée de la structure, de la composition et de la stabilité des nanocomposites. Les corrélations croisées (ACP + CAH) entre les variables spectroscopiques et thermiques renforcent la robustesse des discriminations, en particulier pour différencier les matériaux optimisés pour le chargement et la libération contrôlée.

La projection factorielle issue de l'ACP (Figure 108) illustre la répartition des échantillons dans le plan défini par PC1 et PC2. La première composante principale (PC1) explique 96 % de la variance totale, tandis que PC2 en explique 4 %, traduisant un modèle fortement explicatif. Cette organisation met en évidence plusieurs regroupements cohérents :

- Un premier groupe compact (échantillons 5 Ap, 6 Ap, 7 Ap, 8 Ap, 11 Ap), localisé dans la partie gauche du plan factoriel, est caractérisé par une forte contribution des variables liées à la substitution carbonatée et à la perte d'eau structurale. Cela traduit une structure légèrement déficiente en calcium, cohérente avec les valeurs de Ca/P observées par EDS.
- Un second groupe (échantillons 3 Ap, 4 Ap, 10 Ap), situé dans la zone centrale, se distingue par un équilibre entre les contributions spectroscopiques (PO₄³⁻, CO₃²⁻) et

thermiques (stabilité intermédiaire autour de 300–500 °C). Ces échantillons représentent un profil intermédiaire, proche de la moyenne globale du lot.

- Les échantillons atypiques 2 Ap et 12 Ap, fortement décalés le long de PC1, se distinguent nettement du reste. Leur position traduit une influence dominante des variables thermiques associées à la décomposition de l'acide barbiturique (420–455 °C) et à une cristallinité accrue de l'HAp. Ces comportements singuliers pourraient refléter des conditions de synthèse spécifiques ou une interaction particulière avec la molécule modèle.
- Enfin, les échantillons 1 Ap et 9 Ap sont regroupés dans la partie inférieure gauche, indiquant une contribution plus marquée des facteurs liés à la désorption d'eau et à une faible substitution carbonatée, traduisant une stabilité structurale réduite.

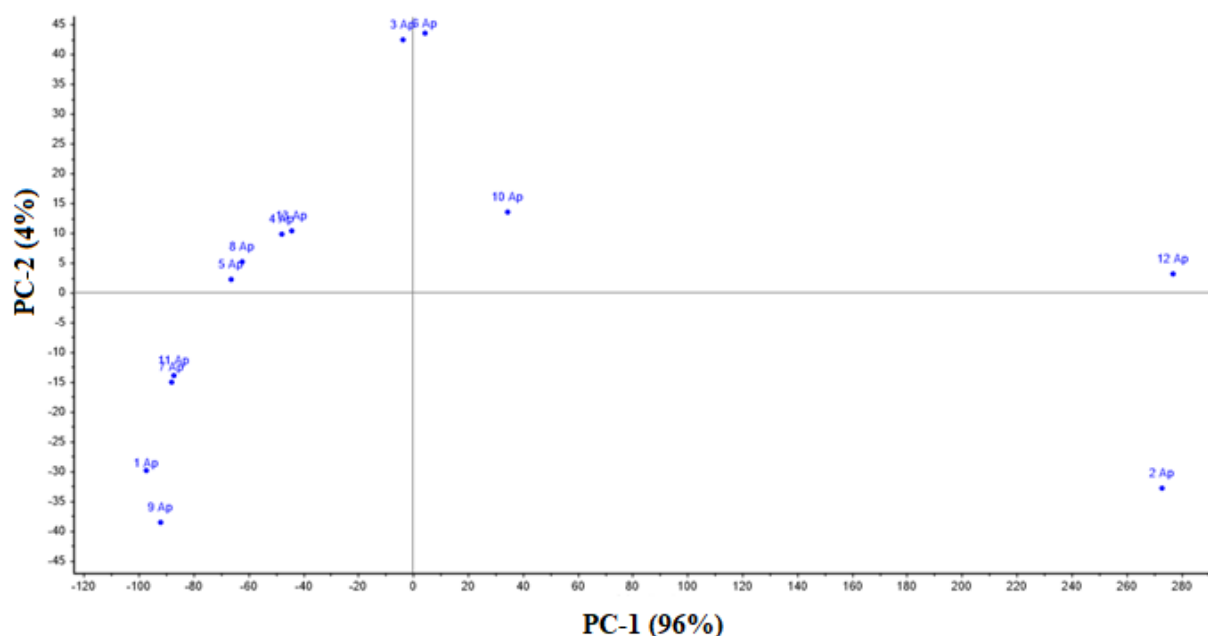


Figure 108: Projection factorielle ACP (PC1–PC2) des échantillons en fonction des variables spectroscopiques (FTIR) et thermiques (DSC/TG).

Ces résultats confirment que les variables issues du FTIR et des analyses thermiques ne sont pas seulement complémentaires mais également synergiques pour expliquer la variabilité entre échantillons. La mise en évidence d'échantillons atypiques (2 Ap et 12 Ap) illustre l'intérêt de l'approche multivariée pour détecter des comportements singuliers qui ne seraient pas visibles à travers une analyse univariée classique.

2.3.3 Sélection et validation du nanocomposite optimal

2.3.3.1 Sélection du nanocomposite optimal par la méthode de désirabilité

L'optimisation des conditions de synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ a reposé sur une approche multicritère, en utilisant la méthode de désirabilité, couramment employée dans le cadre des plans d'expériences pour identifier des conditions expérimentales répondant simultanément à plusieurs objectifs contradictoires (268).

Dans cette étude, l'optimisation a visé à :

- maximiser la taille des cristallites de Fe₃O₄ et le taux de chargement en acide barbiturique ;
- minimiser l'aimantation spécifique afin de limiter les effets de rémanence indésirables ;
- maintenir un équilibre structural entre l'hydroxyapatite (HAp) et la magnétite.

La dissolution n'ayant montré aucune corrélation significative avec les autres variables, elle a été exclue du processus d'optimisation.

Tableau 47: Critères d'optimisation basés sur la désirabilité.

Nom du Facteur	Objectif	Valeur Inférieure	Valeur Supérieure	Importance
A: Ratio	Intervalle	-1	1	3
B: T de calcination	Intervalle	-1	1	3
Pourcentage d'HAp	Intervalle	-1	1	3
Pourcentage de Fe₃O₄	Intervalle	15	20	3
Fe₃O₄ (tc)	Maximiser	2,45	49,58	3
Aimantation	Minimiser	0,83555	1,1825	3
Taux de chargement	Maximiser	25,91	80,49	3

L'optimisation statistique par plan composite central (PCC) a permis de modéliser l'effet combiné des deux facteurs étudiés – le ratio fructose/nitrate de calcium (A) et la température de calcination (B) – sur plusieurs réponses expérimentales : pourcentage massique d'HAp, pourcentage massique de Fe₃O₄, taille des cristallites, aimantation, taux de chargement et fonction de désirabilité. Les surfaces de réponse 3D obtenues (Figure 109) fournissent une représentation visuelle claire de ces effets.

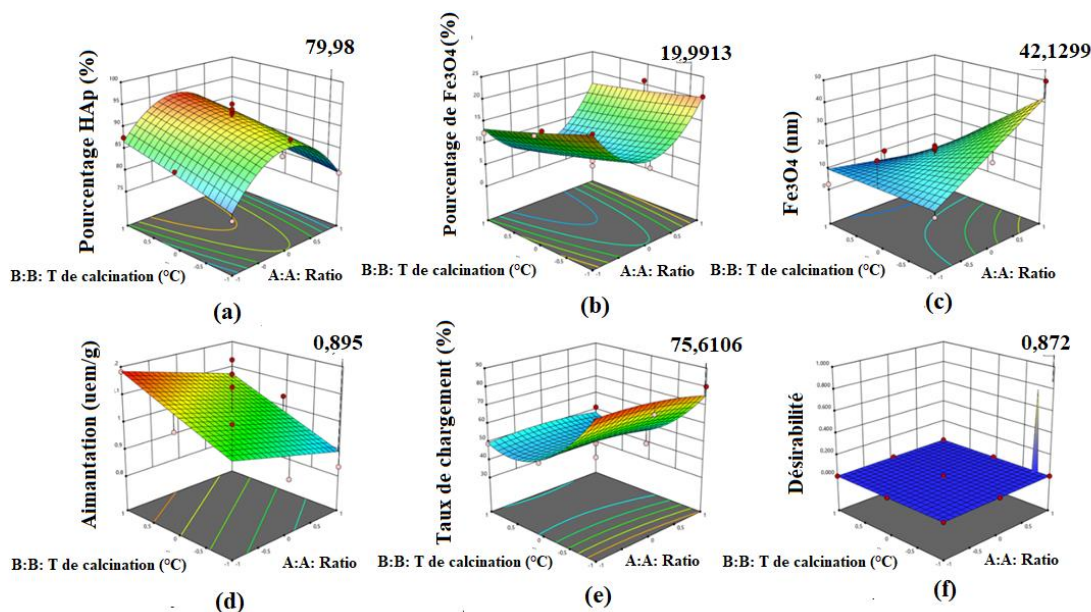


Figure 109: Surfaces de réponse 3D illustrant l'effet du ratio (A) et de la température de calcination (B) sur les paramètres de synthèse et de performance des nanocomposites.

(a) % HAp ; (b) % Fe₃O₄ ; (c) taille des cristallites ; (d) aimantation ; (e) taux de chargement ; (f) fonction de désirabilité.

L'analyse des surfaces révèle plusieurs tendances majeures :

- **Cristallinité et proportion en HAp (Figure 109a).**

L'augmentation de la température de calcination favorise la formation et la cristallisation de l'hydroxyapatite, traduite par une croissance progressive de la proportion d'HAp. Cette tendance est conforme aux observations classiques de la littérature où la stabilité structurale de l'HAp est améliorée par traitement thermique (315).

- **Proportion en Fe₃O₄ (Figure 109b).**

À l'inverse, la teneur en magnétite diminue avec l'élévation de température, traduisant une possible oxydation partielle de Fe₃O₄ ou une dilution relative dans la phase apatitique. Le ratio fructose/nitrate influence également ce paramètre par son rôle de stabilisant au stade précurseur (282).

- **Taille des cristallites (Figure 109c).**

L'accroissement de la température induit une croissance cristalline significative, confirmant le rôle thermodynamique de la calcination dans la diffusion et la coalescence des cristallites. Cette observation est cohérente avec les travaux de Young (1993) sur les matériaux cristallins (269).

- **Propriétés magnétiques (Figure 109d).**

La magnétisation décroît avec l'augmentation de la température, ce qui reflète la diminution de la fraction relative en Fe_3O_4 . Le ratio fructose/nitrate intervient secondairement par ses effets sur la taille et la distribution des particules magnétiques.

- **Taux de chargement en acide barbiturique (Figure 109e).**

Ce paramètre atteint ses valeurs maximales pour des températures modérées (~ 400 °C) et des ratios intermédiaires, suggérant que des conditions douces de calcination favorisent une meilleure adsorption du principe actif.

- **Fonction de désirabilité (Figure 109f).**

L'intégration simultanée de toutes les réponses étudiées dans un critère de désirabilité montre l'existence d'une zone optimale située à un ratio proche de 2 et une température de calcination de 400 °C. Cette zone représente le compromis idéal entre cristallinité, proportion en phases, propriétés magnétiques et efficacité de chargement.

Ces résultats confirment l'intérêt de la méthodologie des surfaces de réponse (RSM) pour optimiser les formulations complexes en tenant compte des interactions entre facteurs (268,325). La Figure 109 constitue ainsi une étape essentielle avant l'utilisation de la carte de superposition (Figure 110), qui permet de visualiser globalement l'optimum expérimental.

L'examen détaillé des surfaces de réponse 3D (Figure 109) met en évidence l'existence de conditions expérimentales optimales permettant d'obtenir un compromis équilibré entre cristallinité, proportion en phases, propriétés magnétiques et capacité d'adsorption. Toutefois, chacune de ces surfaces n'apporte qu'une vision partielle de l'optimisation, limitée à une seule

réponse à la fois. Afin d'intégrer simultanément l'ensemble des paramètres étudiés et d'identifier la combinaison la plus performante, une carte de superposition a été générée (Figure 110).

Cette approche permet de visualiser la zone de convergence des conditions expérimentales optimales, dans laquelle les critères de performance (teneur en HAp, stabilité structurale, magnétisation contrôlée et taux de chargement élevé) sont simultanément satisfaits. La carte de superposition représente ainsi l'outil décisionnel final pour sélectionner le nanocomposite optimal, garantissant à la fois la validité scientifique et l'efficacité pratique du protocole de synthèse.

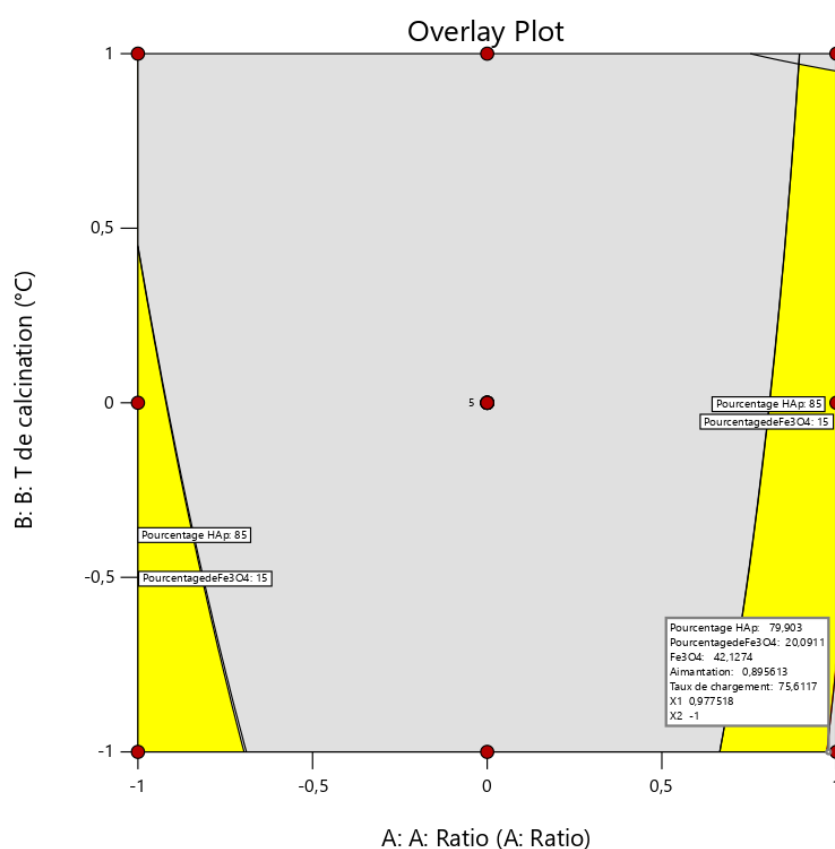


Figure 110: Carte de superposition identifiant la zone optimale de synthèse des nanocomposites HAp/Fe₃O₄.

L'échantillon optimal, présentant une désirabilité globale de 0,812, a été sélectionné (Tableau 48). Il correspond à un ratio proche de 2, une température de calcination de 400 °C, une proportion en HAp de 78,75 % et en Fe₃O₄ de 15 %, ainsi qu'une taille de cristallites de Fe₃O₄ d'environ 42 nm. Ce compromis permet d'obtenir un taux de chargement élevé (77,85 %) et

une aimantation faible (0,95 uem/g), critères essentiels pour des applications biomédicales (326).

Tableau 48: Paramètres de l'échantillon optimal sélectionné.

N ^o	Ratio	T calcination	HAP %	Fe ₃ O ₄ %	Fe ₃ O ₄ (tc)	Aimantation	Taux de chargement	Désirabilité
1	0,999	0,98434	78,75	15	42,17	0,95	77,85	0,812

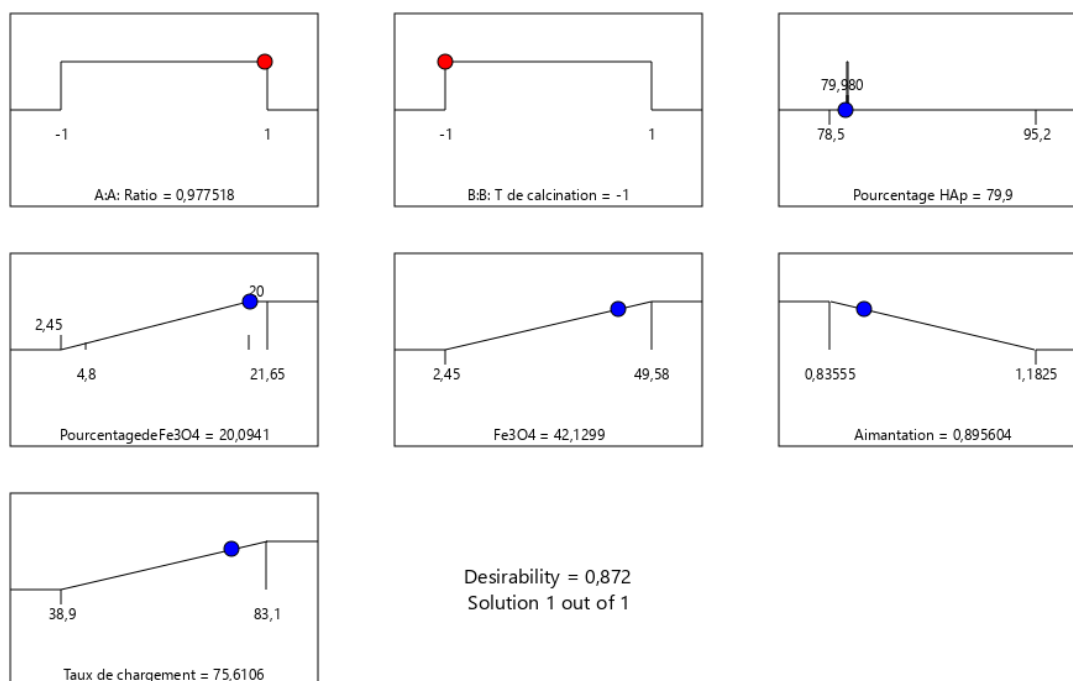


Figure 111: Représentation des valeurs optimales des paramètres de synthèse.

2.3.3.2 Validation expérimentale du nanocomposite optimal

2.3.3.2.a Analyse structurale par diffraction des rayons X

L'analyse DRX (Figures 112–113) des trois synthèses répétées confirme la reproductibilité de la co-présence de l'HAp et de la magnétite. L'affinement Rietveld (Tableau 49) montre une proportion stable en HAp (80,3–81,9 %) et Fe₃O₄ (18,1–19,7 %), avec des tailles cristallines respectives de ~11 nm et ~45 nm. Les paramètres de maille sont cohérents avec la littérature (327), confirmant la stabilité structurale du matériau.

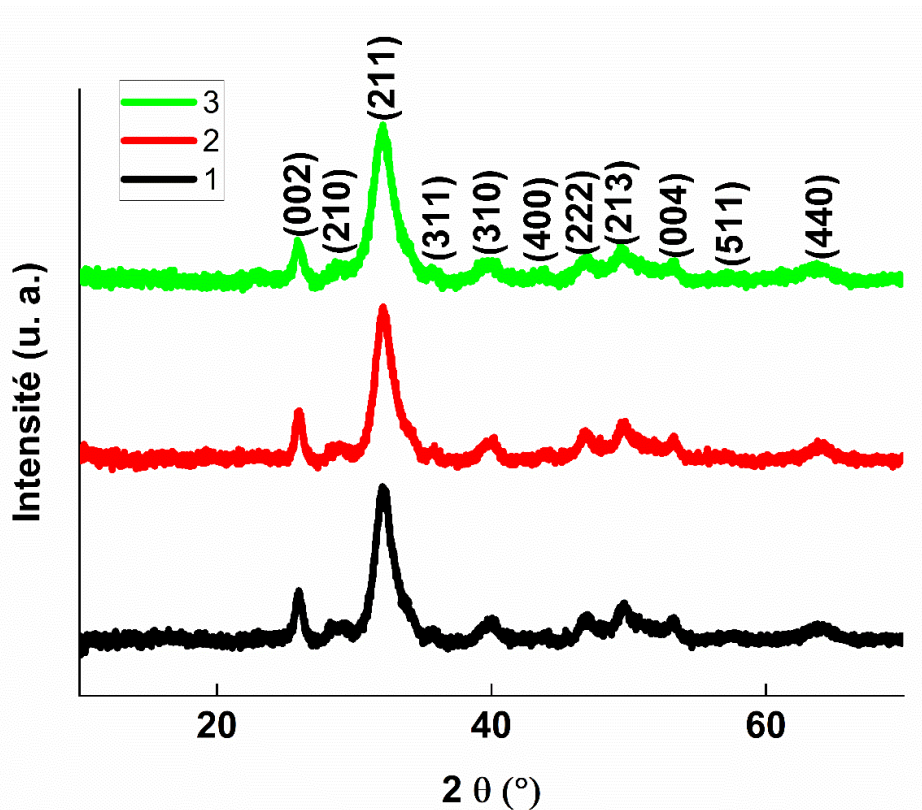


Figure 112: Diffractogrammes du nanocomposite optimal synthétisé en trois réplicats (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

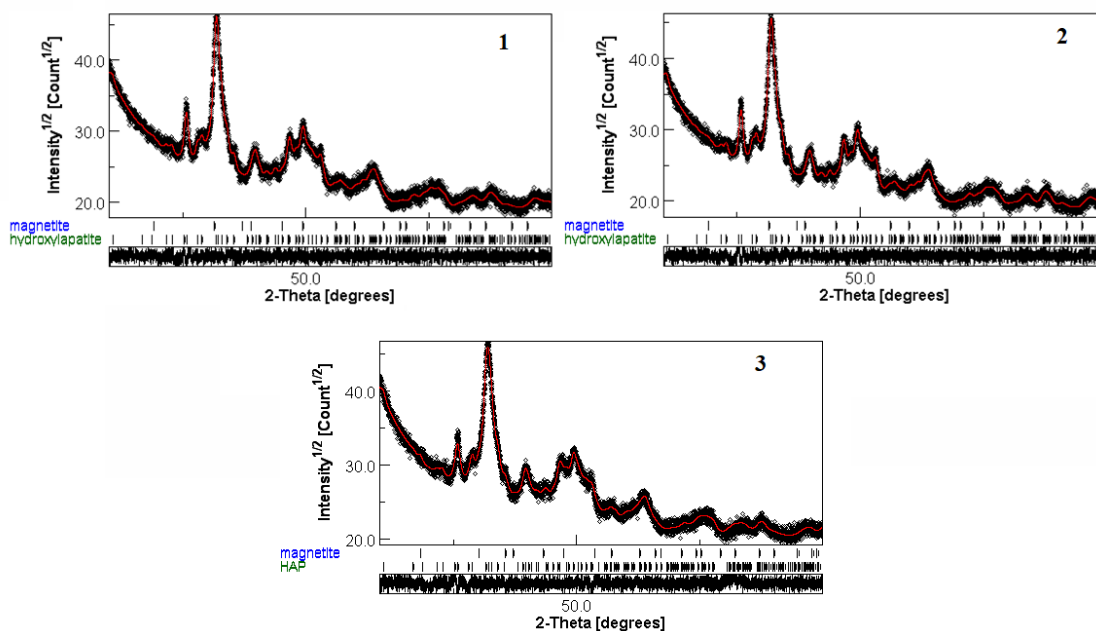


Figure 113: Diffractogrammes des échantillons triplicata du nanocomposite optimal (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

Tableau 49: Paramètres cristallographiques du nanocomposite optimal.

N°	Ratio	T (°C)	Phase	Teneur Massique	TC (nm)	Paramètres de la maille (Å)	Déviation relative (%)	Indices de qualité d'affinement			
								Sig	Rwp (%)	Rb (%)	Rexp (%)
1	2	400	HAP Fe ₃ O ₄	80,30 19,70	11,39 45,05	a=9,4214; c=6,8991 a= 8,030	0,025; 0,26 -0,13	1,087	4,267	3,362	3,924
2	2	400	HAP Fe ₃ O ₄	81,86 18,14	11,27 45	a= 9,4280; c=6,8922 a= 8,030	0,095 ; 0,16 -0,70	1,071	4,257	3,337	3,972
3	2	400	HAP Fe ₃ O ₄	80,35 19,65	11,37 45,04	a=9,4393 ; c = 6,9036 a= 8,030	0,21 ; 0,32 -0,27%	1,095	4,063	3,195	3,710

2.3.3.2.b Morphologie et composition (MEB/EDS)

Les observations MEB (Figure 114) révèlent des particules nanométriques agrégées, avec des tailles variant entre 155 et 801 nm, traduisant une forte tendance à la coalescence. La porosité intergranulaire suggère un support adapté au chargement et à la libération contrôlée de molécules actives (324).

L'analyse EDS (Tableau 50) met en évidence une composition majoritairement phosphocalcique, avec des rapports Ca/P compris entre 1,28 et 1,31, proches de ceux de l'hydroxyapatite biologique, confirmant la substitution carbonatée et une bioactivité potentiellement élevée (328).

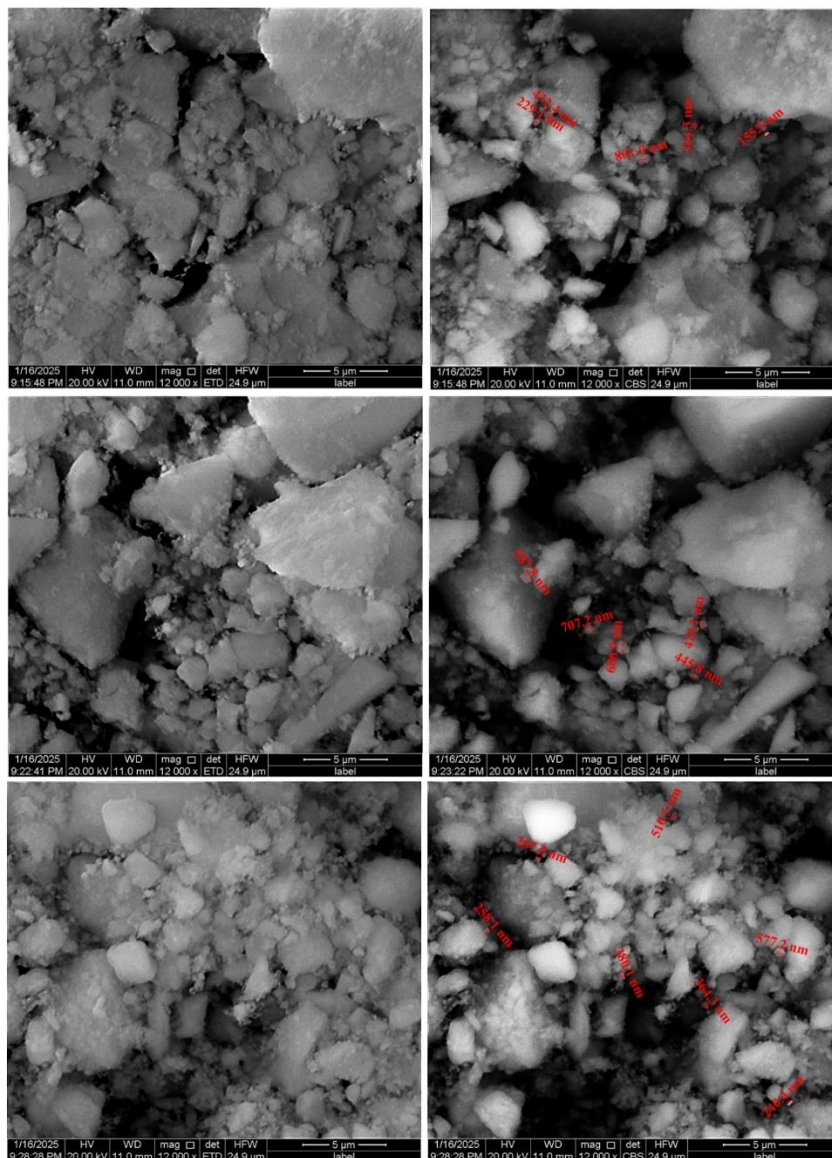


Figure 114: Micrographies MEB du nanocomposite optimal.

Tableau 50: Composition élémentaire par EDS et rapports Ca/P.

Élément	% massique (1)	% atomique (1)	% massique (2)	% atomique (2)	% massique (3)	% atomique (3)
C K	2,39	4,03	2,56	4,36	7,85	12,44
O K	58,51	74,18	57,44	73,24	59,09	70,27
P K	14,24	9,33	14,50	9,55	12,18	7,48
Ca K	23,99	12,14	24,66	12,55	20,14	9,56
Fe K	0,88	0,32	0,84	0,31	0,74	0,25
Ca/P	-	-1,30	-	1,31	-	1,28

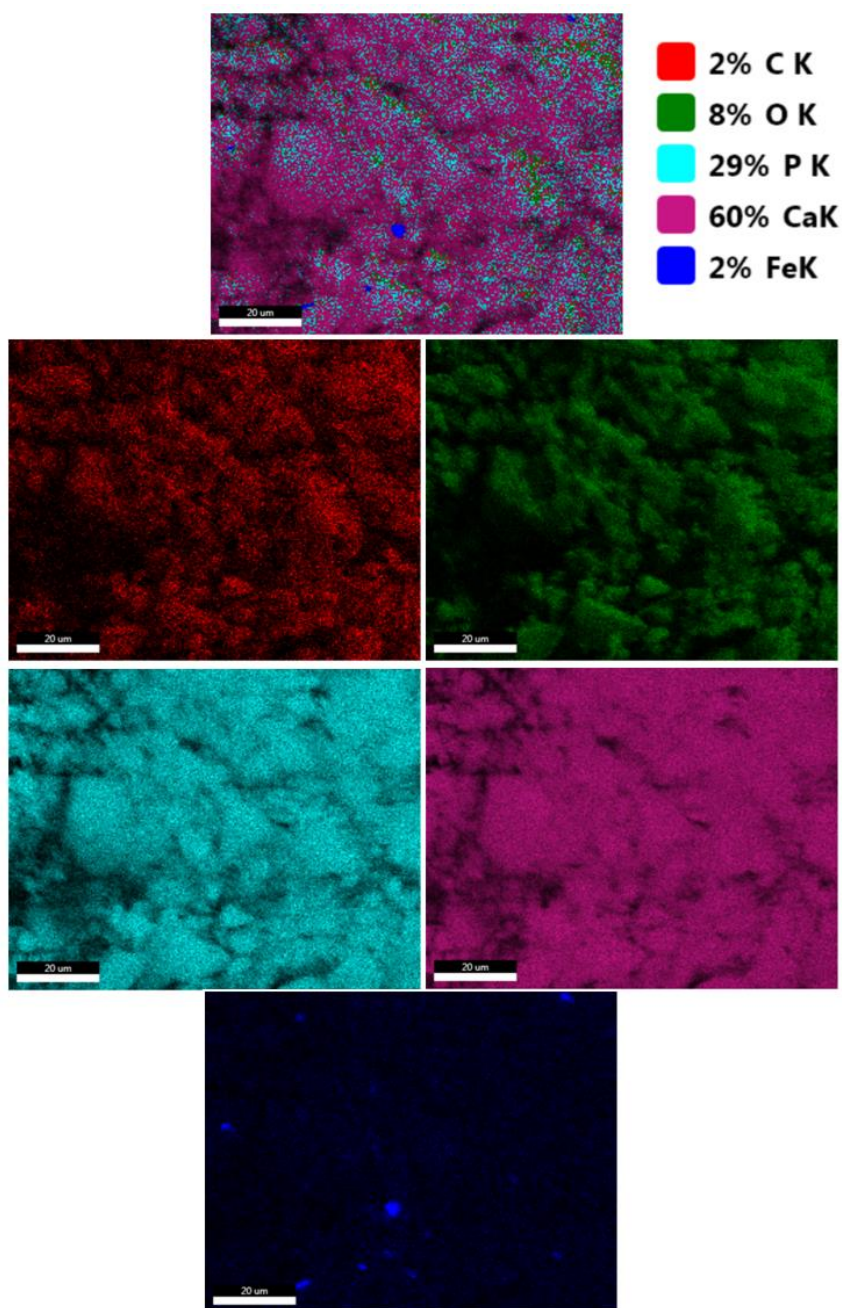


Figure 115: Cartographie EDS des éléments (Ca, P, O, Fe, C).

2.3.3.2.c Propriétés magnétiques

L'analyse des boucles d'hystérésis (Figure 116) et des paramètres magnétiques (Tableau 51) indique une aimantation faible ($M_s \approx 0,84$ uem/g) et une coercivité réduite (~ 25 Oe), traduisant un comportement ferrimagnétique faiblement coercitif, proche du superparamagnétisme. Ce profil est favorable pour des applications biomédicales, en particulier pour le ciblage magnétique (329)

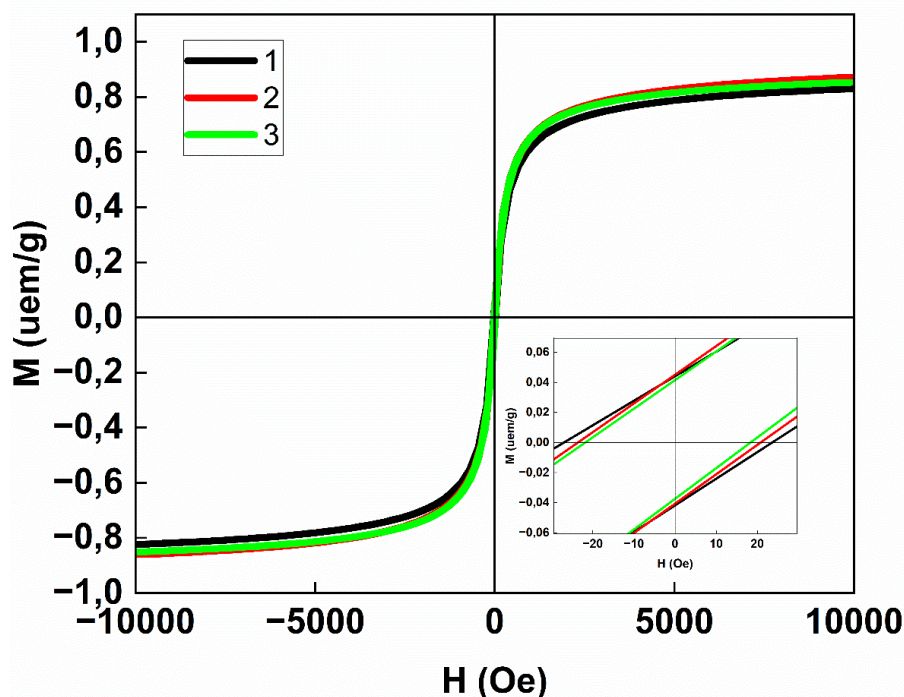


Figure 116: Boucles d'hystérésis VSM (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

Tableau 51: Propriétés magnétiques du nanocomposite optimal.

Echantillon	M_s (uem/g)	H_{ci} (Oe)	M_r (uem/g)	RMS (uem/g)
1	0,83555	25,326	42,949E-3	0,76718
2	0,83543	25,320	39,949E-3	0,76714
3	0,84305	25,349	40,949E-3	0,76721

2.3.3.2.d Caractérisation spectroscopique et thermique

Le spectre FTIR (Figure 117) confirme la présence de bandes caractéristiques de l'HAP (groupements PO_4^{3-} , CO_3^{2-}) et de la magnétite (liaisons Fe-O). L'analyse thermique (Figure 118) met en évidence la perte d'eau (40 °C), la décomposition carbonatée (600–750 °C) et une stabilité structurale au-delà de 800 °C, confirmant une organisation robuste de la matrice (309).

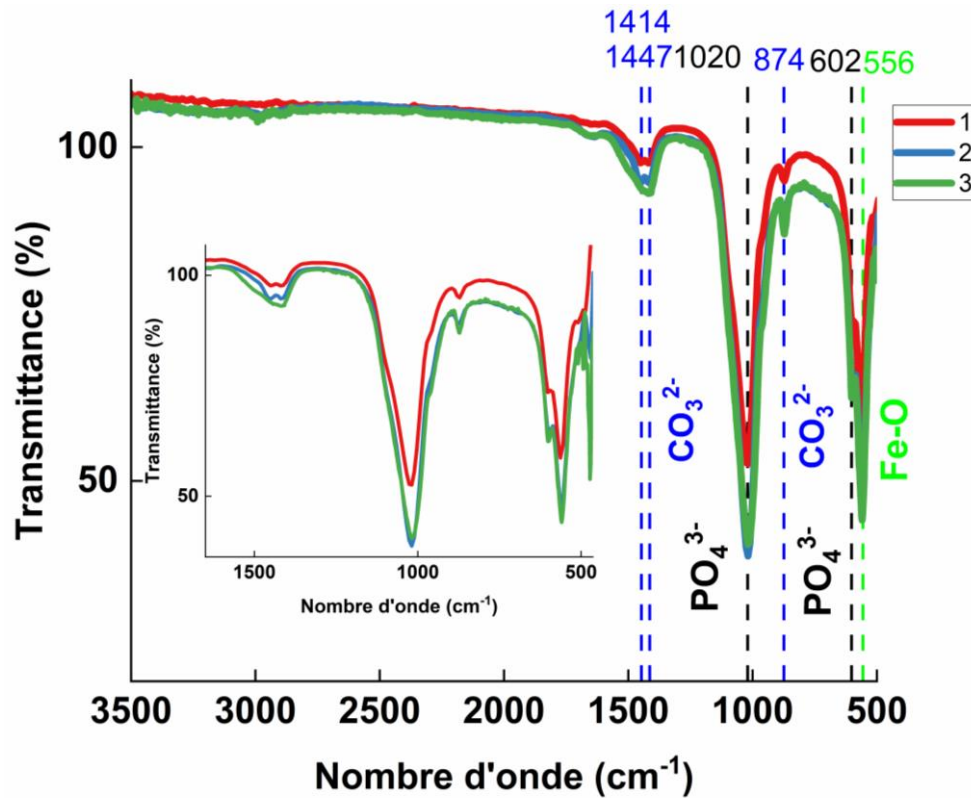


Figure 117: Spectres FTIR du nanocomposite optimal (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

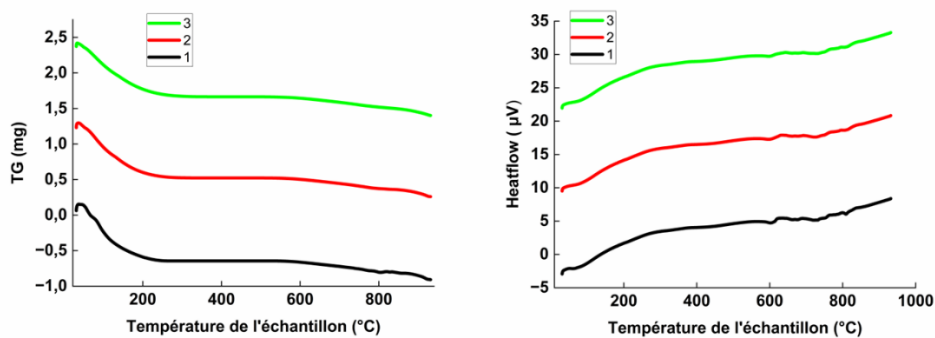


Figure 118: Thermogrammes DSC/TG des nanocomposites.

2.3.3.3 Validation après chargement en acide barbiturique

L'évaluation post-chargement du nanocomposite optimal en acide barbiturique a permis de confirmer la capacité du matériau à encapsuler efficacement un principe actif tout en conservant ses propriétés structurales et fonctionnelles.

2.3.3.3.a Caractérisation structurale (DRX et affinement Rietveld)

L'affinement Rietveld (Tableau 52, Figure 119) révèle une modification des proportions relatives des phases cristallines après chargement. La fraction d'hydroxyapatite (HAp) diminue légèrement ($\approx 76\%$) au profit de la magnétite Fe_3O_4 ($\approx 24\%$). Cette redistribution peut être attribuée à une réorganisation structurale induite par l'adsorption du principe actif, qui pourrait perturber l'équilibre des phases. Par ailleurs, une réduction de la taille cristalline de l'HAp ($\approx 9\text{--}10\text{ nm}$) est observée, suggérant une contrainte cristalochimique liée à l'interaction molécule/matrice. Ce phénomène est bien documenté dans la littérature, où l'incorporation de molécules organiques tend à modifier localement la cohésion du réseau apatitique (292,309).

Tableau 52: Paramètres structuraux des échantillons optimaux chargés avec l'acide barbiturique issus de l'affinement Rietveld.

N°	Ratio	T (°C)	Phase	% massique	TC (nm)	Paramètres de la maille (Å)	Déviation relative (%)	Indices de qualité d'affinement			
								Sig	Rwp (%)	Rb (%)	Rexp (%)
1	2	400	HAP Fe_3O_4	76,10 23,90	10,3 43,6	a=9,4545 ; c=6,8933 a=8,3970	0,37 ; 0,17 -0,34	1,20	4,343	3,408	3,609
2	2	400	HAP Fe_3O_4	76,24 23,75	9,4 44,2	a=9,4494 ; c=6,8746 a=8,4228	0,32 ;- 0,09 0,039	1,186	4,452	3,492	3,751
3	2	400	HAP Fe_3O_4	75,30 24,70	10 45	a=9,4503 ; c=6,8809 a=8,4369	0,33 ; 0,004 0,12	1,253	4,486	3,506	3,579

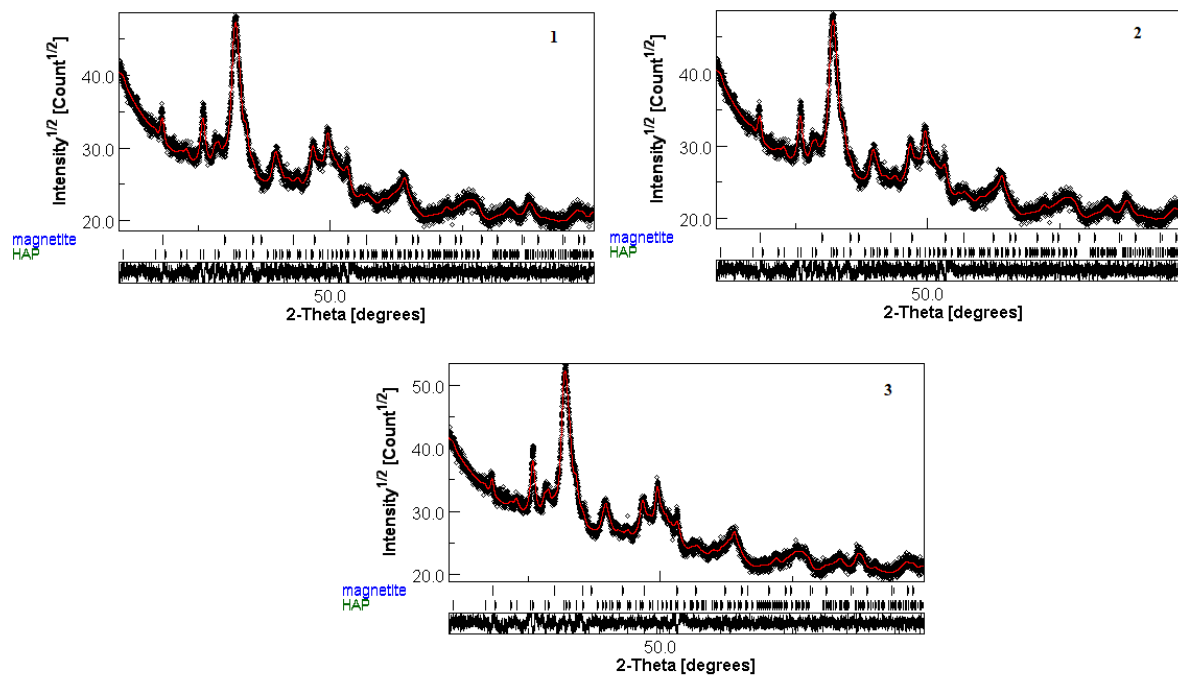


Figure 119: Diffractogrammes des nanocomposites optimaux obtenus par l'affinement Rietveld (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

2.3.3.3.b Propriétés magnétiques (VSM)

L'analyse magnétique (Tableau 53) met en évidence une diminution de la coercivité (H_c) et de la rétentivité (M_r) après chargement, traduisant une mobilité accrue des moments magnétiques. Cette évolution suggère que l'adsorption de l'acide barbiturique contribue à réduire l'interaction entre nanoparticules de Fe_3O_4 , probablement en raison d'un effet d'espacement interparticulaire induit par le principe actif adsorbé. La magnétisation à saturation (M_s), bien que légèrement réduite, demeure suffisante pour envisager une utilisation en vectorisation magnétique. Ce comportement rejoint les observations de Laurent et al. (2008), qui rapportent que l'encapsulation de molécules thérapeutiques peut moduler favorablement la réponse magnétique en améliorant la dispersion des particules (326).

Tableau 53: Propriétés magnétiques des nanocomposites optimaux après chargement.

Ncp	Ms (uem/g)	Hci (Oe)	Mr (uem/g)	RMS (uem/g)
1	0,96585	21,436	37,955E-3	0,70535
2	0,86541	21,421	36,945E-3	0,69521
3	0,96565	21,445	37,743E-3	0,70409

2.3.3.3.c Caractérisation fonctionnelle (FTIR)

Les spectres infrarouges (Figure 120) confirment le succès du chargement. Outre les bandes caractéristiques de l'HAp (ν_3 PO₄³⁻ à 1030–1090 cm⁻¹, ν_4 PO₄³⁻ à 560–600 cm⁻¹) et de la magnétite (Fe–O à 570–590 cm⁻¹), une nouvelle bande nette apparaît à 1680 cm⁻¹, correspondant à l'élongation de la liaison C=O de l'acide barbiturique. Cette bande constitue un marqueur direct de l'incorporation du principe actif dans la matrice, en accord avec les observations rapportées pour d'autres systèmes HAp fonctionnalisés (287).

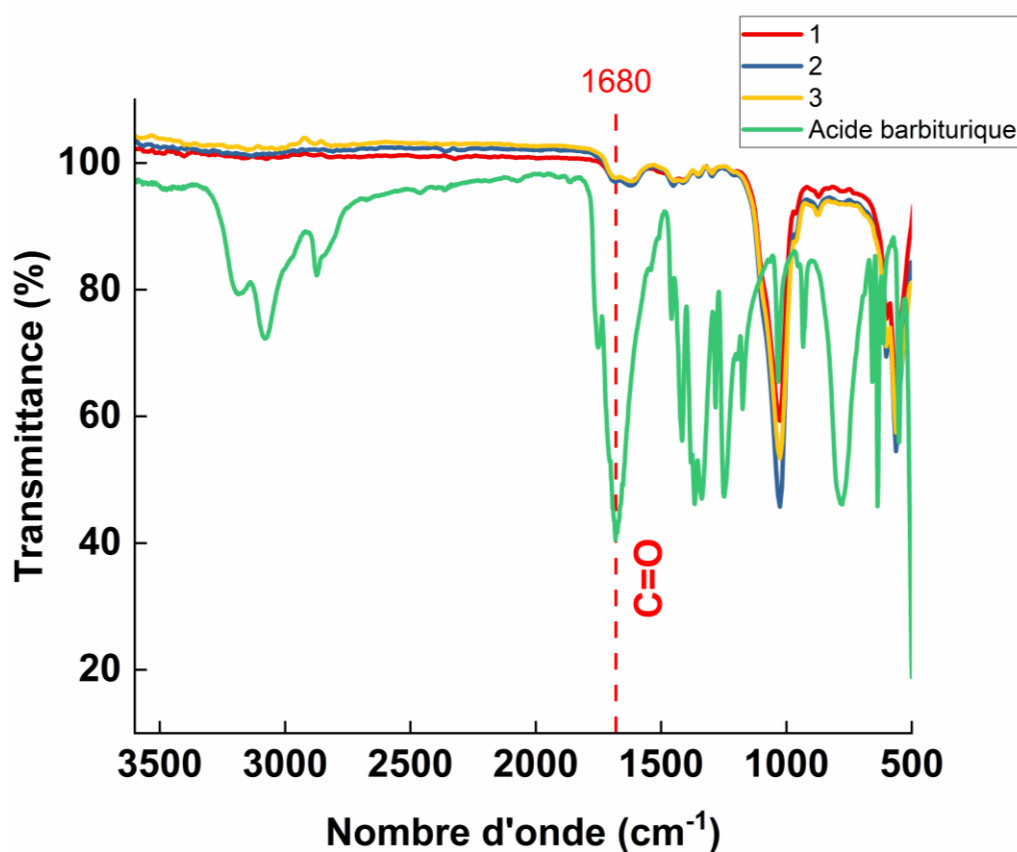


Figure 120: Spectre infrarouge de nanocomposites optimaux chargés en acide barbiturique (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

2.3.3.3.d Taux de chargement et efficacité d'encapsulation

Dans le cadre de la validation des conditions optimales de synthèse du nanocomposite HAp/Fe₃O₄, un test complémentaire a été mené afin d'examiner l'influence du mode de refroidissement post-calcination sur les propriétés structurales et fonctionnelles du matériau. Le refroidissement lent, consistant à laisser les échantillons dans le four éteint jusqu'au retour à température ambiante, a été comparé au refroidissement rapide visant à limiter la croissance cristalline. Ce paramètre agit directement sur la cristallinité de la magnétite, sans altérer la composition chimique globale du système, et permet ainsi d'évaluer son impact sur le taux de chargement.

L'évaluation du taux de chargement en acide barbiturique a été réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), en se basant sur la normalisation de la bande caractéristique du groupement carbonyle (C=O) située autour de 1680 cm⁻¹. La comparaison des spectres avant et après adsorption permet d'obtenir une estimation quantitative du taux de

chargement en mettant en évidence l'augmentation d'intensité de cette bande après interaction avec le principe actif.

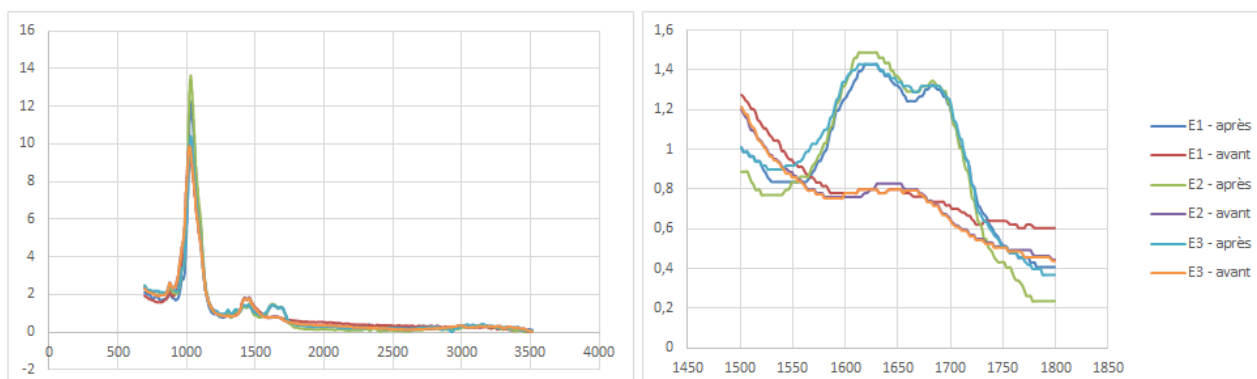


Figure 121: Spectres infrarouges normalisés des nanocomposites avant et après chargement en acide barbiturique.

Les résultats obtenus confirment l'efficacité du processus d'encapsulation, avec une intensité spectrale notablement accrue après adsorption. L'approche FTIR se révèle particulièrement pertinente, car elle reflète directement les modifications de surface et la formation d'interactions spécifiques entre l'acide barbiturique et la matrice.

Afin de croiser ces données spectroscopiques avec les paramètres structuraux, une analyse complémentaire a été menée sur la composition des nanocomposites, la taille cristalline de la magnétite et le taux de chargement déterminé par deux approches : (i) corrélation structurale basée sur la taille cristalline, et (ii) normalisation FTIR. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 54.

Tableau 54: Synthèse de la composition, des paramètres structuraux et de l'évaluation du taux de chargement des nanocomposites HAp/Fe₃O₄

Ncp	HAp (%)	Fe ₃ O ₄ (%)	Taille des cristallites Fe ₃ O ₄ (nm)	Intensité FTIR avant chargement	Intensité FTIR après chargement	Taux de chargement (%) – Struct./Crist.	Taux de chargement (%) – FTIR
1	81,22	18,78	98,0	0,735629	1,324078	34,80	80,0
2	80,35	19,65	85,6	0,738295	1,345913	51,33	82,3
3	82,54	17,46	98,5	0,735573	1,317130	59,79	79,1

Les données mettent en évidence une divergence entre les deux méthodes d'évaluation : l'approche structurale, corrélée à la cristallinité, indique des taux modérés (34,8–59,8 %), tandis que l'approche FTIR révèle des valeurs nettement plus élevées (79,1–82,3 %). Cette différence souligne la complémentarité des méthodes : la première relie le chargement aux paramètres microstructuraux, tandis que la seconde reflète directement l'efficacité de l'interaction matrice–médicament.

L'analyse des conditions de refroidissement montre que le refroidissement lent induit une croissance cristalline importante (~98 nm) et limite l'encapsulation (moyenne : 48,64 %), alors que le refroidissement rapide favorise la formation de cristallites plus petits (~49 nm) et augmente considérablement le taux de chargement (moyenne : 78,45 %). Cette corrélation inverse entre la taille cristalline et l'efficacité d'encapsulation confirme que la réduction de la taille des cristallites accroît la surface spécifique et la densité des sites actifs disponibles.

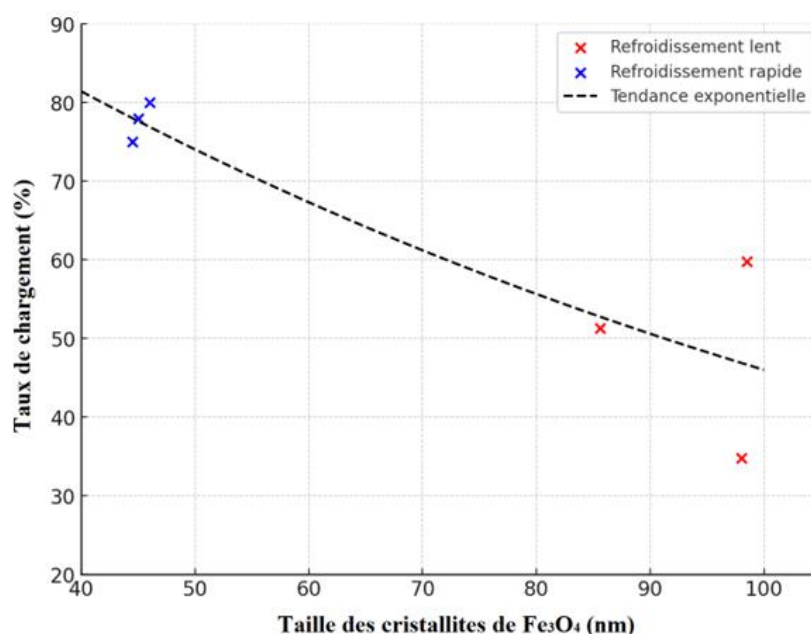


Figure 122: Influence de la taille des cristallites de la magnétite sur le taux de chargement en acide barbiturique selon les conditions de refroidissement.

La figure illustre clairement la tendance décroissante du taux de chargement avec l'augmentation de la taille cristalline de Fe₃O₄. Les échantillons issus d'un refroidissement rapide se distinguent par leurs performances supérieures, confirmant que le contrôle des

paramètres de synthèse constitue un levier stratégique pour améliorer l'efficacité fonctionnelle des nanocomposites.

En définitive, ces résultats démontrent que le mode de refroidissement post-calcination influence fortement la cristallinité de la magnétite et, par conséquent, la capacité d'encapsulation. La cristallinité réduite obtenue par refroidissement rapide optimise la disponibilité des sites actifs et améliore significativement le taux de chargement. Le couplage entre approches structurales et spectroscopiques renforce la validité de cette observation et confirme que la maîtrise de la cristallinité est un facteur clé pour la conception rationnelle de nanocomposites HAp/Fe₃O₄ multifonctionnels, alliant biocompatibilité, propriétés magnétiques ajustées et efficacité pharmaceutique accrue.

2.3.3.4 Validation du modèle expérimental et analyse statistique

Afin de confirmer la robustesse du modèle expérimental établi, une analyse statistique approfondie a été réalisée en comparant les valeurs prédites par le modèle aux valeurs expérimentales. Cette étape est essentielle pour vérifier la précision des prédictions et la fiabilité des conditions optimisées de synthèse et de chargement.

Tableau 55: Données expérimentales des échantillons optimaux.

N°	HAp (%)	Fe ₃ O ₄ (%)	Fe ₃ O ₄ (tc, nm)	Aimantation (uem/g)	Taux de chargement (%)
1	80,30	19,70	45,05	0,83555	80,0
2	81,86	18,14	45,00	0,83543	82,3
3	80,35	19,65	45,04	0,84305	79,1

Les données expérimentales confirment la stabilité de la composition en HAp et Fe₃O₄, avec une taille cristalline de la magnétite relativement homogène (≈ 45 nm) et un taux de chargement élevé compris entre 79,1 % et 82,3 %. Ces résultats attestent du bon contrôle des conditions de synthèse et de la reproductibilité des performances du matériau.

Tableau 56: Validation du modèle avec un intervalle de confiance de 95 %.

Réponse	Moyenne prédite	Médiane prédite	Écart type	n	SE Pred	95 % PI bas	Moyenne des données	95 % PI haut
HAp (%)	78,71	78,71	2,72	3	2,48	73,11	80,84	84,32
Fe ₃ O ₄ (%)	14,57	14,57	11,03	3	11,48	-11,90	19,16	41,04
Fe ₃ O ₄ (tc, nm)	42,49	42,49	7,40	3	7,38	25,81	45,03	59,18
Aimantation	0,9495	0,9495	0,0968	3	0,0735	0,7876	0,8380	1,1114
Taux de chargement (%)	78,45	78,45	9,54	3	7,79	61,09	80,47	

L'analyse statistique, réalisée à l'aide du logiciel Minitab, confirme une bonne concordance entre les valeurs prédites et les données expérimentales. Les écarts types observés restent modérés, et les intervalles de prédiction à 95 % demeurent relativement étroits pour la majorité des paramètres, traduisant la robustesse du modèle.

Concernant le taux de chargement, la valeur moyenne prédite est de 78,45 %, très proche de la valeur expérimentale moyenne (80,47 %). L'intervalle de prédiction (61,09–95,80 %) indique une reproductibilité satisfaisante et confirme la fiabilité du processus de chargement. Ces résultats démontrent que les conditions optimisées permettent une encapsulation efficace et stable de l'acide barbiturique.

En ce qui concerne l'aimantation, la valeur prédite (0,9495 uem/g) reste dans la même plage que les données expérimentales ($\approx 0,84$ uem/g), avec une dispersion faible. Cela suggère que le processus de chargement n'altère pas significativement les propriétés magnétiques intrinsèques du nanocomposite. De plus, la stabilité de la taille cristalline de Fe₃O₄ (≈ 45 nm) au cours du processus confirme que la phase magnétique demeure intacte, ce qui constitue un avantage pour une utilisation dans des systèmes multifonctionnels.

L'ensemble des résultats valide la pertinence et la robustesse du modèle expérimental. Les valeurs expérimentales obtenues sont cohérentes avec les prédictions, confirmant la capacité du modèle à anticiper les comportements structuraux, magnétiques et fonctionnels des nanocomposites. L'optimisation réalisée permet ainsi d'obtenir un compromis satisfaisant entre un taux de chargement élevé et la stabilité des propriétés magnétiques, ouvrant la voie à

l'utilisation de ces nanocomposites HAp/Fe₃O₄ pour des applications en libération contrôlée de principes actifs.

2.4 Étude du 5-Fluorouracile sur le nanocomposite optimal

2.4.1 Caractérisation spectroscopique des nanocomposites chargés en 5-FU

L'analyse FTIR des nanocomposites chargés en 5-FU a confirmé l'incorporation efficace du principe actif dans la matrice HAp/Fe₃O₄, sans altération majeure de la structure des phases constitutives.

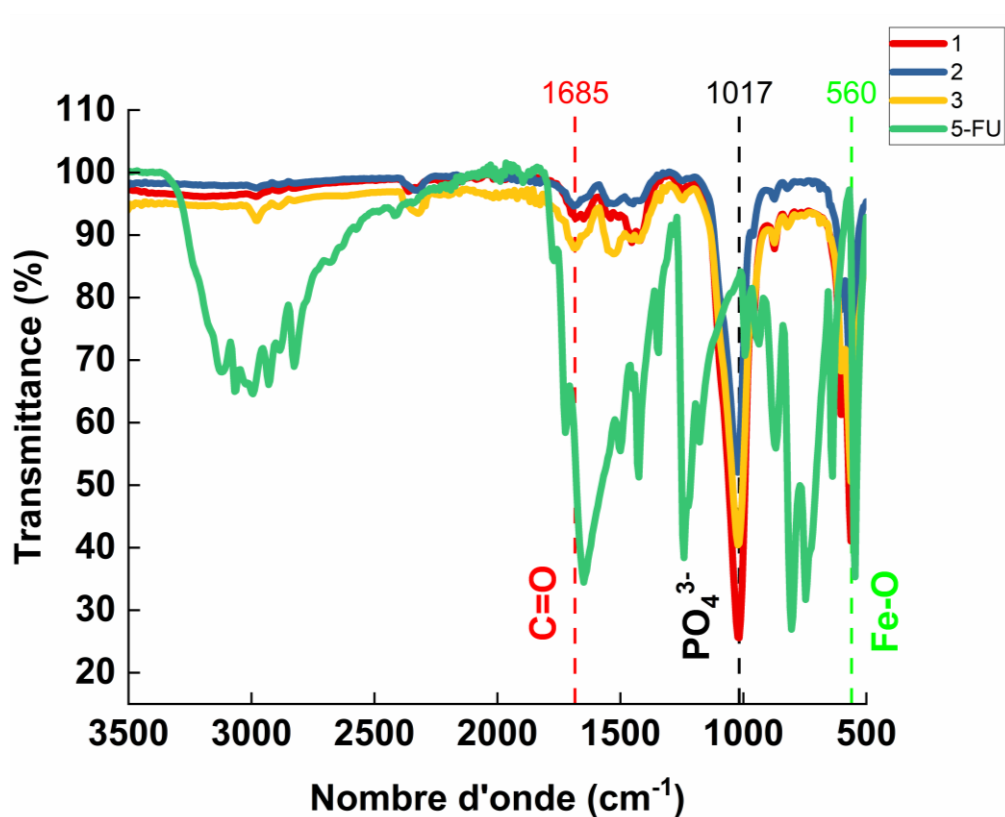


Figure 123: Spectres FTIR comparatifs du 5-FU libre et des nanocomposites chargés en 5-FU (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

Les bandes caractéristiques de l'hydroxyapatite sont visibles autour de 599,8 cm⁻¹ (flexion PO₄³⁻) et 1017,09 cm⁻¹ (élongation asymétrique PO₄³⁻, décalée depuis 1022 cm⁻¹), traduisant une interaction entre les groupements phosphates et le 5-FU. La bande à 875,51 cm⁻¹ confirme la présence de carbonates substitués (CO₃²⁻). La magnétite est identifiée par ses vibrations proches de 560 cm⁻¹, superposées partiellement à celles des phosphates.

Le 5-FU présente des bandes spécifiques, notamment à $1249,65\text{ cm}^{-1}$ (C–O, cycle pyrimidique), $1415,86\text{ cm}^{-1}$ et $1518,83\text{ cm}^{-1}$ (cycle aromatique), et $1685,36\text{ cm}^{-1}$ (C=O). Le décalage ou la disparition de certaines bandes ($2800\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, vibrations C–H et N–H) indique la formation de liaisons hydrogène, interactions électrostatiques et coordinations $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, confirmant un ancrage fort du 5-FU dans la matrice

Ces résultats concordent avec des travaux antérieurs sur l'adsorption de fluoropyrimidines sur supports inorganiques, où les liaisons hydrogène et les interactions métal–ligand jouent un rôle clé dans la stabilisation du médicament (259,314).

2.4.2 Détermination du taux de chargement

L'efficacité d'encapsulation a été évaluée par normalisation des spectres FTIR ($1304,3\text{--}3665,9\text{ cm}^{-1}$).

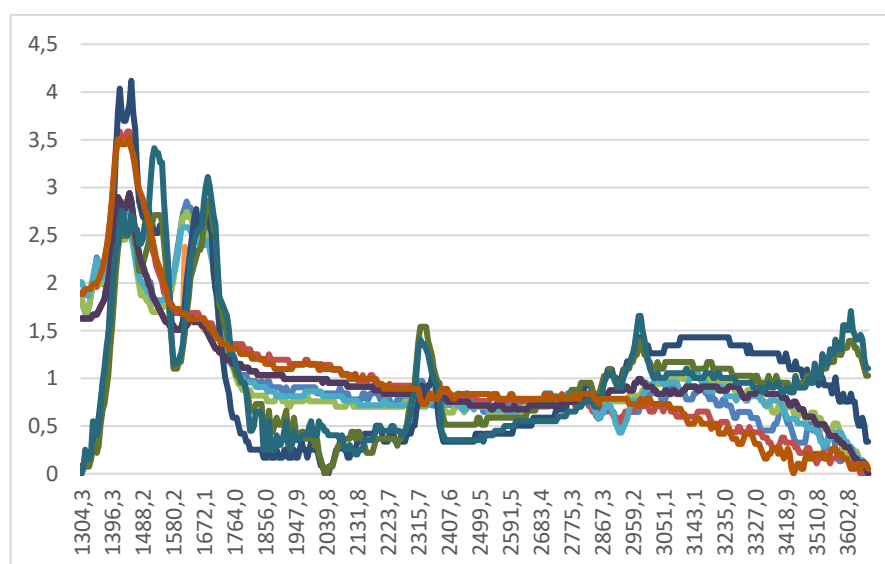


Figure 124: Spectres FTIR normalisés pour l'évaluation du taux de chargement des nanocomposites en 5-FU.

Tableau 57: Intensités spectrales avant/après adsorption et taux de chargement des nanocomposites en 5-FU.

Ncp	Intensité avant	Intensité après	Taux de chargement (%)
1	1,469584	2,689514	83,0
2	1,469584	2,858058	94,5
3	1,569524	3,110191	98,1

Les échantillons 2 et 3 présentent des taux de chargement supérieurs (> 94 %), alors que l'échantillon 1 atteint 83 %. Cette variabilité, malgré des conditions identiques de synthèse, peut être attribuée à des différences locales de surface spécifique, porosité et défauts structuraux, influençant la distribution des sites d'adsorption.

2.4.3 Étude de la cinétique de dissolution du 5-FU

2.4.3.1 Quantification UV-Vis et courbe d'étalonnage

La quantification du 5-FU libéré dans le milieu de dissolution a été réalisée par spectroscopie UV-Visible. Le balayage spectral du 5-FU dissous dans un tampon phosphate salin (PBS, pH 7,4) a révélé une bande d'absorption maximale centrée à 266,5 nm, correspondant aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ des cycles pyrimidiques fluorés. Cette longueur d'onde a été retenue comme λ_{\max} pour les mesures de concentration, car elle présente une sensibilité élevée et une interférence minimale avec les composants de la matrice.

Une série de solutions étalons de 5-FU dans le PBS a permis d'établir une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0,050x + 0,020$, $R^2 = 0,999$), traduisant la justesse de la méthode et sa capacité à fournir des mesures fiables sur une large gamme de concentrations. L'excellente corrélation linéaire obtenue ($R^2 > 0,99$) est en accord avec les standards analytiques de validation biopharmaceutique (330).

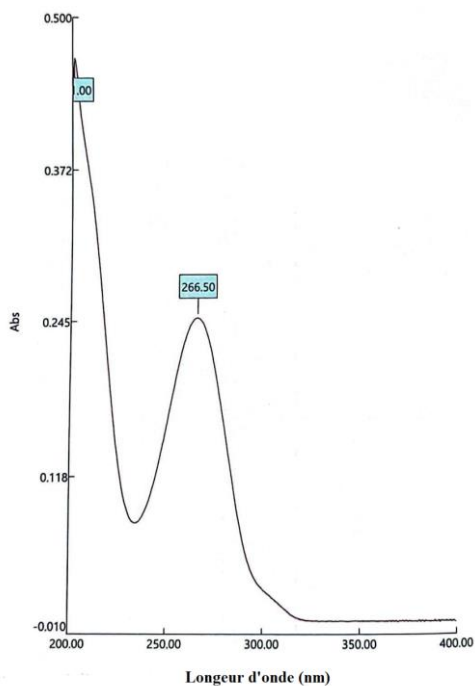


Figure 125 : Spectre UV du 5-FU dans le PBS (pH 7,4).

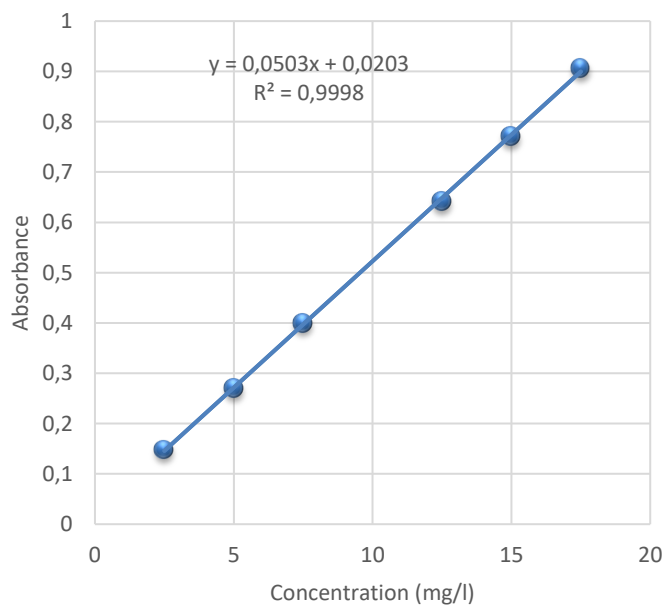


Figure 126: Courbe d'étalonnage du 5-FU dans le tampon PBS à pH=7,4.

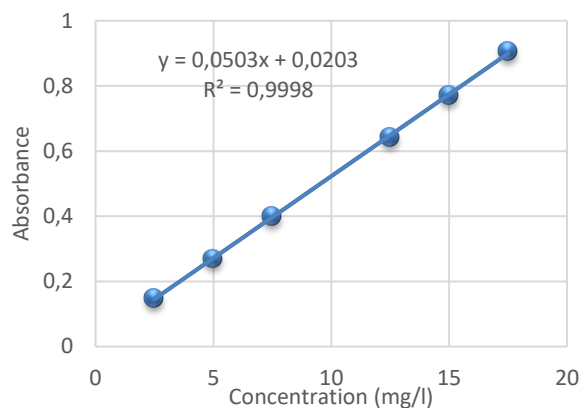


Figure 127: Courbe d'étalonnage du 5-FU ($y = 0,050x + 0,020$; $R^2 = 0,999$).

Ces résultats valident l'utilisation de la méthode UV-Vis comme outil robuste et reproductible pour le suivi cinétique de la libération du 5-FU à partir des nanocomposites HAp/Fe₃O₄.

2.4.3.2 Profils de dissolution

La libération du 5-FU à partir des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ optimaux a été étudiée en milieu physiologique simulé (PBS, pH 7,4, 37 °C) et comparée à celle du 5-FU libre.

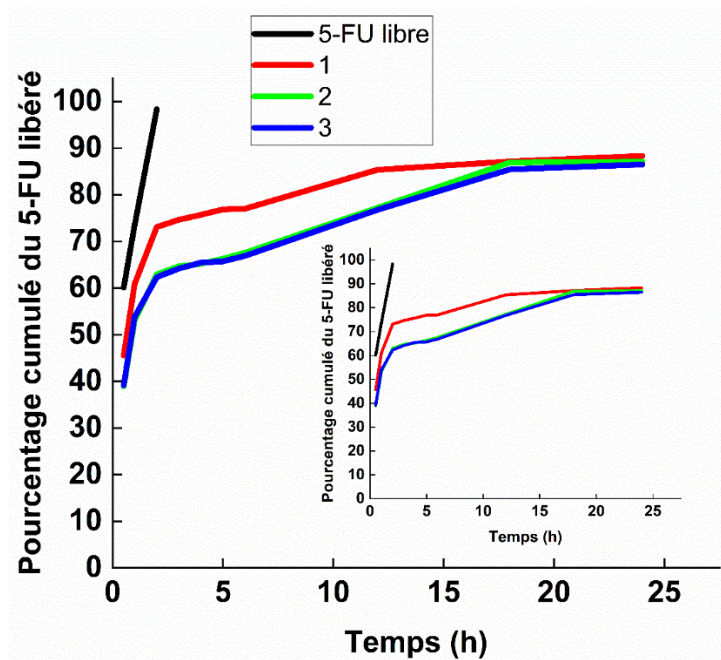


Figure 128: Profils de libération du 5-FU libre et encapsulé dans les nanocomposites HAp/Fe₃O₄ (Ncp optimal 1, Ncp optimal 2, Ncp optimal 3).

- **5-FU libre** : La dissolution est quasi complète en 120 minutes ($\approx 98,3\%$), traduisant une solubilité intrinsèque élevée et une absence de barrière de diffusion. Cette cinétique rapide limite cependant son intérêt thérapeutique, en induisant une biodisponibilité brutale et un risque d'effets secondaires systémiques (216).
- **5-FU encapsulé** : Les nanocomposites présentent des profils de libération différés, avec une première phase de désorption rapide (libération de 62–73 % en 2 heures), suivie d'une libération prolongée atteignant 85–88 % en 24 heures. Ce profil biphasique est caractéristique des systèmes matriciels : une fraction superficielle du médicament est rapidement relarguée, tandis qu'une autre est piégée plus profondément dans les pores et se libère par diffusion progressive.

L'intégration de la phase magnétique (Fe_3O_4) contribue à ralentir la libération par rapport à l'HAp seule, en raison des interactions électrostatiques et métal–ligand entre le 5-FU et les ions $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. Cette observation est en accord avec les travaux de Wan et al. (2017), qui rapportent une modulation significative de la cinétique de libération par l'incorporation de phases magnétiques dans des matrices minérales (259).

L'analyse comparative révèle donc que le nanocomposite HAp/ Fe_3O_4 permet de transformer la libération rapide et non contrôlée du 5-FU libre en une libération prolongée et régulée, adaptée aux objectifs de vectorisation thérapeutique.

Du point de vue pharmacologique, ce profil est particulièrement intéressant, car il assure :

- une réduction du pic plasmatique initial associé à la toxicité,
- une maintien d'une concentration active prolongée dans le temps,
- une meilleure stabilité dans un environnement physiologique neutre (pH 7,4), contrairement à l'HAp seule qui montre une libération accélérée en milieu acide (314).

En résumé, la modulation apportée par la matrice HAp/ Fe_3O_4 illustre un compromis optimal entre efficacité thérapeutique et tolérance, faisant de ce système un candidat prometteur pour la délivrance contrôlée du 5-FU dans un contexte de thérapie anticancéreuse.

➤ **Comparaison avec d'autres systèmes de vectorisation**

1. **Polymères biodégradables (PLGA, chitosane, alginate)** : De nombreux travaux rapportent une libération biphasique du 5-FU à partir de matrices PLGA/CS : un burst initial (liant le médicament adsorbé/superficiel) suivi d'une phase prolongée gouvernée par la diffusion et, pour les polymères biodégradables, par l'érosion/hydrolyse du réseau. Par ex., des nanoparticules PLGA ou chitosane chargées en 5-FU montrent un relargage soutenu sur plusieurs dizaines d'heures, sensible à la composition du polymère, à la porosité et au pH du milieu (331).
2. **Systèmes lipidiques (liposomes, NLC)** : Les systèmes lipidiques encapsulant le 5-FU affichent souvent une libération rapide initiale (quelques heures), parfois >50 % en moins d'une heure pour des liposomes neutres, ou ≈ 90 % en 3 h selon la composition (cholestérol, charge, polymères associés). Les SLN/NLC montrent, eux, un burst de 40–45 % dans les 2–3 h, suivi d'une libération soutenue jusqu'à 48 h (1).
3. **Nanoparticules inorganiques (silice mésoporeuse, ZnO, HAp seule)** : libération prolongée mais souvent sensible au pH. L'HAp pure relargue rapidement en milieu acide, alors que HAp/Fe₃O₄ maintient une libération régulée même à pH 7,4 (314,324).
4. **Nanocomposites multifonctionnels** : l'intégration de Fe₃O₄ ralentit la libération et ouvre des perspectives de vectorisation ciblée par hyperthermie magnétique (259).

La comparaison avec la littérature montre que le système HAp/Fe₃O₄ cumule plusieurs avantages :

- une libération biphasique contrôlée, similaire aux polymères mais plus stable en conditions physiologiques ;
- une libération prolongée > 24 h, supérieure à celle des systèmes lipidiques ;
- une stabilité structurale de la matrice, à la différence des polymères sensibles à l'hydrolyse ;
- une fonctionnalité magnétique intégrée, permettant une double application (libération contrôlée + hyperthermie).

Ainsi, le nanocomposite développé associe les atouts des supports organiques (biocompatibilité, porosité) et inorganiques (stabilité, interactions spécifiques), tout en ajoutant une dimension thérapeutique innovante grâce à la phase magnétique.

2.4.3.3 La modélisation mathématique des cinétiques de libération

L'analyse des profils cinétiques de libération du 5-FU encapsulé dans les nanocomposites HAp/Fe₃O₄ a été réalisée à l'aide de plusieurs modèles mathématiques afin d'identifier le mécanisme prédominant. Les modèles appliqués incluent l'ordre 0, l'ordre 1, le modèle de Higuchi, le modèle de Hixson-Crowell et celui de Korsmeyer-Peppas. Les paramètres de régression et de vitesse (K) obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 58: Paramètres de modélisation cinétique de la libération du 5-FU.

Ncp	Korsmeyer-Peppas (R ² , K, n)	Ordre 0 (R ² , K)	Ordre 1 (R ² , K)	Higuchi (R ² , K)	Hixson-Crowell (R ² , K)
1	1 ; 1,784 ; 0,112	0,742 ; 1,195	0,618 ; 0,080	0,628 ; 16,61	0,508 ; 0,082
2	1 ; 1,798 ; 0,151	0,933 ; 1,686	0,790 ; 0,082	0,742 ; 16,71	0,684 ; 0,087
3	1 ; 1,731 ; 0,144	0,942 ; 1,606	0,766 ; 0,075	0,730 ; 16,36	0,660 ; 0,083

2.4.3.3.a Modèle de Korsmeyer-Peppas

Le modèle de Korsmeyer-Peppas est particulièrement adapté aux systèmes matriciels pour décrire les mécanismes de libération contrôlée (257). Dans notre étude, les coefficients de corrélation atteignent R² = 1, indiquant un ajustement parfait aux données expérimentales. Les valeurs de l'exposant de diffusion n < 0,45 confirment un mécanisme de diffusion Fickienne pure, où la libération est gouvernée par la diffusion du 5-FU à travers la matrice poreuse du nanocomposite. Ce résultat est en accord avec les travaux de Moshera Samy et Anirudhan (2020), qui ont également montré une libération dominée par la diffusion Fickienne pour des systèmes hybrides organiques-inorganiques (332,333).

2.4.3.3.b Modèles d'ordre 0 et d'ordre 1

Le modèle d'ordre 0 suppose une libération indépendante de la concentration du médicament, conduisant à une cinétique linéaire au cours du temps. Dans notre cas, l'ajustement est correct pour les échantillons 2 et 3 (R² ≈ 0,93–0,94), mais reste moins pertinent pour l'échantillon 1 (R² ≈ 0,74). Cela suggère qu'une partie du processus peut être assimilée à une libération indépendante de la concentration, notamment dans les phases initiales.

Le modèle d'ordre 1, en revanche, implique une dépendance directe à la concentration résiduelle. Les valeurs obtenues ($R^2 \approx 0,62-0,79$) indiquent un ajustement modéré, traduisant que la cinétique de libération ne peut être expliquée uniquement par ce modèle.

Ces résultats confirment que la libération du 5-FU ne suit pas une cinétique simple, mais repose sur un mécanisme combiné, où la diffusion reste prépondérante.

2.4.3.3.c Modèle de Higuchi

Le modèle de Higuchi décrit la libération d'un principe actif par diffusion à travers une matrice poreuse homogène (255). Dans notre étude, l'ajustement reste limité ($R^2 \approx 0,63-0,74$), traduisant que la structure du nanocomposite n'est pas parfaitement assimilable à une matrice plane et homogène. Néanmoins, la pertinence relative de ce modèle indique que la diffusion à travers les pores contribue partiellement au mécanisme global, ce qui corrobore les résultats du modèle de Korsmeyer-Peppas.

2.4.3.3.d Modèle de Hixson-Crowell

Le modèle de Hixson-Crowell considère l'érosion ou la désagrégation progressive de la matrice (256). Dans notre cas, les faibles coefficients de corrélation ($R^2 \approx 0,50-0,68$) suggèrent que ce mécanisme est peu impliqué dans la libération du 5-FU. Ce résultat confirme la stabilité structurale du nanocomposite HAp/Fe₃O₄, qui conserve son intégrité au cours du processus de libération.

La confrontation de ces modèles montre que :

- le mécanisme de diffusion Fickienne est dominant (Korsmeyer-Peppas, $R^2 = 1$, $n < 0,45$),
- la libération présente une composante partiellement indépendante de la concentration (ordre 0, $R^2 \approx 0,94$ pour les échantillons optimaux),
- l'érosion ou la désagrégation de la matrice est négligeable (faible ajustement Hixson-Crowell), confirmant la stabilité structurale du système.

Ces résultats placent le nanocomposite HAp/Fe₃O₄ dans la catégorie des vecteurs de libération prolongée stables, où la diffusion contrôlée constitue le mécanisme central. Ce comportement

est particulièrement intéressant en contexte thérapeutique, car il permet de maintenir une concentration prolongée du 5-FU tout en minimisant les risques liés à une libération rapide et incontrôlée, comme observé avec la molécule libre.

De plus, en comparaison avec les systèmes polymériques (PLGA, chitosane) où la libération dépend largement de l'érosion et de l'hydrolyse (331), le nanocomposite HAp/ Fe₃O₄ offre une cinétique plus stable et prévisible, adaptée aux conditions physiologiques.

L'étude de modélisation cinétique confirme que la libération du 5-FU à partir des nanocomposites HAp/ Fe₃O₄ suit principalement un mécanisme de diffusion Fickienne contrôlée, avec une contribution secondaire de la diffusion matricielle. La stabilité structurale de la matrice, couplée à sa capacité d'encapsulation élevée, positionne ce nanocomposite comme un vecteur prometteur pour une délivrance contrôlée et prolongée de médicaments anticancéreux.

3 Conclusion

Le Chapitre II a été consacré à l'optimisation, la validation et l'évaluation des performances du nanocomposite HAp/Fe₃O₄ en tant que vecteur de principes actifs, en s'appuyant sur une approche intégrée combinant analyses expérimentales, chimométrie et modélisation cinétique.

Dans un premier temps, l'optimisation des conditions de synthèse a été réalisée à l'aide d'une approche factorielle et validée par une analyse statistique rigoureuse. Les paramètres structuraux et fonctionnels obtenus ont confirmé la pertinence des conditions retenues, en assurant la reproductibilité et la robustesse du modèle expérimental.

L'étude de l'encapsulation de l'acide barbiturique a mis en évidence l'influence déterminante de la taille cristalline de la magnétite sur la capacité d'adsorption. Les essais comparant les modes de refroidissement ont montré que la réduction de la taille des cristallites favorise significativement le taux de chargement, en lien direct avec l'augmentation de la surface spécifique et la densité des sites actifs. Les résultats FTIR ont confirmé l'efficacité de l'interaction entre l'acide barbiturique et la matrice, illustrant le rôle clé de la structuration cristalline dans l'optimisation de la fonctionnalité pharmaceutique du nanocomposite.

La validation statistique du modèle expérimental a démontré une concordance satisfaisante entre valeurs expérimentales et prédites, avec des intervalles de confiance étroits. Cette étape a confirmé que les conditions optimales permettent de concilier efficacité d'encapsulation et stabilité magnétique, validant la robustesse du nanocomposite comme plateforme de vectorisation.

L'étude du 5-fluorouracile (5-FU) sur le nanocomposite optimal a renforcé ces conclusions. Les analyses spectroscopiques ont confirmé son incorporation, via des interactions électrostatiques, hydrogène et métal–ligand, et les taux d'encapsulation se sont révélés élevés (> 90 %). Les profils de libération ont montré une cinétique biphasique, avec une phase initiale rapide suivie d'une libération prolongée, atteignant près de 88 % en 24 h. La modélisation mathématique a mis en évidence un mécanisme de diffusion Fickienne dominante, confirmant la stabilité structurale du système et sa capacité à réguler la délivrance du principe actif.

Enfin, la comparaison avec d'autres systèmes de vectorisation (polymériques, lipidiques et inorganiques) a souligné les avantages cumulatifs du nanocomposite HAp/Fe₃O₄ : biocompatibilité, stabilité, efficacité d'encapsulation élevée, libération prolongée et possibilité de fonctionnalisation magnétique, ouvrant la voie à des applications combinées (libération contrôlée, ciblage magnétique, hyperthermie).

Ainsi, le Chapitre III a permis de démontrer le potentiel du nanocomposite HAp/ Fe₃O₄ comme vecteur multifonctionnel pour la délivrance contrôlée de principes actifs modèles tels que l'acide barbiturique et le 5-FU. Les résultats obtenus constituent une base solide pour la poursuite des investigations. Le Chapitre III sera consacré à l'étude des propriétés biologiques et pharmacologiques de ce système, à travers l'évaluation de son activité antimicrobienne et une analyse par Docking moléculaire, afin de mieux comprendre les mécanismes d'interaction aux échelles cellulaires et moléculaires et d'en confirmer la pertinence en contexte thérapeutique.

CHAPITRE III

Évaluation in vitro et in silico du nanocomposite HAp/Fe₃O₄ et de son interaction avec le 5-FU

Le développement de nanomatériaux multifonctionnels constitue aujourd'hui un axe prioritaire en pharmacutique et biomédecine, en raison de leur capacité à combiner des propriétés structurales, physicochimiques et biologiques au sein d'un seul support. Parmi eux, les nanocomposites à base d'hydroxyapatite (HAp) et de magnétite (Fe_3O_4) suscitent un intérêt croissant. L'HAp, principal constituant minéral de l'os, est reconnue pour sa biocompatibilité, son ostéoconductivité et sa capacité à fixer des molécules thérapeutiques par adsorption ou interaction électrostatique (324). La magnétite, quant à elle, confère des propriétés magnétiques exploitables en imagerie, en hyperthermie et en vectorisation ciblée (326). L'association de ces deux phases dans un nanocomposite hybride ouvre ainsi la voie à des applications innovantes, notamment dans le domaine de la lutte contre les infections et du traitement des cancers.

L'émergence de résistances antimicrobiennes et la toxicité systémique des agents anticancéreux tels que le 5-fluorouracile (5-FU) imposent la recherche de systèmes de délivrance capables d'améliorer l'efficacité thérapeutique tout en réduisant les effets secondaires. Dans ce contexte, l'exploration de nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 comme vecteurs de principes actifs se révèle particulièrement prometteuse.

L'intérêt scientifique de ce travail repose sur une double approche intégrée :

Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne : les nanocomposites HAp/ Fe_3O_4 sont testés contre différentes souches bactériennes, afin d'explorer leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens directs ou comme supports renforçant l'efficacité d'antibiotiques. Cette dimension est cruciale face à la problématique mondiale de l'antibiorésistance, où de nouveaux matériaux capables d'agir par perturbation membranaire, relargage ionique ou effet de surface peuvent constituer des alternatives innovantes (178).

Évaluation in silico de l'activité anticancéreuse : une étude de Docking moléculaire a été réalisée pour analyser l'interaction du 5-FU, libre ou vectorisé par le nanocomposite, avec la thymidylate synthase (TS), enzyme clé de la synthèse des bases pyrimidiques et cible thérapeutique du 5-FU. L'intégration des phases HAp et Fe_3O_4 pourrait moduler l'affinité de la molécule vis-à-vis de la TS et améliorer son efficacité pharmacologique. Cette approche numérique permet de mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents et de prédire la performance du système proposé dans un contexte thérapeutique anticancéreux (216).

Cette étude vise à :

1. Évaluer in vitro l'activité antimicrobienne des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ sur différentes souches bactériennes cliniquement pertinentes, en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI).
2. Explorer in silico l'activité anticancéreuse potentielle, par modélisation moléculaire des interactions du 5-FU seul et vectorisé avec la thymidylate synthase.
3. Comparer et intégrer les résultats obtenus afin d'identifier les atouts du nanocomposite HAp/Fe₃O₄ comme support multifonctionnel, combinant activité antimicrobienne et vectorisation ciblée d'un agent anticancéreux.

Ainsi, ce travail ambitionne de démontrer la pertinence de ces nanocomposites comme plateformes thérapeutiques innovantes, capables de répondre à deux défis majeurs actuels : la résistance bactérienne et l'amélioration de la prise en charge des cancers.

1 Matériels et méthodes

1.1 Évaluation de l'activité antimicrobienne

1.1.1 Matériels

L'évaluation de l'activité antimicrobienne du nanocomposite magnétique a été réalisée en utilisant plusieurs souches de référence, incluant des bactéries à Gram positif, des bactéries à Gram négatif ainsi qu'une souce fongique. Le tableau 59 récapitule les micro-organismes testés.

Tableau 59: Souches microbiennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique.

Type de micro-organisme	Souches bactériennes	Référence ATCC
Bactéries à Gram positif	Staphylococcus aureus	ATCC 6538, ATCC 29213
	Bacillus subtilis	ATCC 6633
Bactéries à Gram négatif	Escherichia coli	ATCC 8739
	Salmonella typhimurium	ATCC 14028
	Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853
Champignon	Candida albicans	ATCC 10231

1.1.2 Méthode

1.1.2.1 Préparation des suspensions bactériennes et des solutions de test

1.1.2.1.a Réactivation des souches

Les souches bactériennes testées ont été préalablement conservées dans des milieux de conservation spécifiques (gélose faiblement enrichie) et référencées au sein du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Médecine d'Annaba. Avant l'expérimentation, une réactivation a été réalisée en ensemencement sur gélose inclinée dans des tubes stériles. L'inoculation a été effectuée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, en respectant strictement les conditions d'asepsie et les bonnes pratiques de laboratoire (travail sous flux stérile, à proximité d'un bec Bunsen et utilisation de matériel préalablement stérilisé). Afin d'obtenir une culture pure avec une charge bactérienne suffisante, les cultures ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Cette étape a permis d'obtenir des cellules bactériennes en phase de croissance exponentielle, garantissant une reproductibilité optimale des tests microbiologiques.

1.1.2.1.b Préparation des suspensions bactériennes

Des suspensions bactériennes ont été préparées dans une série de sept tubes contenant chacun 3 mL d'eau distillée stérile. Pour chaque souche bactérienne, une quantité appropriée de colonies (trois à cinq) a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et homogénéisée dans l'un des tubes de dilution. L'ajustement de la densité cellulaire a été réalisé en utilisant l'échelle de McFarland, une référence standard en microbiologie permettant d'obtenir une turbidité équivalente à une concentration bactérienne définie. La suspension a été ajustée à 0,5 McFarland, correspondant à environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, assurant ainsi une standardisation rigoureuse des essais microbiologiques.

1.1.2.1.c Préparation des dilutions

Une série de dilutions séquentielles par un facteur de dilution de 1/2 du nanocomposite magnétique optimal, constitué de magnétite et d'hydroxyapatite, a été réalisée, avec des concentrations s'échelonnant de 2048 µg/L à 4 µg/L. Un tube témoin exempt de nanocomposite a été inclus afin de servir de contrôle.

La solution mère a été préparée en dispersant le nanocomposite sous forme de suspension dans une solution de carboxyméthylcellulose (CMC) à 1 %, servant d'agent stabilisant pour assurer une dispersion homogène des particules dans le milieu liquide. Pour ce faire, une masse précisément pesée de 102,4 mg de nanocomposite a été ajoutée dans un premier tube contenant 50 mL de CMC à 1 %. L'ensemble a été soumis à une agitation rigoureuse afin d'obtenir une suspension homogène, qui constitue la suspension mère (figure 129).



Figure 129: La suspension mère de nanocomposite magnétique préparé dans une solution de CMC.

Les dilutions successives ont été effectuées selon le principe des dilutions en série. Un volume de 2 mL de la suspension mère a été transféré dans un deuxième tube contenant 2 mL de CMC à 1 %, suivi d'une agitation vigoureuse à l'aide d'un agitateur mécanique afin d'assurer une homogénéisation optimale. Ce processus a été répété successivement pour un total de 10 tubes, en transférant systématiquement 2 mL de la suspension précédente dans le tube suivant. Les 2 derniers millilitres du dernier tube ont été éliminés afin de maintenir un volume constant dans chaque dilution.

1.1.2.2 Protocole de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide

L'activité antimicrobienne du nanocomposite magnétique optimal a été évaluée par la méthode de microdilution en milieu liquide, reconnue comme la technique de référence pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), conformément aux protocoles standardisés (334–336). Cette méthode repose sur l'exposition de souches microbiennes de

référence à une série de concentrations décroissantes du nanocomposite, afin d'identifier la concentration la plus faible inhibant visiblement toute croissance microbienne.

Les essais ont été réalisés dans des plaques de microdilution stériles à 96 puits (figure 131). Chaque puits a d'abord reçu 100 μL de bouillon Mueller-Hinton (MH) en tant que milieu de culture. Une distribution verticale a ensuite permis l'ajout de 50 μL de la suspension du nanocomposite à dix concentrations successives, préparées par dilution en série. Simultanément, chaque ligne de la plaque a été ensemencée horizontalement avec 50 μL d'une suspension bactérienne standardisée à 5×10^5 UFC/mL, permettant ainsi l'évaluation parallèle de sept souches bactériennes (Tableau 59).

Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. L'évaluation de la croissance bactérienne a été réalisée par observation visuelle de la turbidité des puits. Pour confirmer l'inhibition bactérienne, un indicateur métabolique, le chlorure de 2,3,5-triphenyltétrazolium (TTC), a été utilisé : en présence d'une activité métabolique, le TTC est réduit en formazan rose, tandis qu'une absence de coloration traduit une inhibition complète de la croissance bactérienne.

Tout le matériel microbiologique utilisé a été stérilisé préalablement à 120 °C pendant deux heures, garantissant des conditions expérimentales strictement aseptiques.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A 100 µl MH 2048 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 1024 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 512 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 256 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 128 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 64 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 32 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 16 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 8 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH 4 µg/L E.C 50 µL	100 µl MH	100 µl MH
B 100 µl MH 2048 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 1024 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 512 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 256 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 128 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 64 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 32 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 16 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 8 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH 4 µg/L S.A 13 50 µl	100 µl MH	100 µl MH
C 100 µl MH 2048 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 1024 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 512 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 256 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 128 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 64 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 32 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 16 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 8 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH 4 µg/L P.A 50 µL	100 µl MH	100 µl MH
D 100 µl MH 2048 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 1024 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 512 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 256 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 128 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 64 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 32 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 16 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 8 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH 4 µg/L S.T 50 µL	100 µl MH	100 µl MH
E 100 µl MH 2048 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 1024 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 512 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 256 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 128 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 64 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 32 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 16 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 8 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH 4 µg/L C.A 50 µL	100 µl MH	100 µl MH
F 100 µl MH 2048 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 1024 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 512 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 256 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 128 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 64 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 32 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 16 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 8 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH 4 µg/L S.A 50 µl	100 µl MH	100 µl MH
G 100 µl MH 2048 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 1024 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 512 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 256 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 128 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 64 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 32 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 16 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 8 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH 4 µg/L B.S 50 µL	100 µl MH	100 µl MH
H 100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH CMC	100 µl MH	100 µl MH

Figure 130: Schéma de la plaque de microdilution utilisée pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) du nanocomposite magnétique sur différentes souches bactériennes.

Légende :

- E.C = *Escherichia coli*
- S.A = *Staphylococcus aureus*
- P.A = *Pseudomonas aeruginosa*
- S.T = *Salmonella typhimurium*
- C.A = *Candida albicans*
- B.S = *Bacillus subtilis*
- CMC = *carboxymethylcellulose*



Figure 131: Microplaque de détermination de la CMI et agitation pour homogénéisation des échantillons.

1.2 Étude *in silico* des interactions moléculaires entre le 5-FU, le nanocomposite et la thymidylate synthase

1.2.1 Préparation des ligands

1.2.1.1 Sélection des structures cristallographiques

Les structures cristallographiques des ligands étudiés ont été récupérées à partir de bases de données de référence afin d'assurer une modélisation moléculaire fiable et précise :

- 5-Fluorouracile (5-FU) : extrait de la Protein Data Bank (PDB), base de données spécialisée dans les structures macromoléculaires (337).
- Magnétite (Fe_3O_4) : récupérée à partir de la Crystallography Open Database (COD), carte 9006189 (338).
- Hydroxyapatite (HAp, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) : extraite de la Crystallography Open Database (COD), carte 2300273 (339).

Ces structures ont ensuite été traitées et préparées en vue des études de Docking moléculaire afin d'optimiser leur conformation et garantir des interactions pertinentes avec la cible enzymatique.

1.2.1.2 Construction et optimisation des structures moléculaires

Les diagrammes 2D des ligands ont été générés à l'aide d'un logiciel de modélisation moléculaire, permettant d'obtenir une représentation claire des interactions chimiques et des groupements fonctionnels présents dans chaque molécule. Parmi les logiciels les plus couramment utilisés pour cette tâche, ChemDraw est l'un des plus fiables et répandus dans la communauté scientifique.

Les structures obtenues ont ensuite été converties en modèles tridimensionnels (3D) et optimisées par des algorithmes de minimisation d'énergie, garantissant une conformation stable avant l'étape de Docking moléculaire.

1.2.2 Sélection et préparation de la cible protéique

1.2.2.1 Structure cristallographique de la thymidylate synthase

La thymidylate synthase (TS) est une enzyme essentielle impliquée dans la biosynthèse de la thymidine monophosphate (dTMP), un précurseur fondamental de l'ADN. Dans cette étude, la structure cristallographique de la TS humaine a été sélectionnée à partir de la Protein Data Bank (PDB : 1HVY). Ce complexe correspond à une conformation fermée de l'enzyme, stabilisée par la présence du dUMP (2'-désoxyuridine monophosphate) et du Raltitrexed, un antifolate connu pour son rôle inhibiteur de la TS. La résolution de cette structure est de 1.90 Å, garantissant une précision suffisante pour l'étude des interactions moléculaires (340).

1.2.2.2 Identification du site actif et des résidus clés

Le site actif de la thymidylate synthase humaine (1HVY) est localisé aux interfaces des chaînes A et B, où se déroulent les principales interactions avec les substrats et inhibiteurs. Les résidus clés impliqués dans la liaison du ligand au sein du site actif sont :

- Chaîne A : PHE80, ARG175, ARG176, ILE177.
- Chaîne B : ARG50, THR51, PHE80, GLU87, TRP109, ASN112, TYR135, ARG163, ARG167, ARG176, LEU192, PRO193, CYS195, HIS196, GLN214, GLY217, LEU221, GLY222, VAL223, PHE225, HIS256, TYR258, LYS308, ILE307, MET309, MET311, ALA312.

L'identification précise de ces résidus est essentielle pour comprendre les interactions moléculaires entre la thymidylate synthase, le 5-FU et les nanocomposites étudiés (magnétite et hydroxyapatite).

1.2.3 Définition du site de Docking et paramétrage de la boîte de grille

Le site actif de la thymidylate synthase a été défini en fonction des résidus clés impliqués dans la liaison avec le substrat naturel et les inhibiteurs connus. Une boîte de grille a été positionnée de manière à couvrir l'ensemble du site actif, garantissant une exploration exhaustive de la région d'interaction potentielle.

1.2.4 Exécution du Docking et analyse des conformations optimales

AutoDock Vina a été utilisé pour effectuer le Docking moléculaire en maintenant la protéine rigide tandis que les ligands conservaient une flexibilité torsionnelle. Un nombre de neuf poses de Docking a été généré pour chaque ligand, et l'optimisation des conformations a été réalisée sur la base de l'énergie de liaison (ΔG , en kcal/mol).

Les complexes obtenus ont ensuite été analysés à l'aide des logiciels PyMOL et Discovery Studio, afin d'examiner la pertinence des interactions moléculaires et de confirmer l'ancrage des ligands dans le site actif. Les paramètres suivants ont été pris en compte :

- Interactions hydrogène et électrostatiques
- Distances intermoléculaires des liaisons formées
- Énergies de liaison et stabilité thermodynamique des complexes

1.2.5 Comparaison des complexes et analyse des résultats

Trois configurations de Docking ont été étudiées pour évaluer la stabilité thermodynamique et l'affinité de chaque complexe :

- 1/Docking du 5-FU seul avec la thymidylate synthase.
- 2/Docking du complexe 5-FU- Fe_3O_4 avec la thymidylate synthase.
- 3/Docking du complexe 5-FU- Fe_3O_4 -HAp avec la thymidylate synthase.

2 Résultats

2.1 Résultats de l'étude in vitro

L'image ci-dessous représente la plaque de microdilution utilisée pour déterminer la CMI de notre nanocomposite contre différentes souches bactériennes et fongique

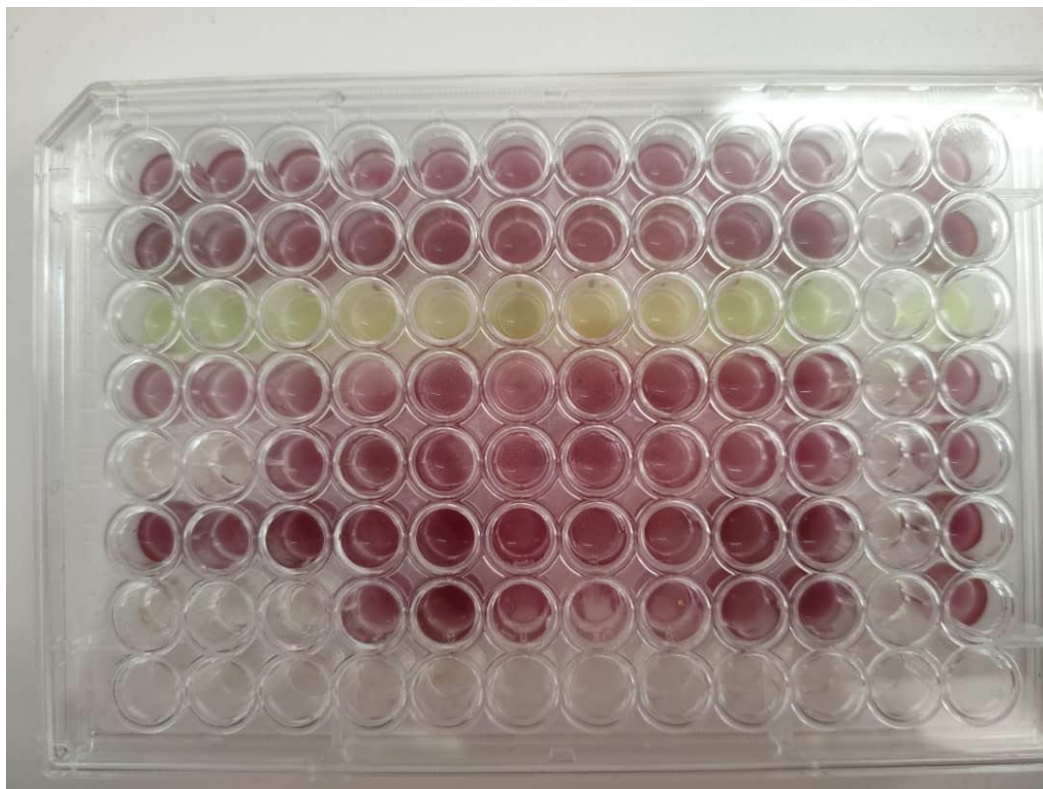


Figure 132 : Plaque de microdilution pour la détermination de la CMI après incubation.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus en termes de CMI (ug/mL) pour chaque souche testée.

Tableau 60: Résultats de la CMI.

Souche bactérienne/ fongique	2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	T-	T+
<i>E coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S aureus 13</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S typhi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>C albicans</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S aureus 8729</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>B subtilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Les résultats, résumés dans le Tableau 60, montrent une inhibition de la croissance pour certaines souches testées. Plus précisément, une activité inhibitrice a été observée contre *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*, avec des CMI respectives de 1024 $\mu\text{g/mL}$ et 512 $\mu\text{g/mL}$. En revanche, aucune inhibition n'a été observée pour les autres souches bactériennes testées (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus*) jusqu'à la concentration maximale testée.

L'aspect visuel de la microplaque après 24 heures d'incubation est présenté sur la Figure 132 illustrant clairement les puits témoins positifs (croissance) et les puits inhibés.

2.2 Résultats de l'étude in silico

2.2.1 Docking moléculaire de 5-Fluorouracile avec la thymidylate synthase

2.2.1.1 Paramètres de simulation et configuration de la grille

La simulation de Docking moléculaire a été réalisée en utilisant AutoDock Vina avec la configuration suivante.

Tableau 61: Paramètres du Docking Moléculaire du 5-Fluorouracile avec la Thymidylate Synthase.

Paramètre	Valeur
Récepteur	Thymidylate Synthase (TS.pdbqt)
Ligand	5-Fluorouracile (5FU.pdbqt)
Centre de la grille (x, y, z)	(0,273, -9,033, -13,126)
Dimensions de la boîte (x, y, z)	(80, 78, 70)
Énergie range	4
Exhaustivité	8

La grille d'exploration a été définie dans le tableau 61 de manière à couvrir intégralement le site actif de la thymidylate synthase, assurant ainsi une évaluation exhaustive des différentes conformations adoptées par le ligand. Son centre est fixé aux coordonnées (0,273, -9,033, -13,126), tandis que ses dimensions de $80 \times 78 \times 70$ Å permettent d'examiner une vaste région autour du site actif. La plage d'exploration des énergies de liaison, définie à 4, favorise l'identification des conformations les plus stables du ligand. Enfin, un niveau d'exhaustivité de 8 a été choisi afin d'optimiser la précision du Docking, impliquant un échantillonnage plus approfondi.

2.2.1.2 Docking moléculaire et affinité de liaison

Les résultats du Docking indiquent que le 5-FU présente une énergie de liaison minimale de -5,5 kcal/mol, correspondant à la conformation la plus stable. Les différentes conformations obtenues sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 62: Résultats du Docking moléculaire du 5-FU avec la thymidylate synthase humaine (TS).

Mode	Affinité (kcal/mol)	RMSD l.b. (Å)	RMSD u.b. (Å)
1	-5,5	0,000	0,000
2	-5,4	18,218	18,822
3	-5,3	26,379	27,507
4	-5,1	19,688	20,750
5	-5,1	31,829	32,378
6	-5,0	1,906	2,097
7	-5,0	19,912	21,077
8	-5,0	18,995	19,707
9	-5,0	27,431	28,543

Le tableau 62 présente les neuf modes de Docking obtenus pour l'interaction entre le 5 Fluorouracile et la thymidylate synthase humaine (TS). Les paramètres clés sont :

- Affinity (kcal/mol) : Indique l'énergie de liaison pour chaque mode, plus elle est négative, plus l'interaction est stable.
- Distance RMSD (Root Mean Square Deviation) : Exprime la déviation par rapport à la meilleure conformation obtenue (mode 1), avec des valeurs inférieure (l.b.) et supérieure (u.b.).

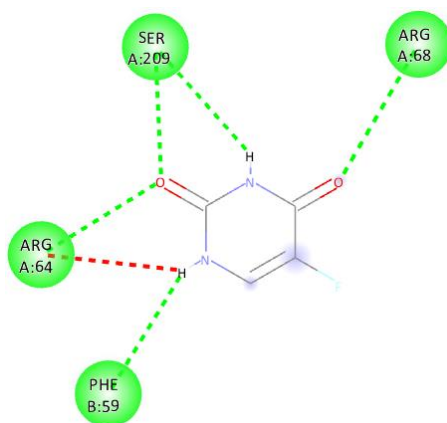
Le mode 1 présente l'affinité la plus basse (-5,5 kcal/mol), indiquant qu'il s'agit de la conformation la plus stable.

Les autres modes ont une énergie légèrement plus élevée (de -5,4 à -5,0 kcal/mol), suggérant d'autres conformations viables mais moins stables.

Le mode 1 est la référence (RMSD = 0,000). Les autres modes présentent des variations importantes (jusqu'à 32,378 Å pour le mode 5), indiquant des différences structurelles notables par rapport à la conformation optimale.

2.2.1.3 Interprétation du diagramme 2D des interactions

Le diagramme ci-dessous (figure 133) illustre les interactions du 5 Fluorouracile avec la thymidylate synthase humaine.



Indications

■ Liaison hydrogène conventionnelle ■ Interaction défavorable

Figure 133: Représentation 2D des interactions entre le 5-FU et la thymidylate synthase.

Le 5 Fluorouracile forme quatre liaisons hydrogène avec des résidus clés du site actif ARG A-64, ARG A-68, SER A-209, PHE B-59.

Ces interactions stabilisent la fixation du ligand dans le site actif et renforcent son affinité avec l'enzyme.

Une interaction défavorable donneur-donneur est observée avec ARG A-64, ce qui peut légèrement déstabiliser l'arrangement optimal du ligand dans le site actif.

Le 5-FU interagit efficacement avec la thymidylate synthase via plusieurs liaisons hydrogène, renforçant son affinité. L'énergie de liaison obtenue (-5,5 kcal/mol) indique une interaction stable, bien que certaines conformations alternatives existent avec une affinité légèrement inférieure.

2.2.2 Docking moléculaire du complexe 5-FU- magnétite avec la thymidylate synthase

2.2.2.1 Interactions entre 5-FU et magnétite

La complexation du 5-FU avec la magnétite repose sur les interactions entre les groupes fonctionnels du 5-FU et la surface hydroxylée de Fe_3O_4 . Plus précisément, les groupements carbonyle et amine du 5-FU sont susceptibles d'établir des liaisons hydrogène ainsi que des interactions électrostatiques avec les groupes hydroxyles (-OH) exposés à la surface de la magnétite. Ces interactions favorisent la stabilisation du complexe, améliorant ainsi potentiellement la biodisponibilité et le comportement pharmacocinétique du 5-FU.

La figure 134 représente la structure moléculaire du complexe 5-FU/ Fe_3O_4 . On y observe que le 5-FU est coordonné aux atomes de fer de la magnétite via des liaisons oxygène-fer, mettant en évidence des interactions de type électrostatiques et de coordination. La présence de groupes hydroxyles (-OH) sur la magnétite suggère également l'existence de liaisons hydrogène avec les fonctions carbonyle et amine du 5-FU. Cette complexation pourrait influencer la solubilité et la libération contrôlée du 5-FU, ce qui revêt un intérêt particulier dans le cadre d'une administration ciblée du médicament.

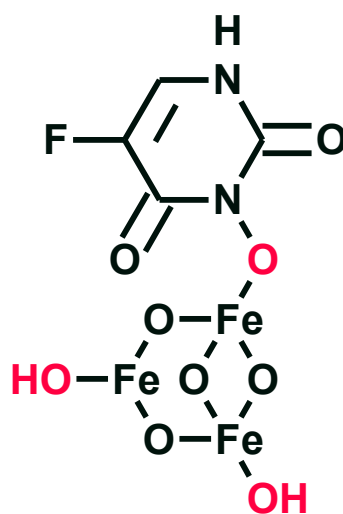


Figure 134: Complexe 5FU-Magnétite.

2.2.2.2 Docking du complexe 5FU-Magnétite avec la thymidylate synthase

2.2.2.2.a Energie de liaison

Les résultats du Docking moléculaire du complexe 5-FU- Fe₃O₄ avec la thymidylate synthase sont présentés dans le tableau 63, indiquant les différentes conformations obtenues, leurs énergies de liaison et les distances RMSD associées.

Tableau 63: Énergies de liaison et distances RMSD des différentes conformations issues du Docking du 5-FU avec Fe₃O₄.

Mode	Affinité (kcal/mol)	RMSD (l.b.)	RMSD (u.b.)
1	-7,6	0,000	0,000
2	-7,2	32,537	33,823
3	-6,9	32,992	34,518
4	-6,9	34,352	35,713
5	-6,8	34,110	35,694
6	-6,8	2,037	3,351
7	-6,8	23,889	24,845
8	-6,8	39,022	40,246
9	-6,7	33,554	35,578

L'affinité énergétique la plus stable obtenue est de -7.6 kcal/mol, correspondant à la conformation de référence (mode 1). Cette valeur indique une interaction thermodynamiquement favorable entre le 5-FU et la magnétite.

Les autres modes présentent des affinités légèrement moins négatives (entre -6,7 et -7,2 kcal/mol), ce qui suggère des conformations alternatives du complexe 5-FU/Fe₃O₄ présentant des interactions modérément favorables.

Les valeurs de Root Mean Square Deviation (RMSD) permettent d'évaluer à quel point les différentes conformations du complexe s'écartent du mode de référence. Une RMSD proche de 0 (mode 1) indique une structure optimale, tandis que des valeurs plus élevées (mode 8 avec RMSD ≈ 40 Å) traduisent des conformations éloignées de la référence et donc moins pertinentes biologiquement.

2.2.2.2.b Diagramme 2D

L'analyse des interactions entre le 5-FU, Fe_3O_4 et la thymidylate synthase révèle un réseau de 10 liaisons hydrogène conventionnelles, contribuant à la stabilité du complexe (figure 135).

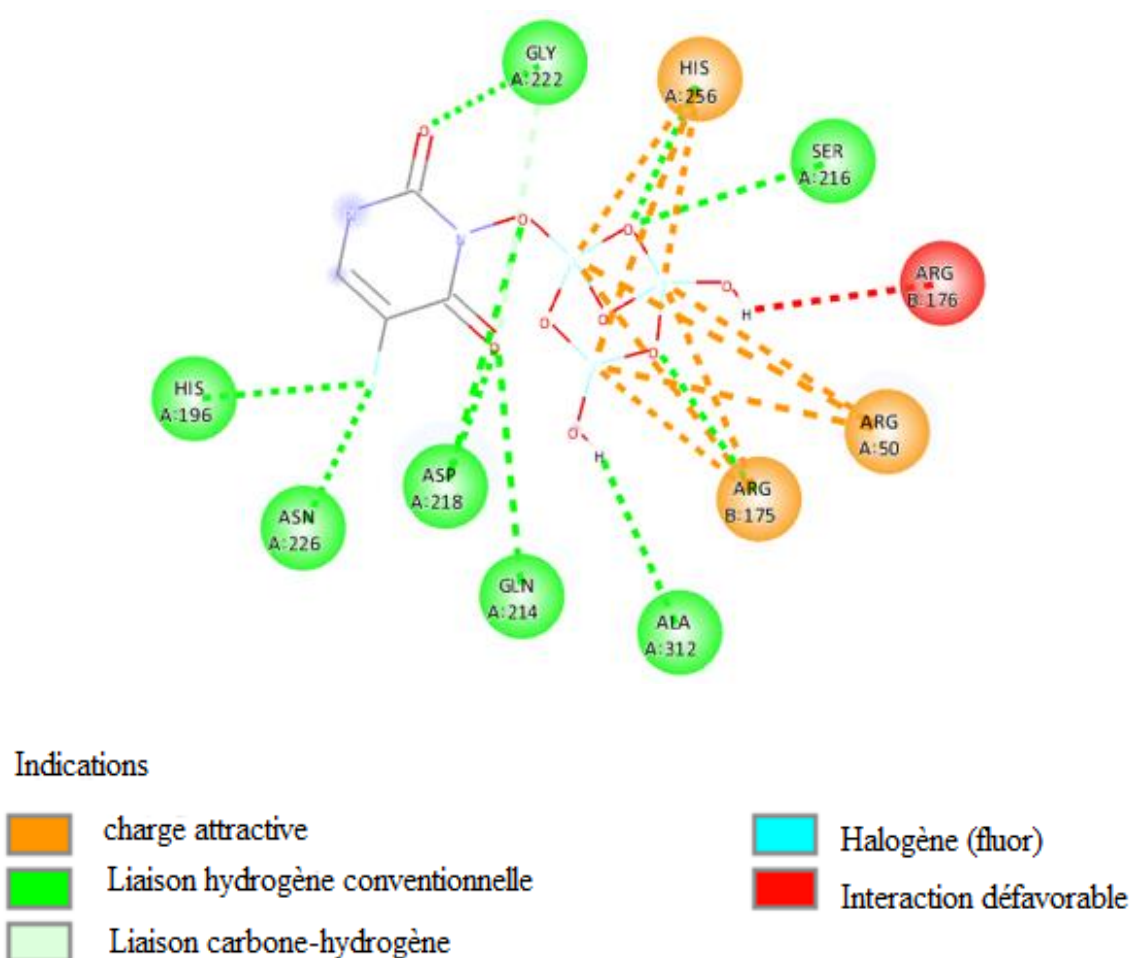


Figure 135: Représentation 2D des interactions entre le complexe 5-FU- Fe_3O_4 et la thymidylate synthase.

1- Interactions avec le 5-FU :

- Le groupe carbonyle du 5-FU forme une liaison hydrogène avec GLY A:222.
- Le fluor du 5-FU établit deux liaisons hydrogène avec HIS A:196 et ASN A:226.
- Le deuxième groupe carbonyle interagit avec ASP A:218 et GLN A:214

2- Interactions impliquant la magnétite:

- Un groupement hydroxyle (-OH) de la surface de la magnétite interagit avec ALA A:312.

- Un pont d'oxygène entre le 5-FU et Fe_3O_4 établit une liaison hydrogène avec ASP A:218.
- Un atome d'oxygène de la magnétite interagit avec SER A:216 et HIS A:256
- Un atome d'oxygène de la magnétite interagit avec ARG B:175

Ces interactions suggèrent une stabilisation importante du complexe, notamment via des liaisons hydrogène avec des résidus clés du site actif de la thymidylate synthase, ainsi que par des interactions spécifiques avec la surface de Fe_3O_4 .

L'analyse des interactions révèle 9 liaisons électrostatiques stabilisatrices entre la magnétite et des résidus clés de la thymidylate synthase :

- HIS A:256 forme trois interactions électrostatiques avec les trois atomes de fer de la magnétite.
- ARG A:50 établit également trois liaisons avec ces mêmes atomes de fer, renforçant la fixation du complexe.
- ARG B:175 suit le même schéma, avec trois interactions supplémentaires.

Les interactions électrostatiques jouent un rôle crucial dans le Docking moléculaire, car elles influencent l'affinité de liaison et la stabilité du complexe formé entre un ligand et sa cible biologique. La magnétite joue un rôle d'ancrage, influençant potentiellement la fixation du 5FU.

2.2.3 Docking moléculaire du complexe 5-FU-HAp avec la thymidylate synthase

2.2.3.1 Interaction entre 5-FU et HAp

La figure 136 met en évidence le rôle fondamental du pont phosphate dans l'interaction entre le 5-FU et HAp. Ce pont établit une liaison, potentiellement covalente ou ionique, entre le 5-FU et les groupements phosphates de l'HAp, favorisant ainsi une fixation stable du médicament sur la matrice minérale. Plus précisément, la structure illustre la formation d'une liaison directe entre l'azote du 5-FU et le phosphore de l'hydroxyapatite, résultant d'un processus de déshydratation.

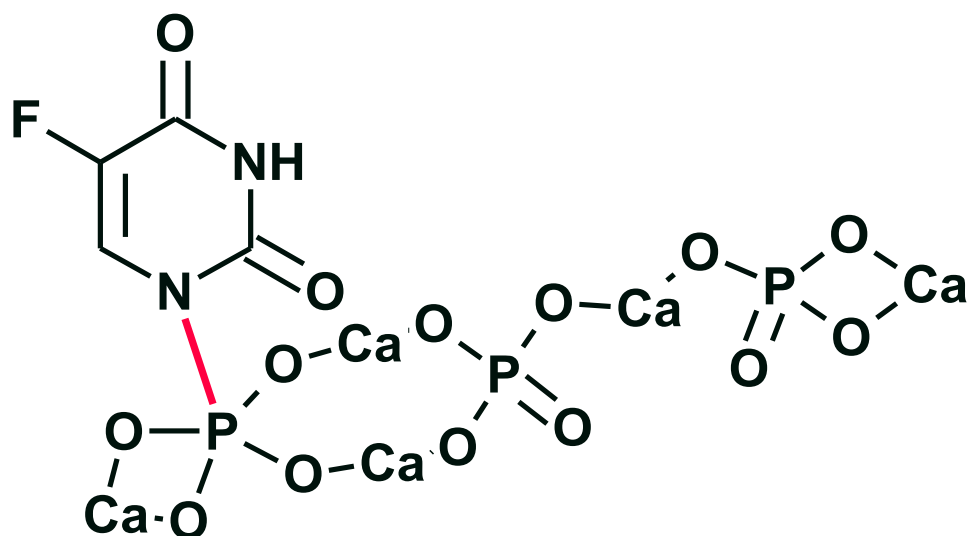


Figure 136: Structure de complexe 5FU-HAp.

2.2.3.2 Docking du complexe 5-FU-HAp avec la thymidylate synthase

2.2.3.2.a Energie de liaison

Le tableau 64 présente les énergies de liaison (exprimées en kcal/mol) entre le complexe 5FU-HAp et la thymidylate synthase pour différentes conformations (modes) obtenues par modélisation moléculaire.

Tableau 64 : Energie de liaison entre le complexe 5FU-HAp et la thymidylate synthase.

Mode	Affinité (kcal/mol)	RMSD l.b. (Å)	RMSD u.b. (Å)
1	-11,0	0,000	0,000
2	-10,2	33,294	34,878
3	-10,0	29,090	29,906
4	-9,7	33,700	35,020
5	-9,3	4,887	9,480
6	-9,1	34,620	35,822
7	-9,1	37,756	39,258
8	-9,0	29,753	30,674
9	-8,9	37,305	38,867

Le mode 1 correspond à la conformation la plus stable, avec une énergie de liaison de -11,0 kcal/mol, indiquant une forte affinité du complexe pour la thymidylate synthase. Les autres modes présentent des énergies légèrement moins favorables, mais restent dans un intervalle proche, suggérant des interactions relativement similaires.

Les valeurs de RMSD (Root Mean Square Deviation) indiquent les écarts structurels entre chaque mode et le mode de référence (mode 1). Une faible valeur de RMSD, comme celle observée pour le mode 5 (4,887 Å en l.b.), suggère une conformation proche du mode le plus stable, tandis que des valeurs élevées, comme pour les modes 2, 4, 6, 7, 8 et 9, révèlent des déviations structurelles importantes.

L'affinité accrue du complexe 5FU-HAp pour la thymidylate synthase, par rapport au 5FU seul, pourrait se traduire par une inhibition plus efficace de l'enzyme, influençant ainsi l'activité anticancéreuse du 5FU et potentiellement modifiant son profil pharmacocinétique et ses effets secondaires.

2.2.3.2.b Diagramme 2D

L'étude du Docking a révélé 8 liaisons hydrogène conventionnelles comme présenté dans la figure 137 et une énergie de liaison de -11 kcal/mol, indiquant une interaction stable entre le 5FU et l'HAp. Ces liaisons jouent un rôle clé dans la stabilisation du complexe et l'augmentation de son affinité avec la cible.

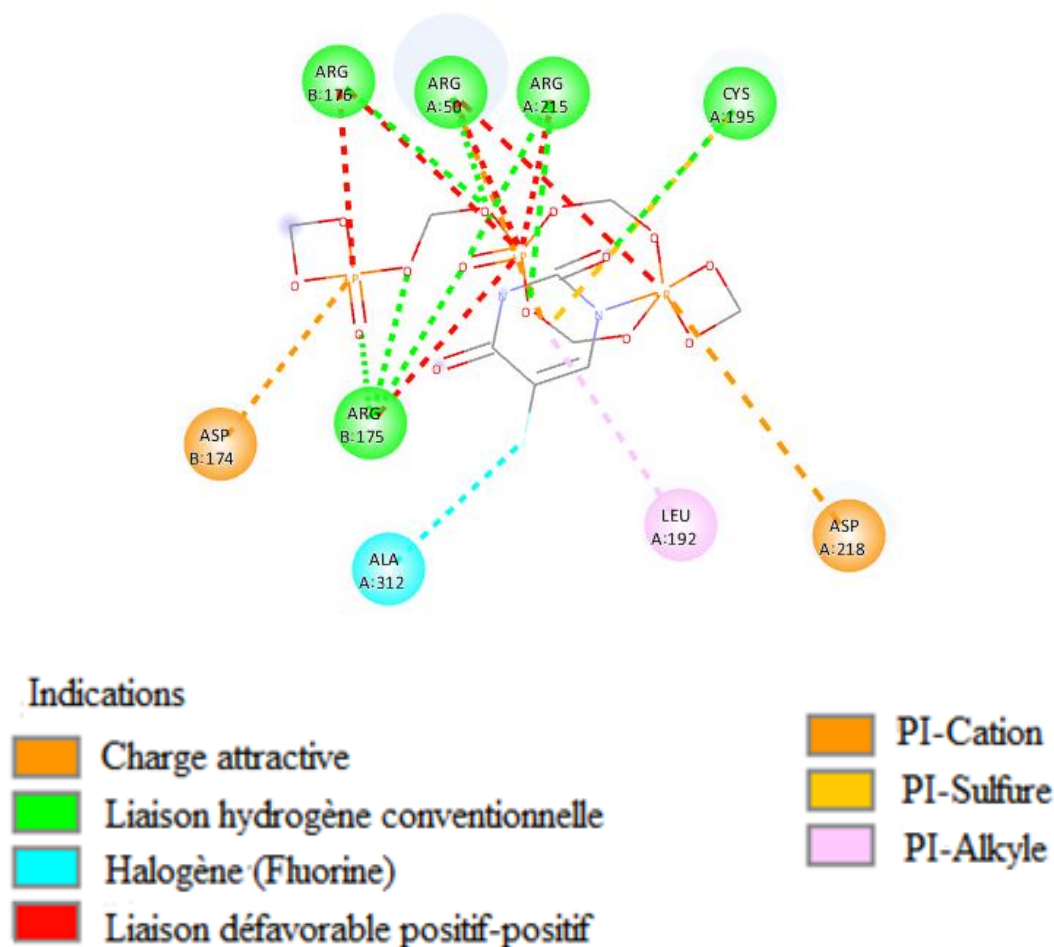


Figure 137: Représentation 2D des interactions entre le complexe 5-FU-HAP et la thymidylate synthase.

Les liaisons hydrogène sont les suivantes :

- Trois liaisons impliquent ARG B:175, qui interagit avec les oxygènes de l'HAP et le phosphore, renforçant ainsi l'ancrage du 5FU sur l'hydroxyapatite.
- Quatre autres impliquent ARG B:176, ARG A:50, ARG A:215, qui interagissent avec les oxygènes des groupes phosphates de l'HAP, montrant une fixation forte au niveau du squelette phosphoré de l'hydroxyapatite.
- Une dernière liaison implique CYS A:195 avec l'oxygène du 5FU, suggérant une stabilisation supplémentaire du Fluorouracile par la cystéine.

Le phosphore de l'HAP interagit avec ASP B:174 et ASP A:218 par des interactions électrostatiques, ce qui pourrait jouer un rôle essentiel dans la stabilisation du complexe en raison de la nature chargée des groupes aspartates et des phosphates de l'HAP.

Une liaison halogène entre le fluor du 5FU et ALA A:312, indiquant que le fluor participe également à la stabilisation par des interactions faibles mais spécifiques, ce qui peut influencer la reconnaissance moléculaire et l'ancrage au niveau du site actif.

Une liaison Pi-Alkyle implique le LEU A : 192, elle pourrait expliquer une stabilisation supplémentaire du complexe 5FU-HAp en améliorant son ancrage dans l'environnement moléculaire.

2.2.4 Docking moléculaire du complexe 5-FU-Fe₃O₄-HAp avec la thymidylate synthase

Le Docking du complexe 5FU-magnétite-HAp avec la thymidylate synthase montre une énergie de liaison de -10,7 kcal/mol, ce qui suggère une interaction stable et favorable entre le complexe et la cible enzymatique. Comparé au 5FU seul, l'ajout de la magnétite et de l'hydroxyapatite pourrait favoriser un meilleur positionnement du ligand dans l'enzyme. L'HAp et Fe₃O₄ pourraient jouer un rôle synergique en modifiant la dynamique de l'inhibition enzymatique du 5FU (figure 138).

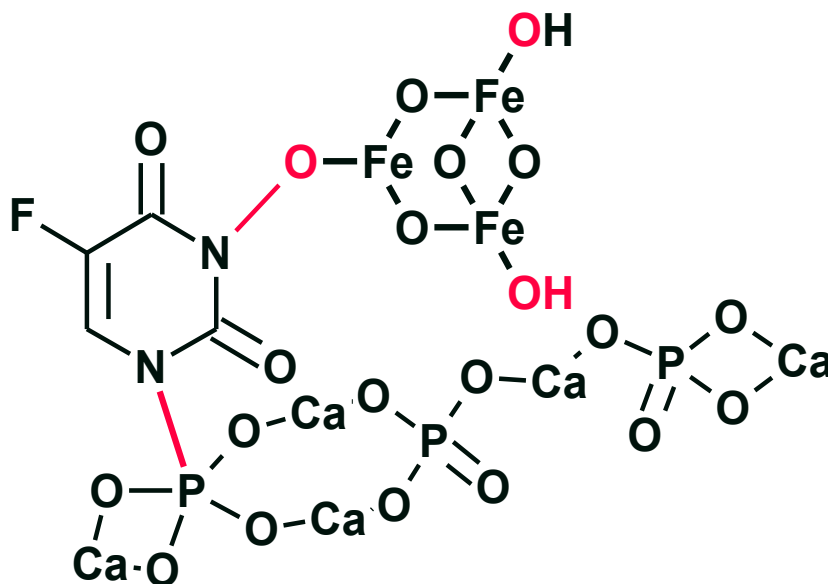


Figure 138 : Structure du complexe 5-FU-magétite-HAp.

Le tableau 65 présente les énergies d'affinité (en kcal/mol) des différentes conformations du complexe 5FU-Fe₃O₄-HAp lors de son interaction avec la thymidylate synthase.

Tableau 65: Energies de liaison entre le complexe 5FU-Fe₃O₄-HAp et la thymidylate synthase.

Mode	Affinité (kcal/mol)	RMSD l.b.	RMSD u.b.
1	-10,7	0,000	0,000
2	-10,5	23,624	26,923
3	-10,5	29,299	32,427
4	-10,3	24,390	28,220
5	-10,1	28,541	29,643
6	-10,1	24,724	28,062
7	-10,0	28,278	31,487
8	-10,0	27,684	31,360
9	-10,0	24,663	26,653

L'énergie de liaison la plus favorable est observée pour le mode 1, avec une valeur de -10,7 kcal/mol, indiquant une interaction stable et thermodynamiquement privilégiée. Les autres conformations présentent des énergies comprises entre -10,5 et -10,0 kcal/mol, traduisant des alternatives viables mais légèrement moins stables.

Ces résultats suggèrent que l'incorporation de l'hydroxyapatite au complexe 5FU-Fe₃O₄-HAp favorise une interaction renforcée avec la thymidylate synthase, ce qui pourrait influencer la stabilité du complexe enzymatique et moduler l'efficacité du 5FU dans son mécanisme d'action.

Le diagramme (figure 139) illustre la configuration optimale du complexe 5FU-Fe₃O₄-HAp, mettant en évidence les interactions stabilisatrices établies avec la thymidylate synthase.

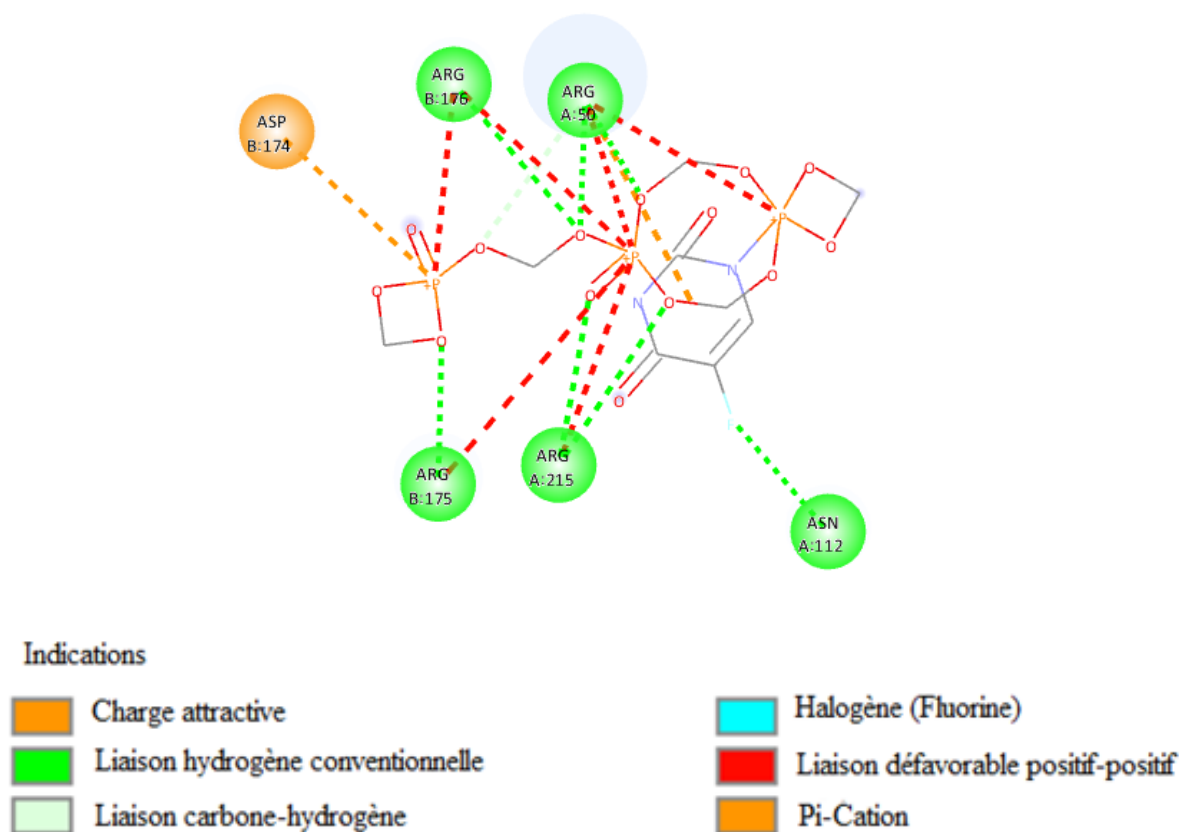


Figure 139: Représentation 2D des interactions entre le complexe 5-FU-Fe₃O₄-HAp et la thymidylate synthase.

Le 5-fluorouracile (5-FU) établit des liaisons hydrogène conventionnelles solides avec les résidus ARG A:56, ARG B:176 et ARG A:215, qui assurent son ancrage principal dans le site actif de la thymidylate synthase. Une interaction électrostatique attractive est également observée avec ASP B:174, renforçant la complémentarité de charge et la stabilité de la fixation.

Parallèlement, des liaisons hydrogène C-H plus faibles impliquant ARG B:175 et ASN A:112 contribuent à ajuster l'orientation spatiale du ligand, favorisant un positionnement optimal au sein de la poche enzymatique. Certaines répulsions locales entre charges positives d'arginines proches génèrent de légères contraintes, mais elles ne compromettent pas la stabilité globale du complexe.

Enfin, aucune interaction halogène notable du fluor n'a été mise en évidence, suggérant que son rôle structural est secondaire dans la fixation directe, bien qu'il puisse contribuer à la réactivité globale du ligand.

3 Discussion

3.1 Activité antimicrobienne du nanocomposite HAp/Fe₃O₄

Les essais de microdilution ont mis en évidence une activité inhibitrice sélective du nanocomposite vis-à-vis de *Bacillus subtilis* (CMI = 1024 µg/mL) et de *Candida albicans* (CMI = 512 µg/mL), alors qu'aucun effet n'a été observé contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Staphylococcus aureus* (Tableau 60, Figure 13). Ce spectre restreint, mais pertinent, rejoint certains travaux antérieurs. Labrag et al. ont montré que des formulations analogues HAp/Fe₃O₄ présentaient un spectre plus large incluant *S. aureus*, *E. coli* et *K. pneumoniae*, attribué à la génération de ROS et aux interactions ioniques Fe³⁺/PO₄³⁻ avec les constituants cellulaires (129).

De même, Ismat Ullah et al. ont observé que le dopage Sr/Fe dans l'HAp renforçait l'activité contre *S. aureus* comparativement à *E. coli*, suggérant que la composition et la chimie de surface jouent un rôle déterminant. L'efficacité antifongique contre *C. albicans* pourrait s'expliquer par une interaction préférentielle avec la membrane fongique riche en ergostérols et par la génération de ROS, mécanisme bien documenté pour les nanoparticules métalliques (131).

De même, des études ont rapporté que les nanocomposites HAp/Fe₃O₄ affectent rapidement *Escherichia coli*, alors que des bactéries Gram positif comme *Micrococcus luteus* montrent une résistance initiale avant d'être inhibées après quelques heures (95). D'autres formulations, telles que les nanocomposites ZnFe₂O₄/HAp, se sont révélées très efficaces contre *S. aureus*, avec des concentrations minimales inhibitrices aussi faibles que 0,078 mg/L (341).

Contrairement aux études où l'incorporation de Fe-HAp dans des matrices polymériques comme l'acide polylactique a permis d'élargir le spectre d'action antimicrobienne, notamment contre *Bacillus thuringiensis* et *Pseudomonas aeruginosa* (342), le nanocomposite étudié ne présente pas d'inhibition contre ces bactéries. Cette différence pourrait être expliquée par la concentration en phase magnétique, la taille des particules ou encore les conditions expérimentales spécifiques utilisées lors de l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Cliniquement, ce profil antimicrobien est intéressant, car il cible des agents opportunistes fréquents chez les patients immunodéprimés sous chimiothérapie, limitant l'impact sur la flore commensale et réduisant les risques de résistance microbienne.

3.2 Docking moléculaire du 5-FU et interactions enzymatiques

L'analyse *in silico* a montré que le 5-fluorouracile (5-FU) libre présente une énergie de liaison de $-5,5$ kcal/mol vis-à-vis de la thymidylate synthase (TS), ce qui traduit une interaction modérée mais fonctionnelle. Cette valeur confirme la capacité du 5-FU à s'ancrer dans le site actif de l'enzyme, bien qu'avec une stabilité limitée. Des travaux antérieurs de Chowdhury et al. (2020) ont rapporté une énergie de liaison plus favorable ($-8,1$ kcal/mol) (343), différence attribuée à des variations méthodologiques, notamment dans les paramètres de simulation (choix de la conformation initiale, dimensions de la grille de Docking, solvation, etc.).

Lorsque le 5-FU est encapsulé dans la phase magnétique Fe_3O_4 , l'énergie de liaison s'abaisse à $-7,6$ kcal/mol, indiquant une stabilisation accrue du complexe ligand-enzyme. Ce résultat suggère que la magnétite peut agir comme un support favorisant une conformation plus adaptée du 5-FU, facilitant ainsi son interaction avec les résidus catalytiques de la TS. Ce type de stabilisation a déjà été observé dans d'autres systèmes hybrides où des nanomatériaux inorganiques contribuent à améliorer la disponibilité et la réactivité des agents anticancéreux.

Une amélioration encore plus marquée a été observée avec les systèmes à base d'hydroxyapatite (HAp). Les complexes 5-FU/HAp et 5-FU/HAp- Fe_3O_4 présentent respectivement des énergies de liaison de $-11,0$ et $-10,7$ kcal/mol, valeurs nettement plus favorables que celles du 5-FU libre. Ces résultats traduisent une augmentation significative de l'affinité enzymatique, probablement liée à l'établissement de nouvelles interactions hydrogène et électrostatiques entre les groupes fonctionnels portés par l'HAp (phosphates, hydroxyles) et les acides aminés catalytiques du site actif de la TS (tels que ARG64, ARG68, SER209 et PHE59). De telles interactions renforcent l'ancrage du 5-FU et améliorent la stabilité conformationnelle du complexe.

Ces résultats corroborent ceux de travaux antérieurs sur la vectorisation du 5-FU par des matrices inorganiques ou polymériques. Par exemple, Leelanok et al. (2018) ont montré que l'encapsulation du 5-FU dans des nanoparticules polymériques modifiait favorablement son

profil pharmacodynamique tout en conservant son affinité moléculaire (331). De même, plusieurs travaux ont montré que la vectorisation du 5-FU par des nanoparticules minérales, telles que le phosphate de calcium, améliore sa stabilité et renforce son efficacité cytotoxique vis-à-vis de différentes lignées tumorales, ce qui suggère une action prolongée et une meilleure biodisponibilité intracellulaire (249).

Ainsi, l'encapsulation du 5-FU dans HAp/Fe₃O₄ ne se limite pas à un rôle de contrôle cinétique de la libération (comme démontré dans le Chapitre II), mais contribue également à améliorer l'efficacité pharmacodynamique du médicament en optimisant son interaction avec la TS. Cette synergie entre encapsulation et affinité enzymatique constitue un atout majeur dans la perspective d'une meilleure efficacité thérapeutique, avec une inhibition plus soutenue de la TS et, par conséquent, une augmentation de l'activité anticancéreuse du 5-FU.

3.3 Corrélation avec la libération in vitro

L'étude cinétique réalisée dans le Chapitre II a mis en évidence que la libération du 5-fluorouracile (5-FU) à partir des nanocomposites HAp/Fe₃O₄ suit principalement les modèles de Higuchi et de Korsmeyer–Peppas, traduisant un mécanisme de diffusion Fickien couplé à une relaxation matricielle de la structure poreuse. Ce double mécanisme reflète l'influence combinée de la diffusion du principe actif à travers la matrice et de la réorganisation progressive du réseau phosphocalcique au contact du milieu aqueux (Tableau 58, Figure 128). Une telle cinétique se distingue de celle du 5-FU libre, caractérisée par un relargage brutal (« burst effect »), peu compatible avec une administration clinique, car elle entraîne des pics plasmatiques toxiques suivis d'une chute rapide des concentrations actives.

L'encapsulation dans HAp/ Fe₃O₄ permet ainsi de réduire significativement l'effet de relargage initial et de maintenir une libération prolongée et contrôlée, condition essentielle pour améliorer l'efficacité thérapeutique tout en limitant les effets secondaires. Ce contrôle cinétique est cohérent avec les résultats du Docking moléculaire (Chapitre III), qui montrent une meilleure stabilisation conformationnelle du 5-FU encapsulé et une affinité renforcée pour la thymidylate synthase (TS). En d'autres termes, la libération progressive du médicament assure un apport continu de molécules actives capables de se fixer efficacement sur leur cible enzymatique, renforçant la durée et l'intensité de l'inhibition enzymatique.

Ces observations rejoignent les travaux de Leelanok et al. (2018), et Mohiyuddin et al (2018) qui ont été déjà citées (249,331).

En outre, les profils cinétiques observés dans notre étude confirment la pertinence de la synergie entre pharmacocinétique et pharmacodynamie. La régulation de la libération (paramètre pharmacocinétique) s'accompagne d'un maintien ou d'un renforcement de l'interaction avec la TS (paramètre pharmacodynamique), ce qui ouvre la voie à une optimisation du rapport efficacité/toxicité du 5-FU. L'intégration de ces deux niveaux d'analyse (in vitro et in silico) confirme que le nanocomposite HAp/Fe₃O₄ constitue une plateforme de vectorisation prometteuse, combinant un contrôle libératoire précis et une efficacité anticancéreuse accrue.

3.4 Perspectives thérapeutiques

L'ensemble des résultats expérimentaux et in silico met en évidence le caractère multifonctionnel du nanocomposite HAp/Fe₃O₄. Ce système assure :

- un contrôle cinétique de la libération du 5-FU, limitant la toxicité systémique,
- une affinité renforcée pour la TS, garante d'une activité anticancéreuse ciblée,
- une activité antimicrobienne sélective, utile pour prévenir les infections opportunistes en oncologie.

Ce triptyque fonctionnel illustre la pertinence d'une approche intégrée de vectorisation, où le nanocomposite agit comme une plateforme thérapeutique combinée, optimisant le rapport efficacité/toxicité du 5-FU tout en apportant un bénéfice prophylactique.

4 Conclusion

L'évaluation in vitro et in silico du nanocomposite HAp/ Fe₃O₄ a permis de mettre en évidence son potentiel thérapeutique dual, associant une activité antimicrobienne sélective et une vectorisation optimisée du 5-fluorouracile (5-FU).

Sur le plan microbiologique, les tests de microdilution ont montré une inhibition notable de *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*, confirmant que la composition chimique et la surface active du nanocomposite confèrent des propriétés antimicrobiennes intéressantes, en particulier vis-à-vis des agents opportunistes rencontrés en oncologie. Cette sélectivité constitue un atout

majeur pour limiter les infections secondaires sans perturber excessivement la flore commensale.

Parallèlement, l'étude de Docking moléculaire a révélé que l'encapsulation du 5-FU dans HAp/ Fe₃O₄ améliore significativement son affinité pour la thymidylate synthase (TS), avec des énergies de liaison plus favorables que celles du 5-FU libre. Cette stabilisation conformationnelle reflète la capacité du nanocomposite à renforcer les interactions hydrogène et électrostatiques entre le médicament et sa cible enzymatique, traduisant une efficacité pharmacodynamique accrue.

Ces données s'accordent avec les résultats cinétiques du Chapitre II, où la libération du 5-FU depuis HAp/ Fe₃O₄ suit des modèles de Higuchi et Korsmeyer–Peppas, traduisant un mécanisme de diffusion contrôlée. La synergie entre pharmacocinétique et pharmacodynamie observée confirme que le nanocomposite assure à la fois une libération progressive et une interaction efficace avec la TS, optimisant le rapport efficacité/toxicité du 5-FU.

Enfin, l'intégration de ces résultats met en lumière le caractère multifonctionnel du nanocomposite HAp/ Fe₃O₄:

- il agit comme un vecteur de libération contrôlée, limitant les effets indésirables liés aux pics plasmatiques,
- il renforce l'interaction enzymatique du 5-FU, augmentant son efficacité anticancéreuse,
- et il exerce une action antimicrobienne prophylactique, réduisant le risque d'infections opportunistes.

Ces performances positionnent HAp/ Fe₃O₄ comme une plateforme thérapeutique innovante, répondant à deux défis majeurs actuels : la lutte contre l'antibiorésistance et l'amélioration de la prise en charge des cancers. Toutefois, une validation complémentaire *in vivo* et des optimisations structurales (dopages métalliques, fonctionnalisation de surface, ciblage magnétique) seront nécessaires pour confirmer et étendre ces applications en clinique.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de recherche s'est inscrit dans une démarche d'optimisation de la synthèse et de l'évaluation des propriétés physico-chimiques et biologiques de nanocomposites magnétiques à base d'hydroxyapatite (HAp) et de magnétite (Fe_3O_4) en vue de leur application en vectorisation du 5-Fluorouracile et en thérapie anticancéreuse. L'objectif principal de cette thèse était d'étudier le profil de libération du 5-FU à partir de ces nanocomposites. Dans ce cadre, une approche de synthèse verte a été développée et optimisée afin de garantir des nanocomposites biocompatibles et présentant des caractéristiques physico-chimiques adaptées à l'application visée.

L'optimisation de la synthèse des nanocomposites magnétiques HAp- Fe_3O_4 par voie verte, assistée par des agents stabilisants naturels tels que le fructose, le galactose et la pectine, a permis d'obtenir des matériaux bien cristallisés et homogènes. La caractérisation approfondie de ces nanocomposites a confirmé leur structure biphasique hydroxyapatite-magnétite à travers l'analyse par diffraction des rayons X et la spectroscopie FTIR, mettant en évidence la présence des groupements fonctionnels caractéristiques. L'examen morphologique par microscopie électronique à balayage (MEB) couplé à l'EDS a révélé une distribution homogène des particules de magnétite au sein de la matrice apatite, bien que la formation de légers agrégats ait été observée. L'analyse thermique par thermogravimétrie et calorimétrie différentielle à balayage a permis d'évaluer la stabilité thermique des nanocomposites et d'identifier les transformations associées aux phases minérales et aux résidus organiques. Enfin, l'étude des propriétés magnétiques par magnétométrie à échantillon vibrant a mis en évidence un comportement faiblement magnétique proche du superparamagnétisme, bien que la faible proportion de magnétite limite l'efficacité du ciblage magnétique et l'applicabilité en hyperthermie. Ces résultats soulignent ainsi la nécessité d'optimiser davantage les conditions de synthèse afin d'améliorer la réponse magnétique des matériaux et d'en renforcer le potentiel pour des applications biomédicales ciblées.

L'évaluation in vitro du relargage du 5-FU a montré un profil de libération contrôlée, suggérant une interaction forte entre le médicament et la matrice nanocomposite. Ce profil de libération prolongée est favorable à une diffusion progressive du principe actif, ce qui pourrait contribuer à une réduction des effets secondaires de la chimiothérapie et à une amélioration de l'efficacité thérapeutique.

Les tests d'activité antimicrobienne ont révélé que les nanocomposites présentaient une certaine efficacité contre deux souches microbiennes, confirmant ainsi leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques multifonctionnels combinant action anticancéreuse et activité antimicrobienne.

De plus, l'étude par Docking moléculaire a fourni des informations essentielles sur l'interaction du complexe nanocomposite-5-FU avec sa cible protéique, la thymidylate synthase, mettant en évidence une affinité significative susceptible d'influencer l'efficacité thérapeutique et de réduire les effets indésirables.

Dans l'ensemble, cette thèse a permis d'optimiser la synthèse de nanocomposites biocompatibles et multifonctionnels, de caractériser en détail leurs propriétés structurales, magnétiques et biologiques, et de démontrer leur potentiel en tant que systèmes de libération contrôlée du 5-FU. Toutefois, l'efficacité des nanocomposites en ciblage magnétique et en hyperthermie reste limitée par leur faible teneur en magnétite, soulignant la nécessité d'une optimisation supplémentaire pour renforcer ces propriétés.

Les résultats obtenus ouvrent plusieurs axes de recherche pour le développement futur de ces nanocomposites :

1/Optimisation de la synthèse pour améliorer les propriétés magnétiques

- Augmenter la proportion de magnétite dans la structure apatite afin d'améliorer la réponse magnétique et l'efficacité en hyperthermie.
- Ajuster les conditions de précipitation et de traitement thermique pour mieux contrôler la taille et la distribution des particules magnétiques.

2/ Études biologiques avancées

- Évaluer la cytotoxicité des nanocomposites in vitro sur des lignées cellulaires cancéreuses et saines afin d'optimiser leur biocompatibilité et leur efficacité thérapeutique.
- Réaliser des études in vivo afin d'analyser la biodistribution, la biopersistence ainsi que l'effet thérapeutique des nanocomposites dans un modèle animal.

3/ Exploration d'autres applications biomédicales en ingénierie tissulaire, notamment en tant que biomatériaux pour la régénération osseuse.

En conclusion, les travaux réalisés ont démontré le potentiel des nanocomposites magnétiques à base d'hydroxyapatite et de magnétite pour la vectorisation du 5-FU et l'application en thérapie anticancéreuse. Cependant, une optimisation des propriétés magnétiques et une évaluation approfondie de la biocompatibilité restent nécessaires avant une éventuelle application clinique. Ces perspectives ouvrent la voie à des recherches futures visant à perfectionner ces nanomatériaux pour des stratégies thérapeutiques innovantes et ciblées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Sun L, Chen Y, Zhou Y, Guo D, Fan Y, Guo F, et al. Preparation of 5-fluorouracil-loaded chitosan nanoparticles and study of the sustained release in vitro and in vivo. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. sept 2017;12(5):418-23.
2. Entezar-Almahdi E, Mohammadi-Samani S, Tayebi L, Farjadian F. Recent Advances in Designing 5-Fluorouracil Delivery Systems: A Stepping Stone in the Safe Treatment of Colorectal Cancer. *IJN*. juill 2020;Volume 15:5445-58.
3. Li H, Sun X, Li Y, Li B, Liang C, Wang H. Preparation and properties of carbon nanotube (Fe)/hydroxyapatite composite as magnetic targeted drug delivery carrier. *Materials Science and Engineering: C*. avr 2019;97:222-9.
4. Govindan B, Swarna Latha B, Nagamony P, Ahmed F, Saifi M, Harrath A, et al. Designed Synthesis of Nanostructured Magnetic Hydroxyapatite Based Drug Nanocarrier for Anti-Cancer Drug Delivery toward the Treatment of Human Epidermoid Carcinoma. *Nanomaterials*. 6 juin 2017;7(6):138.
5. Abramov NV, Turanska SP, Kusyak AP, Petranovska AL, Gorbyk PP. Synthesis and properties of magnetite/hydroxyapatite/doxorubicin nanocomposites and magnetic liquids based on them. *J Nanostruct Chem*. sept 2016;6(3):223-33.
6. Habibi Jouybari M, Hosseini S, Mahboobnia K, Boloursaz LA, Moradi M, Irani M. Simultaneous controlled release of 5-FU, DOX and PTX from chitosan/PLA/5-FU/g-C3N4-DOX/g-C3N4-PTX triaxial nanofibers for breast cancer treatment in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. juill 2019;179:495-504.
7. Barhoum A, García-Betancourt ML, Jeevanandam J, Hussien EA, Mekkawy SA, Mostafa M, et al. Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: History, Definitions, Classifications, Synthesis, Properties, Market, Toxicities, Risks, and Regulations. *Nanomaterials*. 6 janv 2022;12(2):177.
8. Jeevanandam J, Barhoum A, Chan YS, Dufresne A, Danquah MK. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J Nanotechnol*. 3 avr 2018;9:1050-74.
9. Kumar N, Kumbhat S. *Essentials in Nanoscience and Nanotechnology* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2016 [cité 22 janv 2025]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119096122>
10. Zhang C. Understanding the wear and tribological properties of ceramic matrix composites. In: *Advances in Ceramic Matrix Composites* [Internet]. Elsevier; 2014 [cité 22 janv 2025]. p. 312-39. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857091208500149>

11. Saboori A, Dadkhah M, Fino P, Pavese M. An Overview of Metal Matrix Nanocomposites Reinforced with Graphene Nanoplatelets; Mechanical, Electrical and Thermophysical Properties. *Metals*. 5 juin 2018;8(6):423.
12. Pan D, Wang Q, An L. Controlled synthesis of monodisperse nanocrystals by a two-phase approach without the separation of nucleation and growth processes. *J Mater Chem*. 2009;19(8):1063-73.
13. Zhang L, Wang L, Jiang Z, Xie Z. Synthesis of size-controlled monodisperse Pd nanoparticles via a non-aqueous seed-mediated growth. *Nanoscale Res Lett*. déc 2012;7(1):312.
14. Li C, Adamcik J, Mezzenga R. Biodegradable nanocomposites of amyloid fibrils and graphene with shape-memory and enzyme-sensing properties. *Nature Nanotech*. juill 2012;7(7):421-7.
15. Zhang J, Langille MR, Mirkin CA. Synthesis of Silver Nanorods by Low Energy Excitation of Spherical Plasmonic Seeds. *Nano Lett*. 8 juin 2011;11(6):2495-8.
16. Badrossamay MR, McIlwee HA, Goss JA, Parker KK. Nanofiber Assembly by Rotary Jet-Spinning. *Nano Lett*. 9 juin 2010;10(6):2257-61.
17. Gokarna A, Parize R, Kadiri H, Nomenyo K, Patriarce G, Miska P, et al. Highly crystalline urchin-like structures made of ultra-thin zinc oxide nanowires. *RSC Adv*. 2014;4(88):47234-9.
18. Zhou J, Ding Y, Deng SZ, Gong L, Xu NS, Wang ZL. Three-Dimensional Tungsten Oxide Nanowire Networks. *Advanced Materials*. 5 sept 2005;17(17):2107-10.
19. Biedrzycka A, Skwarek E, Hanna UM. Hydroxyapatite with magnetic core: Synthesis methods, properties, adsorption and medical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*. mai 2021;291:102401.
20. Ibrahim M, Labaki M, Giraudon JM, Lamonier JF. Hydroxyapatite, a multifunctional material for air, water and soil pollution control: A review. *Journal of Hazardous Materials*. févr 2020;383:121139.
21. Chlala D, Labaki M, Giraudon JM, Gardoll O, Denicourt-Nowicki A, Roucoux A, et al. Toluene total oxidation over Pd and Au nanoparticles supported on hydroxyapatite. *Comptes Rendus Chimie*. 16 févr 2016;19(4):525-37.
22. Nishikawa H, Oka T, Asai N, Simomichi H, Shirai T, Fuji M. Oxidative decomposition of volatile organic compounds using thermally-excited activity of hydroxyapatite. *Applied Surface Science*. mai 2012;258(14):5370-4.
23. Li R, Chen K, Li G, Han G, Yu S, Yao J, et al. Structure design and fabrication of porous hydroxyapatite microspheres for cell delivery. *Journal of Molecular Structure*. sept 2016;1120:34-41.

24. Brunton PA, Davies RPW, Burke JL, Smith A, Aggeli A, Brookes SJ, et al. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides – a clinical safety trial. *Br Dent J.* août 2013;215(4):E6-E6.
25. Afriani F, Tiandho Y. Innovating Hardness Model of Bioceramics Hydroxyapatite Based on Variety of Synthetic Conditions. *jit.* 17 mars 2020;1(1):35-40.
26. Pokhrel S. Hydroxyapatite: Preparation, Properties and Its Biomedical Applications. *ACES.* 2018;08(04):225-40.
27. Goiris FA, Otuki MF, Antunes SR, Santos FA, Geus JLD, Campagnoli EB, et al. histomorphometric analysis of biological responses following the use of pure hydroxyapatite and hydroxyapatite with collagen: a study in dorsal subcutaneous tissue of rats. 2021;7(2):12943-60.
28. Lara-Ochoa S, Ortega-Lara W, Guerrero-Beltrán CE. Hydroxyapatite Nanoparticles in Drug Delivery: Physicochemistry and Applications. *Pharmaceutics.* 9 oct 2021;13(10):1642.
29. Xie L, Yu H, Yang W, Zhu Z, Yue L. Preparation, *in vitro* degradability, cytotoxicity, and *in vivo* biocompatibility of porous hydroxyapatite whisker-reinforced poly(L-lactide) biocomposite scaffolds. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition.* 12 avr 2016;27(6):505-28.
30. Zakaria SM, Sharif Zein SH, Othman MohdR, Yang F, Jansen JA. Nanophase Hydroxyapatite as a Biomaterial in Advanced Hard Tissue Engineering: A Review. *Tissue Engineering Part B: Reviews.* oct 2013;19(5):431-41.
31. Say Y. The Effects of Hydroxyapatite on the Corrosion Behaviour of AZ Series Mg Alloys. *Turkish Journal of Science and Technology.* 29 mars 2023;18(1):45-57.
32. Victor SP, Gayathri Devi MG, Paul W, Vijayan VM, Muthu J, Sharma CP. Europium Doped Calcium Deficient Hydroxyapatite as Theranostic Nanoplatfoms: Effect of Structure and Aspect Ratio. *ACS Biomater Sci Eng.* 11 déc 2017;3(12):3588-95.
33. Balhuc S, Campian R, Labunet A, Negucioiu M, Buduru S, Kui A. Dental Applications of Systems Based on Hydroxyapatite Nanoparticles—An Evidence-Based Update. *Crystals.* 11 juin 2021;11(6):674.
34. Predoi D, Iconaru SL, Predoi MV. Fabrication of Silver- and Zinc-Doped Hydroxyapatite Coatings for Enhancing Antimicrobial Effect. *Coatings.* 20 sept 2020;10(9):905.
35. Nowak N, Czekanowska D, Reeks JM, Wiglusz RJ. Structural, Spectroscopic, and Biological Characterization of Novel Rubidium(I) and Europium(III) Co-Doped Nano-Hydroxyapatite Materials and Their Potential Use in Regenerative Medicine. *Nanomaterials.* 17 déc 2022;12(24):4475.
36. Gu, Wu, Chen, Xiao Y. Nanotechnology in the targeted drug delivery for bone diseases and bone regeneration. *IJN.* juin 2013;2305.

37. Szcześ A, Hołysz L, Chibowski E. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*. nov 2017;249:321-30.
38. Li D, Huang X, Wu Y, Li J, Cheng W, He J, et al. Preparation of pH-responsive mesoporous hydroxyapatite nanoparticles for intracellular controlled release of an anticancer drug. *Biomater Sci*. 2016;4(2):272-80.
39. Rheima AM, Abdul-Rasool AA, Al-Sharif ZT, Zaidan HK, Athair DM, Mohammed SH, et al. Nano bioceramics: Properties, applications, hydroxyapatite, nanohydroxyapatite and drug delivery. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. déc 2024;10:100869.
40. Kim SH, Hwang S, Kim JH, Ryu SC. Hydroxyapatite Humidifier Vibrator Housing Fabrication and Characteristics. *J Mater Appl*. 15 nov 2022;11(2):58-64.
41. Osuchukwu OA, Salihi A, Abdullahi I, Abdulkareem B, Nwannenna CS. Synthesis techniques, characterization and mechanical properties of natural derived hydroxyapatite scaffolds for bone implants: a review. *SN Appl Sci*. oct 2021;3(10):822.
42. Shi H, Zhou Z, Li W, Fan Y, Li Z, Wei J. Hydroxyapatite Based Materials for Bone Tissue Engineering: A Brief and Comprehensive Introduction. *Crystals*. 1 févr 2021;11(2):149.
43. Yew YP, Shameli K, Miyake M, Ahmad Khairudin NBB, Mohamad SEB, Naiki T, et al. Green biosynthesis of superparamagnetic magnetite Fe₃O₄ nanoparticles and biomedical applications in targeted anticancer drug delivery system: A review. *Arabian Journal of Chemistry*. janv 2020;13(1):2287-308.
44. Niculescu AG, Chircov C, Grumezescu AM. Magnetite nanoparticles: Synthesis methods – A comparative review. *Methods*. mars 2022;199:16-27.
45. Ganapathe LS, Mohamed MA, Mohamad Yunus R, Berhanuddin DD. Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles in Biomedical Application: From Synthesis to Surface Functionalisation. *Magnetochemistry*. 3 déc 2020;6(4):68.
46. Sirivat A, Paradee N. Facile synthesis of gelatin-coated Fe₃O₄ nanoparticle: Effect of pH in single-step co-precipitation for cancer drug loading. *Materials & Design*. nov 2019;181:107942.
47. Andrade RGD, Veloso SRS, Castanheira EMS. Shape Anisotropic Iron Oxide-Based Magnetic Nanoparticles: Synthesis and Biomedical Applications. *IJMS*. 1 avr 2020;21(7):2455.
48. Roca AG, Gutiérrez L, Gavilán H, Fortes Brollo ME, Veintemillas-Verdaguer S, Morales MDP. Design strategies for shape-controlled magnetic iron oxide nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. janv 2019;138:68-104.
49. Yousif N, Al-Jawad S, Taha A, Stamatis H. A review of Structure, Properties, and Chemical Synthesis of Magnetite Nanoparticles. *JASN*. 1 juin 2023;3(2):18-31.

50. Hufschmid R, Landers J, Shasha C, Salamon S, Wende H, Krishnan KM. Nanoscale Physical and Chemical Structure of Iron Oxide Nanoparticles for Magnetic Particle Imaging. *Physica Status Solidi (a)*. janv 2019;216(2):1800544.
51. Prodan AM, Iconaru SL, Chifiriuc CM, Bleotu C, Ciobanu CS, Motelica-Heino M, et al. Magnetic Properties and Biological Activity Evaluation of Iron Oxide Nanoparticles. Barman A, éditeur. *Journal of Nanomaterials*. janv 2013;2013(1):893970.
52. Par Anthony, Vivien A. Complexes de cobalt(I) : synthèse raisonnée de nanocristaux mono-ou bimétalliques et applications catalytiques. 2018 [cité 28 janv 2025]; Disponible sur: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.2.26622.84808>
53. Patsula V, Moskvin M, Dutz S, Horák D. Size-dependent magnetic properties of iron oxide nanoparticles. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. janv 2016;88:24-30.
54. Datta P. Magnetic gels. In: *Polymeric Gels* [Internet]. Elsevier; 2018 [cité 26 janv 2025]. p. 441-65. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978008102179800017X>
55. Kolhatkar A, Jamison A, Litvinov D, Willson R, Lee T. Tuning the Magnetic Properties of Nanoparticles. *IJMS*. 31 juill 2013;14(8):15977-6009.
56. Fodil K. De la détection à l'imagerie de nanoparticules magnétiques. HAL open science. 2014;9.
57. Yildirim, T. H, Pervez, M. L, Li, B., O'Reilly, R. . Size-controlled clustering of iron oxide nanoparticles within fluorescent nanogels using LCST-driven self-assembly. *J Mater Chem B*. 2020;6(3):5330-5.
58. Al-Shabib NA, Husain FM, Ahmed F, Khan RA, Khan MS, Ansari FA, et al. Low Temperature Synthesis of Superparamagnetic Iron Oxide (Fe₃O₄) Nanoparticles and Their ROS Mediated Inhibition of Biofilm Formed by Food-Associated Bacteria. *Front Microbiol*. 5 nov 2018;9:2567.
59. Ansari SAMK, Ficiarà E, Ruffinatti FA, Stura I, Argenziano M, Abollino O, et al. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Functionalization for Biomedical Applications in the Central Nervous System. *Materials*. 2 févr 2019;12(3):465.
60. Arias LS, Pessan JP, Vieira APM, Lima TMTD, Delbem ACB, Monteiro DR. Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity. *Antibiotics*. 9 juin 2018;7(2):46.
61. Dulińska-Litewka J, Łazarczyk A, Hałubiec P, Szafranski O, Karnas K, Karewicz A. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles—Current and Prospective Medical Applications. *Materials*. 19 févr 2019;12(4):617.
62. Sangaiya P, Jayaprakash R. A Review on Iron Oxide Nanoparticles and Their Biomedical Applications. *J Supercond Nov Magn*. nov 2018;31(11):3397-413.

63. Vakili-Ghartavol R, Momtazi-Borojeni AA, Vakili-Ghartavol Z, Aiyelabegan HT, Jaafari MR, Rezayat SM, et al. Toxicity assessment of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in different tissues. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. janv 2020;48(1):443-51.
64. Chee HL, Gan CRR, Ng M, Low L, Fernig DG, Bhakoo KK, et al. Biocompatible Peptide-Coated Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for *In Vivo* Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *ACS Nano*. 24 juill 2018;12(7):6480-91.
65. Khalid MK, Asad M, Henrich-Noack P, Sokolov M, Hintz W, Grigartzik L, et al. Evaluation of Toxicity and Neural Uptake In Vitro and In Vivo of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *IJMS*. 3 sept 2018;19(9):2613.
66. Britos TN, Castro CE, Bertassoli BM, Petri G, Fonseca FLA, Ferreira FF, et al. In vivo evaluation of thiol-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*. juin 2019;99:171-9.
67. Estelrich J, Busquets MA. Iron Oxide Nanoparticles in Photothermal Therapy. *Molecules*. 28 juin 2018;23(7):1567.
68. Hedayatnasab Z, Dabbagh A, Abnisa F, Wan Daud WMA. Polycaprolactone-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for in vitro magnetic hyperthermia therapy of cancer. *European Polymer Journal*. juin 2020;133:109789.
69. Alphanđery E. Iron oxide nanoparticles for therapeutic applications. *Drug Discovery Today*. janv 2020;25(1):141-9.
70. Dadfar SM, Roemhild K, Drude NI, Von Stillfried S, Knüchel R, Kiessling F, et al. Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. janv 2019;138:302-25.
71. Soetaert F, Korangath P, Serantes D, Fiering S, Ivkov R. Cancer therapy with iron oxide nanoparticles: Agents of thermal and immune therapies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2020;163-164:65-83.
72. Joshi B, Joshi A. Polymeric magnetic nanoparticles: a multitargeting approach for brain tumour therapy and imaging. *Drug Deliv and Transl Res*. juill 2022;12(7):1588-604.
73. Avasthi A, Caro C, Pozo-Torres E, Leal MP, García-Martín ML. Magnetic Nanoparticles as MRI Contrast Agents. *Top Curr Chem (Z)*. juin 2020;378(3):40.
74. Mattos ACD, Altmeyer C, Tominaga TT, Khalil NM, Mainardes RM. Polymeric nanoparticles for oral delivery of 5-fluorouracil: Formulation optimization, cytotoxicity assay and pre-clinical pharmacokinetics study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. mars 2016;84:83-91.
75. Włodarczyk A, Gorgoń S, Radoń A, Bajdak-Rusinek K. Magnetite Nanoparticles in Magnetic Hyperthermia and Cancer Therapies: Challenges and Perspectives. *Nanomaterials*. 25 mai 2022;12(11):1807.

76. Panda J, Satapathy BS, Majumder S, Sarkar R, Mukherjee B, Tudu B. Engineered polymeric iron oxide nanoparticles as potential drug carrier for targeted delivery of docetaxel to breast cancer cells. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. sept 2019;485:165-73.
77. Vangijzegem T, Stanicki D, Laurent S. Magnetic iron oxide nanoparticles for drug delivery: applications and characteristics. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2 janv 2019;16(1):69-78.
78. Chandra Mohanta S, Saha A, Sujatha Devi P. PEGylated Iron Oxide Nanoparticles for pH Responsive Drug Delivery Application. *Materials Today: Proceedings*. 2018;5(3):9715-25.
79. El-Boubbou K. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles As Drug Carriers: Preparation, Conjugation and Delivery. *Nanomedicine (Lond)*. avr 2018;13(8):929-52.
80. Jeon M, Halbert MV, Stephen ZR, Zhang M. Iron Oxide Nanoparticles as T_1 Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging: Fundamentals, Challenges, Applications, and Prospectives. *Advanced Materials*. juin 2021;33(23):1906539.
81. Khmara I, Strbak O, Zavisova V, Koneracka M, Kubovcikova M, Antal I, et al. Chitosan-stabilized iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. mars 2019;474:319-25.
82. Baile P, Vidal L, Canals A. A modified zeolite/iron oxide composite as a sorbent for magnetic dispersive solid-phase extraction for the preconcentration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in water and urine samples. *Journal of Chromatography A*. oct 2019;1603:33-43.
83. Öztürk Er E, Dalgıç Bozyiğit G, Büyükpınar Ç, Bakırdere S. Magnetic Nanoparticles Based Solid Phase Extraction Methods for the Determination of Trace Elements. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 17 févr 2022;52(2):231-49.
84. Mondal S, Manivasagan P, Bharathiraja S, Santha Moorthy M, Kim HH, Seo H, et al. Magnetic hydroxyapatite: a promising multifunctional platform for nanomedicine application. *IJN*. nov 2017;Volume 12:8389-410.
85. Mushtaq A, Zhao R, Luo D, Dempsey E, Wang X, Iqbal MZ, et al. Magnetic hydroxyapatite nanocomposites: The advances from synthesis to biomedical applications. *Materials & Design*. janv 2021;197:109269.
86. Pai S, M Kini S, Selvaraj R, Pugazhendhi A. A review on the synthesis of hydroxyapatite, its composites and adsorptive removal of pollutants from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*. déc 2020;38:101574.
87. Inam H, Sprio S, Tavoni M, Abbas Z, Pupilli F, Tampieri A. Magnetic Hydroxyapatite Nanoparticles in Regenerative Medicine and Nanomedicine. *IJMS*. 28 févr 2024;25(5):2809.

88. Darezereshki E. Synthesis of maghemite (γ -Fe₂O₃) nanoparticles by wet chemical method at room temperature. *Materials Letters*. juill 2010;64(13):1471-2.
89. Nazari M, Ghasemi N, Maddah H, Motlagh MM. Synthesis and characterization of maghemite nanopowders by chemical precipitation method. *J Nanostruct Chem*. juin 2014;4(2):99.
90. Shen X, Gao X, Wei W, Zhang Y, Zhang Y, Ma L, et al. Combined performance of hydroxyapatite adsorption and magnetic separation processes for Cd(II) removal from aqueous solution. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 31 mars 2019;42(5):664-76.
91. Li L, Mak KY, Leung CW, Chan KY, Chan WK, Zhong W, et al. Effect of synthesis conditions on the properties of citric-acid coated iron oxide nanoparticles. *Microelectronic Engineering*. oct 2013;110:329-34.
92. Sun R, Chen K, Xu L. Preparation and characterization of hydroxyapatite/ γ -Fe₂O₃ hybrid nanostructure. *J Wuhan Univ Technol-Mat Sci Edit*. avr 2013;28(2):215-9.
93. Xiao X, Yang L, Zhou D, Zhou J, Tian Y, Song C, et al. Magnetic γ -Fe₂O₃/Fe-doped hydroxyapatite nanostructures as high-efficiency cadmium adsorbents. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. oct 2018;555:548-57.
94. Vahdat A, Ghasemi B, Yousefpour M. Mechanical properties of the hydroxyapatite and magnetic nanocomposite of hydroxyapatite adsorbents. *South African Journal of Chemical Engineering*. juill 2020;33:90-4.
95. Sahoo JK, Konar M, Rath J, Kumar D, Sahoo H. Magnetic hydroxyapatite nanocomposite: Impact on eriochrome black-T removal and antibacterial activity. *Journal of Molecular Liquids*. nov 2019;294:111596.
96. Venkatesan S, Hassan MU, Ryu HJ. Adsorption and immobilization of radioactive ionic-corrosion-products using magnetic hydroxyapatite and cold-sintering for nuclear waste management applications. *Journal of Nuclear Materials*. févr 2019;514:40-9.
97. Liu Y, Zhong H, Li L, Zhang C. Temperature dependence of magnetic property and photocatalytic activity of Fe₃O₄/hydroxyapatite nanoparticles. *Materials Research Bulletin*. déc 2010;45(12):2036-9.
98. Tran N, Webster TJ. Increased osteoblast functions in the presence of hydroxyapatite-coated iron oxide nanoparticles. *Acta Biomaterialia*. mars 2011;7(3):1298-306.
99. Ribeiro TP, Monteiro FJ, Laranjeira MS. Duality of iron (III) doped nano hydroxyapatite in triple negative breast cancer monitoring and as a drug-free therapeutic agent. *Ceramics International*. juill 2020;46(10):16590-7.
100. Thanh DN, Novák P, Vejpravova J, Vu HN, Lederer J, Munshi T. Removal of copper and nickel from water using nanocomposite of magnetic hydroxyapatite nanorods. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. juin 2017;456:451-60.

101. Shan Z, Li X, Gao Y, Wang X, Li C, Wu Q. Application of magnetic hydroxyapatite nanoparticles for solid phase extraction of plasmid DNA. *Analytical Biochemistry*. juin 2012;425(2):125-7.
102. Wu HC, Wang TW, Sun JS, Wang WH, Lin FH. A novel biomagnetic nanoparticle based on hydroxyapatite. *Nanotechnology*. 25 avr 2007;18(16):165601.
103. Ansar EB, Ajeesh M, Yokogawa Y, Wunderlich W, Varma H. Synthesis and Characterization of Iron Oxide Embedded Hydroxyapatite Bioceramics. Bandyopadhyay A, éditeur. *J Am Ceram Soc*. sept 2012;95(9):2695-9.
104. Dong L, Zhu Z, Qiu Y, Zhao J. Removal of lead from aqueous solution by hydroxyapatite/magnetite composite adsorbent. *Chemical Engineering Journal*. déc 2010;165(3):827-34.
105. Timofeeva I, Alikina M, Vlasova A, Osmolowsky M, Voznesenskiy M, Volina O, et al. Fe₃O₄-based composite magnetic nanoparticles for volatile compound sorption in the gas phase: determination of selenium(IV). *Analyst*. 2019;144(1):152-6.
106. Zheltova V, Vlasova A, Bobrysheva N, Abdullin I, Semenov V, Osmolowsky M, et al. Fe₃O₄@HAp core-shell nanoparticles as MRI contrast agent: Synthesis, characterization and theoretical and experimental study of shell impact on magnetic properties. *Applied Surface Science*. nov 2020;531:147352.
107. Bharath G, Prabhu D, Mangalaraj D, Viswanathan C, Ponpandian N. Facile in situ growth of Fe₃O₄ nanoparticles on hydroxyapatite nanorods for pH dependent adsorption and controlled release of proteins. *RSC Adv*. 2014;4(92):50510-20.
108. Kermanian M, Naghibi M, Sadighian S. One-pot hydrothermal synthesis of a magnetic hydroxyapatite nanocomposite for MR imaging and pH-sensitive drug delivery applications. *Heliyon*. 1 sept 2020;6(9):e04928.
109. Deng H, Li X, Peng Q, Wang X, Chen J, Li Y. Monodisperse Magnetic Single-Crystal Ferrite Microspheres. *Angew Chem Int Ed*. 29 avr 2005;44(18):2782-5.
110. Mondal S, Manivasagan P, Bharathiraja S, Santha Moorthy M, Nguyen V, Kim H, et al. Hydroxyapatite Coated Iron Oxide Nanoparticles: A Promising Nanomaterial for Magnetic Hyperthermia Cancer Treatment. *Nanomaterials*. 4 déc 2017;7(12):426.
111. Zeng D, Dai Y, Zhang Z, Wang Y, Cao X, Liu Y. Magnetic solid-phase extraction of U(VI) in aqueous solution by Fe₃O₄@hydroxyapatite. *J Radioanal Nucl Chem*. juin 2020;324(3):1329-37.
112. Murakami S, Hosono T, Jeyadevan B, Kamitakahara M, Ioku K. Hydrothermal synthesis of magnetite/hydroxyapatite composite material for hyperthermia therapy for bone cancer. *J Ceram Soc Japan*. 2008;116(1357):950-4.
113. Sato M, Nakahira A. Influence of Fe addition to hydroxyapatite by hydrothermal process. *J Ceram Soc Japan*. 2013;121(1415):559-62.

114. Tan WK, Muto H, Kawamura G, Lockman Z, Matsuda A. Nanomaterial Fabrication through the Modification of Sol–Gel Derived Coatings. *Nanomaterials*. 13 janv 2021;11(1):181.
115. Lett JA, Sundareswari M, Ravichandran K, Latha MB, Sagadevan S, Bin Johan MohdR. Tailoring the morphological features of sol–gel synthesized mesoporous hydroxyapatite using fatty acids as an organic modifier. *RSC Adv*. 2019;9(11):6228-40.
116. Phatai P, Futralan CM, Kamonwannasit S, Khemthong P. Structural characterization and antibacterial activity of hydroxyapatite synthesized via sol-gel method using glutinous rice as a template. *J Sol-Gel Sci Technol*. mars 2019;89(3):764-75.
117. Kadu K, Ghosh G, Panicker L, Kowshik M, Roy Ramanan S. Role of surface charges on interaction of rod-shaped magnetic hydroxyapatite nanoparticles with protein. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. mai 2019;177:362-9.
118. Yusoff AHM, Salimi MN, Gopinath SCB, Abdullah MMA, Samsudin EM. Catechin adsorption on magnetic hydroxyapatite nanoparticles: A synergistic interaction with calcium ions. *Materials Chemistry and Physics*. févr 2020;241:122337.
119. Yusoff AHM, Salimi MN, Jamlos MF. Synthesis of Superparamagnetic Hydroxyapatite Core-Shell Nanostructure by a Rapid Sol-Gel Route. *e-J Surf Sci Nanotech*. 2017;15(0):121-6.
120. Pylypchuk IeV, Abramov MV, Petranovska AL, Turanksa SP, Budnyak TM, Kussyak NV, et al. Multifunctional Magnetic Nanocomposites on the Base of Magnetite and Hydroxyapatite for Oncology Applications. In: Fesenko O, Yatsenko L, éditeurs. *Nanochemistry, Biotechnology, Nanomaterials, and Their Applications* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [cité 25 janv 2025]. p. 35-47. (Springer Proceedings in Physics; vol. 214). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-92567-7_2
121. Shi M, Yang L, Wei Z, Zhong W, Li S, Cui J, et al. Humic Acid Removal by Combining the Magnetic Property of Maghemite with the Adsorption Property of Nanosized Hydroxyapatite. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 1 déc 2016;37(12):1724-37.
122. Kaygili O, Dorozhkin SV, Ates T, Al-Ghamdi AA, Yakuphanoglu F. Dielectric properties of Fe doped hydroxyapatite prepared by sol–gel method. *Ceramics International*. août 2014;40(7):9395-402.
123. Bhatt A, Sakai K, Madhyastha R, Murayama M, Madhyastha H, Rath SN. Biosynthesis and characterization of nano magnetic hydroxyapatite (nMHAp): An accelerated approach using simulated body fluid for biomedical applications. *Ceramics International*. déc 2020;46(17):27866-76.
124. Bhatt A, Anbarasu A. Rapid and economic synthesis of bone like apatite using simulated body fluid (SBF). *Materials Research Innovations*. 16 avr 2019;23(3):149-54.

125. Cu A. Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 373C in synthetic body fluids. 2000;
126. Leena M, Rana D, Webster TJ, Ramalingam M. Accelerated synthesis of biomimetic nano hydroxyapatite using simulated body fluid. *Materials Chemistry and Physics*. sept 2016;180:166-72.
127. Yamamoto M, Yabutsuka T, Takai S, Yao T. Biomimetic Method for Production of Magnetic Hydroxyapatite Microcapsules for Enzyme Immobilization. *Trans Mat Res Soc Japan*. 1 juin 2018;43(3):153-6.
128. Tabe Y, Hibino M, Yao T. Fabrication of Hydroxyapatite Microcapsules by Biomimetic Method. *KEM*. févr 2007;330-332:1029-32.
129. Labrag J, Abbadi M, Hnini M, Bekkali CE, Bouziani A, Robert D, et al. Antibiotic photocatalysis and antimicrobial activity of low-cost multifunctional Fe₃O₄@HAp nanocomposites. *J Environ Health Sci Engineer*. 4 juill 2023;21(2):429-40.
130. Mortazavi-Derazkola S, Salavati-Niasari M, Khojasteh H, Amiri O, Ghoreishi SM. Green synthesis of magnetic Fe₃O₄/SiO₂/HAp nanocomposite for atenolol delivery and in vivo toxicity study. *Journal of Cleaner Production*. déc 2017;168:39-50.
131. Ullah I, Zhang W, Yang L, Ullah MW, Atta OM, Khan S, et al. Impact of structural features of Sr/Fe co-doped HAp on the osteoblast proliferation and osteogenic differentiation for its application as a bone substitute. *Materials Science and Engineering: C*. mai 2020;110:110633.
132. Wang Q, Tang Y, Ke Q, Yin W, Zhang C, Guo Y, et al. Magnetic lanthanum-doped hydroxyapatite/chitosan scaffolds with endogenous stem cell-recruiting and immunomodulatory properties for bone regeneration. *J Mater Chem B*. 2020;8(24):5280-92.
133. Guo YP, Long T, Tang S, Guo YJ, Zhu ZA. Hydrothermal fabrication of magnetic mesoporous carbonated hydroxyapatite microspheres: biocompatibility, osteoinductivity, drug delivery property and bactericidal property. *J Mater Chem B*. 2014;2(19):2899.
134. Liu Y, Sun Y, Cao C, Yang Y, Wu Y, Ju D, et al. Long-term biodistribution in vivo and toxicity of radioactive/magnetic hydroxyapatite nanorods. *Biomaterials*. mars 2014;35(10):3348-55.
135. Sarath Chandra V, Elayaraja K, Thanigai Arul K, Ferraris S, Spriano S, Ferraris M, et al. Synthesis of magnetic hydroxyapatite by hydrothermal–microwave technique: Dielectric, protein adsorption, blood compatibility and drug release studies. *Ceramics International*. déc 2015;41(10):13153-63.
136. Benalaya I, Alves G, Lopes J, Silva LR. A Review of Natural Polysaccharides: Sources, Characteristics, Properties, Food and Pharmaceutical Applications [Internet]. 2023 [cité 26 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.preprints.org/manuscript/202312.1862/v1>

137. El-Naggar ME, Othman SI, Allam AA, Morsy OM. Synthesis, drying process and medical application of polysaccharide-based aerogels. *International Journal of Biological Macromolecules*. févr 2020;145:1115-28.
138. Ullah S, Chen X. Fabrication, applications and challenges of natural biomaterials in tissue engineering. *Applied Materials Today*. sept 2020;20:100656.
139. Sathiyavimal S, Vasantharaj S, LewisOscar F, Pugazhendhi A, Subashkumar R. Biosynthesis and characterization of hydroxyapatite and its composite (hydroxyapatite-gelatin-chitosan-fibrin-bone ash) for bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. mai 2019;129:844-52.
140. Song DH, Hoa VB, Kim HW, Khang SM, Cho SH, Ham JS, et al. Edible Films on Meat and Meat Products. *Coatings*. 1 nov 2021;11(11):1344.
141. Qi X, Tester RF. Fructose, galactose and glucose – In health and disease. *Clinical Nutrition ESPEN*. oct 2019;33:18-28.
142. Pandey S, Goswami GK, Nanda KK. Green synthesis of polysaccharide/gold nanoparticle nanocomposite: An efficient ammonia sensor. *Carbohydrate Polymers*. avr 2013;94(1):229-34.
143. Zheng Y, Monty J, Linhardt RJ. Polysaccharide-based nanocomposites and their applications. *Carbohydrate Research*. mars 2015;405:23-32.
144. Lesnichaya MV, Aleksandrova GP, Feoktistova LP, Sapozhnikov AN, Fadeeva TV, Sukhov BG, et al. Silver-containing nanocomposites based on galactomannan and carrageenan: synthesis, structure, and antimicrobial properties. *Russ Chem Bull*. déc 2010;59(12):2323-8.
145. Cavodeau F. Étude de l'amélioration du comportement au feu de polymères thermoplastiques par utilisation d'alumines trihydratées modifiées et de charges de vitrification. these de doctorat. 2019;71.
146. Mészáros I. Development of a Novel Vibrating Sample Magnetometer. *MSF*. févr 2007;537-538:413-8.
147. Pourfaraj H, Rostamzadeh Mansour somayyeh, Zaefizadeh M, Vojood A. Synthesis and Characterization of Cisplatin Magnetic Nanocomposite. *J Med Nanomater Chem* [Internet]. mai 2023 [cité 28 janv 2025];5(1). Disponible sur: <https://doi.org/10.48309/jmnc.2023.1.6>
148. Gabbott P. A Practical Introduction to Differential Scanning Calorimetry. In: Gabbott P, éditeur. *Principles and Applications of Thermal Analysis* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2008 [cité 28 janv 2025]. p. 1-50. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470697702.ch1>

149. Fernández JM, Peltre C, Craine JM, Plante AF. Improved Characterization of Soil Organic Matter by Thermal Analysis Using CO₂ /H₂ O Evolved Gas Analysis. *Environ Sci Technol*. 21 août 2012;46(16):8921-7.
150. Bottom R. Thermogravimetric Analysis. In: Gabbott P, éditeur. *Principles and Applications of Thermal Analysis* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2008 [cité 28 janv 2025]. p. 87-118. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470697702.ch3>
151. Nazhat SN. Thermal Analysis of Biomaterials. In: Gabbott P, éditeur. *Principles and Applications of Thermal Analysis* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2008 [cité 28 janv 2025]. p. 256-85. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470697702.ch7>
152. Srinivasan SY, Paknikar KM, Gajbhiye V, Bodas D. Magneto-Conducting Core/Shell Nanoparticles for Biomedical Applications. *ChemNanoMat*. févr 2018;4(2):151-64.
153. Lai W, Chen C, Ren X, Lee IS, Jiang G, Kong X. Hydrothermal fabrication of porous hollow hydroxyapatite microspheres for a drug delivery system. *Materials Science and Engineering: C*. mai 2016;62:166-72.
154. Yang H, Hao L, Zhao N, Du C, Wang Y. Hierarchical porous hydroxyapatite microsphere as drug delivery carrier. *CrystEngComm*. 2013;15(29):5760.
155. Zhao R, Yang X, Chen C, Chen K, Wang S, Xie C, et al. The anti-tumor effect of p53 gene-loaded hydroxyapatite nanoparticles in vitro and in vivo. *J Nanopart Res*. avr 2014;16(4):2353.
156. Jin J, Zuo G, Xiong G, Luo H, Li Q, Ma C, et al. The inhibition of lamellar hydroxyapatite and lamellar magnetic hydroxyapatite on the migration and adhesion of breast cancer cells. *J Mater Sci: Mater Med*. avr 2014;25(4):1025-31.
157. Gu L, He X, Wu Z. Mesoporous Fe₃O₄/hydroxyapatite composite for targeted drug delivery. *Materials Research Bulletin*. nov 2014;59:65-8.
158. Lin K, Chen L, Liu P, Zou Z, Zhang M, Shen Y, et al. Hollow magnetic hydroxyapatite microspheres with hierarchically mesoporous microstructure for pH-responsive drug delivery. *CrystEngComm*. 2013;15(15):2999.
159. Ramos-Guivar JA, Morales MA, Litterst FJ. γ -Fe₂O₃ nanoparticles embedded in nanohydroxyapatite matrix for magnetic hyperthermia and in vitro osteoblast cell studies. *Ceramics International*. juin 2020;46(8):10658-66.
160. Tseng CL, Chang KC, Yeh MC, Yang KC, Tang TP, Lin FH. Development of a dual-functional Pt-Fe-HAP magnetic nanoparticles application for chemo-hyperthermia treatment of cancer. *Ceramics International*. mai 2014;40(4):5117-27.
161. Liu L, Liu J, Kong X, Cai Y, Yao J. Porous composite scaffolds of hydroxyapatite/silk fibroin via two-step method. *Polymers for Advanced Techs*. juin 2011;22(6):909-14.

162. Iafisco M, Sandri M, Panseri S, Delgado-López JM, Gómez-Morales J, Tampieri A. Magnetic Bioactive and Biodegradable Hollow Fe-Doped Hydroxyapatite Coated Poly(L-lactic) Acid Micro-nanospheres. *Chem Mater*. 9 juill 2013;25(13):2610-7.
163. Ullah I, Gloria A, Zhang W, Ullah MW, Wu B, Li W, et al. Synthesis and Characterization of Sintered Sr/Fe-Modified Hydroxyapatite Bioceramics for Bone Tissue Engineering Applications. *ACS Biomater Sci Eng*. 13 janv 2020;6(1):375-88.
164. Gloria A, Russo T, D'Amora U, Zeppetelli S, D'Alessandro T, Sandri M, et al. Magnetic poly(ϵ -caprolactone)/iron-doped hydroxyapatite nanocomposite substrates for advanced bone tissue engineering. *J R Soc Interface*. 6 mars 2013;10(80):20120833.
165. Tampieri A, Iafisco M, Sandri M, Panseri S, Cunha C, Sprio S, et al. Magnetic Bioinspired Hybrid Nanostructured Collagen–Hydroxyapatite Scaffolds Supporting Cell Proliferation and Tuning Regenerative Process. *ACS Appl Mater Interfaces*. 24 sept 2014;6(18):15697-707.
166. Wu H, Wang T, Bohn MC, Lin F, Spector M. Novel Magnetic Hydroxyapatite Nanoparticles as Non-Viral Vectors for the Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Gene. *Adv Funct Materials*. 8 janv 2010;20(1):67-77.
167. Chen W, Long T, Guo YJ, Zhu ZA, Guo YP. Magnetic hydroxyapatite coatings with oriented nanorod arrays: hydrothermal synthesis, structure and biocompatibility. *J Mater Chem B*. 2014;2(12):1653.
168. Panseri S, Cunha C, D'Alessandro T, Sandri M, Giavaresi G, Marcacci M, et al. Intrinsically superparamagnetic Fe-hydroxyapatite nanoparticles positively influence osteoblast-like cell behaviour. *J Nanobiotechnol*. 2012;10(1):32.
169. Zhao Y, Fan T, Chen J, Su J, Zhi X, Pan P, et al. Magnetic bioinspired micro/nanostructured composite scaffold for bone regeneration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. févr 2019;174:70-9.
170. Koley H, Howlader DR, Bhaumik U. Assessment of Antimicrobial Activity of Different Phytochemicals Against Enteric Diseases in Different Animal Models. In: *New Look to Phytomedicine* [Internet]. Elsevier; 2019 [cité 28 janv 2025]. p. 563-80. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128146194000227>
171. Kaviyarasu K, Mariappan A, Neyvasagam K, Ayeshamariam A, Pandi P, Palanichamy RR, et al. Photocatalytic performance and antimicrobial activities of HAp-TiO₂ nanocomposite thin films by sol-gel method. *Surfaces and Interfaces*. 2017;6:247-55.
172. Turkoz M, Atilla AO, Evis Z. Silver and fluoride doped hydroxyapatites: Investigation by microstructure, mechanical and antibacterial properties. *Ceramics International*. déc 2013;39(8):8925-31.
173. Leung YH, Ng AMC, Xu X, Shen Z, Gethings LA, Wong MT, et al. Mechanisms of Antibacterial Activity of MgO: Non-ROS Mediated Toxicity of MgO Nanoparticles Towards *Escherichia coli*. *Small*. mars 2014;10(6):1171-83.

174. Zhao L, Ashraf M. Influence of Ag/HA Nanocomposite Coating on Biofilm Formation of Joint Prosthesis and Its Mechanism. *West Indian Med J* [Internet]. 20 mai 2016 [cité 21 mars 2025]; Disponible sur: <https://www.mona.uwi.edu/fms/wimj/article/2865>
175. Zakharova OV, Godymchuk AY, Gusev AA, Gulchenko SI, Vasyukova IA, Kuznetsov DV. Considerable Variation of Antibacterial Activity of Cu Nanoparticles Suspensions Depending on the Storage Time, Dispersive Medium, and Particle Sizes. *BioMed Research International*. 2015;2015:1-11.
176. Huang YW, Wu C heng, Aronstam RS. Toxicity of Transition Metal Oxide Nanoparticles: Recent Insights from in vitro Studies. *Materials*. 25 oct 2010;3(10):4842-59.
177. Wu H, Yin JJ, Wamer WG, Zeng M, Lo YM. Reactive oxygen species-related activities of nano-iron metal and nano-iron oxides. *Journal of Food and Drug Analysis*. mars 2014;22(1):86-94.
178. Hajipour MJ, Fromm KM, Akbar Ashkarran A, Jimenez De Aberasturi D, Larramendi IRD, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. oct 2012;30(10):499-511.
179. Kumar A, Pandey AK, Singh SS, Shanker R, Dhawan A. Engineered ZnO and TiO₂ nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of *Escherichia coli*. *Free Radical Biology and Medicine*. nov 2011;51(10):1872-81.
180. Birhanu R, Afrasa MA, Hone FG. Recent Progress of Advanced Metal-Oxide Nanocomposites for Effective and Low-Cost Antimicrobial Activates: A Review. Vasimalai N, éditeur. *Journal of Nanomaterials*. 10 janv 2023;2023:1-25.
181. Vértessy BG, Tóth J. Keeping Uracil Out of DNA: Physiological Role, Structure and Catalytic Mechanism of dUTPases. *Acc Chem Res*. 20 janv 2009;42(1):97-106.
182. Heidelberger, C, Chaudhuri, N. K, Danneberg, P, Mooren, D, Griesbach, L, Duschinsky, R, et al. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds*. 1957;179:663-6.
183. Rutman RJ, Cantarow A, Paschkis KE. THE CATABOLISM OF URACIL IN VIVO AND IN VITRO. *Journal of Biological Chemistry*. sept 1954;210(1):321-9.
184. Ishiba T, Hoffmann AC, Usher J, Elshimali Y, Sturdevant T, Dang M, et al. Frequencies and expression levels of programmed death ligand 1 (PD-L1) in circulating tumor RNA (ctRNA) in various cancer types. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. juin 2018;500(3):621-5.
185. Handschumacher, R. E, Welch, A. D. Microbial studies of 6-azauracil, an antagonist of uracil. *Cancer Res*. 1956;(16):965-9.
186. Cihak, A, Skoda, J, Sorm, F. Inhibition of biosynthesis of the nucleic acid pyrimidine bases by N-formylbiuret, a degradation product of 5-azauracil. *Biochim Biophys Acta*. 1963;(72):125-127.

187. Dostál M, Jelínek R. Embryotoxicity of transplacentally and intraamniotically administered 6-azauridine in mice. *Teratology*. avr 1979;19(2):143-8.
188. Gitel SN, Grieco AJ, Wessler S, Snyderman SE. The Thrombogenicity of 6-Azauridine. *Pathophysiol Haemos Thromb*. 1979;8(1):54-7.
189. Gmeiner WH, Okechukwu CC. Review of 5-FU resistance mechanisms in colorectal cancer: clinical significance of attenuated on-target effects. *Cancer Drug Resist*. 2023;6(2):257-72.
190. Chionh F, Lau D, Yeung Y, Price T, Tebbutt N. Oral versus intravenous fluoropyrimidines for colorectal cancer. *Cochrane Colorectal Cancer Group, éditeur. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]*. 28 juill 2017 [cité 1 févr 2025];2017(8). Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008398.pub2>
191. Thirion, P, Michiels, S, Pignon, J. P, Buyse, M, Braud, A. C, Carlson, R. W, et al. Modulation of Fluorouracil by Leucovorin in Patients With Advanced Colorectal Cancer: An Updated Meta-Analysis. *JCO*. 15 sept 2004;22(18):3766-75.
192. Sargent D, Sobrero A, Grothey A, O'Connell MJ, Buyse M, Andre T, et al. Evidence for Cure by Adjuvant Therapy in Colon Cancer: Observations Based on Individual Patient Data From 20,898 Patients on 18 Randomized Trials. *JCO*. 20 févr 2009;27(6):872-7.
193. Brunton LL, Knollmann BC, Hilal-Dandan R, éditeurs. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. Thirteenth edition. New York: McGraw Hill Medical; 2018. 1 p.
194. Tournigand C, André T, Achille E, Lledo G, Flesh M, Mery-Mignard D, et al. FOLFIRI Followed by FOLFOX6 or the Reverse Sequence in Advanced Colorectal Cancer: A Randomized GERCOR Study. *JCO*. 15 janv 2004;22(2):229-37.
195. Gustavsson B, Carlsson G, Machover D, Petrelli N, Roth A, Schmoll HJ, et al. A Review of the Evolution of Systemic Chemotherapy in the Management of Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*. mars 2015;14(1):1-10.
196. Boige V, Mendiboure J, Pignon JP, Lloriot MA, Castaing M, Barrois M, et al. Pharmacogenetic Assessment of Toxicity and Outcome in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With LV5FU2, FOLFOX, and FOLFIRI: FFCD 2000-05. *JCO*. 20 mai 2010;28(15):2556-64.
197. Si NT, Nhat PV, Nguyen MT. Binding mechanism and SERS spectra of 5-fluorouracil on gold clusters. *Front Chem*. 5 déc 2022;10:1050423.
198. European Directorate for the Quality of Medicines. *European Pharmacopoeia*, 6th ed. Council of Europe, Strasbourg, France,; 2007.
199. Kenneth A. Connors, Gordon L. Amidon, Valentino J. Stella. *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists*, 2nd Edition. 1986. 864 pages.

200. Chemical book. Chemical book [Internet]. Disponible sur: <https://www.chemicalbook.com/>
201. Perren T. The Cytotoxics Handbook. Br J Cancer. sept 1991;64(3):611-2.
202. Agence nationale du médicament, ANSM. Résumé des caractéristiques du produit (RCP) 5-Fluorouracile [Internet]. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM); 2025 janv [cité 2 févr 2025]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=65502207&typedoc=R>
203. Hanna L, Crosby T, Macbeth F. Practical clinical oncology. Cambridge: Cambridge university press; 2008.
204. Katzung, B, Masters, S, Trevor, A. Basic & Clinical Pharmacology. Twelfth Edition. New York, USA; 2009.
205. International Agency for Research on Cancer. In: World Health Organization [Internet]. [cité 31 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.iarc.who.int/>
206. Jubeen F, Liaqat A, Sultan M, Zafar Iqbal S, Sajid I, Sher F. Green synthesis and biological evaluation of novel 5-fluorouracil derivatives as potent anticancer agents. Saudi Pharmaceutical Journal. déc 2019;27(8):1164-73.
207. Merloni F, Ranallo N, Scortichini L, Giampieri R, Berardi R. Tailored therapy in patients treated with fluoropyrimidines: focus on the role of dihydropyrimidine dehydrogenase. CDR [Internet]. 2019 [cité 27 avr 2024]; Disponible sur: <https://www.oaepublish.com/articles/cdr.2018.006>
208. Wigle TJ, Tsvetkova EV, Welch SA, Kim RB. DPYD and Fluorouracil-Based Chemotherapy: Mini Review and Case Report. Pharmaceutics. 1 mai 2019;11(5):199.
209. Lin S, Yue J, Guan X, Yuan P, Wang J, Luo Y, et al. Polymorphisms of *MTHFR* and *TYMS* predict capecitabine-induced hand-foot syndrome in patients with metastatic breast cancer. Cancer Communications. déc 2019;39(1):1-12.
210. Yao CW, Kang KA, Piao MJ, Ryu YS, Fernando PMDJ, Oh MC, et al. Reduced Autophagy in 5-Fluorouracil Resistant Colon Cancer Cells. Biomolecules & Therapeutics. 1 mai 2017;25(3):315-20.
211. Ratti M, Hahne JC, Toppo L, Castelli E, Petrelli F, Passalacqua R, et al. Major innovations and clinical applications of disodium-levofolinate: a review of available preclinical and clinical data. Ther Adv Med Oncol. janv 2019;11:175883591985395.
212. Azwar S, Seow HF, Abdullah M, Faisal Jabar M, Mohtarrudin N. Recent Updates on Mechanisms of Resistance to 5-Fluorouracil and Reversal Strategies in Colon Cancer Treatment. Biology. 31 août 2021;10(9):854.
213. Li S, Zhu S, Yu J. The role of gut microbiota and metabolites in cancer chemotherapy. Journal of Advanced Research. oct 2024;64:223-35.

214. Lamprecht A, Yamamoto H, Takeuchi H, Kawashima Y. Observations in simultaneous microencapsulation of 5-fluorouracil and leucovorin for combined pH-dependent release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. févr 2005;59(2):367-71.
215. Fournier E, Passirani C, Colin N, Breton P, Sagodira S, Benoit JP. Development of novel 5-FU-loaded poly(methylidene malonate 2.1.2)-based microspheres for the treatment of brain cancers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. mars 2004;57(2):189-97.
216. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*. mai 2003;3(5):330-8.
217. Sun X, Liu C, Omer AM, Lu W, Zhang S, Jiang X, et al. pH-sensitive ZnO/carboxymethyl cellulose/chitosan bio-nanocomposite beads for colon-specific release of 5-fluorouracil. *International Journal of Biological Macromolecules*. mai 2019;128:468-79.
218. Hosseini M, Farjadian F, Makhlof ASH. Smart Stimuli-Responsive Nano-sized Hosts for Drug Delivery. In: Hosseini M, Makhlof ASH, éditeurs. *Industrial Applications for Intelligent Polymers and Coatings* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [cité 2 févr 2025]. p. 1-26. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-26893-4_1
219. Burki TK. TAS-102 in metastatic colorectal cancer. *The Lancet Oncology*. janv 2018;19(1):e18.
220. Minko T, Dharap S, Pakunlu R, Wang Y. Molecular Targeting of Drug Delivery Systems to Cancer. *CDT*. 1 mai 2004;5(4):389-406.
221. Roointan A, Farzanfar J, Mohammadi-Samani S, Behzad-Behbahani A, Farjadian F. Smart pH responsive drug delivery system based on poly(HEMA-co-DMAEMA) nanohydrogel. *International Journal of Pharmaceutics*. déc 2018;552(1-2):301-11.
222. Hu X, Li J, Lin W, Huang Y, Jing X, Xie Z. Paclitaxel prodrug nanoparticles combining chemical conjugation and physical entrapment for enhanced antitumor efficacy. *RSC Adv*. 2014;4(72):38405-11.
223. Hu X, Jing X. Biodegradable amphiphilic polymer–drug conjugate micelles. *Expert Opinion on Drug Delivery*. oct 2009;6(10):1079-90.
224. Jabr-Milane L, Van Vlerken L, Devalapally H, Shenoy D, Komareddy S, Bhavsar M, et al. Multi-functional nanocarriers for targeted delivery of drugs and genes. *Journal of Controlled Release*. sept 2008;130(2):121-8.
225. Kircheis R, Wightman L, Schreiber A, Robitza B, Rössler V, Kursu M, et al. Polyethylenimine/DNA complexes shielded by transferrin target gene expression to tumors after systemic application. *Gene Ther*. 1 janv 2001;8(1):28-40.
226. Sadeghpour H. Double domain polyethylenimine-based nanoparticles for integrin receptor mediated delivery of plasmid DNA. *SCIENTIFIC ReportS*. 2018;

227. Sheikhsaran F, Sadeghpour H, Khalvati B, Entezar-Almahdi E, Dehshahri A. Tetraiodothyroacetic acid-conjugated polyethylenimine for integrin receptor mediated delivery of the plasmid encoding IL-12 gene. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. févr 2017;150:426-36.
228. Bennis J, Mahato R, Kim S. Optimization of factors influencing the transfection efficiency of folate-PEG-folate-graft-polyethylenimine. *Journal of Controlled Release*. 19 févr 2002;79(1-3):255-69.
229. Khallaf RA, Salem HF, Abdelbary A. 5-Fluorouracil shell-enriched solid lipid nanoparticles (SLN) for effective skin carcinoma treatment. *Drug Delivery*. 21 nov 2016;23(9):3452-60.
230. Gu C, Le V, Lang M, Liu J. Preparation of polysaccharide derivatives chitosan-graft-poly(ϵ -caprolactone) amphiphilic copolymer micelles for 5-fluorouracil drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. avr 2014;116:745-50.
231. Horo H, Das S, Mandal B, Kundu LM. Development of a photoresponsive chitosan conjugated prodrug nano-carrier for controlled delivery of antitumor drug 5-fluorouracil. *International Journal of Biological Macromolecules*. janv 2019;121:1070-6.
232. Zheng Y, Yang W, Wang C, Hu J, Fu S, Dong L, et al. Nanoparticles based on the complex of chitosan and polyaspartic acid sodium salt: Preparation, characterization and the use for 5-fluorouracil delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. nov 2007;67(3):621-31.
233. Akinyelu J, Singh M. Folate-tagged chitosan-functionalized gold nanoparticles for enhanced delivery of 5-fluorouracil to cancer cells. *Appl Nanosci*. févr 2019;9(1):7-17.
234. Li L, Chen L, Zhang H, Yang Y, Liu X, Chen Y. Temperature and magnetism bi-responsive molecularly imprinted polymers: Preparation, adsorption mechanism and properties as drug delivery system for sustained release of 5-fluorouracil. *Materials Science and Engineering: C*. avr 2016;61:158-68.
235. Hariharan MS, Sivaraj R, Ponsubha S, Jagadeesh R, Enoch IVMV. 5-Fluorouracil-loaded β -cyclodextrin-carrying polymeric poly(methylmethacrylate)-coated samarium ferrite nanoparticles and their anticancer activity. *J Mater Sci*. mars 2019;54(6):4942-51.
236. Kasprzak A, Gunka K, Fronczak M, Bystrzejewski M, Poplawska M. Folic Acid-Navigated and β -Cyclodextrin-Decorated Carbon-Encapsulated Iron Nanoparticles as the Nanotheranostic Platform for Controlled Release of 5-Fluorouracil. *ChemistrySelect*. 17 oct 2018;3(38):10821-30.
237. Zheng XF, Lian Q, Yang H, Wang X. Surface Molecularly Imprinted Polymer of Chitosan Grafted Poly(methyl methacrylate) for 5-Fluorouracil and Controlled Release. *Sci Rep*. 19 févr 2016;6(1):21409.

238. Lu X, Zhang Y, Wang L. Preparation and *in vitro* drug-release behavior of 5-fluorouracil-loaded poly(hydroxybutyrate- *co* -hydroxyhexanoate) nanoparticles and microparticles. *J of Applied Polymer Sci.* 5 juin 2010;116(5):2944-50.
239. Wang Y, Li P, Chen L, Gao W, Zeng F, Kong LX. Targeted delivery of 5-fluorouracil to HT-29 cells using high efficient folic acid-conjugated nanoparticles. *Drug Delivery.* 17 févr 2015;22(2):191-8.
240. Maghsoudi A, Shojaosadati SA, Vasheghani Farahani E. 5-Fluorouracil-Loaded BSA Nanoparticles: Formulation Optimization and In Vitro Release Study. *AAPS PharmSciTech.* déc 2008;9(4):1092-6.
241. Bhadra D, Bhadra S, Jain S, Jain NK. A PEGylated dendritic nanoparticulate carrier of fluorouracil. *International Journal of Pharmaceutics.* mai 2003;257(1-2):111-24.
242. Jin Y, Ren X, Wang W, Ke L, Ning E, Du L, et al. A 5-fluorouracil-loaded pH-responsive dendrimer nanocarrier for tumor targeting. *International Journal of Pharmaceutics.* nov 2011;420(2):378-84.
243. Soni V, Kohli DV, Jain SK. Transferrin-conjugated liposomal system for improved delivery of 5-fluorouracil to brain. *Journal of Drug Targeting.* janv 2008;16(1):73-8.
244. Handali S, Moghimipour E, Kouchak M, Ramezani Z, Amini M, Angali KA, et al. New folate receptor targeted nano liposomes for delivery of 5-fluorouracil to cancer cells: Strong implication for enhanced potency and safety. *Life Sciences.* juin 2019;227:39-50.
245. González-Lavado E, Valdivia L, García-Castaño A, González F, Pesquera C, Valiente R, et al. Multi-walled carbon nanotubes complement the anti-tumoral effect of 5-Fluorouracil. *Oncotarget.* 12 mars 2019;10(21):2022-9.
246. Chen L, She X, Wang T, He L, Shigdar S, Duan W, et al. Overcoming acquired drug resistance in colorectal cancer cells by targeted delivery of 5-FU with EGF grafted hollow mesoporous silica nanoparticles. *Nanoscale.* 2015;7(33):14080-92.
247. Ghasemiyeh P, Mohammadi-Samani S. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel drug delivery systems: applications, advantages and disadvantages. *Res Pharma Sci.* 2018;13(4):288.
248. Mohammadi-Samani S, Zojaji S, Entezar-Almahdi E. Piroxicam loaded solid lipid nanoparticles for topical delivery: Preparation, characterization and in vitro permeation assessment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* oct 2018;47:427-33.
249. Mohiyuddin S, Naqvi S, Packirisamy G. Enhanced antineoplastic/therapeutic efficacy using 5-fluorouracil-loaded calcium phosphate nanoparticles. *Beilstein J Nanotechnol.* 20 sept 2018;9:2499-515.
250. Jin Y, Yang F, Du L. Nanoassemblies containing a fluorouracil/zidovudine glyceryl prodrug with phospholipase A2-triggered drug release for cancer treatment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* déc 2013;112:421-8.

251. Osial M, Ha GN, Vu VH, Nguyen PT, Niececka D, Pietrzyk-Thel P, et al. One-pot synthesis of magnetic hydroxyapatite (SPION/HAp) for 5-fluorouracil delivery and magnetic hyperthermia. *J Nanopart Res.* janv 2024;26(1):7.
252. Dash S, Murthy PN, Nath L, Chowdhury P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica.* 2010;67(3):217-223.
253. Sankalia JM, Sankalia MG, Mashru RC. Drug release and swelling kinetics of directly compressed glipizide sustained-release matrices: Establishment of level A IVIVC. *Journal of Controlled Release.* juill 2008;129(1):49-58.
254. Mulye NV, Turco SJ. A Simple Model Based on First Order Kinetics to Explain Release of Highly Water Soluble Drugs from Porous Dicalcium Phosphate Dihydrate Matrices. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* janv 1995;21(8):943-53.
255. Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* déc 1963;52(12):1145-9.
256. Hixson AW, Crowl JH. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Industrial and Engineering Chemistry.* 1931;(23):923-31.
257. Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics.* mai 1983;15(1):25-35.
258. Korsmeyer RW, Lustig SR, Peppas NA. Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. I. Mathematical modeling. *J Polym Sci B Polym Phys.* févr 1986;24(2):395-408.
259. Wan Y, Cui T, Xiong G, Li W, Tu J, Zhu Y, et al. Magnetic lamellar nanohydroxyapatite as a novel nanocarrier for controlled delivery of 5-fluorouracil. *Ceramics International.* avr 2017;43(6):4957-64.
260. Çiftçi H, Arpa MD, Gülaçar İM, Özcan L, Ersoy B. Development and evaluation of mesoporous montmorillonite/magnetite nanocomposites loaded with 5-Fluorouracil. *Microporous and Mesoporous Materials.* août 2020;303:110253.
261. Shinde G, Shiyani S, Shelke S, Chouthi R, Kulkarni D, Marvaniya K. Enhanced brain targeting efficiency using 5-FU (fluorouracil) lipid-drug conjugated nanoparticles in brain cancer therapy. *Prog Biomater.* déc 2020;9(4):259-75.
262. Rohani S, Ragab D, Costa. Controlled release of 5-fluorouracil and progesterone from magnetic nanoaggregates. *IJN.* juin 2012;3167.
263. R. Seda Tıgılı Aydın, Mehlika Pulat. 5-Fluorouracil Encapsulated Chitosan Nanoparticles for pH-Stimulated Drug Delivery: Evaluation of Controlled Release Kinetics. Hindawi Publishing Corporation. 2012;Volume 2012(Article ID 313961):10 pages.

264. Aydin NE. Effect of Temperature on Drug Release: Production of 5-FU-Encapsulated Hydroxyapatite-Gelatin Polymer Composites via Spray Drying and Analysis of In Vitro Kinetics. *International Journal of Polymer Science*. 23 mars 2020;2020:1-13.
265. Moodley T, Singh M. Polymeric Mesoporous Silica Nanoparticles for Enhanced Delivery of 5-Fluorouracil In Vitro. *Pharmaceutics*. 19 juin 2019;11(6):288.
266. Kevadiya BD, Patel TA, Jhala DD, Thumbar RP, Brahmabhatt H, Pandya MP, et al. Layered inorganic nanocomposites: A promising carrier for 5-fluorouracil (5-FU). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. mai 2012;81(1):91-101.
267. Sivakumar D. Synthesis and characterization of superparamagnetic Iron Oxide nanoparticles (SPIONs) stabilized by Glucose, Fructose and Sucrose. 2017;
268. Montgomery DC. *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons, Inc. 2017;(9ème édition):858.
269. YOUNG, R.A. *The Rietveld Method*. Oxford; 1993. 309 p. (International Union of Crystallography Monographs on Crystallography).
270. Toby BH. Judging quality: Catching common refinement problems.
271. Meneghini C, Dalconi MC, Nuzzo S, Mobilio S, Wenk RH. Rietveld Refinement on X-Ray Diffraction Patterns of Bioapatite in Human Fetal Bones. *Biophysical Journal*. mars 2003;84(3):2021-9.
272. Sinha A, Abram V, Lutterotti L, Gialanella S. Rietveld refinement of electron diffraction patterns of nanocrystalline materials using MAUD: Two-Beam Dynamical Correction Implementation and Applications. *Materials*. 1 févr 2025;18(3):650.
273. Giannuzzi LA. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, 4th Edition, ISBN:978-1-4939-6674-5. *Microsc Microanal*. déc 2018;24(6):550.
274. Stuart BH. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2004 [cité 2 sept 2025]. (Analytical Techniques in the Sciences). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0470011149>
275. Michael E. Brown. *Introduction to thermal analysis techniques and applications*. Second Edition. Springer, éditeur. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow; 2001.
276. Foner S. Versatile and Sensitive Vibrating-Sample Magnetometer. *Review of Scientific Instruments*. 1 juill 1959;30(7):548-57.
277. Zawisza K, Sobierajska P, Nowak N, Kedziora A, Korzekwa K, Pozniak B, et al. Preparation and preliminary evaluation of bio-nanocomposites based on hydroxyapatites with antibacterial properties against anaerobic bacteria. *Materials Science and Engineering: C*. janv 2020;106:110295.

278. Thanh DTM, Phuong NT, Hai DT, Giang HN, Thom NT, Nam PT, et al. Influence of experimental conditions during synthesis on the physicochemical properties of the spion/hydroxyapatite nanocomposite for magnetic hyperthermia application. *magnetochemistry*. 12 août 2022;8(8):90.
279. Kim DH, Min KH, Pack SP. Efficient bioactive surface coatings with calcium minerals: step-wise biomimetic transformation of vaterite to carbonated apatite. *Biomimetics*. 2 juill 2024;9(7):402.
280. Yan L, Bing J, Wu H. The behavior of ozone on different iron oxides surface sites in water. *Sci Rep*. 14 oct 2019;9(1):14752.
281. Stan M, Lung I, Soran ML, Opris O, Leostean C, Popa A, et al. Data on the removal of Optilan Blue dye from aqueous media using starch-coated green synthesized magnetite nanoparticles. *Data in Brief*. août 2019;25:104165.
282. Sahoo GC, Halder R, Jedidi I, Oun A, Nasri H, Roychoudhury P, et al. Preparation and characterization of microfiltration apatite membrane over low cost clay-alumina support for decolorization of dye solution. *Desalination and Water Treatment*. déc 2016;57(57):27700-9.
283. Wingender B, Azuma M, Krywka C, Zaslansky P, Boyle J, Deymier A. Carbonate substitution significantly affects the structure and mechanics of carbonated apatites. *Acta Biomaterialia*. mars 2021;122:377-86.
284. Pietrzyk P, Phuong NT, Olusegun SJ, Hong Nam N, Thanh DTM, Giersig M, et al. Titan Yellow and Congo Red Removal with Superparamagnetic Iron-Oxide-Based Nanoparticles Doped with Zinc. *Magnetochemistry*. 14 août 2022;8(8):91.
285. Bang LT, Ramesh S, Purbolaksono J, Long BD, Chandran H, Ramesh S, et al. Development of a bone substitute material based on alpha-tricalcium phosphate scaffold coated with carbonate apatite/poly-epsilon-caprolactone. *Biomed Mater*. 30 juill 2015;10(4):045011.
286. Soares V, Moraes AFDSD, Santos JD, Grando MC, Luz CD, Colpani GL, et al. Obtaining of Fe₃O₄@C Core-Shell Nanoparticles as an Adsorbent of Tetracycline in Aqueous Solutions. *Mat Res*. 2019;22(suppl 1):e20180857.
287. Hai DT, Phuong NT, Cong PX, Nam NH, Thu LP, Trang NTT, et al. Hydroxyapatite/superparamagnetic iron oxide nanoparticles nanocomposite for Congo red adsorption. *Desalination and Water Treatment*. juin 2023;298:184-98.
288. Dagdelen S, Mackiewicz M, Osial M, Waleka-Bargiel E, Romanski J, Krysinski P, et al. Redox-responsive degradable microgel modified with superparamagnetic nanoparticles exhibiting controlled, hyperthermia-enhanced drug release. *J Mater Sci*. mars 2023;58(9):4094-114.

289. Osial M, Nowicki M, Klejman E, Fraś L. Investigation of the well-dispersed magnetorheological oil-based suspension with superparamagnetic nanoparticles using modified split Hopkinson pressure bar. *Rheol Acta*. févr 2022;61(2):111-22.
290. Jamshidiyan M, Shirani AS, Alahyarizadeh Gh. Solvothermal synthesis and characterization of magnetic Fe₃ O₄ nanoparticle by different sodium salt sources. *Materials Science-Poland*. 24 févr 2017;35(1):50-7.
291. Nam PT, Lam TD, Huong HT, Phuong NT, Thu Trang NT, Hoang T, et al. Electrodeposition and Characterization of Hydroxyapatite on TiN/316LSS. *J nanosci nanotechnol*. 1 déc 2015;15(12):9991-10001.
292. Antonakos A, Liarokapis E, Leventouri T. Micro-Raman and FTIR studies of synthetic and natural apatites. *Biomaterials*. juill 2007;28(19):3043-54.
293. Benataya K, Lakrat M, Elansari LL, Mejdoubi E. Synthesis of B-type carbonated hydroxyapatite by a new dissolution-precipitation method. *Materials Today: Proceedings*. 2020;31:S83-8.
294. Anutrasakda W, Phasuk A, Tangku C. Effect of different CO₃²⁻ to PO₄³⁻ molar ratios on the properties, morphology, and Pb(II) removal performance of carbonated hydroxyapatite. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. févr 2021;9(1):104658.
295. Abifarin JK, Obada DO, Dauda ET, Dodoo-Arhin D. Experimental data on the characterization of hydroxyapatite synthesized from biowastes. *Data in Brief*. oct 2019;26:104485.
296. Landi E, Tampieri A, Celotti G, Vichi L, Sandri M. Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite. *Biomaterials*. mai 2004;25(10):1763-70.
297. Iconaru SL, Motelica-Heino M, Guegan R, Beuran M, Costescu A, Predoi D. Adsorption of Pb (II) Ions onto Hydroxyapatite Nanopowders in Aqueous Solutions. *Materials*. 7 nov 2018;11(11):2204.
298. Otsuka Y, Ben-Nissan B, Kono H, Sasaki T, Kikuchi M. Mechanochemical synthesis and characterization of strontium substituted apatite for biomedical application. *Open Ceramics*. déc 2023;16:100459.
299. Hammerli J, Hermann J, Tollan P, Naab F. Measuring in situ CO₂ and H₂O in apatite via ATR-FTIR. *Contrib Mineral Petrol*. déc 2021;176(12):105.
300. Jerdioui S, Zahraoui K, Elansari LL, Bouammali H, Zelmimi N, Taibi M, et al. Synthesis and Characterization of Phosphocalcic Apatites with Phosphite Ions for Biomedical Applications. *Moroccan Journal of Chemistry [Internet]*. 16 nov 2023 [cité 13 févr 2025];12(1). Disponible sur: <https://revues.imist.ma/index.php/morjchem/article/view/44324>

301. Oseh JO, Norddin MNAM, Gbadamosi AO, Ismail I, Ngouangna EN, Duru UI, et al. Effect of Modified Hydroxyapatite Nanoparticles on Sodium and Calcium Cation-Contaminated Bentonite-Water Solutions at High Temperatures. *Arab J Sci Eng.* déc 2023;48(12):16989-7021.
302. Ali IM, Khalil M, Madbouly HA, Soliman AM. Efficient lanthanides adsorption using magnetic hydroxyapatite incorporated cobalt. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry.* 8 déc 2023;103(15):3648-67.
303. Sundaram NM, Murugesan S. Preparation and characterization of an iron oxide-hydroxyapatite nanocomposite for potential bone cancer therapy. *IJN.* oct 2015;99.
304. Bulina NV, Makarova SV, Baev SG, Matvienko AA, Gerasimov KB, Logutenko OA, et al. A Study of Thermal Stability of Hydroxyapatite. *Minerals.* 24 nov 2021;11(12):1310.
305. Combes C, Rey C. Biomatériaux à base de phosphates de calcium. Verres et céramiques [Internet]. avr 2013 [cité 16 févr 2025]; Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/doi/10.51257/a/v1/n4950>
306. Tõnsuaadu K, Gross KA, Plūduma L, Veiderma M. A review on the thermal stability of calcium apatites. *J Therm Anal Calorim.* nov 2012;110(2):647-59.
307. Khidhir AG, Hamadi AS. Central Composite Design Method for the Preparation, Stability and Properties of Water-in-Diesel Nano Emulsions. *ACES.* 2018;08(03):176-89.
308. Antonakos A, Liarokapis E, Kyriacou A, Leventouri T. Raman and IR studies of the effect of Fe substitution in hydroxyapatites and deuterated hydroxyapatite. *American Mineralogist.* janv 2017;102(1):85-91.
309. Tite T, Popa AC, Balescu LM, Bogdan IM, Pasuk I, Ferreira JMF, et al. Cationic Substitutions in Hydroxyapatite: Current Status of the Derived Biofunctional Effects and Their In Vitro Interrogation Methods. *Materials.* 24 oct 2018;11(11):2081.
310. Lê S, Josse J, Husson F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software.* 18 mars 2008;25:1-18.
311. Jolliffe IT, Cadima J. Principal component analysis: a review and recent developments. *Phil Trans R Soc A.* 13 avr 2016;374(2065):20150202.
312. Derringer G, Suich R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology.* oct 1980;12(4):214-9.
313. EDQM. 5.21. Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé. 2020 [cité 12 avr 2025]. *Chimiométrie.* Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/-/revised-general-chapter-5.21-chemometric-methods-applied-to-analytical-data-published-for-public-comment-in-pharmeuropa%0A>

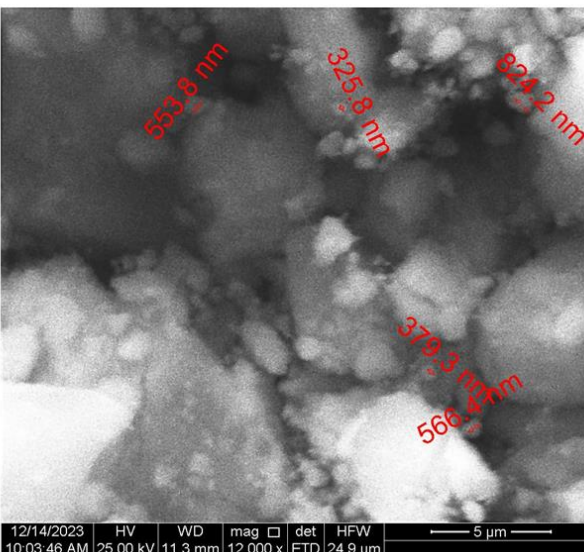
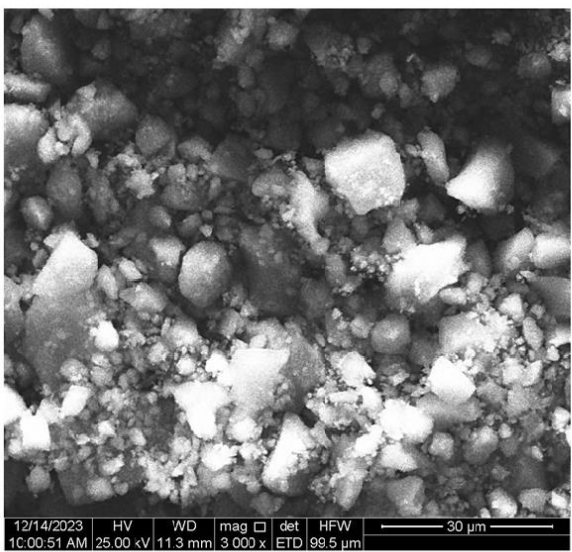
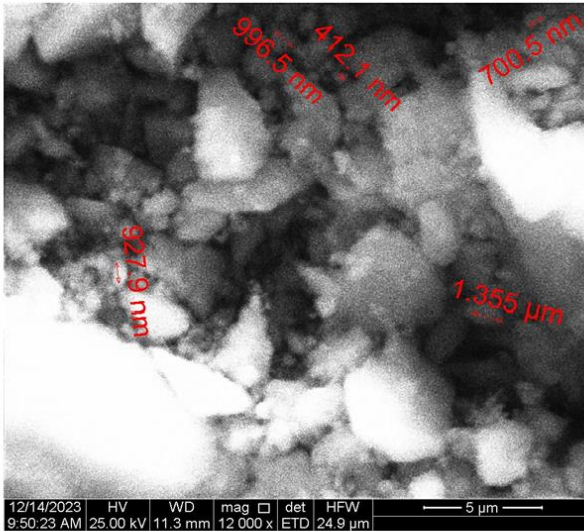
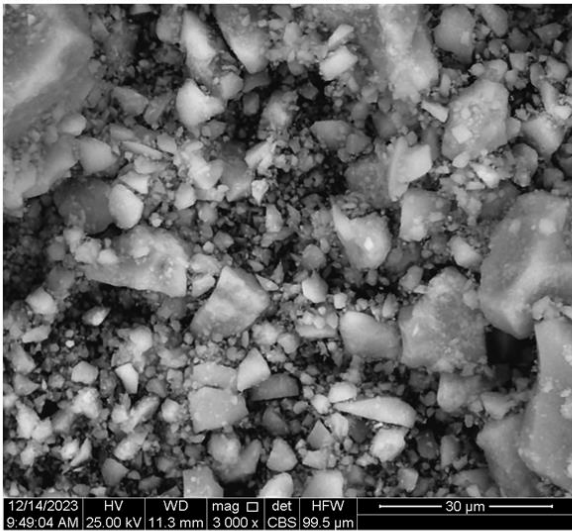
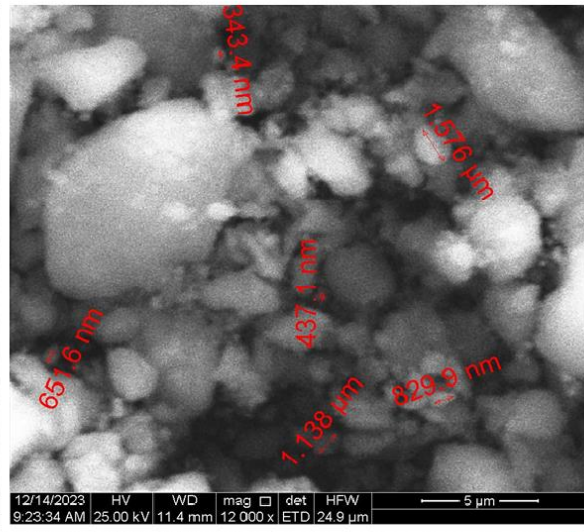
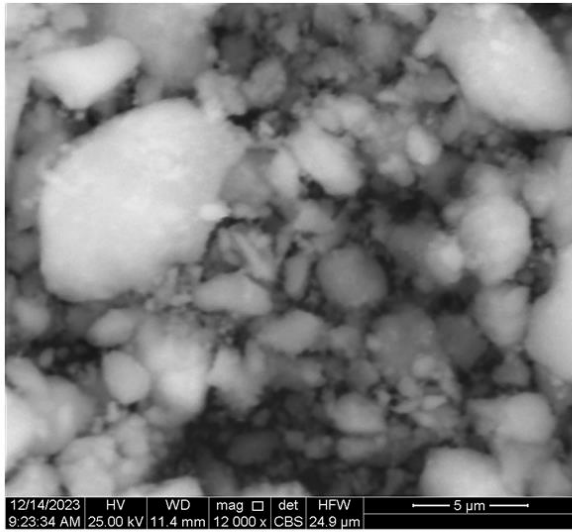
314. Tseng CL, Chen JC, Wu YC, Fang HW, Lin FH, Tang TP. Development of lattice-inserted 5-Fluorouracil-hydroxyapatite nanoparticles as a chemotherapeutic delivery system. *J Biomater Appl.* oct 2015;30(4):388-97.
315. Cullity. B.D, Stock. S.R. *Elements of X-Ray Diffraction.* Third Edition. 2001. 66 p.
316. Cescon M, Chiefa F, Chenet T, Mancinelli M, Stevanin C, Martucci A, et al. Hydroxyapatite-Based Adsorbent Materials from Aquaculture Waste for Remediation of Metal-Contaminated Waters: Investigation of Cadmium Removal. *Clean Technol.* 14 avr 2025;7(2):34.
317. Sarda S, Errassifi F, Marsan O, Geffre A, Trumel C, Drouet C. Adsorption of tranexamic acid on hydroxyapatite: Toward the development of biomaterials with local hemostatic activity. *Materials Science and Engineering: C.* sept 2016;66:1-7.
318. Lesiak B, Rangam N, Jiricek P, Gordeev I, Tóth J, Kövér L, et al. Surface Study of Fe₃O₄ Nanoparticles Functionalized With Biocompatible Adsorbed Molecules. *Front Chem.* 4 oct 2019;7:642.
319. Manoj Kumar R, Kuntal KK, Singh S, Gupta P, Bhushan B, Gopinath P, et al. Electrophoretic deposition of hydroxyapatite coating on Mg–3Zn alloy for orthopaedic application. *Surface and Coatings Technology.* févr 2016;287:82-92.
320. Kawsar Md, Sahadat Hossain Md, Tabassum S, Islam D, Bahadur NM, Ahmed S. Crystal structure modification of nano-hydroxyapatite using organic modifiers and hydrothermal technique. *RSC Adv.* 2024;14(40):29665-74.
321. Shah ST, Chowdhury ZZ, Johan MohdRB, Badruddin IA, Khaleed HMT, Kamangar S, et al. Surface Functionalization of Magnetite Nanoparticles with Multipotent Antioxidant as Potential Magnetic Nanoantioxidants and Antimicrobial Agents. *Molecules.* 25 janv 2022;27(3):789.
322. LeGeros RZ. *Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates: Clinical Orthopaedics and Related Research.* févr 2002;395:81-98.
323. Skwarek E. Thermal analysis of hydroxyapatite with adsorbed oxalic acid. *J Therm Anal Calorim.* oct 2015;122(1):33-45.
324. Vallet-Regi.M, RodrmHiguez-Lorenzo.L.M, Ferreira.J.M.F. *Colloidal processing of hydroxyapatite.* 2001;
325. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escalera LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta.* 15 sept 2008;76(5):965-77.
326. Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Vander Elst L, et al. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem Rev.* 1 juin 2008;108(6):2064-110.

327. Landi E, Celotti G, Logroscino G, Tampieri A. Carbonated hydroxyapatite as bone substitute. *Journal of the European Ceramic Society*. janv 2003;23(15):2931-7.
328. Dorozhkin SV. Calcium Orthophosphates as Bioceramics: State of the Art. *JFB*. 30 nov 2010;1(1):22-107.
329. Lu A, Salabas EL, Schüth F. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application. *Angew Chem Int Ed*. 12 févr 2007;46(8):1222-44.
330. Abraham J. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. In: Tietje C, Brouder A, éditeurs. *Handbook of Transnational Economic Governance Regimes* [Internet]. Brill | Nijhoff; 2005 [cité 24 sept 2025]. p. 1041-53. Disponible sur: https://brill.com/view/book/edcoll/9789004181564/Bej.9789004163300.i-1081_085.xml
331. Leelakanok N, Geary S, Salem A. Fabrication and Use of Poly(d,l-lactide-co-glycolide)-Based Formulations Designed for Modified Release of 5-Fluorouracil. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. févr 2018;107(2):513-28.
332. Samy M, Abd El-Alim SH, Rabia AEG, Amin A, Ayoub MMH. Formulation, characterization and in vitro release study of 5-fluorouracil loaded chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. août 2020;156:783-91.
333. Anirudhan TS, Christa J. Temperature and pH sensitive multi-functional magnetic nanocomposite for the controlled delivery of 5-fluorouracil, an anticancer drug. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 1 févr 2020;55:101476.
334. Schön T, Werngren J, Machado D, Borroni E, Wijkander M, Lina G, et al. Antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex isolates – the EUCAST broth microdilution reference method for MIC determination. *Clinical Microbiology and Infection*. nov 2020;26(11):1488-92.
335. M100-S11, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology Newsletter*. mars 2001;23(6):49.
336. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 12th edition. Wayne, Pennsylvania: Clinical Laboratory Standards Institute; 2024. 102 p. (Clinical and Laboratory Standards Institute).
337. Bank RPD. RCSB PDB - URF Ligand Summary Page 5-FLUOROURACIL [Internet]. [cité 1 mai 2025]. Disponible sur: https://www.rcsb.org/ligand/URF?utm_source=chatgpt.com
338. Crystallography Open Database (COD). Crystallography Open Database. 1994 [cité 27 mars 2025]. Magnétite (Fe₃O₄) - Crystallography Open Database. Disponible sur: <https://www.crystallography.net/cod/9006189.html>

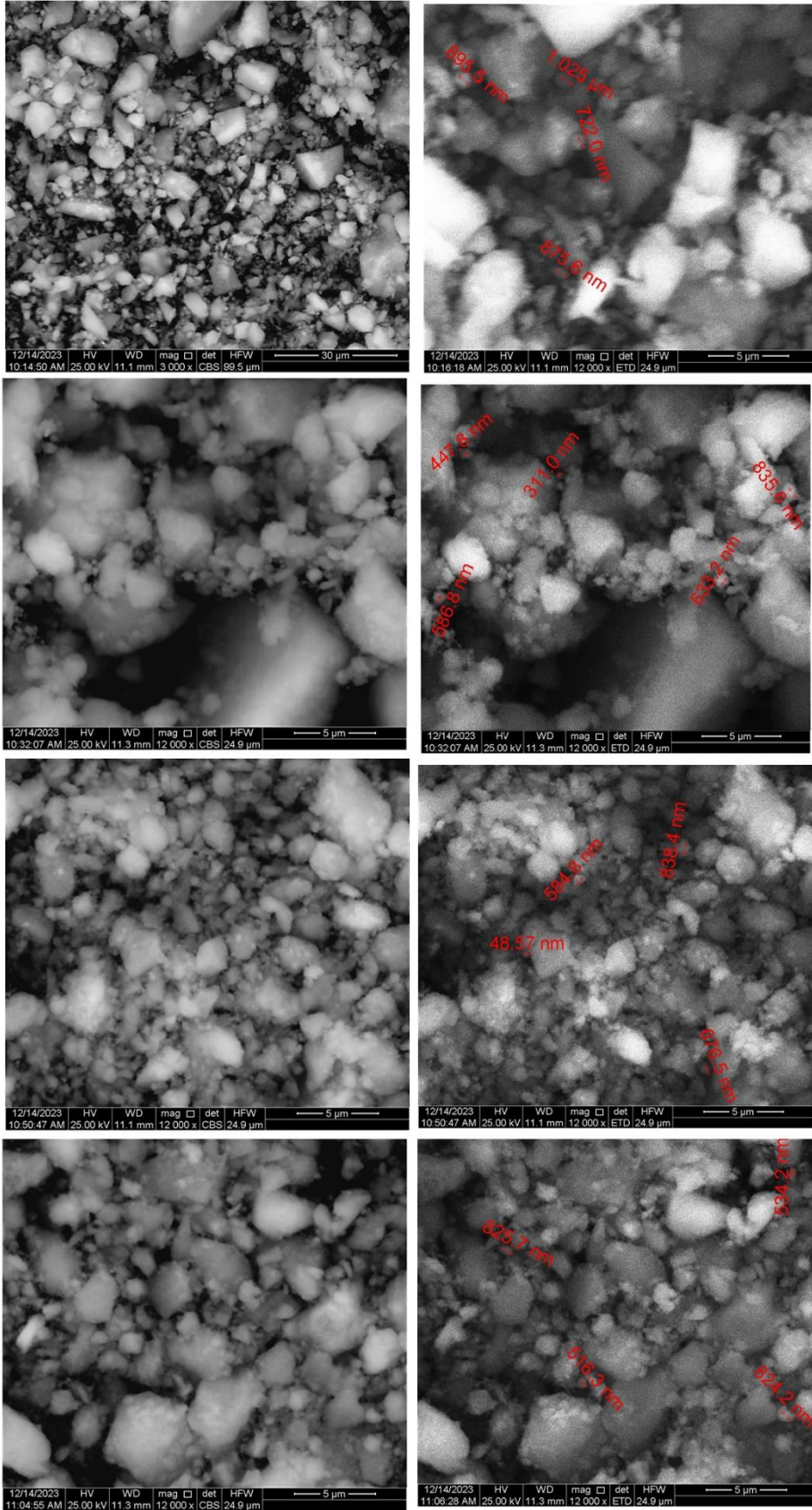
339. Crystallography Open Database (COD). Crystallography Open Database. 2010 [cité 27 mars 2025]. Hydroxyapatite (HAp) - Crystallography Open Database. Disponible sur: <https://www.crystallography.net/cod/2300273.html>
340. Bank RPD. PROTEIN DATA BANK. [cité 27 mars 2025]. RCSB PDB - 1HVY: Human thymidylate synthase complexed with dUMP and Raltitrexed, an antifolate drug, is in the closed conformation. Disponible sur: <https://www.rcsb.org/structure/1HVY>
341. Seyfoori A, Ebrahimi SAS, Omidian S, Naghib SM. Multifunctional magnetic ZnFe₂O₄-hydroxyapatite nanocomposite particles for local anti-cancer drug delivery and bacterial infection inhibition: An in vitro study. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 1 mars 2019;96:503-8.
342. Morsi MA, Hezma AEM. Effect of iron doped hydroxyapatite nanoparticles on the structural, morphological, mechanical and magnetic properties of polylactic acid polymer. *Journal of Materials Research and Technology*. avr 2019;8(2):2098-106.
343. Chowdhury SM, Hossain MdN, Rafe MdR. In silico design and evaluation of novel 5-fluorouracil analogues as potential anticancer agents. *Heliyon*. sept 2020;6(9):e04978.

ANNEXES

Annexe 1: les images MEB de nanocomposites synthétisés avec fructose

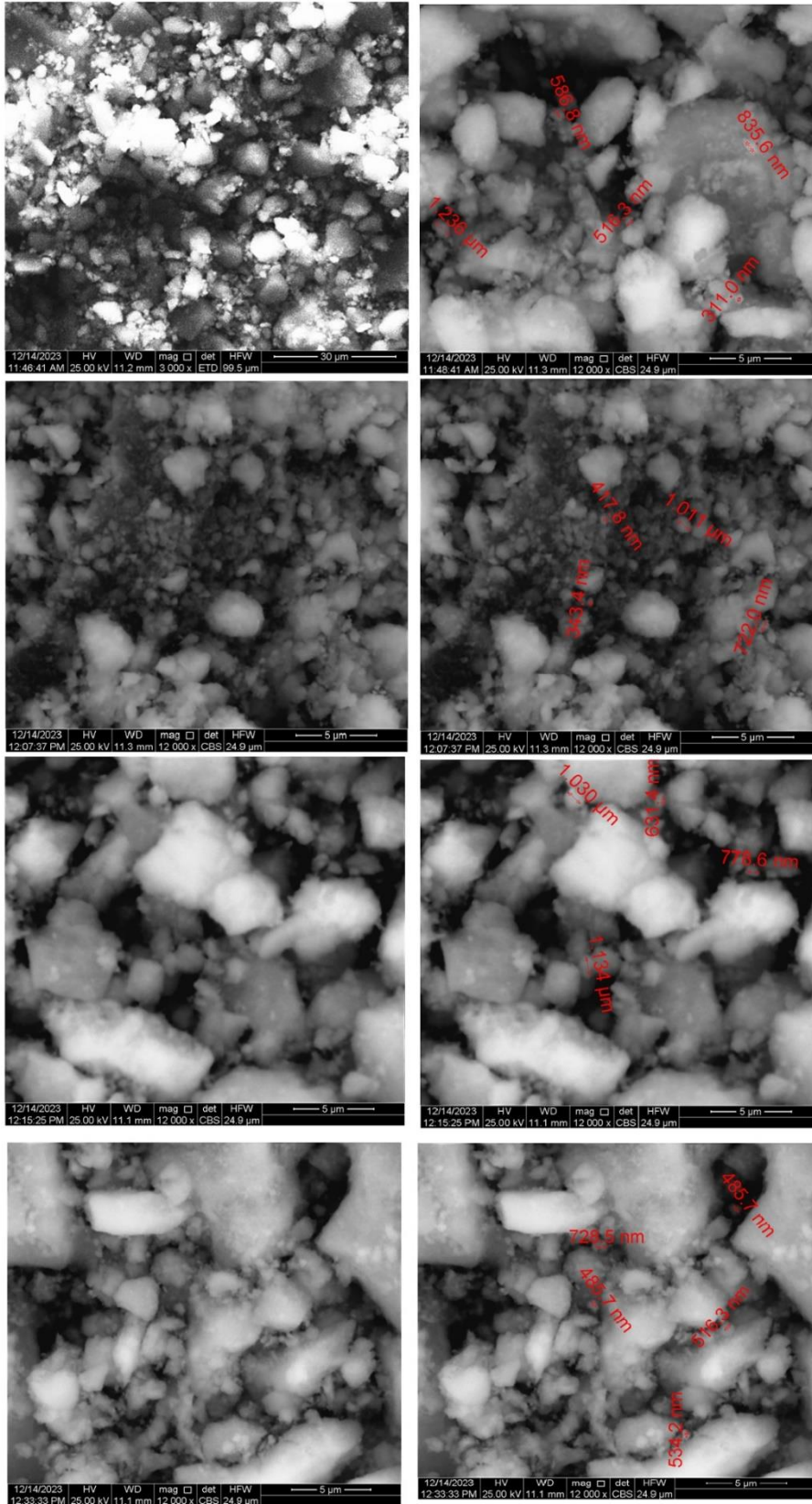


ANNEXES



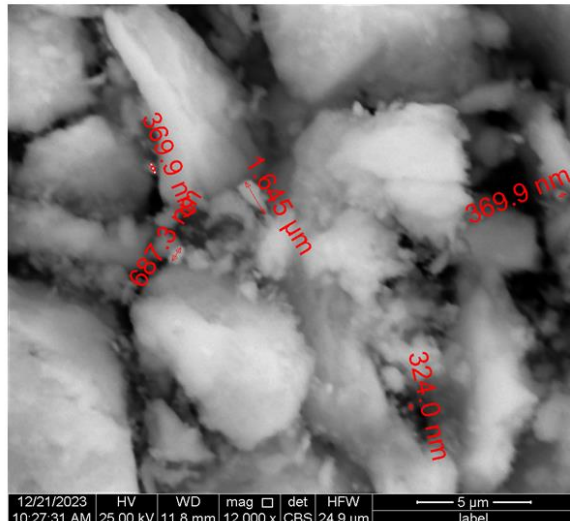
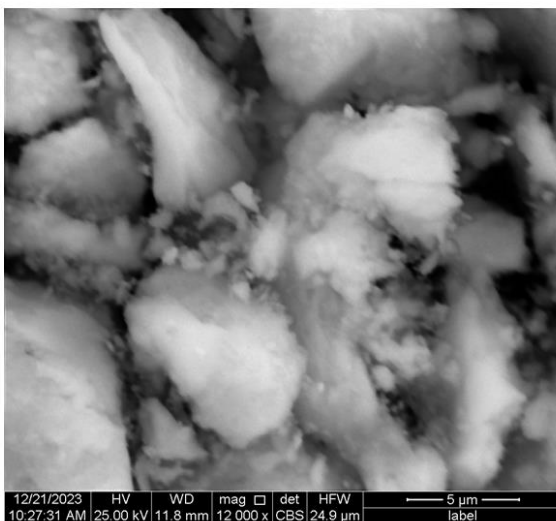
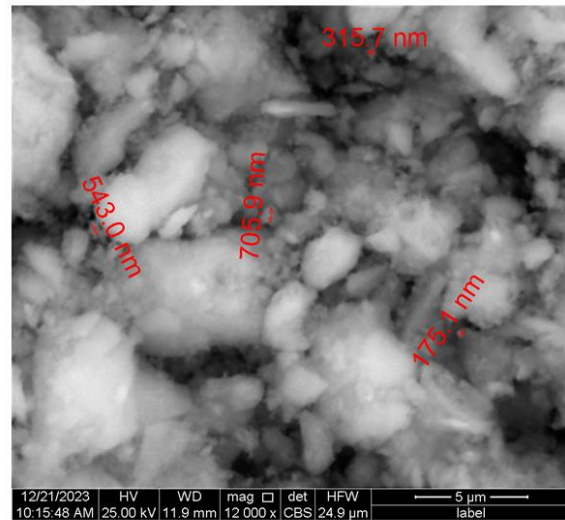
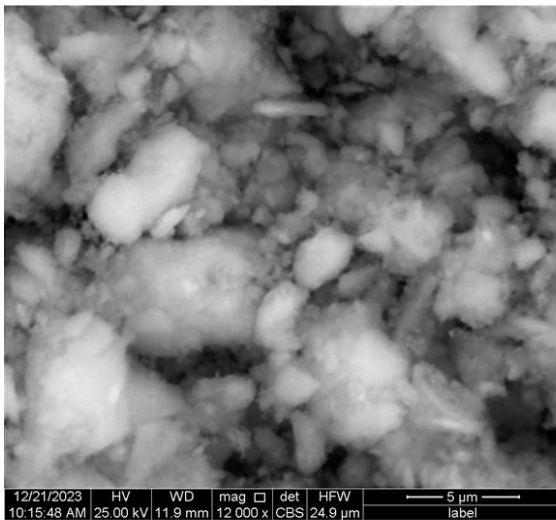
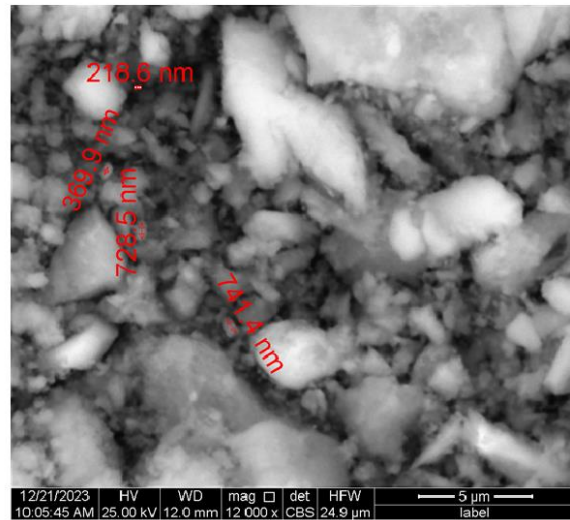
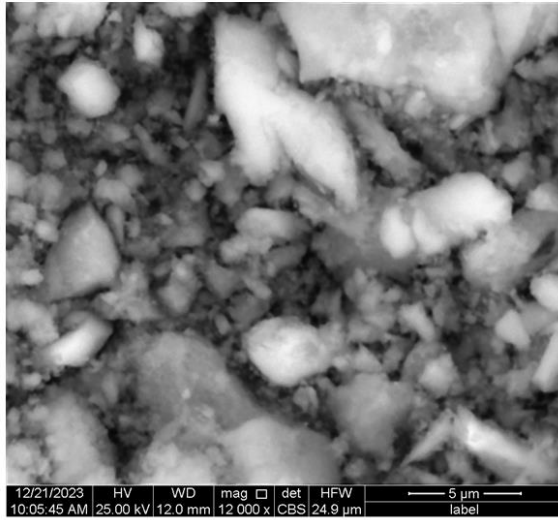
ANNEXES

Annexe 2 : les images MEB des nanocomposites synthétisés avec galactose

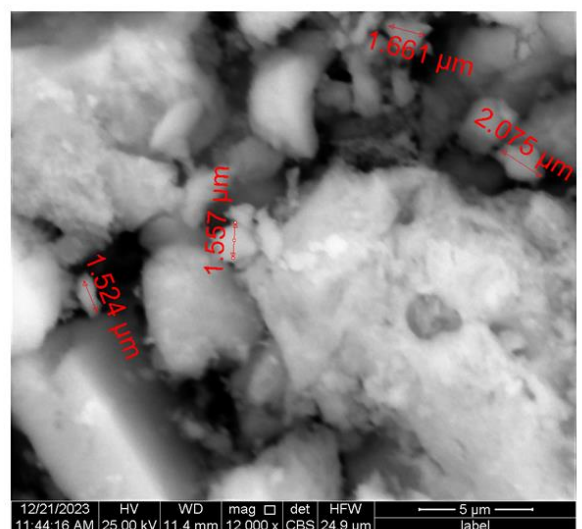
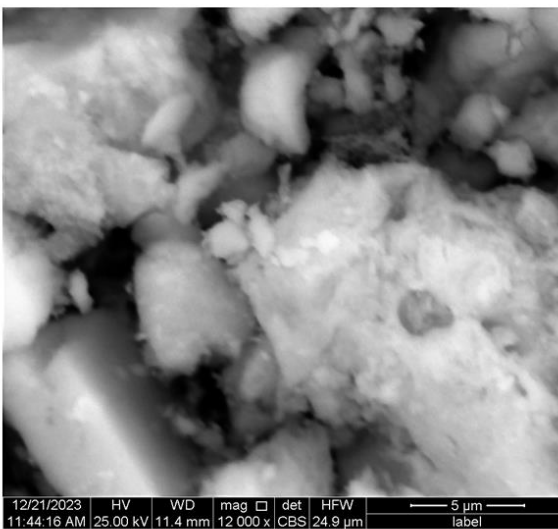
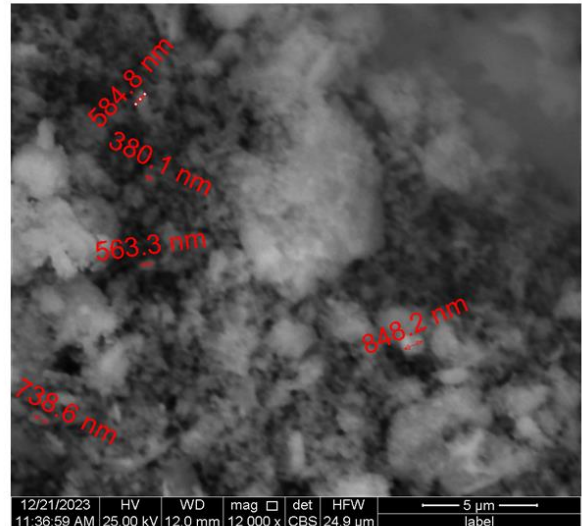
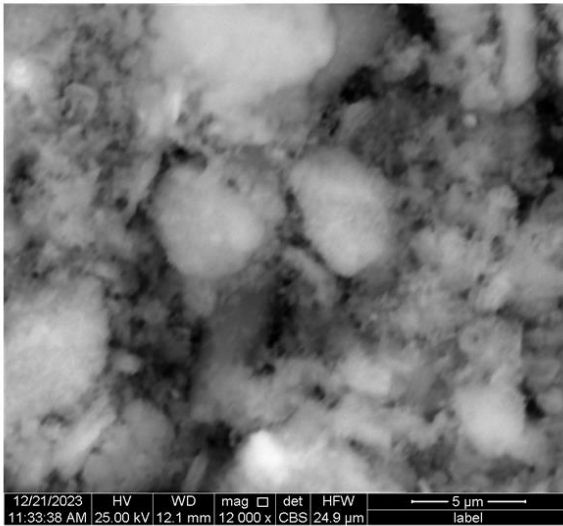
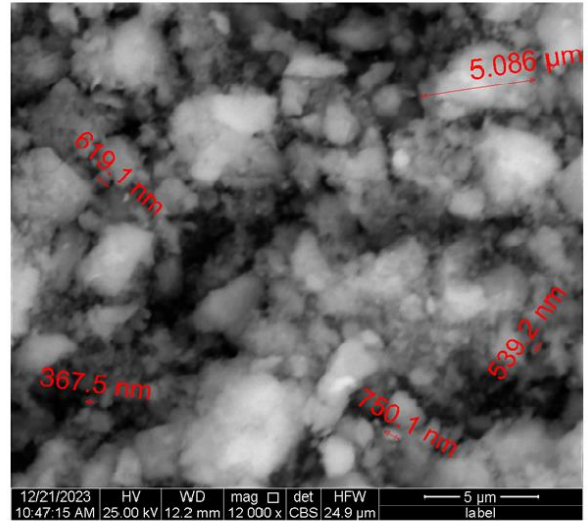
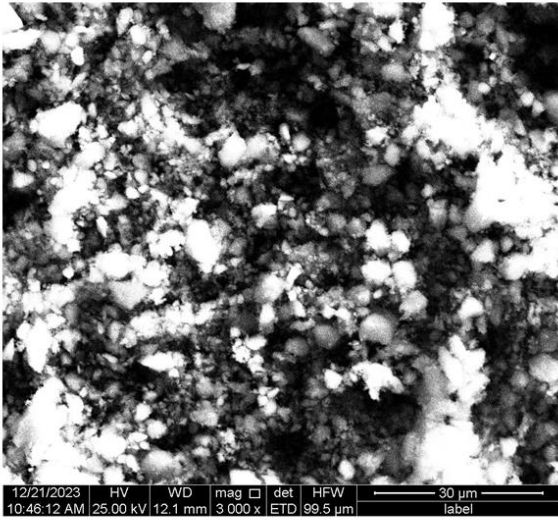


ANNEXES

Annexe 3 : Les images MEB des nanocomposites synthétisés avec pectine

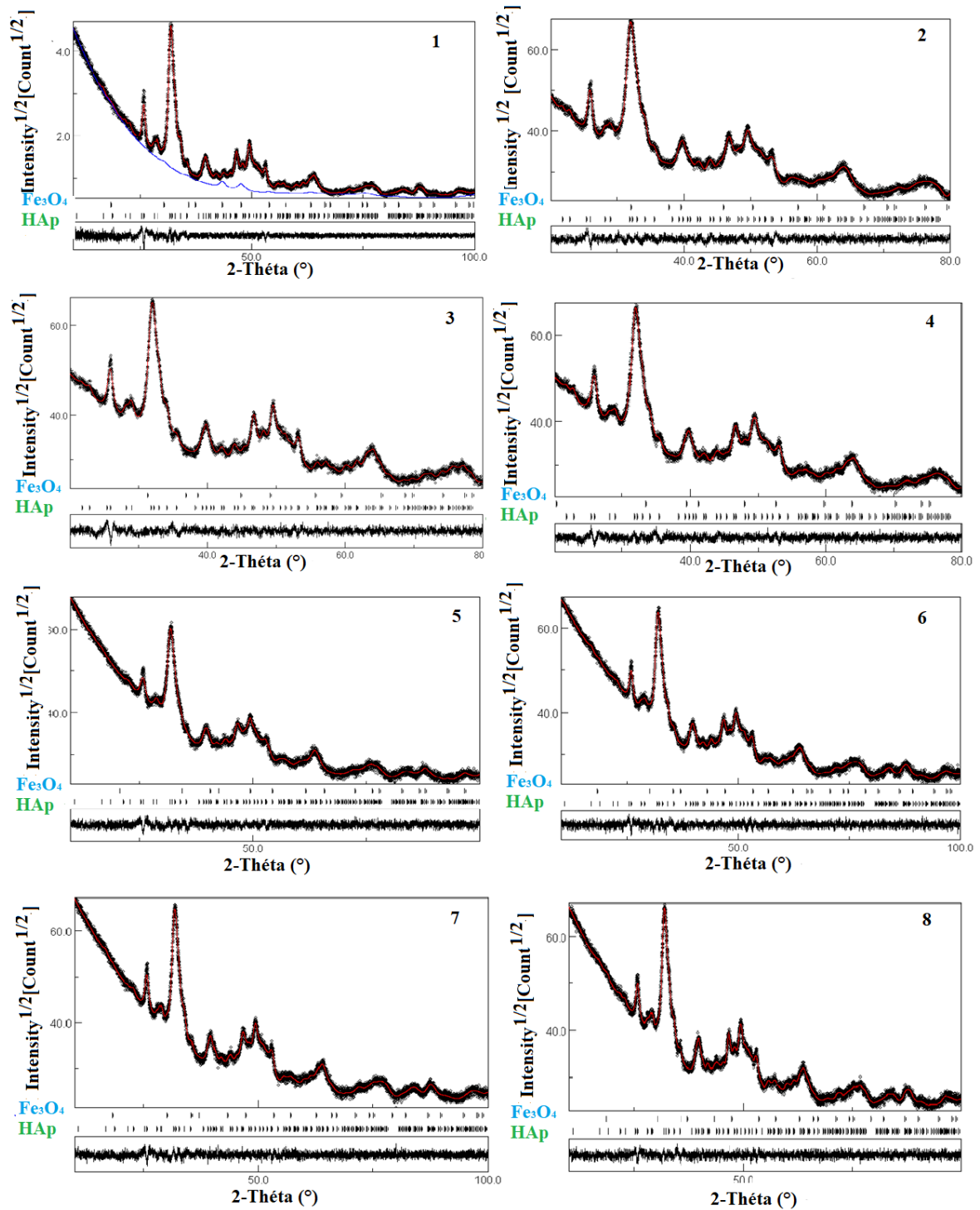


ANNEXES

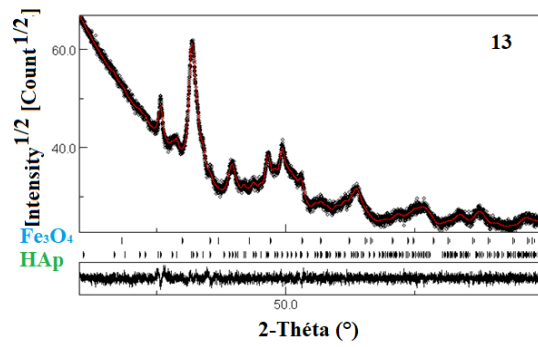
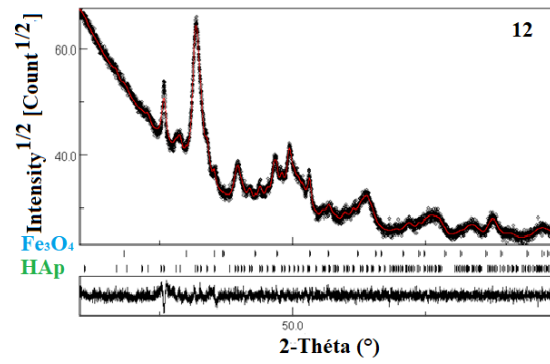
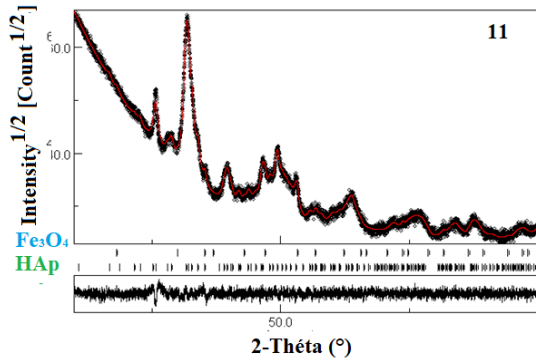
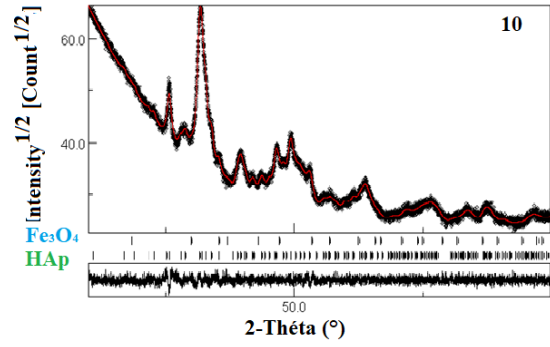
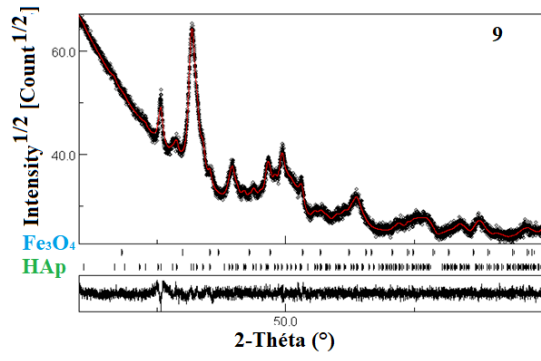


ANNEXES

Annexe 4 : Diffractogrammes des nanocomposites avant chargement obtenus par l'affinement Rietveld



ANNEXES



ANNEXES

Annexe 5 : Détermination des 50 variables les plus importantes

➤ IR

Nombre d'onde	p-value
1681,928	1,26E-12
163,856	4,67E-12
1697,358	6,42E-12
1695,429	7,21E-12
1679,999	8,83E-12
1647,209	1,34E-11
1651,066	1,42E-11
1645,28	1,63E-11
1687,714	1,77E-11
1693,5	2,14E-11
1635,636	2,36E-11
1622,134	2,49E-11
1649,138	2,54E-11
1624,063	2,62E-11
1633,707	2,89E-11
1620,205	3,33E-11
1689,643	3,45E-11
1625,992	3,69E-11
1685,785	3,72E-11
1674,212	3,72E-11
1616,348	3,84E-11
1618,277	3,95E-11
1678,07	4,39E-11
1631,778	5,46E-11
1691,572	5,62E-11
1627,921	5,66E-11
1643,351	6,36E-11
1676,141	7,53E-11
1637,565	7,63E-11
1699,287	7,69E-11
1629,85	7,95E-11
1639,494	8,43E-11
1670,355	9,37E-11
1672,283	9,53E-11
1614,419	1,01E-10
1641,422	1,09E-10
1668,426	1,29E-10

ANNEXES

1652,995	1,51E-10
1612,49	1,81E-10
1610,561	2,08E-10
1608,633	2,21E-10
1606,704	3,88E-10
1666,497	4,82E-10
1660,711	6,64E-10
1662,639	6,89E-10
1701,216	7,66E-10
1604,775	8,36E-10
1703,145	1,02E-09
1654,924	1,07E-09
1658,782	1,22E-09

➤ DSC

Nombre d'onde	p-value
DSC_455	0,019609
DSC_447	0,019673
DSC_449	0,020565
DSC_450	0,021079
DSC_448	0,021095
DSC_452	0,021541
DSC_454	0,021726
DSC_453	0,022715
DSC_459	0,022991
DSC_451	0,023061
DSC_443	0,023092
DSC_457	0,023555
DSC_458	0,023693
DSC_446	0,023785
DSC_441	0,023864
DSC_442	0,023938
DSC_456	0,024818
DSC_439	0,024962
DSC_444	0,025065
DSC_445	0,025289
DSC_460	0,025633
DSC_437	0,025844
DSC_440	0,026483
DSC_438	0,027268
DSC_461	0,02845

ANNEXES

DSC_463	0,028762
DSC_435	0,028994
DSC_436	0,029436
DSC_434	0,0298
DSC_462	0,030992
DSC_429	0,031229
DSC_431	0,033287
DSC_433	0,033497
DSC_464	0,033741
DSC_432	0,034152
DSC_430	0,034325
DSC_428	0,03455
DSC_465	0,036046
DSC_466	0,036249
DSC_427	0,037022
DSC_467	0,037444
DSC_426	0,037718
DSC_468	0,038474
DSC_469	0,039867
DSC_425	0,04119
DSC_424	0,04335
DSC_423	0,046533
DSC_422	0,050384
DSC_421	0,057826
DSC_420	0,060728

RESUME

RESUME

Le cancer constitue un enjeu de santé majeur à l'échelle mondiale, tant en termes de morbidité que de mortalité. Parmi les traitements actuellement disponibles, la chimiothérapie demeure l'une des approches les plus employées, notamment avec des agents cytotoxiques tels que le 5-fluorouracile (5-FU), utilisé dans le traitement de divers cancers, notamment colorectaux, mammaires et gastro-intestinaux. Cependant, ce traitement souffre de limites importantes, notamment une toxicité systémique élevée et un manque de sélectivité vis-à-vis des cellules tumorales, entraînant de nombreux effets secondaires délétères. Dans ce contexte, l'élaboration de systèmes de libération contrôlée représente une alternative prometteuse, permettant d'améliorer l'efficacité thérapeutique tout en réduisant les effets indésirables.

Cette étude s'intéresse au potentiel de nanocomposites magnétiques à base d'hydroxyapatite (HAp) et de magnétite (Fe_3O_4), synthétisés par co-précipitation à partir de composés organiques naturels (fructose, galactose, pectine), comme vecteurs pour la délivrance prolongée du 5-FU. Une phase d'optimisation expérimentale a été menée afin d'identifier les conditions de synthèse les plus favorables à l'obtention de matériaux homogènes, cristallins et stables. Pour simuler dans un premier temps le comportement de libération du 5-FU, un traceur non cytotoxique, l'acide barbiturique, a été utilisé.

Les nanocomposites obtenus ont été caractérisés par diffraction des rayons X, spectroscopie infrarouge (FTIR), microscopie électronique à balayage (MEB/EDS), analyse thermique (TGA/DSC) et magnétométrie à échantillon vibrant (VSM). Les résultats ont mis en évidence une structure biphasée HAp- Fe_3O_4 bien définie, une bonne dispersion des phases, une stabilité thermique satisfaisante et un comportement superparamagnétique modéré. Les études de libération in vitro ont montré une cinétique de relargage prolongée du 5-FU, indiquant une forte interaction entre la molécule et la matrice, favorable à une diffusion contrôlée. Par ailleurs, une activité antimicrobienne significative a été observée, soulignant le caractère multifonctionnel du système. Enfin, le Docking moléculaire a révélé une affinité marquée entre le complexe 5-FU-nanocomposite et la thymidylate synthase, une enzyme clé de la prolifération tumorale, renforçant l'intérêt de cette approche pour une thérapie ciblée.

Mots-clés : 5-fluorouracile, nanocomposite magnétique, hydroxyapatite, magnétite, libération contrôlée, thérapie anticancéreuse, Docking moléculaire.

ABSTRACT

Cancer is a major global health issue in terms of both morbidity and mortality. Among the currently available treatments, chemotherapy remains one of the most commonly used approaches, particularly with cytotoxic agents such as 5-fluorouracil (5-FU), which is used to treat various cancers, including colorectal, breast, and gastrointestinal cancers. However, this treatment has significant limitations, including high systemic toxicity and a lack of selectivity for tumor cells, leading to numerous harmful side effects. In this context, the development of controlled release systems represents a promising alternative, allowing for improved therapeutic efficacy while reducing adverse effects.

This study investigates the potential of magnetic nanocomposites based on hydroxyapatite (HAp) and magnetite (Fe_3O_4), synthesized by co-precipitation from natural organic compounds (fructose, galactose, pectin), as carriers for the prolonged delivery of 5-FU. An experimental optimization phase was carried out to identify the most favorable synthesis conditions for obtaining homogeneous, crystalline, and stable materials. To initially simulate the release behavior of 5-FU, a non-cytotoxic tracer, barbituric acid, was used.

The obtained nanocomposites were characterized by X-ray diffraction, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM/EDS), thermal analysis (TGA/DSC), and vibrating sample magnetometry (VSM). The results revealed a well-defined biphasic HAp- Fe_3O_4 structure, good phase dispersion, satisfactory thermal stability, and moderate superparamagnetic behavior. In vitro release studies demonstrated a prolonged release kinetics of 5-FU, indicating a strong interaction between the molecule and the matrix, favorable for controlled diffusion. Moreover, significant antimicrobial activity was observed, highlighting the multifunctional nature of the system. Finally, molecular docking revealed a marked affinity between the 5-FU-nanocomposite complex and thymidylate synthase, a key enzyme in tumor proliferation, further emphasizing the potential of this approach for targeted therapy.

Keywords: 5-fluorouracil, magnetic nanocomposite, hydroxyapatite, magnetite, controlled release, anticancer therapy, molecular docking.

ملخص

يعد السرطان من القضايا الصحية الرئيسية على مستوى العالم من حيث الاعتلال والوفيات. ومن بين العلاجات المتاحة حالياً، تظل العلاج الكيميائي واحدة من أكثر الأساليب استخداماً، خاصة مع العوامل السامة للخلايا مثل 5-فلورويوراسيل (5-FU)، المستخدم في علاج أنواع مختلفة من السرطان، بما في ذلك سرطانات القولون والمستقيم والثدي والجهاز الهضمي. ومع ذلك، يعاني هذا العلاج من بعض القيود المهمة، بما في ذلك السمية النظامية العالية وعدم التحديدية تجاه الخلايا السرطانية، مما يؤدي إلى العديد من الآثار الجانبية الضارة. في هذا السياق، يمثل تطوير أنظمة الإفراز المسيطر عليه بديلاً واعدًا، مما يتيح تحسين الفعالية العلاجية مع تقليل الآثار الجانبية.

تتناول هذه الدراسة إمكانات النانومركبات المغناطيسية المكونة من الهيدروكسي أباتيت (HAp) والمغنيتيت (Fe_3O_4)، والتي تم تحضيرها عبر الترسيب المشترك باستخدام مركبات عضوية طبيعية (الفركتوز، الجالاكتوز، البكتين)، كحاملات لإطلاق 5-FU لفترة طويلة. تم إجراء مرحلة تحسين تجريبية لتحديد شروط التحضير الأكثر ملاءمة للحصول على مواد متجانسة، بلورية ومستقرة. لمحاكاة سلوك إطلاق 5-FU في البداية، تم استخدام مادة تتبع غير سامة للخلايا، حمض الباربيتيوريك.

تمت دراسة النانومركبات المستخلصة باستخدام تقنيات حيود الأشعة السينية، طيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR)، المجهر الإلكتروني الماسح (MEB/EDS)، التحليل الحراري (TGA/DSC) والمغنطومترية باستخدام العينة المهتزة (VSM). أظهرت النتائج هيكلًا ثنائي الطور جيد التعريف $HAp-Fe_3O_4$ ، وتوزيعًا جيدًا للطور، واستقرارًا حراريًا مرضيًا وسلوكًا مغناطيسيًا فائقًا معتدلاً. أظهرت دراسات الإفراز في المختبر إطلاقًا ممتدًا للـ 5-FU، مما يشير إلى تفاعل قوي بين الجزيء والمصفوفة، مما يدعم الانتشار المسيطر عليه. علاوة على ذلك، لوحظت نشاطات مضادة للميكروبات ملحوظة، مما يبرز الطبيعة المتعددة الوظائف للنظام. أخيرًا، أظهرت دراسة الارتباط الجزيئي ميلًا واضحًا بين مركب 5-FU-النانومركب وإنزيم ثايميديلات سينثاز، وهو إنزيم رئيسي في تكاثر الأورام، مما يعزز من فائدة هذه الطريقة للعلاج المستهدف.

الكلمات المفتاحية: 5-فلورويوراسيل، النانومركب المغناطيسي، الهيدروكسي أباتيت، المغنيتيت، الإفراز المسيطر عليه، العلاج المضاد للسرطان، الارتباط الجزيئي.