

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar TELIDJI Laghouat

Faculté des Sciences

Département de Biologie

جامعة عمار ثليجي - الأغواط

كلية العلوم

قسم البيولوجيا



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

### Thème

*Détermination de l'activité Antibactérienne et de la  
Solubilité des Mélanges Eutectiques de Célécoxib*

Présenté par : Khatoui Nihal Hasna

Kourimi Khouloud Amaria

Devant le jury composé de :

Dr. BENTAHAR FATIHA

Dr. BENCHIKH IMEN

Dr. ALLAL FARIDA

M<sup>me</sup> KHACHBA Fatna

M<sup>me</sup> BOUZIANI Messouda

MCB (Université de Laghouat)

MCA (Université de Laghouat)

MCA (Université de Laghouat)

Chef de Service (LRV)

Doctorante (Université de

Laghouat)

Présidente

Examinatrice

Encadrante

Co-Encadrante

Invitée

Année universitaire : 2023/2024

# Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre gratitude envers Dieu, le Tout-Puissant et Miséricordieux, qui nous a accordé la santé, la force et la détermination nécessaires pour entreprendre et mener à bien ce mémoire.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à notre directrice de mémoire, ALLAL Farida, pour son encadrement, sa patience et sa confiance tout au long de ce travail de recherche. Ses précieux conseils, sa disponibilité et ses encouragements, son expertise et son soutien inébranlable ont été d'une aide inestimable et ont grandement contribué à l'aboutissement de ce projet.

Aussi, tenons-nous à exprimer notre profonde reconnaissance et nos sincères remerciements à M<sup>me</sup> KHACHBA Fatna, chef de service au Laboratoire Régional Vétérinaire pour sa disponibilité lors de l'évaluation de l'activité antibactérienne, ses précieux conseils, sa confiance et ses encouragements.

Nous tenons à exprimer nos gratitudes, nos profonds respects et nos remerciements aux membres du jury : Docteur BENTAHAR Fatiha et Docteur BENCHIKH Imen qui nous ont fait honneur en acceptant de faire partie de ce jury, d'examiner ce travail et apporter des perspectives nouvelles et enrichissantes à notre travail de recherche.

Un grand merci à M<sup>me</sup> BOUZIANI Messouda, Doctorante à l'UATL de nous avoir aidé dans la partie synthèse, caractérisation et détermination de la solubilité

Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudes au personnel du laboratoire vétérinaire régional de Laghouat, en particulier M<sup>me</sup> BOUCHOUAIRAB HASNA pour les ressources et l'environnement nécessaires à la réalisation de ce travail pratique. et pour les conseils tout au long de nos travaux pratiques.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des professeurs du département de Biologie de l'Université Amar TELIDJI Laghouat, pour leur enseignement de qualité et les connaissances qu'ils nous ont transmises durant nos années d'études. Leur passion et leur dévouement pour la recherche nous ont inspiré et motivé à poursuivre nos propres questionnements scientifiques.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Que ce soit à travers des discussions enrichissantes, des conseils ou simplement par leur présence, leur contribution a été précieuse.

# Dédicace

Avant tout, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Dieu Tout-Puissant pour m'avoir accordé la force, la sagesse et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail. Sans Sa guidance et Ses bénédictions, ce projet n'aurait pas été possible. Je Lui rends grâce pour toutes les opportunités et les réussites, ainsi que pour les défis qui m'ont permis de grandir et de m'améliorer. Je dédie ce travail

A Mon Cher Papa

Aucune expression ne peut traduire le noble sentiment que j'ai à ton égard, pour toutes les peines et tous les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, pour l'amour que tu m'as toujours porté, tu m'as appris à

me battre jusqu'au bout pour réussir, je n'ai été guidée jusqu'à présent que par le désir de t'honorer et te rendre fière, « ta fille est enfin arrivée là où tu voulais ». Je te dédie ce travail en témoignage de ma grande

reconnaissance et mon grand amour.

A Ma Chère Maman

Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance pour tout ce que tu as fait pour mon bonheur et ma réussite. Tu as été mon pilier de force, mon guide, et mon inspiration. Que Dieu te protège et t'accorde le bonheur, la santé et la longue vie. Pour ton grand amour, ta tendresse et tes longues prières

qui m'ont été le

meilleur gage de réussite, je t'offre ce travail.

A mon adorable frère Shaouki et mes petites sœurs, Razane et sirine

Vous étiez toujours là pour me reconforter, me faire rire et m'encourager dans les moments de doute.

Tous les mots ne suffiraient pas...Sans vous, rien n'aurait été possible, merci pour votre amour si pur, ce modeste travail

doit vous servir d'exemple pour réussir et faire mieux que votre grande sœur ; Je vous aime.

A mon cher oncle Harzallah, qu'Allah lui fasse miséricorde

Je te dédie ce travail avec un cœur plein de gratitude et de respect. Ta sagesse, ton amour et ton soutien continuent de m'inspirer chaque jour. Bien que tu ne sois plus parmi nous, ton esprit et tes enseignements

restent vivants dans mon cœur. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

A ma grande famille «Khatoui, Birane, Zitout»

Merci, ma famille qui me soutient. Vous étiez avec moi à chaque étape. Que Dieu protège les vivants et ait pitié

de tous les morts (mon cher grand-père Abdelkader, que Dieu ait pitié de lui).

A mes amies

Qui ont toujours répondu présent aux moments où j'avais besoin d'eux, qui ont su m'épauler, me pousser dans mes choix. Comme on dit « les amis sont la famille que l'on choisit » et j'ai de la chance de vous avoir.

A mon cher binôme et ami Khouloud qui a partagée avec moi cette expérience

KHATOUI Nihal Hasna

# Dédicace

Avant tout, **remercions Dieu** de nous bénir dans nos efforts. Merci pour notre succès et notre faveur dans la première et dans l'au-delà. Oh mon Dieu, si nous réussissons, c'est grâce à ta grâce, ta générosité et ton succès, ô Très **Miséricordieux** des Miséricordieux, alors ne nous prive pas de ta satisfaction envers nous et accorde-nous le succès en servant tes justes serviteurs

## **\*À ma mère et à mon père, \***

Je dédie cette note de fin d'études à vous, mes piliers inébranlables. Votre amour, votre soutien indéfectible et vos sacrifices ont été la source de ma force tout au long de ce parcours académique. Chaque page de ce document reflète non seulement mes efforts, mais aussi votre guidance précieuse et votre encouragement constant. Merci pour votre foi en moi, pour avoir nourri mes rêves et pour m'avoir soutenu à chaque étape de cette aventure. Cette réussite est autant la vôtre que la mienne. Avec tout mon amour et ma gratitude

Alors que je tourne la page de ce chapitre de ma vie, je voudrais dédier cet ouvrage à mes frères **Afafe, Yacin, Khadidja et Nour Al-Houda**, ainsi qu'à ma grand-mère et ma tante. Merci pour votre soutien indéfectible et votre présence pour moi

## **A mon cher mari**

Alors que je célèbre cette réalisation, je veux que tu saches à quel point je suis reconnaissante pour tout ce que tu as sacrifié et fait pour moi. Cette réussite est aussi la tienne, car tu as été ma plus grande inspiration Et à **ma nouvelle famille Mokhter**

Et je n'oublie pas mon **cher oncle Allal**, à qui je me suis tourné vers chaque problème d'information,

Ainsi qu'un cadeau spécial à tous les membres de **ma famille**, y compris mes **tantes et oncles**, et à tous, petits et grands

À toutes les personnes m'ayant consacré un moment pour m'aider, me conseiller et m'encourager

**A mon binôme et ami Nihal** qui a partagée avec moi cette expérience

**Kourimi Khouloud Amaria**

## ملخص

تهدف الدراسة الحالية إلى إعادة استعمال مضاد التهاب غير ستيرويدي من فئة مثبطات COX-2 الانتقائية في مكافحة البكتيريا متعددة المقاومة وتحسين ذوبانه وفقاً لاستراتيجية تشكيل مخاليط يوتيكتية من خلال دمج مع مشاركات التشكيل. العامل المضاد للالتهاب المعني هو Célecoxib، وقد تم دمج مع خمسة مشاركات التشكيل وهي: حمض الساليسيليك، حمض المالك، النيكوتيناميد، حمض السكسينيك، وحمض السيناميك. تم توصيف المخاليط اليوتيكتية، التي تم تصنيعها عن طريق الطحن الرطب، باستخدام (مسعر المسح التبياني) ، و(دراسة البلورات بالأشعة السينية) ، و(المجهر الإلكتروني الماسح)، و (تحويل فوربييه للظيف بالأشعة تحت الحمراء) واختبارها ضد ثلاثة سلالات بكتيرية وهي:

*Staphylococcus aureus*، *Klebsiella pneumoniae*، *Escherichia coli*. تراوحت قيم قطر مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها بين 8 و42 ملم. تتراوح تركيزات التثبيط الدنيا بين 09.0 و72.0 مغ / مل. تكون العوامل غير المضادة للبكتيريا ثابتة عند تركيز التثبيط الأدنى (MIC) وقاتلة للبكتيريا عند تركيز أعلى من MIC. أظهرت قيم الذوبانية زيادة كبيرة في هذا المعامل في مخاليط يوتيكتية CXB-MAL و CXB-NIC

**الكلمات المفتاحية:** Celecoxib، مشاركات التشكيل، النشاط المضاد للبكتيريا ، CMI،CMB ، مثبط-2 COX ،

الذوبانية

## Résumé

La présente étude vise à repositionner un anti inflammatoire non stéroïdien de la classe des inhibiteurs sélectif de la COX-2, dans la lutte contre les bactéries multirésistantes et à améliorer sa solubilité, selon la stratégie de formation de mélanges eutectiques, par sa combinaison avec des coformeurs. L'agent anti inflammatoire dont il s'agit est le Célécoxib, il a été combiné à cinq coformeurs, à savoir, l'acide salicylique, l'acide maléique, la nicotinamide, l'acide succinique et l'acide cinnamique. Les mélanges eutectiques, synthétisés par broyage humide, ont été caractérisés par (Calorimétrie différentielle à balayage), (Diffraction des rayons X), (Microscopie électronique à balayage) et (Infra-rouge à transformé de fourrier) et testés contre trois souches bactériennes, il s'agit de *Escherichia coli*, de la *Klebsiella pneumoniae* et du *Staphylococcus aureus*. Les valeurs obtenues des diamètres de zone d'inhibition varient de 8 à 42 mm.

Les concentrations minimales d'inhibition sont comprises entre 0.09 et 0.72 mg/ml. Les agents non antibactériens sont bactériostatiques à la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricides à une concentration supérieure à la CMI. Les valeurs de solubilité ont montré une augmentation significative de ce paramètre dans les mélanges eutectiques CXB-A.MAL et CXB-NIC.

**Mots clés** : Célécoxib, Coformeurs, Activité antibactérienne, CMI, CMB, Inhibiteur COX-2, Solubilité.

## Summary

The present study aims to repurpose a non-steroidal anti-inflammatory drug from the class of selective COX-2 inhibitors, in the fight against multi-resistant bacteria and to improve its solubility, according to the strategy of forming eutectic mixtures, by its combination with coformers. The anti-inflammatory agent in question is Celecoxib, it has been combined with five coformers, namely, salicylic acid, maleic acid, nicotinamide, succinic acid and cinnamic acid. The eutectic mixtures, synthesized by wet grinding, were characterized by (Differential scanning calorimetry), (X-ray crystallography), (scanning electron microscope) and (Fourier-transform infrared spectroscopy) , tested against three bacterial strains, namely *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. The values obtained for the diameters of the inhibition zone vary from 8 to 42 mm.

Minimum inhibition concentrations are between 0.09 and 0.72 mg/ml. Non-antibacterial agents are bacteriostatic at the minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal at a concentration above the MIC. The solubility values showed a significant increase in this parameter in the CXB-A.MAL and CXB-NIC eutectic mixtures.

**Keywords:** Celecoxib, Coformers, Antibacterial activity, MIC, CMB, COX-2 inhibitor, Solubility.

# Table des matières

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des schémas

Liste des Abréviations

Introduction.....1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Bactéries.....4

I.2. Résistance bactérienne.....6

I.3. Repositionnement des principes actifs.....6

I.4. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) .....7

I.5. Mode d'action des AINS.....8

I.5. Effets pharmacologiques des AINS.....9

I.6. Anti-inflammatoire non stéroïdien inhibiteur sélectif du COX-2 : Célécoxib.....9

I.7. Mécanisme d'action du célécoxib.....11

I.8. Mélange eutectique..... 12

I.9. Solubilité.....14

I.10. Coformeurs.....14

## Chapitre II : Partie expérimentale

II.1. Matériels et méthodes..... 16

II. 1.1. Produits chimiques utilisés..... 17

II.1.2. Microorganismes testés.....18

II.2. Méthodes expérimentales..... .19

II.2.1. Synthèse des mélanges eutectiques .....19

II.3. Caractérisation des mélanges eutectiques synthétisés..... 20

II.3.1 Calorimétrie différentielle à balayage DSC : .....20

II.3.2. Diffraction des rayons X (PDRX) .....21

II.3.3. Microscopie électronique à balayage MEB.....22

II.3.4. Infra-rouge à transformé de fourrier FTIR.....23

II.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des mélanges eutectiques .....24

II.4.1. Dissolution du principe actif pur et de ses mélanges eutectiques par le DMSO et

préparations des solutions mères.....	24
II.4.2. Préparation des solutions filles par dilution à 1/2, 1/5 et 1/10.....	25
II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne : .....	25
II.5.1. Méthode de diffusion sur disque.....	26
II.5.2. Méthode de micro dilution en milieu liquide : .....	28
II.6. Détermination de la solubilité.....	30

### **Chapitre III : Résultats et Discussion**

III.1. Mélanges eutectiques synthétisés .....	32
III.2. Caractérisation .....	32
III.2.1. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) .....	32
III.2.2. Analyse par DRX.....	34
III.2.3. Caractérisation des mélanges eutectiques synthétisés par microscopie électronique à balayage.....	35
III.2.4. Caractérisation par FTIR.....	36
III.3. Détermination de l'activité antibactérienne des mélanges eutectiques du célécoxib .....	38
III.3.1. Activité antibactérienne en milieu solide.....	38
III.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) bactéricide (CMB) .....	45
III.4. Détermination de la solubilité.....	48
Conclusion ..	52

**Références bibliographiques**

**ANNEXE**

## Liste des Figures

<b>Figure1</b> : I.1 Schéma d'une bactérie.....	5
<b>Figure2</b> : I.2 Paroi bactérienne des bactéries à gram positive et négative.....	5
<b>Figure 3</b> :I.3 Représentation schématique de la structure structurale d'un mélange eutectique.....	13
<b>Figure4</b> : II.1 Broyage assisté par liquide LAG.....	20
<b>Figure5</b> : II.2 DSC utilisé pour la mesure des flux de chaleur.....	21
<b>Figure6</b> : II.3 Diffractomètre de type EMPYREAN. ....	22
<b>Figure7</b> : II.4 Microscope électronique à balayage environnemental de type Thermo Fischer SCIO2S .....	23
<b>Figure8</b> : II.5 Spectrophotomètre Jasco FT/IR-420.....	24
<b>Figure9</b> : II.6 Dilution de la solution mère .....	25
<b>Figure10</b> : II.7 Repiquage des souches bactériennes.....	26
<b>Figure11</b> : II.8 Ensemencement des bactéries. ....	27
<b>Figure12</b> : II.9 Disques stériles usagés.....	28
<b>Figure 13</b> :II.10 Préparation des microplaques.....	29
<b>Figure14</b> : III.1 Etat physique et couleur des poudres des différents mélange eutectique synthétisés(Original.....	31
<b>Figure15</b> : III.2 Thermogrammes des différents corps purs ainsi que leurs mélanges eutectiques.....	32
<b>Figure16</b> : III.3 Diffractogrammes du CXB, A.MAL et CXB-A.MAL.....	33
<b>Figure17</b> : III.4 Morphologies de (a) CXB, (b) A.MAL, (c) CXB-A.MAL.....	34
<b>Figure18</b> : III.5 Spectres infrarouges du CXB, de A.MAL et du mélange binaire CXB-A.MAL.....	36
<b>Figure19</b> : III.6 Effet du contrôle positif du MTZ pur sur les trois souches bactériennes testées.....	37
<b>Figure20</b> : III.7 Effet du contrôle négatif (DMSO) sur les quatre souches bactériennes testées. ....	38
<b>Figure21</b> : III.8 Histogrammes des résultats des antibiogrammes des cinq mélanges eutectiques vis-à-vis les souches bactériennes testées. ....	39
<b>Figure22</b> : III.9 Effet antibactérien du ME2 sur les trois souches testées.....	43
<b>Figure23</b> : III.10. CMI du CXB pur et de ses cinq mélanges eutectiques.....	44
<b>Figure24</b> : III.11 Détermination des CMI et CMB des cinq mélanges eutectiques étudiés contre l'E.Coli et le S.Aureus.....	45
<b>Figure25</b> : III.12 CMB du ME 2 contre la souche bactérienne (Staphylococcus aureus)....	46
<b>Figure26</b> : III.13 CMB des différentes souches bactériennes.....	47
<b>Figure27</b> : III.14 Solubilités des corps purs et des mélanges eutectiques synthétisés.....	48

## Liste des Tableaux

<b>Tableau1 : I.1</b> Effets des prostaglandines et des AINS.....	9
<b>Tableau2 : II.1</b> Produits chimiques utilisées et leurs propriétés. ....	17
<b>Tableau3 : II.2</b> Propriétés physico-chimiques des produits chimiques utilisés.....	17
<b>Tableau4 : II.3</b> Généralités sur les souches bactériennes utilisées.....	19
<b>Tableau5 : II.4</b> Masses m1 et m2 du célécoxib et des différents coformeurs. ....	20
<b>Tableau6 : II.5</b> Masses du principe actif pur et des mélanges eutectiques.....	24
<b>Tableau7 : III.1</b> Températures de fusion des corps purs et des mélanges binaires étudiés....	33
<b>Tableau8 : III.2</b> CMI (mg/ml) et CMB (mg/ml) obtenues par la méthode de microdilution vis-à-vis les deux souches bactériennes.....	46
<b>Tableau9 : III.3</b> Résultats des solubilités des différents corps purs et systèmes eutectiques synthétisés.....	49

## Liste des Schémas

<b>Schémas I.1</b> Métabolisme de l'acide arachidonique et mode d'action des AINS.....	8
<b>Schémas I.2</b> Mécanisme d'action du célécoxib .....	12
<b>Schémas II.1</b> Diagramme récapitulatif de la procédure expérimentale suivie .....	16

## Liste des Abréviations

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AINS</b>	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>A.CIN</b>	Acide cinnamique
<b>A.MAL</b>	Acide maléique
<b>A.SAL</b>	Acide salicylique
<b>A.SUC</b>	Acide succinique
<b>BCS</b>	Système de classification biopharmaceutique
<b>CMB</b>	Concentration minimale bactéricide
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>COX-2</b>	Cyclo-oxygénase 2
<b>CRAPC</b>	Centre de recherche en Analyse Physico-Chimique
<b>CXB</b>	Célécoxib
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DRX</b>	Diffraction des Rayons X
<b>DSC</b>	Calorimétrie différentielle à balayage
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FTIR</b>	Infrarouge à transformé de fourrier
<b>LAG</b>	Broyage assisté par liquide
<b>LNC</b>	Laboratoire National de Contrôle
<b>ME</b>	Mélange eutectique
<b>MEB</b>	Microscopie électronique à balayage
<b>MH</b>	Muller Hinton
<b>NIC</b>	Nicotinamide
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PA</b>	Principe actif
<b>PTAPC</b>	Plateau Technique d'Analyse Physico-Chimique
<b>SCB</b>	Système de classification biopharmaceutique <b>T</b>
<b>T°</b>	Température
<b>t</b>	Temps

# **Introduction**

### Introduction

L'exposition excessive aux antibiotiques contribue à la progression des résistances bactériennes, représentant un problème majeur de santé publique. En effet, l'antibiorésistance est en augmentation depuis plusieurs décennies, engendrant des difficultés à traiter les patients.

Elle entraîne une augmentation de la durée des soins et de la morbidité associée aux infections.

Le développement de nouvelles molécules d'antibiotiques peut être long, fastidieux et coûteux.

Face à de nouvelles menaces, les scientifiques se sont dirigés vers des stratégies thérapeutiques innovantes comme l'immunisation passive par l'injection d'anticorps contre les facteurs de virulence bactériens, les peptides antimicrobiens, les bactériophages et le repositionnement moléculaire, qui consiste en l'utilisation d'un médicament déjà approuvé dans une nouvelle indication thérapeutique, afin de traiter une autre pathologie (**GAJDÁCS, 2020**) (**Moshawih et al, 2024**).

Plusieurs avantages sont associés à cette stratégie, comme la réduction des coûts élevés associés au développement de nouvelles molécules, notamment les frais de recherche et développement, ainsi que les coûts des essais cliniques initiaux, la rapidité de développement et la connaissance préalable des propriétés pharmacologiques et toxiques (**Schlesinger et al, 2009**) (**Thangamani, 2015**)

C'est dans ce contexte que ce travail de mémoire se situe, dont l'objectif principal est d'utiliser une molécule médicamenteuse non antibactérienne dans la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques. Il s'agit du Célécoxib (CXB), un anti inflammatoire non stéroïdien de la classe des inhibiteurs sélectifs de la COX-2, utilisé pour traiter divers états inflammatoires et douloureux, notamment l'arthrose, la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante et la douleur aiguë. Il peut également être utilisé pour soulager la douleur associée à la dysménorrhée. Selon le système de classification biopharmaceutique (BCS), Le CXB appartient à la classe II, il est caractérisé par une faible solubilité et une haute perméabilité. Il peut par conséquent, bénéficier de techniques de formulation avancées pour améliorer sa solubilité et sa biodisponibilité, telles que la formation de cocristaux, son inclusion dans des matrices polymériques, la formation de sels et de solvates, la formation de nanoparticules, la formation de micro et de nano émulsions et l'élaboration de mélanges eutectiques (Hyun et al,

2018) (Yang et al, 2022). Ces approches visent à surmonter les limitations de solubilité pour maximiser l'absorption et l'efficacité thérapeutique du médicament.

Dans cette étude, les stratégies de repositionnement et de formation de mélanges eutectiques par combinaison binaire du CXB avec différents coformeurs ont été choisis pour lutter contre les bactéries multirésistantes et pour augmenter la solubilité, la biodisponibilité et par conséquent l'effet thérapeutique du CXB. Ainsi, le choix du coformeur repose sur sa structure chimique, la présence de groupements fonctionnels, donneurs et accepteurs de proton, capables d'établir des interactions intermoléculaires non covalentes, comme la liaison hydrogène, les forces de Van Der Waals et les interactions  $\pi$ - $\pi$  (M Singh et al,2023). Les différents coformeurs sélectionnés sont : l'acide salicylique (A.SAL), l'acide maléique (A.MAL), la nicotinamide (NIC), l'acide succinique (A.SUC) et l'acide cinnamique (A.CIN).

L'objectif de ce travail est d'explorer ces stratégies innovantes dans la lutte contre l'antibiorésistance bactérienne et l'amélioration de la solubilité.

Ce mémoire a été structuré en trois chapitres :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique, expliquant le concept du repositionnement des molécules médicamenteuses et l'approche de formation des mélanges eutectiques dans l'amélioration des propriétés physico-chimiques des médicaments.

Le deuxième chapitre est dédié à la description du matériel utilisé, les protocoles expérimentaux de synthèse et de caractérisation, effectués par diverses techniques à savoir, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la diffraction des rayons x sur poudre (DRX), la microscopie électronique à balayage (MEB) et l'infrarouge à transformé de fourrier (FTIR), l'évaluation de l'activité antibactérienne via trois souches bactériennes ainsi que la détermination de la solubilité.

Le troisième chapitre traite les résultats de synthèse, de caractérisation, d'évaluation de l'activité antibactérienne in vitro et de la détermination de la solubilité des mélanges eutectiques élaborés.

Les résultats obtenus ainsi que les éventuelles perspectives seront résumés dans la conclusion générale.

# *Synthèse bibliographique*

### I.1. Bactéries

#### I.1. Bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires, capables de se reproduire de manière autonome. Leur taille varie de 1 à 10  $\mu\text{m}$  et elles pèsent de 10 à 12 grammes. Les bactéries n'ont pas de noyau délimité par une membrane pour isoler le matériel génétique. L'information génétique est supportée par l'acide désoxyribonucléique (ADN), rassemblé sous la forme d'un ou plusieurs chromosomes, dont leur structure est une double hélice d'ADN circulaire, pelotonnée, surenroulée dans le cytoplasme grâce à l'action des topoisomérases (au nombre de 4 chez les bactéries **(M.Bouskraoui et al.,2017)**).

En tant que procaryote, la structure de la cellule est simple. Le volume intérieur, appelé cytoplasme, est délimité par la membrane plasmique, qui contrôle les flux entrant et sortant de la bactérie et sert de support à certaines enzymes. Toutes les réactions chimiques sources d'énergie, ou permettant l'entretien et la multiplication de la bactérie, ont lieu dans le cytoplasme, particulièrement riche en ARN solubles (ARN messenger et ARN de transfert) et surtout en ARN particulaire ou ribosomal. Les ribosomes sont la cible d'action de nombreux antibiotiques comme les aminosides, les phénicols, les cyclines et les macrolides. La membrane cytoplasmique ou membrane interne est la limitante externe du cytoplasme. Elle est constituée d'une double couche d'unités de phospholipides (35 %) et de protéines qui lui sont associées (65 %). Certaines de ces protéines jouent un rôle dans la synthèse du peptidoglycane et sont appelées protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou penicillin-binding-proteins (PBP) car elles sont également la cible d'action des bêta-lactamines, famille d'antibiotiques à laquelle appartient la pénicilline **(M.Bouskraoui et al.,2017)**.

A côté du chromosome, la bactérie peut contenir des éléments génétiques (ADN) de petite taille (0,5 à 5 % du chromosome bactérien), extra-chromosomiques. Ces éléments, appelés plasmides, ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie dans les conditions habituelles de croissance.

Ils se répliquent indépendamment et en général plus rapidement que le chromosome bactérien **(M.Bouskraoui et al.,2017)**.

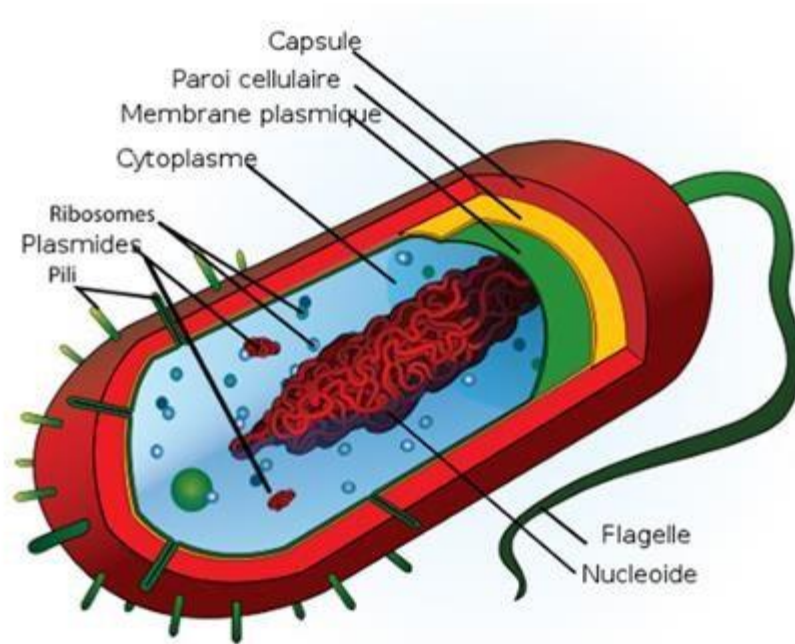


Figure I.1. Schéma d'une bactérie (M.Bouskraoui et al.,2017)

Au-delà de la membrane cytoplasmique, ou plasmique, les bactéries possèdent une paroi constituée de peptidoglycane. Elle assure la cohésion mécanique de la cellule. Celle-ci reste perméable au colorant de Gram et les bactéries correspondantes sont dites Gram positives. Les autres bactéries possèdent une paroi de peptidoglycane plus simple et surtout une membrane externe imperméable : ce sont des bactéries Gram négatives.

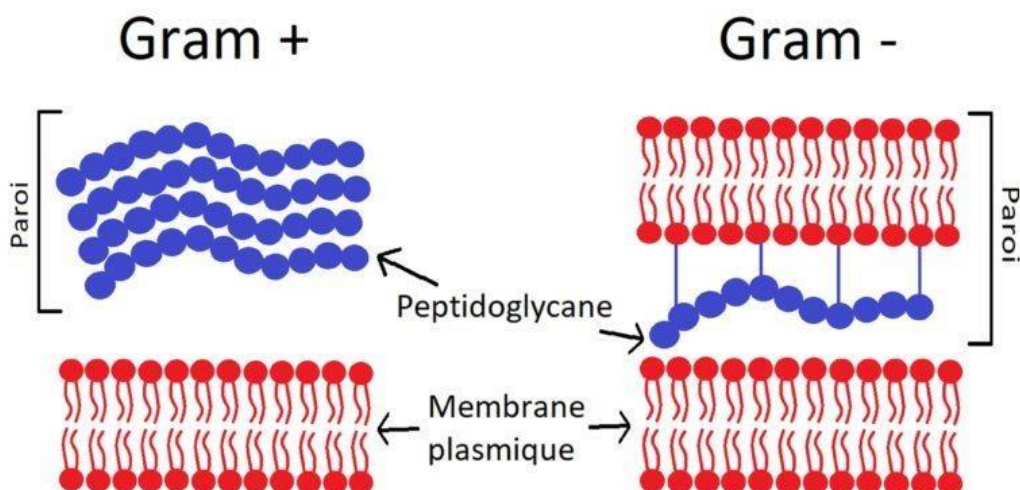


Figure I.2. Paroi bactérienne des bactéries à gram positive et négative (M.Bouskraoui et al.,2017)

### I.2. Résistance bactérienne

Les infections bactériennes restent une cause majeure de morbidité et de mortalité et la chimiothérapie bactérienne devient de plus en plus limitée, malgré le grand nombre d'antibiotiques découverts. Ces derniers ont joué un rôle important dans la diminution de la mortalité due aux maladies infectieuses, mais leur utilisation massive et répétée a entraîné l'émergence de souches multirésistantes. Cette résistance aux antibiotiques est l'une des grandes menaces aujourd'hui pour la santé humaine selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). En effet, la résistance bactérienne est en constante augmentation depuis plusieurs décennies, elle complique le traitement des patients, prolonge sa durée, accroît la morbidité liée aux infections et peut remettre en cause le pronostic vital (**K.Amanda et al.,2024 ;H.Lode et al.,2009**).

L'inquiétude croissante concernant les souches bactériennes multirésistantes appelle à la mise au point de moyens bactéricides supplémentaires. Ainsi, l'un des enjeux de la recherche aujourd'hui est d'appliquer de nouvelles stratégies innovantes comme l'injection des anticorps, les peptides antimicrobiens, les bactériophages et le repositionnement moléculaire. Ces dernières années, très peu de molécules antibiotiques ont été découvertes. Cependant, l'utilisation des agents non antibactériens comme les antihistaminiques, les antidépresseurs, les antihypertenseurs, les antipsychotiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens, permet de trouver des solutions innovantes pour lutter contre ces souches bactériennes multirésistantes. Ainsi, la stratégie de repositionnement thérapeutique a été choisie dans ce travail, elle consiste en l'utilisation d'un anti-inflammatoire non stéroïdien, qui est le célécoxib pour lutter contre des souches bactériennes différentes.

### I.3. Repositionnement des principes actifs

Le repositionnement de médicaments ou drug repurposing est une approche prometteuse, impliquant l'exploration de médicaments existants pour les appliquer à d'autres pathologies différentes de celles pour lesquelles ils avaient été développées initialement (**S.Thangamani et al., 2015**). Elle offre une grande opportunité d'identifier rapidement un nouveau candidat-médicament à un coût inférieur à celui de la découverte et du

développement de nouveaux médicaments (C.R. Chong et al., 2007 ; A. Rangel-Vega et al., 2015). Le repositionnement des médicaments est un processus très efficace et sans risque par rapport au développement de nouveaux médicaments, car des connaissances et des données existantes sur les médicaments, telles que la pharmacocinétique, la formulation, la pharmacologie, la toxicité et les données de fabrication, sont disponibles. Le repositionnement des médicaments permet également de réduire le nombre d'étapes nécessaires pour leur approbation par Food and Drug Administration (FDA), ce qui pourrait potentiellement accélérer la mise sur le marché d'un médicament (N.D. Kushwaha et al., 2023 ; F. Ali et al., 2024).

La littérature est peu abondante quant à l'utilisation des médicaments existants pour traiter d'autres pathologies. (S.Thangamani et al., 2015) ont montré que le célécoxib présente une activité antimicrobienne à large spectre contre les pathogènes Gram-positifs de divers genres, y compris *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Listeria*, *Bacillus* et *Mycobactérie*.

Les résultats des travaux de recherche sur les maladies du foie, effectués par (F. Ali et al., 2024) soulignent l'importance du repositionnement des médicaments comme outil, pour répondre à la charge mondiale des maladies du foie, notamment l'hépatite, la cirrhose du foie, la maladie de Wilson, le cancer du foie et la stéatose hépatique.

### **I.4. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)**

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe thérapeutique très utilisée, en raison de leurs activités antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire. Ils sont utilisés dans de nombreuses indications comme dans les douleurs ostéomusculaires, les affections rhumatologiques, en traumatologie et dans les coliques néphrétiques (F. Pillon.,2014). Ce sont des médicaments symptomatiques capables de s'opposer au processus inflammatoire, quelle qu'en soit la cause : mécanique, chimique, infectieuse et immunologique. Ils appartiennent à plusieurs familles chimiques et ils se caractérisent par l'absence d'une structure chimique stéroïdienne (F. Pillon.,2014). Ils constituent un groupe de molécules chimiquement diversifiées : comme les dérivés de l'acide salicylique (Aspirine) les dérivés de l'acide propionique (Ibuprofène et Naproxène), et autres (Diclofénac, Indométhacine,

Nabumétone), les sélectifs de la COX-2 (Etoricoxib, Célécoxib, Lumiracoxib), mais ils sont tous capables d'inhiber la cyclooxygénase COX et l'atténuation de la synthèse des prostaglandines qui en résulte (**H.Blain., 2000**). Ils sont efficaces et prescrits pour le traitement de diverses affections inflammatoires et douloureuses (**D.Muster., 2005**).

### **I.5. Mode d'action des AINS**

Bien que leur composition chimique soit différente, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont un mode d'action commun. Ils inhibent la cyclo-oxygénase par pénétration dans les canaux constituant ces enzymes, ils les bloquent en se liant par des ponts hydrogène à une arginine dans la moitié inférieure du canal. Ceci inhibe ces enzymes de manière réversible en entravant l'accès de l'acide arachidonique, provoquant ainsi une réduction de la synthèse tissulaire de prostaglandines (PG) (Schéma I.1).

Les effets pharmacologiques de tous les AINS représenté sur l'organigramme ci-dessous résultent de l'inhibition de la synthèse des prostaglandines, ce qui entraîne une opposition aux actions de ces substances (**N.Levion., 2002 ; H.Blain., 2000**) .

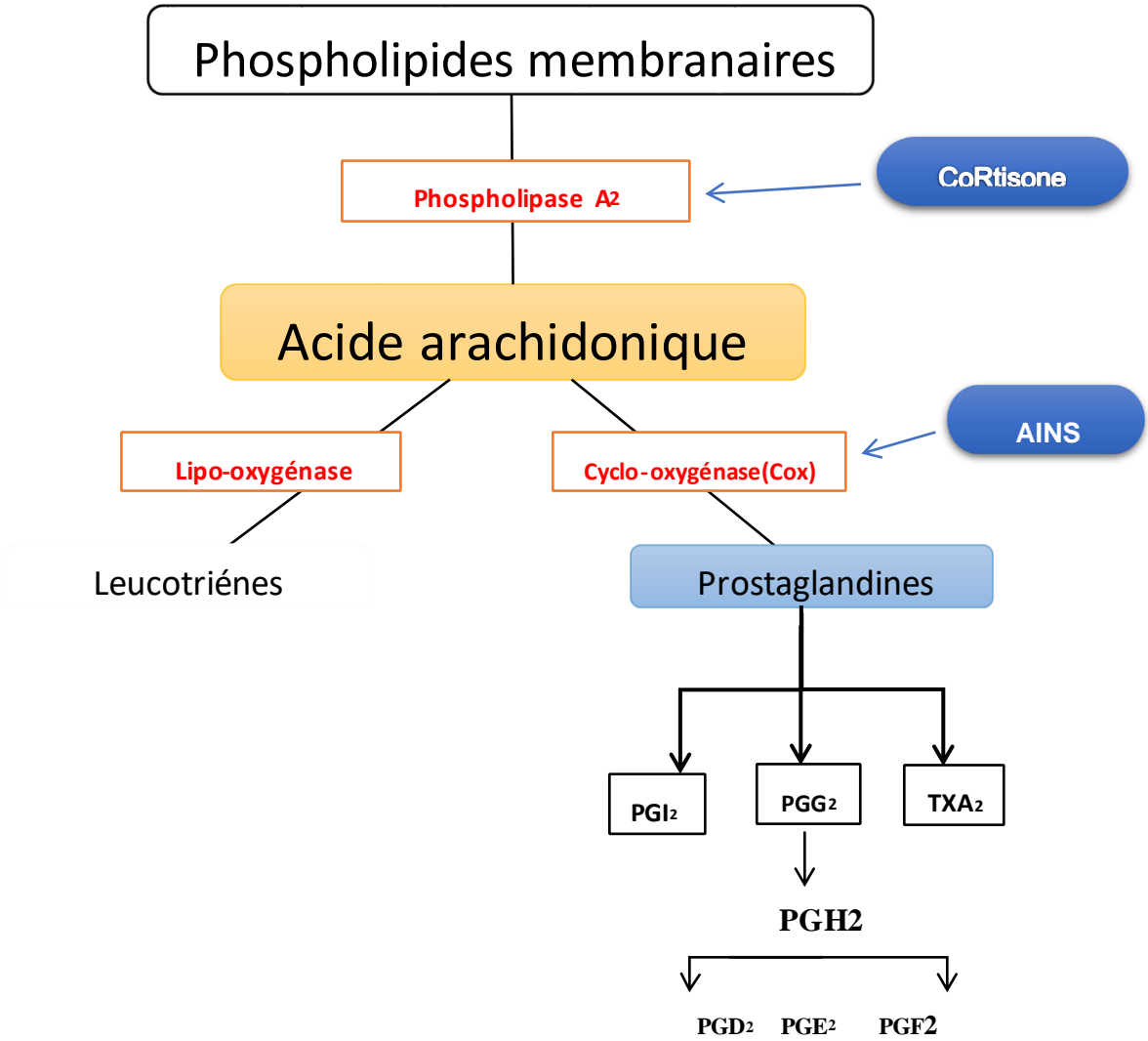


Schéma I.1. Métabolisme de l'acide arachidonique et mode d'action des AINS

**I.5. Effets pharmacologiques des AINS**

Les AINS sont couramment employés en raison de leurs propriétés pharmacologiques avantageuses. Toutefois, leur utilisation est également liée à différents effets indésirables.

Le tableau I.1 décrit les conséquences pharmacologiques des AINS.

**Tableau I.1. Effets des prostaglandines et des AINS**

Cibles	Effet des prostaglandines	Effet des AINS
SNC	Élève le seuil auquel les régulations hypothermisantes se déclenchent	<b>Antipyrétique</b>
Douleur	+	<b>Antalgique</b>

Plaquettes (COX-1 seule)	Via thromboxane progréant	<b>Antiagrégant</b>
Estomac	Inhibition sécrétion acide + augmentation de la sécrétion de mucus	<b>Ulcérigène</b>
Rein	Régulation du flux sanguin rénal en cas d'hypovolémie ; vasodilatation dans le rein défaillant	<b>Diminution du flux sanguin rénal ; insuffisance rénale</b>
Bronches	Dilatation	<b>Bronchoconstriction</b>
Inflammation	Douleur , rougeur , chaleur	<b>Anti inflammatoire</b>
Utérus	Contraction	<b>Retarde / les contraction douloureuses des règles ou de l'accouchement</b>

### **I.6. Anti-inflammatoire non stéroïdien inhibiteur sélectif du COX-2 : Célécoxib**

Le célécoxib ou (4-[5-(4-méthylphényl) -3-(trifluorométhyl) -pyrazol-1-yl] benzènesulfonamide), est un anti-inflammatoire non stéroïdien, utilisé pour traiter la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrose, la douleur aiguë et chronique, et l'inflammation (**M. Srinivasu., 2002**). De plus, le CXB est reconnu pour son potentiel anti carcinogène, notamment pour les tumeurs du côlon, le cancer du sein et le cancer de la peau. Ses effets antiinflammatoires, analgésiques, antipyrétiques et anticancéreux proviennent de son inhibition sélective de la cyclooxygénase-2 (COX-2), une enzyme essentielle impliquée dans la biosynthèse des prostaglandines (**S.Dadiboyena et al.,2012; L.Tive.,2000; I.Toloczko et al.,2019**). Le célécoxib a été aussi utilisé pour ses propriétés antimicrobiennes dans la lutte contre les bactéries résistantes. Ainsi, (**Salunke et al., 2006**) ont montré l'efficacité du célécoxib et ses dérivés dans la lutte contre la tuberculose causée par *Mycobacterium tuberculosis*. (**H.Chiu et al.,2012**) ont évalué l'efficacité antimicrobienne du célécoxib dans l'éradication in-vitro du *Staphylococcus aureus*, bactérie résistante à la Methicillin. Les résultats obtenus ont montré le potentiel bactéricide du célécoxib conte le *Staphylococcus*

*aureus*. Cette action antibactérienne significative a suscité les chercheurs à utiliser d'autres agents par modification structurale du CXB. Aussi, Chiu et ses collaborateurs (**H.Chiu et al., 2009**), ont testé le célécoxib sur la souche bactérienne « *Franeccisella tularensis* », une bactérie à gram négative, résistante, responsable de la tularémie : une infection avec un taux de mortalité de 60%. Les résultats obtenus ont montré l'efficacité du célécoxib sur cette bactérie par prolifération intracellulaire. (**SA. Alshawwa et al., 2022**) ont testé des nanoparticules chargées de CXB comme approche thérapeutique in vivo de lutte contre l'infection causée par le *Staphylococcus aureus*. Cette technologie innovante représente une avancée significative dans le traitement des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques. Elle repose sur l'encapsulation du CXB et formation de nanoparticules, capables de pénétrer dans les tissus infectés pour une délivrance ciblée et contrôlée. Ces nanoparticules, en raison de leur structure unique et de leur grande surface spécifique, peuvent améliorer la stabilité et la biodisponibilité du CXB, tout en minimisant les effets secondaires potentiels.

Dans des travaux antérieurs, les bases de schiff contenant le noyau pyrazole ont été testés pour leur activité antibactérienne in vitro par la méthode de diffusion en gélose contre deux bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis* (ATCC no. 23857) et *Staphylococcus aureus* (ATCC-29213)) et deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* (ATCC-25922) et *P. aeruginosa* (ATCC no. 25619)). Le ciprofloxacine a été utilisé en qualité de contrôle positif. Les résultats obtenus ont montré une bonne activité antibactérienne, avec des CMI de 0,78 µg/ml et 1,562 µg/ml, respectivement, contre la souche bactérienne Gram positif *S. aureus*.

Une autre étude réalisée par (**S.Thangamani et al., 2015**) a montré l'efficacité du célécoxib sur des souches bactériennes à gram positives et négatives. Il s'agit du *Staphylococcus*, *Streptococcus*, du *Listeria*, du *Bacillus* du *Mycobactérie*, de l'*Acinetobacter* et du *Pseudomonas*, sur lesquelles le CXB agit par inhibition de la synthèse de leur ARN, leur l'ADN et la synthèse protéique.

L'activité antibactérienne in vitro de quelques AINS non stéroïdiens, à savoir, le Méloxicam, le Célécoxib, le Valdicoxib et le Nimesulide, a été évaluée contre 20 souches bactériennes, prélevées de la peau et des urines humaines. L'effet antibactérien déterminée par la mesure des diamètres de zone d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice ont montré la

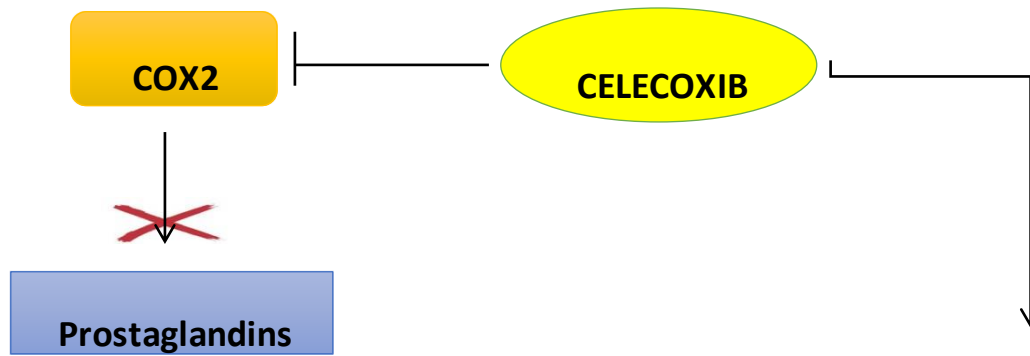
sensibilité de toutes les bactéries testées envers tous les Coxib utilisés, à l'exception du *Pseudomonas aeruginosa*, du *Klebsiella pneumoniae* et du *Staphylococcus aureus*, qui résistent respectivement au Meloxicam, Nimesulide et au Valdicoxib (H. Alkuraishy.,2013).

### I.7. Mécanisme d'action du célécoxib

Le célécoxib agit en inhibant sélectivement l'enzyme cyclooxygénase-2 (COX-2), responsable de la production des prostaglandines inflammatoires (Schéma I.2).

Les prostaglandines sont des composés chimiques que le corps fabrique naturellement en réponse à une inflammation ou à une blessure. Elles sont essentielles pour gérer la douleur, l'inflammation et la fièvre. En inhibant particulièrement l'activité de la COX-2, le célécoxib diminue la production de prostaglandines inflammatoires sans avoir d'effet significatif sur la COX-1, une autre forme d'enzyme cyclooxygénase responsable de la production de prostaglandines impliquées dans la protection de la muqueuse gastrique et la régulation de la fonction plaquettaire (RN.Saha et al.,2002) .

De cette manière, en diminuant la sécrétion de prostaglandines inflammatoires, le CXB aide à atténuer l'inflammation, à soulager la douleur et à réduire la fièvre chez les patients souffrant d'inflammation, telles que l'arthrose, l'arthrite rhumatoïde et la spondylarthrite ankylosante. L'inhibition spécifique de la COX-2 par le CXB est une approche viable pour réduire la toxicité gastro-intestinale, précédemment associée aux AINS traditionnels, tout en fournissant l'efficacité associée à des doses élevées de ces médicaments. (M.Cervello et al.,2011).



### INHIBITION



- |                                 |   |
|---------------------------------|---|
| *Inflammation accrue            | *Diminution de la production de prostaglandines |
| *Apoptose accrue                | *Diminution de la douleur et l'inflammation     |
| *Perméabilité vasculaire accrue | *Atténue l'angiogenèse rétinienne pathologique  |
| *Migration des leucocytes       | *Réduit les fuites vasculaires                  |
| *Inflammation intraoculaire     |   |

### Schéma I.2. Mécanisme d'action du célécoxib.

Le Célécoxib (CXB) appartient à la catégorie II du système de classification biopharmaceutique (BCS), en raison de sa faible solubilité dans l'eau, combinée à une haute perméabilité. Cette solubilité limitée pose des défis pour la dissolution du médicament, affecte sa biodisponibilité orale et peut entraîner des insuffisances thérapeutiques chez les candidats médicaments. Pour relever ces défis, diverses méthodologies ont été explorées pour améliorer la solubilité, la vitesse de dissolution et la biodisponibilité orale des médicaments peu solubles dans l'eau, y compris les dispersions solides amorphes, les systèmes co-amorphes, les micro et nanoparticules, la formation de sels, les nano-cristaux, les cocristaux, les complexes d'inclusion et les mélanges eutectiques qui font l'objet de cette étude.

### I.8. Mélange eutectique

En industrie pharmaceutique, un mélange eutectique peut être préparé en combinant un médicament et un support inerte (généralement un composé hautement hydrophile) ou en combinant deux médicaments ayant des solubilités différentes. Cette combinaison repose sur

l'établissement des interactions intermoléculaires dites interactions adhésives faibles comme le montre la représentation schématique de la (Figure I.3) (G.C. Bazzo et al., 2020).

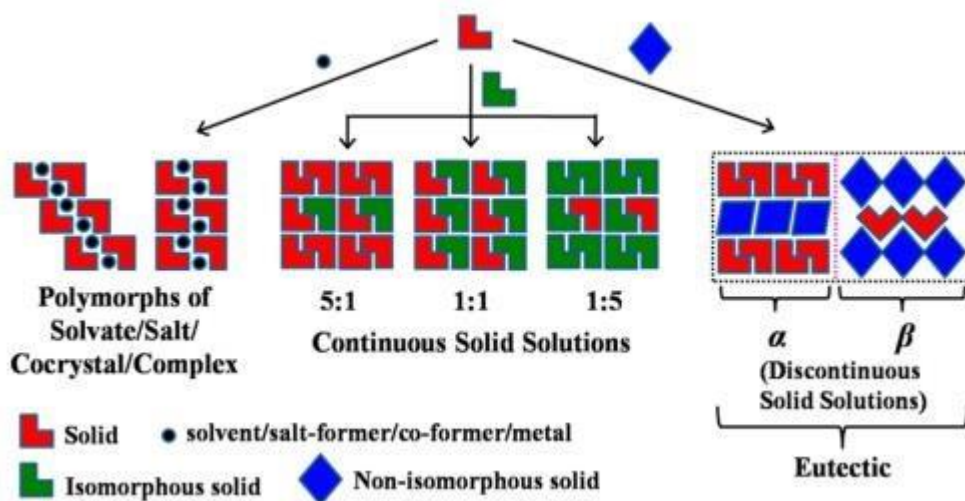


Figure I.3 : Représentation schématique de la structure structurale d'un mélange eutectique (G.C. Bazzo et al., 2020).

Le potentiel de tel mélange réside dans l'augmentation de la solubilité, de la vitesse de dissolution ou de la biodisponibilité des médicaments administrés par voie orale. (R.A.

Alshaikh et al., 2019 ; G. C. Bazzo et al., 2019 ; R.A. Riekes et al., 2016).

Les mélanges eutectiques n'ont cessé d'attirer un intérêt significatif en tant que système de délivrance de médicaments pour améliorer la biodisponibilité orale des médicaments faiblement solubles dans l'eau, pour les raisons suivantes :

- Les méthodes de préparation sont moins coûteuses et faciles à produire ;
- Les eutectiques ne sont pas considérés comme de nouvelles entités chimiques ou de nouvelles formes cristallines et, par conséquent, ne nécessitent pas d'essais cliniques
- Dans les systèmes eutectiques, les deux composants existent sous forme cristalline, qui sont très stables par rapport aux matériaux amorphes (Araya-Sibaja et al., 2019).

Plusieurs travaux portent sur la combinaison d'un principe actif de la classe II ou IV avec un support inerte ou un autre médicament, afin d'augmenter sa biodisponibilité orale. (S.M. Hyun et al., 2019) ont synthétisé et caractérisé deux mélanges eutectiques, obtenus par la combinaison binaire célécoxib/acide adipique et célécoxib/saccharine. Les résultats obtenus ont permis d'offrir une nouvelle stratégie de formulation pour améliorer la solubilité et la biodisponibilité orale du célécoxib.

**S. Emami et al., 2018 ; J. Haneef et al, 2017 ; S.M. S. Hyun et al., 2019**) ont élaborés des mélanges eutectiques par l'utilisation de différents acides organique, comme l'acide adipique, l'acide succinique, l'acide ascorbique, l'acide fumarique l'acide gallique, l'acide malonique, le nicotinamide ainsi que quelques acides aminés (**K. Chahda et al., 2017 ; R. Chahda et al., 2017 ; Park et al., 2020 ; Haneef et al., 2018**).

### **I.9. Solubilité**

La solubilité d'un produit consiste en sa dissolution dans un solvant donné. La solubilité d'un soluté par un solvant donné n'a lieu que si les liaisons solvant-solvant (de la solution) et soluté-soluté (du cristal) peuvent être remplacées par des liaisons solvant-soluté. Selon le type de solvant nous aurons 4 types d'interactions avec le soluté : ion-dipôle, dipôle-dipôle, liaison hydrogène, formation de complexes.

### **I.10. Coformeurs**

Les coformeurs désignent des composés qui, en interaction avec le principe actif, peuvent améliorer ses caractéristiques physico-chimiques, en particulier sa solubilité. Le choix du coformeur est crucial pour la formation d'un mélange eutectique efficace. Ainsi, les coformeurs potentiels doivent :

- Être compatibles avec le principe actif;
- Avoir une solubilité et une biodisponibilité adéquates;
- Ne pas interférer avec l'activité pharmacologique du PA.

# *Partie expérimentale*

Cette étude consiste en l'évaluation de l'activité antibactérienne et la solubilité de mélanges eutectiques, obtenus par combinaison d'un anti-inflammatoire non stéroïdien, qui est le célécoxib (CXB) et cinq molécules organiques jouant le rôle de coformeurs, appartenant à différentes familles chimiques et possédant des groupements fonctionnels, capables d'établir différents types d'interactions intermoléculaires, à savoir : les interactions dipôle-dipôle, les forces de Van-DerWaals, les interactions spécifiques par liaison hydrogène et les interactions  $\pi$ - $\pi$ . Les mélanges binaires préparés dans un rapport stœchiométrique 1 :1 sont :

- Célécoxib-Acide maléique
- Célécoxib-Acide cinnamique
- Célécoxib-Acide salicylique
- Célécoxib-nicotinamide
- Célécoxib-Acide succinique

La synthèse et la caractérisation des mélanges cités supra ont été effectuées respectivement, au niveau du Laboratoire Physico-Chimie des Matériaux (LPCM) de l'Université Amar Telidji et du Plateau Technique d'analyse Physico-chimique (PTAPC. CRAPC Laghouat). Quant à l'activité antibactérienne, elle a été évaluée au niveau du Laboratoire Régional Vétérinaire (LRV). Une récapitulation des différentes étapes expérimentales effectuées est portée sur le schéma cidessous :

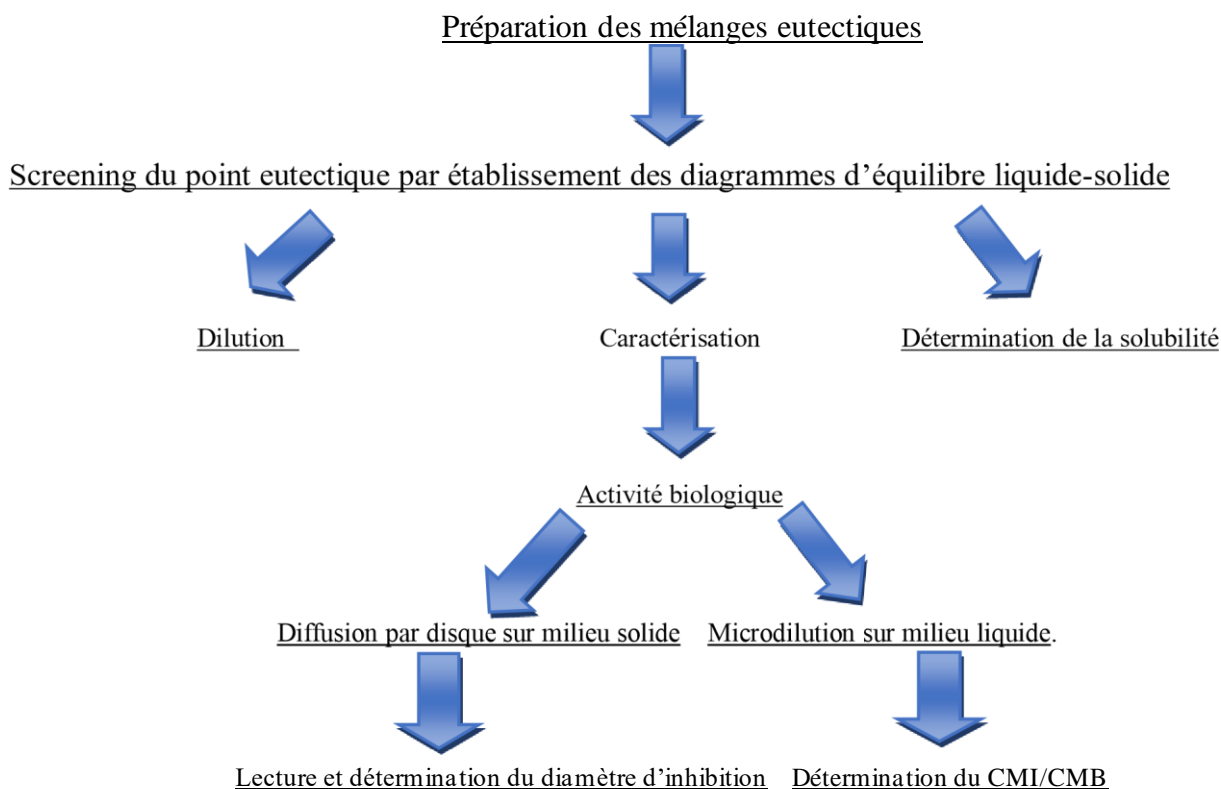


Schéma II.1. Diagramme récapitulatif de la procédure expérimentale suivie

## II.1. Matériels et méthodes

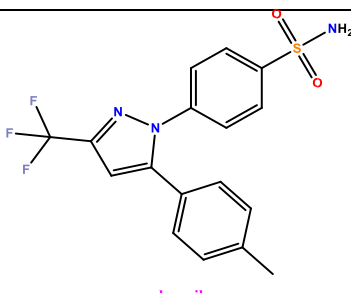
## II. 1.1. Produits chimiques utilisés

Les produits chimiques utilisés, dont la récapitulation est portée sur le (Tableau II.1), n'ont pas subi de purification ultérieure.

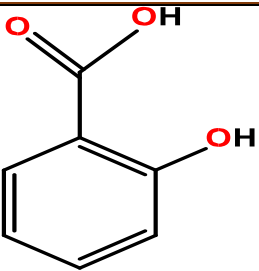
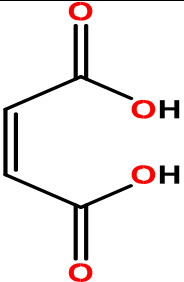
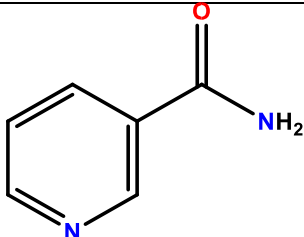
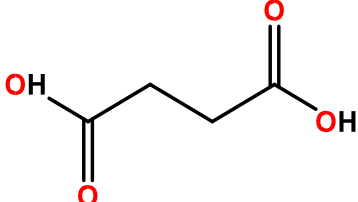
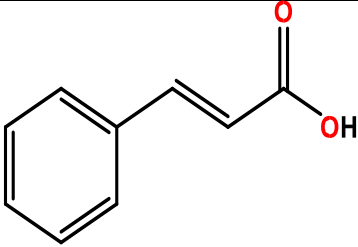
Tableau II.1. Produits chimiques utilisées.

	Formule brute	Poids moléculaire (g/mol)	Pureté(%)	Source
Celecoxib	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	381.37	-	Laboratoire National de Contrôle (LNC)
Nicotinamide	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	122,12	≥ 99	Sigma-Aldrich
Acide salicylique	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138.12	≥ 99.5	Sigma-Aldrich
Acide cinnamique	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	148.15	≥ 99	Sigma-Aldrich
Acide succinique	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	118.09	≥ 99.5	Sigma-Aldrich
Acide maléique	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	116.07	≥ 99.5	Sigma-Aldrich

Les propriétés physico-chimiques des produits utilisés dans ce travail sont portées sur le (Tableau II.2) Tableau II.2. Propriétés physico-chimiques des produits chimiques utilisés.

Structure	Formule brute	Nombre de donneurs de liaisons hydrogène	Nombre d'accepteurs de liaison hydrogène	pK <sub>a</sub>	Solubilité	Etat physique	Point de fusion
 <p>celecoxib</p>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	2	5 à 6	11,0	le célécoxib est peu soluble dans l'eau. Sa solubilité dans l'eau est d'environ 3 à 22 µg/ml. Cependant, il est plus soluble dans des solvants organiques tels que le chloroforme et le méthanol	poudre blanche	158 °C

## Partie expérimentale

 <p><b>Acide salicyllique</b></p>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	2	2	3,0	Soluble dans l'eau à température ambiante. Sa solubilité dans l'eau est d'environ 2 g/L à 25°C. Cependant	Poudre Blanche	159 °C
 <p><b>Acide maléique</b></p>	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	2	2	6,20	L'acide maléique est soluble dans l'eau à une concentration d'environ 553 g/L	cristaux incolores à blancs	135°C
 <p><b>nicotinamide</b></p>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	1	2	3.35	Très soluble dans l'eau ; 1 g soluble dans 1 ml d'eau Soluble dans butanol, chloroforme	Poudre Blanche	128 °C
 <p><b>Acide succinique</b></p>	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	2	2	4,21	L'acide succinique est soluble dans l'eau à raison d'environ 100 g/L. Cependant, sa solubilité dans d'autres solvants organiques peut varier.	cristaux incolores à blancs	185°C
 <p><b>Acide cinnamique</b></p>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2	2	4,44	Est soluble dans l'eau à température ambiante. Sa solubilité dans l'eau est d'environ 2,1 g/L à 25°C. Cependant, il est plus soluble dans des solvants organiques.	cristaux blancs	134°C

## II.1.2. Microorganismes testés

Les microorganismes choisis pour cette étude sont des souches de référence. Ils sont récapitulés dans le tableau II.3.

**Tableau II.3. Généralités sur les souches bactériennes utilisées**

Souches bactériennes testées	Caractère bactériologique	Habitats	Pouvoir pathogène	Numéro d'identification de souche standard
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +  Facultative anaérobique	L'Homme en est le principal réservoir contaminant, également les surfaces, l'air et l'eau. (M.Bouskraoui et al, 2017).	Infections suppuratives superficielles ou profondes : peau, tissu mou, muscle, os.  Toxiinfection : dues à la synthèse de différentes toxines par certaines souches.  (M.Bouskraoui et al, 2017).	ATCC 25923  (original,2024)
<i>Escherichia coli</i>	Gram –  Facultative anaérobique	Hôte normal du tube digestif.  M.Bouskraoui et al, 2017).	Infections entéro-coliques, infections urinaires, toxi-infections alimentaires, infections intra-abdominales, infections néonatales (méningites).  (M.Bouskraoui et al, 2017).	ATCC 25922  (original,2024)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram –  Facultative anaérobique	Les cavités naturelles en particulier le tube digestif et les voies aériennes supérieures. (M.Bouskraoui et al, 2017).	Infections nosocomiales et communautaires : bronchopulmonaires et urinaires. Méningites purulentes et Sepsis...  (M.Bouskraoui et al, 2017).	ATCC 70603  (original,2024)

## II.2. Méthodes expérimentales

### II.2.1. Synthèse des mélanges eutectiques

#### II.2.1.1. Broyage assisté par liquide (LAG)

Le broyage assisté par liquide consiste en l'ajout au mélange principe actif/coformeur un petit volume de solvant, afin de faciliter la formation d'un mélange eutectique. Le solvant dont il s'agit, agit en qualité de catalyseur, permettant l'établissement des interactions nécessaires pour la formation de tels mélanges (A. Thayyil *et al* 2020).

Afin de préparer les différents mélanges eutectiques étudiés pour évaluer leur activité antibactérienne et déterminer leur solubilité, nous avons procédé comme suit :

A l'aide d'une balance analytique de type Ohaus d'une précision de  $10^{-4}$  g, des masses du célécoxib et des différents coformeurs (supports inertes) ont été pesées dans un rapport stœchiométrique 1 :1 (**Tableau II.4**). Les masses  $m_1$  et  $m_2$  pesées sont mélangées et broyées par le procédé de broyage liquide assisté par solvant, à l'aide d'un mortier et d'un pilon pendant 30mn (**Figure II.1**). Une fois synthétisés, ces mélanges équimolaires sont placés dans une étuve pour permettre l'évaporation du solvant.



**Figure II.1. Broyage assisté par liquide LAG (Original, 2024).**

**Tableau II.4. Masses  $m_1$  et  $m_2$  du célécoxib et des différents coformeurs.**

	$m_1$ (g)	$m_2$ (g)
Célécoxib-acide maléique	0,35	0,11
Célécoxib-acide salicylique	0,42	0,15
Célécoxib-acide cinnamique	0,35	0,14
Célécoxib-nicotinamide	0,47	0,15
Célécoxib-acide succinique	0.35	0.11

### II.3. Caractérisation des mélanges eutectiques synthétisés

#### II.3.1 Calorimétrie différentielle à balayage DSC

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC en anglais abréviation de Differential Scanning Calorimetry) est une technique d'analyse thermique utilisée pour la caractérisation de changement d'état, de phase ou de structure d'un matériau. Elle permet de mesurer un flux de

chaleur échangée par un échantillon et le four par rapport à une référence inerte, en fonction de la température et du temps, quand ils sont soumis à un même programme de chauffage ou de refroidissement (où  $T$  varie linéairement avec  $t$ ).

La différence de température est convertie en une différence de flux de chaleur en mW. Par cette technique, on pourra donc, identifier les accidents thermiques que peuvent subir un composé. Ces accidents peuvent être réversibles, telles qu'une fusion ou une cristallisation, ou irréversibles, telles qu'une dégradation ou une réaction chimique par chauffage. Pour réaliser l'analyse calorimétrique différentielle (DSC), nous avons utilisé un appareil DSC Setaram 131 (**Figure II.2**), muni de creusets en aluminium de 30  $\mu$ l de volume et des thermocouples en Platine. La prise d'essai est d'environ 1 à 2 mg. L'analyse a été faite sous atmosphère d'azote avec une vitesse de chauffage de 2°C/min, dans un intervalle de température allant de 20°C jusqu'à 200°C. L'étalonnage des températures a été fait par l'indium, dont la température et l'enthalpie de fusion sont respectivement de 156.6°C et 28.5 J/g.



**Figure II.2. DSC utilisée pour la mesure des flux de chaleur (Original, II.3.2.**

### **Diffraction des rayons X (DRX)**

La diffraction des rayons X est l'une des méthodes d'analyses physicochimiques exploitées dans la caractérisation des réseaux cristallins. Les rayons X, comme toutes les ondes électromagnétiques, provoquent un déplacement du nuage électronique par rapport au noyau dans les atomes ; ces oscillations induites provoquent une réémission d'ondes électromagnétiques de même fréquence. Selon la direction de l'espace, un flux important ou faible de photons X ait lieu, ces variations selon les directions forment le phénomène de diffraction X. En utilisant la loi de Bragg, on pourra déterminer la distance réticulaire Pour l'analyse par diffraction des rayons X, nous avons utilisé un diffractomètre de type EMPYREAN (**Figure II. 3**). L'émission des rayons X est

effectuée grâce à une radiation  $\text{Cu}(K\alpha)$  à température ambiante pour une gamme de 2 thêtas comprise entre 2 et  $50^\circ$ , avec un pas de  $0,01^\circ$  et une vitesse de balayage de  $2^\circ / \text{min}$ .



**Figure II.3.** Diffractomètre de type EMPYREAN (Original, 2024).

### II.3.3. Microscopie électronique à balayage MEB

La microscopie électronique à balayage est une technique permettant de visualiser le comportement dispersif du matériau. Son principe consiste à explorer la surface de l'échantillon par un faisceau d'électrons très fin qui balaie point par point la surface de ce dernier. Sous l'impact de ce faisceau d'électrons accélérés, des électrons rétrodiffusés et des électrons secondaires émis par l'échantillon sont recueillis sélectivement par des détecteurs, qui transmettent un signal à un écran cathodique, dont le balayage est exactement synchronisé avec le balayage de l'objet. Cette technique nous permet d'avoir des renseignements sur la topographie, la morphologie et la composition de l'échantillon. L'appareillage utilisé est le microscope électronique à balayage environnemental de type Thermo Fischer SCIO2S (**Figure II.4**). L'analyse par microscopie électronique à balayage permet de voir la forme des particules obtenues à l'échelle microscopique ainsi que leur taille.



**Figure II.4. Microscope électronique à balayage environnemental de type Thermo Fischer SCIO2S (Original, 2024).**

#### **II.3.4. Infra-rouge à transformé de fourrier FTIR**

#### **II.3.4. Infra-rouge à transformé de fourrier FTIR**

La spectroscopie infrarouge est principalement, utilisée pour étudier les interactions entre les molécules, en analysant le profil du mode vibratoire, à savoir : la position, la largeur et l'intensité des bandes spectrales. La position du pic ou de la bande indique non seulement la présence d'un groupe particulier, mais donne également une bonne idée de l'environnement qui l'affecte. Il est bien connu que les forces intermoléculaires dues aux interactions par liaison hydrogène, entraînent un changement remarquable de certains des modes de vibration, permettant ainsi l'étude des interactions. La formation de la liaison hydrogène est d'une importance capitale dans de nombreux procédés industriels, elle joue un rôle central dans les processus biologiques au niveau moléculaire. Elle est responsable de la réorganisation structurale des molécules de mélanges, elle détermine également la structure et les propriétés de beaucoup de molécules et macromolécules biologiques.

La spectroscopie infrarouge joue un rôle crucial dans l'étude de la liaison hydrogène. Afin de confirmer le mélange eutectique de notre principe actif, nous avons procédé à une analyse par Infrarouge en utilisant un spectrophotomètre de type Jasco FT/IR-4200, représenté sur la (**Figure II.5**).



Figure II.5. Spectrophotomètre Jasco FT/IR-420 (Original, 2024).

## II.4. Préparation des solutions mères et filles du CXB pur et de ses cinq mélanges eutectiques

### II.4.1. Dissolution du principe actif pur et de ses mélanges eutectiques par le DMSO et préparation des solutions mères

Des masses bien déterminées du célécoxib pur ainsi que des cinq mélanges eutectiques ont été pesées à l'aide d'une balance analytique de type Ohaus, d'une précision de  $10^{-4}$ g et récapitulées dans le (Tableau II.4).

Les masses pesées ont été dissoutes dans 10 ml du DMSO (Dimethylsulfoxyde) et homogénéisées au moyen d'un agitateur Vortex.

Tableau II.4. Masses du principe actif pur et des mélanges eutectiques

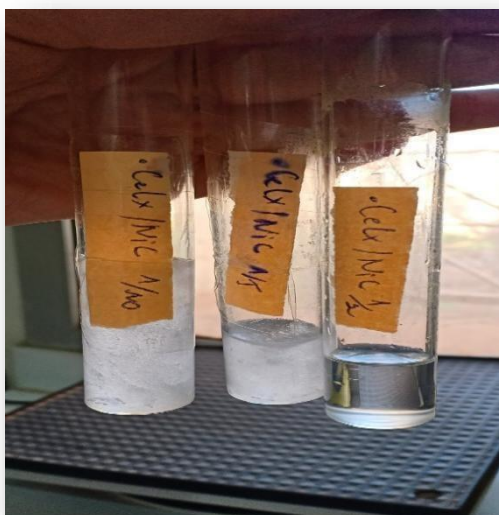
Constituant pesé	Masse (mg)	Concentration (mg/ml)
Célécoxib pur	903.8	90.38
Mélange eutectique 1	319	31.9
Mélange eutectique 2	461.3	46.13
Mélange eutectique 3	429.3	42.9
Mélange eutectique 4	566	56.6
Mélange eutectique 5	318	31.8

### II.4.2. Préparation des solutions filles par dilution de la solution mère à 1/2, 1/5 et 1/10

Afin de déterminer la gamme de concentration désirée, nous avons dilué la solution mère en trois solutions filles de concentrations respectives de 1/2, 1/5 et 1/10, comme le montre la **(Figure II.6)**. En outre, le contrôle positif est dilué de manière similaire. Le même volume (50 $\mu$ l) de DMSO (Dimethylsulfoxyde) est utilisé comme témoin négatif.

Les volumes que nous avons utilisés sont comme suit :

- Volume de la solution mère : 50  $\mu$ l
- Solution fille à 1\2 : 2 ml mélanges eutectiques (solution mère) + 2 ml DMSO.
- Solution fille à 1\5 : 1 ml mélanges eutectiques (solution mère) brut + 4 ml DMSO.
- Solution fille à 1\10 : 1 ml mélanges eutectiques (solution mère) + 9 ml DMSO.



**Figure II.6. Dilution de la solution mère (Original, 2024).**

### II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant deux méthodes :

- La méthode de diffusion sur milieu solide, qui consiste en l'observation de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne.
- La méthode de dilution en milieu liquide, qui se base sur la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides (CMB) des mélanges eutectiques.

### II.5.1. Méthode de diffusion sur disque

#### II.5.1.1. Préparation de la préculture

Il est nécessaire d'effectuer les tests antimicrobiens à partir de cultures bactériennes jeunes âgées de 18 à 24 heures et en phase de croissance exponentielle. La régénération des souches est réalisée en introduisant l'espèce bactérienne dans un milieu de culture (MH).

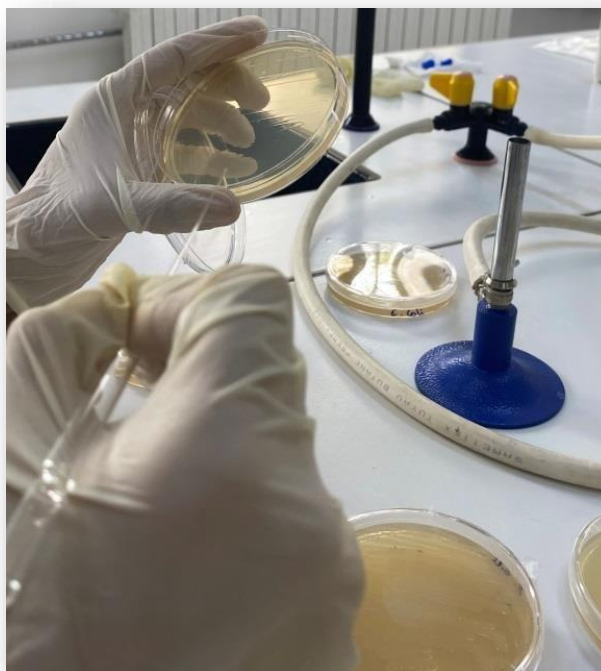


Figure II.7. Repiquage des souches bactériennes (Original, 2024).

#### II.5.1.2. Préparation de la suspension bactérienne

Après avoir cultivé les bactéries dans le milieu gélosé MH, nous avons sélectionné 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. Ces dernières ont été transférées dans 5 ml d'eau physiologique stérile et agitées à l'aide d'un agitateur vortex. La suspension bactérienne est standardisée à une concentration de  $10^6$  UFC, correspondant à une densité optique de 0.5 MFU (unité MCFarland), mesurée à l'aide d'un densitomètre, à une longueur d'onde de 625 nm.

#### II.5.1.3. Ensemencement

L'ensemencement se fait dans des boîtes de pétri, par répartition de la suspension bactérienne sur toute la surface du milieu de culture Miler Hinton (MH), préparé conformément aux instructions du fabricant. Les boîtes de pétri ensemencées sont incubées à 37 °C pendant 24 heures pour une éventuelle croissance bactérienne.



Figure II.8. Ensemencement des bactéries (Original, 2024).

#### II.5.1.4. Préparation des disques

Une fois l'ensemencement des bactéries dans le milieu de culture MH est établi, des disques en papier Wattman N°3 sont placés sur la surface de la gélose, en utilisant une pince stérilisée, puis ils sont imbibés avec 10  $\mu$ l de mélange eutectique brut et dilués, du métronidazole et du DMSO comme contrôle positif négatif respectivement. Trois disques imbibés de chaque concentration sont placés dans la même boîte de pétri.

Les boîtes de pétri contenant toutes les concentrations des différents échantillons, sont incubées à la température de 37°C pendant 24 heures. Une fois l'incubation est achevée, les diamètres d'inhibition des différentes bactéries testées sont mesurés en utilisant un pied à coulisse.



Figure II.9. Disques stériles usagés (Original, 2024)

### II.5.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

La méthode de microdilution a été utilisée pour déterminer l'efficacité antibactérienne des mélanges eutectiques du célexoxib dans un milieu liquide. Elle permet l'évaluation des concentrations minimales bactéricides (CMB) et des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour les mélanges binaires synthétisés.

#### II.5.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance visible après une période d'incubation de 18 à 24 heures. Elle permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux agents antimicrobiens (Kablan et al, 2008).

#### II.5.2.2. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la concentration d'un agent antimicrobien qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. C'est la plus faible concentration nécessaire pour tuer les bactéries présentes dans une culture.

#### II.5.2.3. Préparation des microplaques

La CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) des microorganismes étudiés a été évaluée au moyen d'une microplaque stérile à 96 puits, en utilisant une seule plaque pour deux mélanges eutectiques. Les bactéries utilisées dans le processus de microdilution sur microplaque sont : le *Staphylococcus aureus* et l'*Escherichia coli*.

Les microplaques sont préparées comme suit :

Les puits (A, B, C, F, G et H) (**Figure II.10**) sont inoculés avec 100 µl de bouillon Mueller Hinton liquide. Aux 1<sup>ers</sup> puits un volume de 100µl de mélange eutectique est ajouté. Une dilution à ½ est effectuée sur les cinq puits restants. Les puits D et E sont laissés vides afin d'éviter toute contamination.

Les puits 10 à 12 ont été conservés pour le contrôle positif, il s'agit en l'occurrence du métronidazole, un antibactérien de la famille des nitroimidazoles. Ce dernier est dilué à 1/2 et à 1/5 dans les puits 11 et 12. Quant au puit 9, il a été dédié au contrôle négatif (DMSO).

Une incubation de 18 heures à 37°C est indispensable pour la lecture des résultats escomptés.

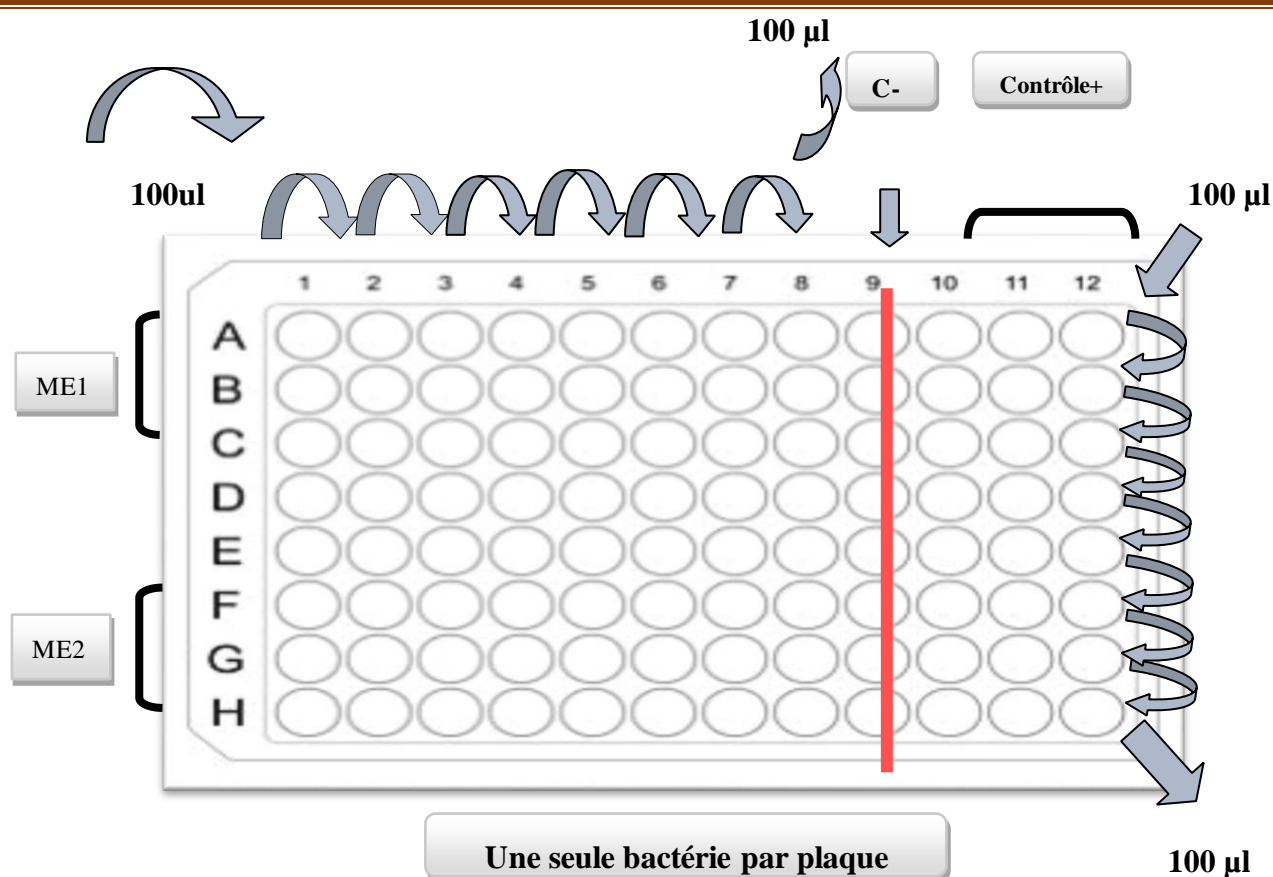


Figure II.10. Préparation des microplaques

#### II.5.2.4. Evaluation de la CMB

Une fois l'incubation est achevée, des boîtes de pétriensemencées de bactéries et inoculées de quelques microlitres de mélanges eutectiques, prélevés des puits correspondants à des concentrations égales ou supérieures à la CMI, ont été incubées pendant 18 heures à 37°C pour déterminer la CMB.

### II.6. Détermination de la solubilité

La méthode gravimétrique a été utilisée pour déterminer la solubilité du CXB pur et combiné dans l'eau à la température de 37°C. Un excès de constituant solide pur ou en mélange binaire a été ajoutée à 4 ml d'eau, et la suspension a été agitée à l'aide d'un agitateur vortex pendant quelques minutes. La suspension a été ensuite placée dans un incubateur muni d'un shaker. La solution préparée subit une agitation pendant 24h pour atteindre un équilibre thermodynamique. Une fois l'équilibre atteint, les suspensions obtenues ont été centrifugées à 3000 tr/min pendant 30 min et filtrés à l'aide d'un filtre seringue de 0,45 µm. Les solutions saturées de CXB et des mélanges eutectiques CXBcoformeur ont été conservées dans une hotte aspirante pendant environ une semaine pour l'évaporation de l'eau. La solubilité du CXB pur (mg/ml) dans l'eau a été calculée à

partir du produit de la masse du matériau séché (solubilité du mélange eutectique) et de la teneur respective en CXB dans le mélange eutectique séché (en fraction massique).

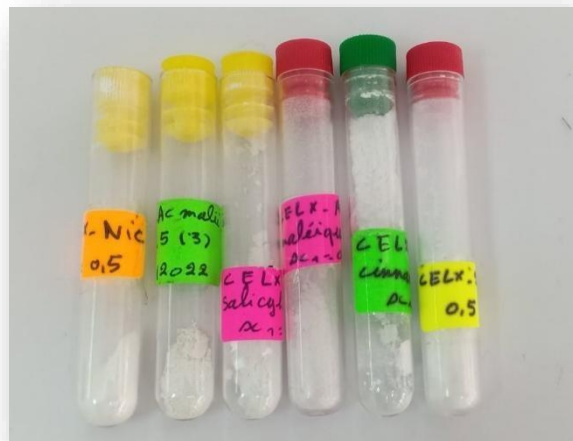
Ce travail a été réalisé au laboratoire vétérinaire régional de l'Etat de Laghouat, et les laboratoires académiques de l'Université Ammar Theliji de Laghouat.

## *Résultats et discussion*

Dans ce chapitre, nous présenterons une discussion des résultats obtenus, couvrant les résultats de synthèse, de caractérisation, de l'évaluation de l'activité antibactérienne des cinq mélanges eutectiques synthétisés et de leur solubilité dans l'eau.

### III.1. Mélanges eutectiques synthétisés

Les mélanges binaires préparés par broyage humide du célécoxib avec les différents coformeurs appelés aussi supports inertes (acide salicylique, acide maléique, nicotinamide, acide succinique et acide cinnamique), choisis pour leur structure chimique, pour leurs groupements fonctionnels divers, ainsi que pour leur non toxicité, sont obtenus sans changement de couleur et sous la forme d'une poudre blanche (**Figure III.1**). Cette conservation de couleur peut être traduite par des forces adhésives faibles, dues à l'établissement de la liaison hydrogène, aux interactions de Van der Waals, aux forces électrostatiques et/ou aux interaction  $\pi$ - $\pi$ .

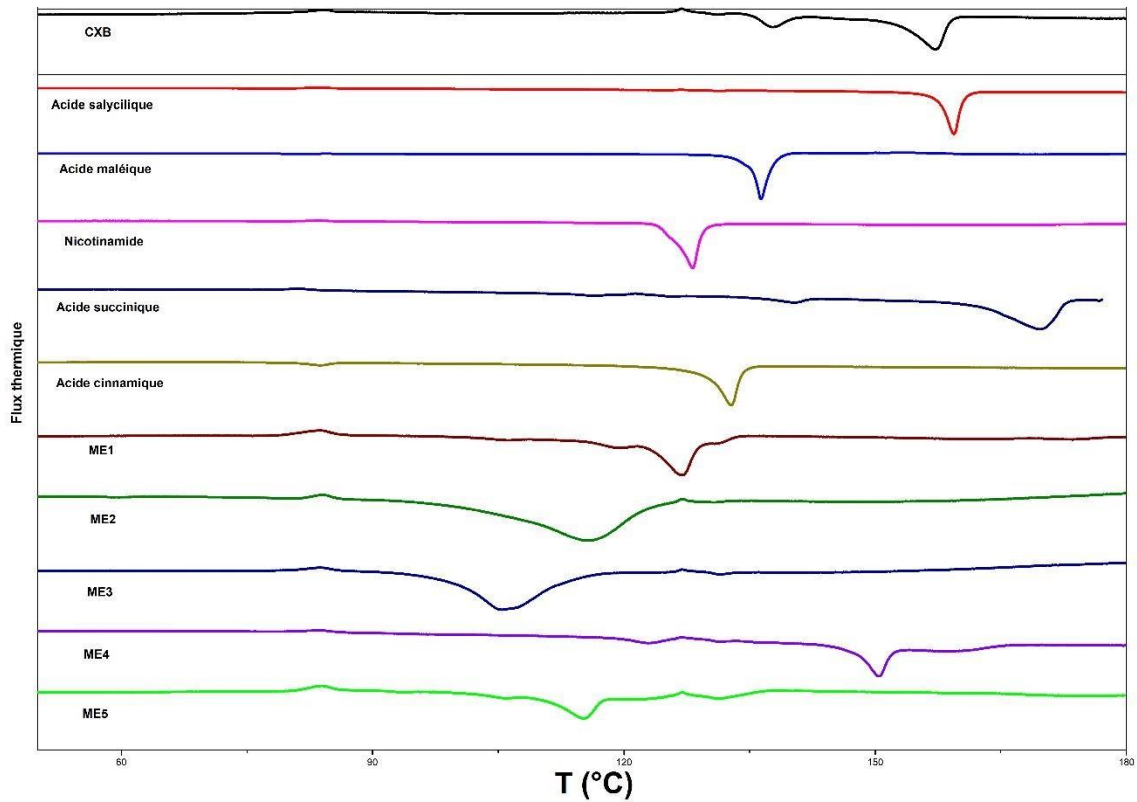


**Figure III.1.** Etat physique et couleur des poudres des différents mélanges eutectiques synthétisés (Original, 2024).

### III.2. Caractérisation

#### III.2.1. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les thermogrammes obtenus par une analyse calorimétrique différentielle sont représentés sur la (**Figure III.2**)



**Figure III.2 : Thermogrammes des différents corps purs ainsi que leurs mélanges eutectiques**

D'après l'allure des thermogrammes, nous pouvons constater que les mélanges synthétisés dans un rapport stœchiométrique 1 :1 présentent tous un seul accident thermique, caractérisé par des températures de fusion inférieures à celles des corps purs pris séparément. Ces résultats confirment la formation de mélanges eutectiques. Les températures de fusion des différents mélanges obtenues expérimentalement sont illustrées dans le **(Tableau III.1)**.

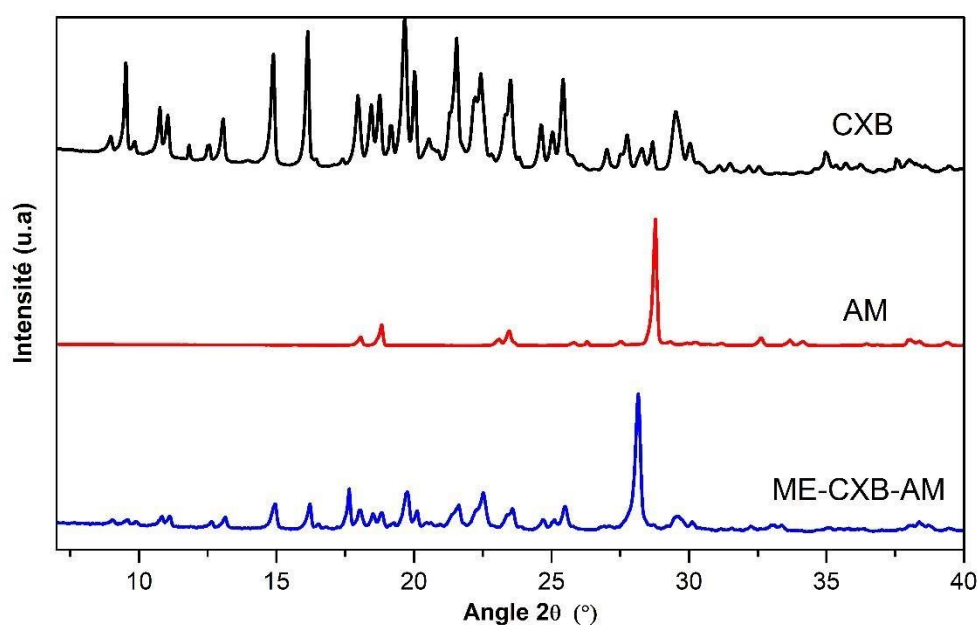
**Tableau III.1. Températures de fusion des corps purs et des mélanges binaires étudiés**

Mélanges eutectiques	Température de fusion (°C)
CXB pur	154.7
A.SAL	157.7
A.MAL	134.86
NIC	128
A.SUC	184
A.CIN	130.3
CXB-A.MAL	124.8
CXB-A.SAL	100.44
CXB-NIC	96.02
CXB-A.SUC	143.4
CXB-A.CIN	111.8

### III.2.2. Analyse par DRX

Les analyses par diffraction des rayons X jouent un rôle crucial dans l'étude des mélanges eutectiques, elles permettent la détection de modifications dans les structures cristallines.

La (Figure III.3) illustre les diffractogrammes des rayons X du CXB, de l'acide maléique et du mélange eutectique CXB-A.MAL.

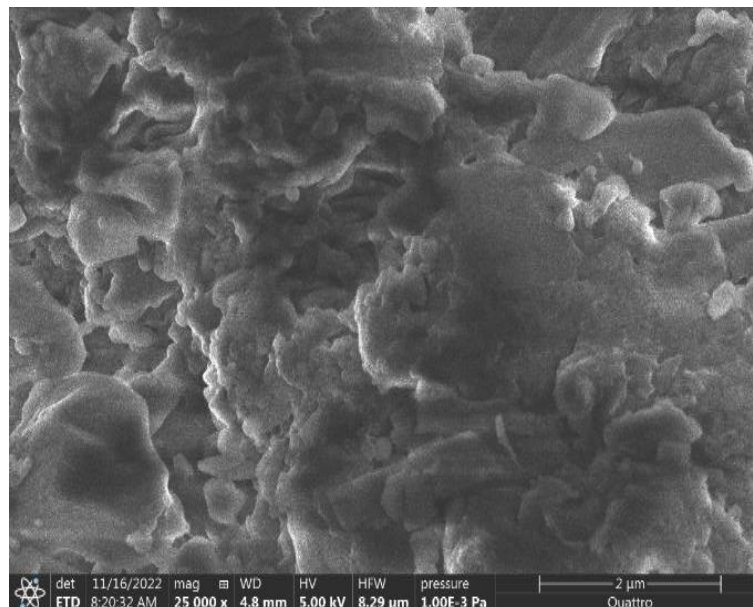


**Figure III.3. Diffractogrammes du CXB, A.MAL et CXB-A.MAL**

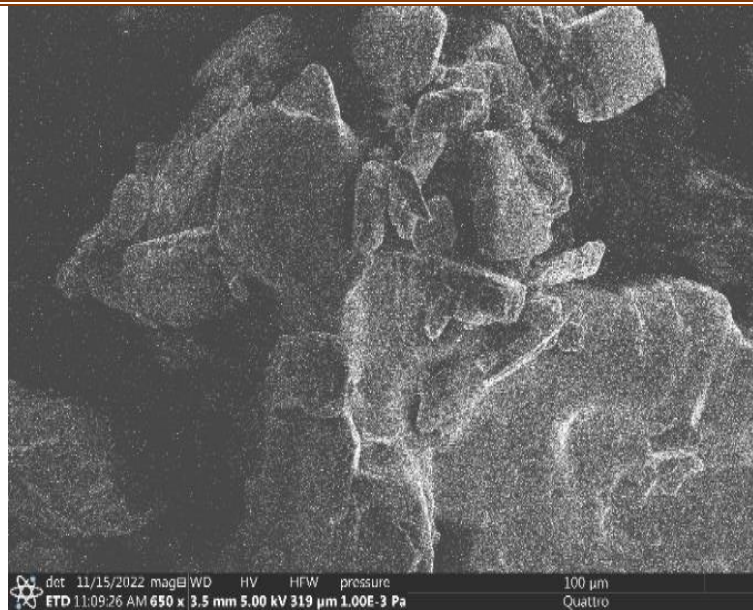
D'après la figure III.3, nous pouvons constater que les corps purs ainsi que le système binaire résultant sont cristallins. L'analyse par DRX du CXB pur a révélé des pics de diffraction de haute intensité à des valeurs de  $2\theta$  ( $15.1^\circ$ ,  $16.2^\circ$ ,  $19.6^\circ$ ,  $20.1^\circ$ ,  $21.6^\circ$  et  $22.4^\circ$ ). Ceci est cohérent avec les données rapportées dans la littérature (M.Hawley et al ,2006 ; Z.Yang et al ,2022 ; G.Chawla et al ,2003). L'acide maléique présente des pics distincts à des valeurs de  $2\theta$  de  $9.8^\circ$ ,  $21.6^\circ$ ,  $22.8^\circ$ ,  $25.3^\circ$  et  $29.5^\circ$ . Ce résultat est en accord avec la littérature (AM.Araya-Sibaja et al ,2019). Le mélange eutectique CXB-A.MAL conserve les pics caractéristiques du CXB et de l'acide maléique sans altérations de la position ou de la forme de ces derniers. Ces constatations confirment l'absence d'une nouvelle phase cristalline, se traduisant par la formation d'un mélange eutectique et non pas d'un cocrystal.

### III.2.3. Caractérisation des mélanges eutectiques synthétisés par microscopie électronique à balayage

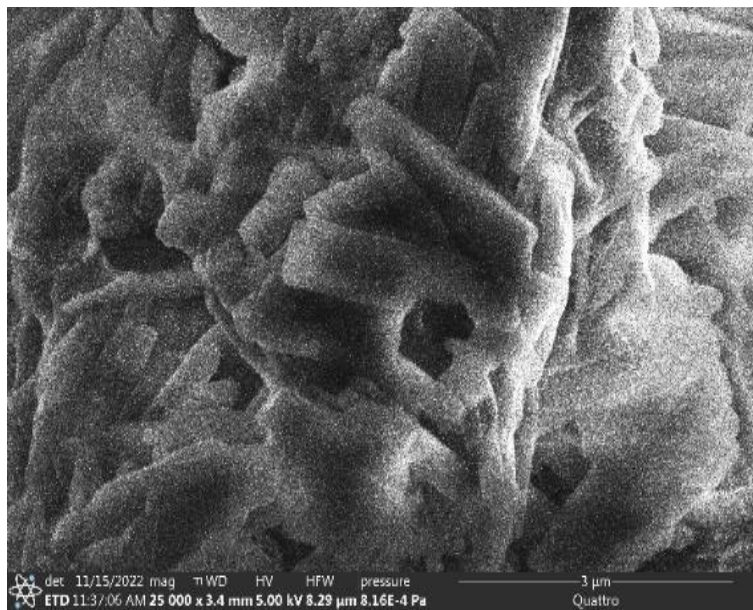
La (Figure III.4) illustre quelques micrographies prises par MEB du CXB, de A.MAL ainsi que de leur mélange CXB-A.MAL. D'après les micrographies de la figure III.4, nous pouvons constater que le mélange eutectique CXB-A.MAL se caractérise par une morphologie cristalline différente de celle des corps purs.



(a)



(b)



(c)

**Figure III.4. Morphologies de (a) CXB, (b) A.MAL, (c) CXB-A.MAL.**

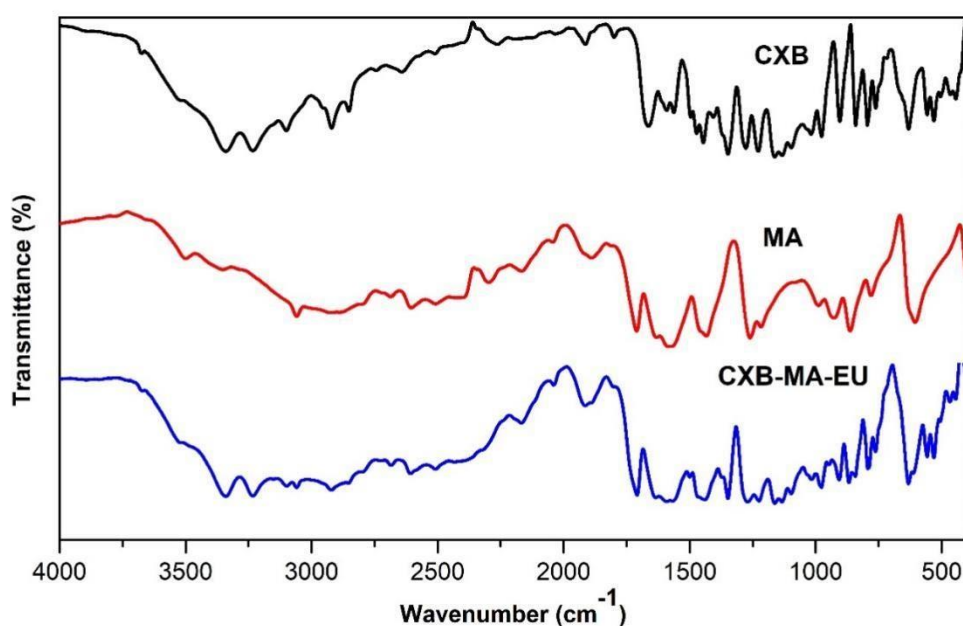
### III.2.4. Caractérisation par FTIR

La spectroscopie infrarouge est une technique efficace permettant de qualifier les interactions intermoléculaires présentes dans les solides tels que les cocristaux et les sels. Elle permet de déterminer la nature des interactions, par le biais des différentes fréquences dues à la

vibration et à l'élongation des liaisons établies par les groupements fonctionnels donneurs et accepteurs de protons.

Afin de procéder à l'analyse de quelques cocristaux élaborés par broyage humide, les échantillons ont été finement broyés et mélangés au bromure de potassium. Les spectres sont enregistrés avec une résolution de  $2\text{ cm}^{-1}$ .

Les spectres infrarouges du mélange eutectique CXB-AM et leurs corps purs sont reportés sur la (Figure III.5)



**Figure III.5. Spectres infrarouges du CXB, de A.MAL et du mélange binaire CXB-A.MAL**

Le spectre FT-IR du CXB pur révèle des pics à  $3230,6\text{ cm}^{-1}$  et  $3339,78\text{ cm}^{-1}$  correspondant respectivement aux vibrations d'élongation symétrique et asymétrique du groupement NH. Une bande de vibration par élongation du groupe imine  $\text{-C=N}$  apparaît à un nombre d'onde de  $1665,2\text{ cm}^{-1}$ .

Une bande à  $1344,3\text{ cm}^{-1}$  caractéristique d'une vibration par élongation de la liaison  $\text{-C=O}$  du groupe sulfonamide et une bande  $785,41\text{ cm}^{-1}$ , correspondant au groupe  $\text{-CH}$  aromatique. Ces résultats spectraux sont conformes à ceux rapportés dans la littérature (G.Lu et al ,2006). Dans le spectre FT-

IR de A.MAL, des pics ont été observés à 3059,7  $\text{cm}^{-1}$  correspondant à la vibration du groupe –OH de l'acide carboxylique, à 2879,83  $\text{cm}^{-1}$  (vibration de la liaison C–H), à 1704  $\text{cm}^{-1}$  (groupe C=O), à 1581  $\text{cm}^{-1}$  (vibration par élongation du groupe C=C de l'alcène cyclique), à 1341,79  $\text{cm}^{-1}$  (vibration par déformation du groupe O–H) et à 1098,64  $\text{cm}^{-1}$  (C–O), comme rapporté dans des études précédentes (P.Tran et al ,2023;V.M.Pandya et al ,2009).

Le spectre du mélange eutectique a révélé des pics correspondant à la fois au CXB et à l'acide maléique, sans déplacement ni élargissement des pics. Ce résultat peut être expliqué par l'absence d'interactions covalentes entre le principe actif et le coformeur et confirme la présence de l'état cristallin original des composés purs dans le système pharmaceutique binaire, sans formation de nouvelles molécules ni altérations des interactions intermoléculaires.

### III.3. Détermination de l'activité antibactérienne des mélanges eutectiques du célécoxib

#### III.3.1. Activité antibactérienne en milieu solide

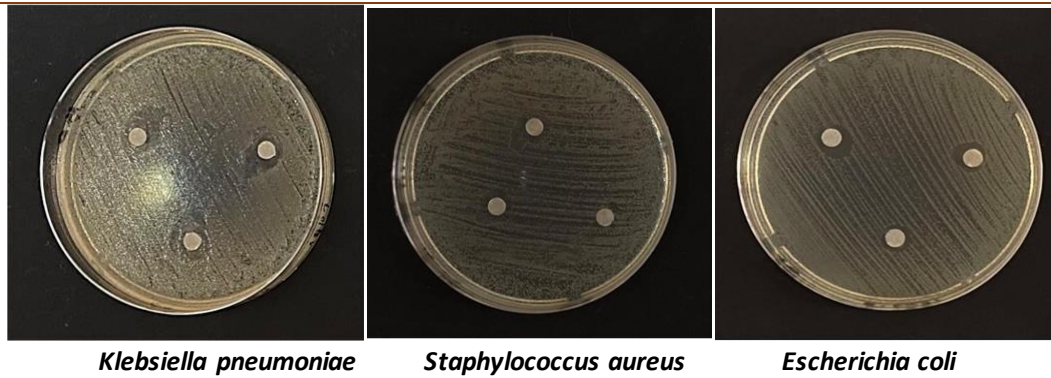
L'activité antibactérienne du contrôle positif (métronidazole), des différentes combinaisons binaires PA/supports inertes à différentes concentrations et du DMSO utilisé comme contrôle négatif, a été évaluée sur trois souches bactériennes, il s'agit de *Escherichia coli*, de *Klebsiella pneumoniae* et du *Staphylococcus aureus*.

##### III.3.1.1. Résultats du contrôle positif

Des antibiogrammes en présence du contrôle positif, s'agissant en l'occurrence du métronidazole pur de concentration 60 mg/ml ont été effectués sur les trois souches bactériennes. Les résultats obtenus représentés sur la (Figure III.6) révèlent tous la présence d'un halo d'inhibition de croissance bactérienne, correspondant à un diamètre d'inhibition compris entre 6.92 mm et 13.81 mm. La séquence de réactivité du contrôle positif est comme suit :

*Klebsiella pneumoniae* > *Escherichia coli* > *Staphylococcus aureus*

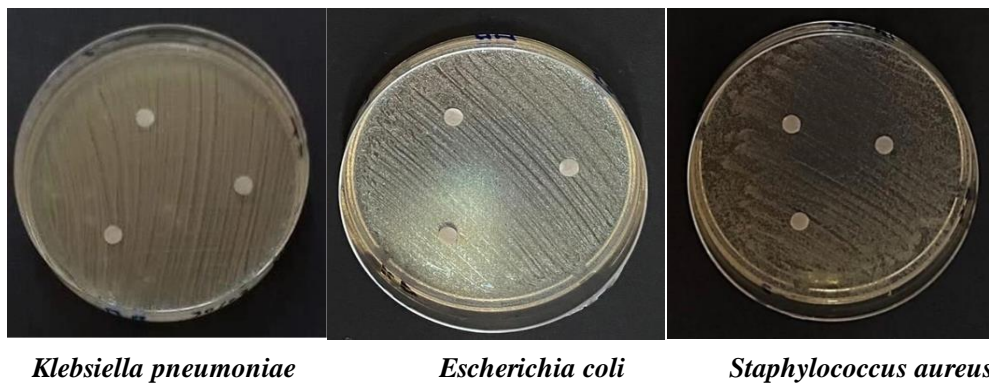
Le *Staphylococcus aureus* est le microorganisme le plus résistant au métronidazole pur en raison de la faible perméabilité de l'agent antibactérien. Ces résultats sont en accord avec la littérature (N. Islam et al, 2022).



**Figure III.6 : Effet du contrôle positif du MTZ pur sur les trois souches bactériennes testées (original,2024).**

### III.3.1.2. Résultats du contrôle négatif

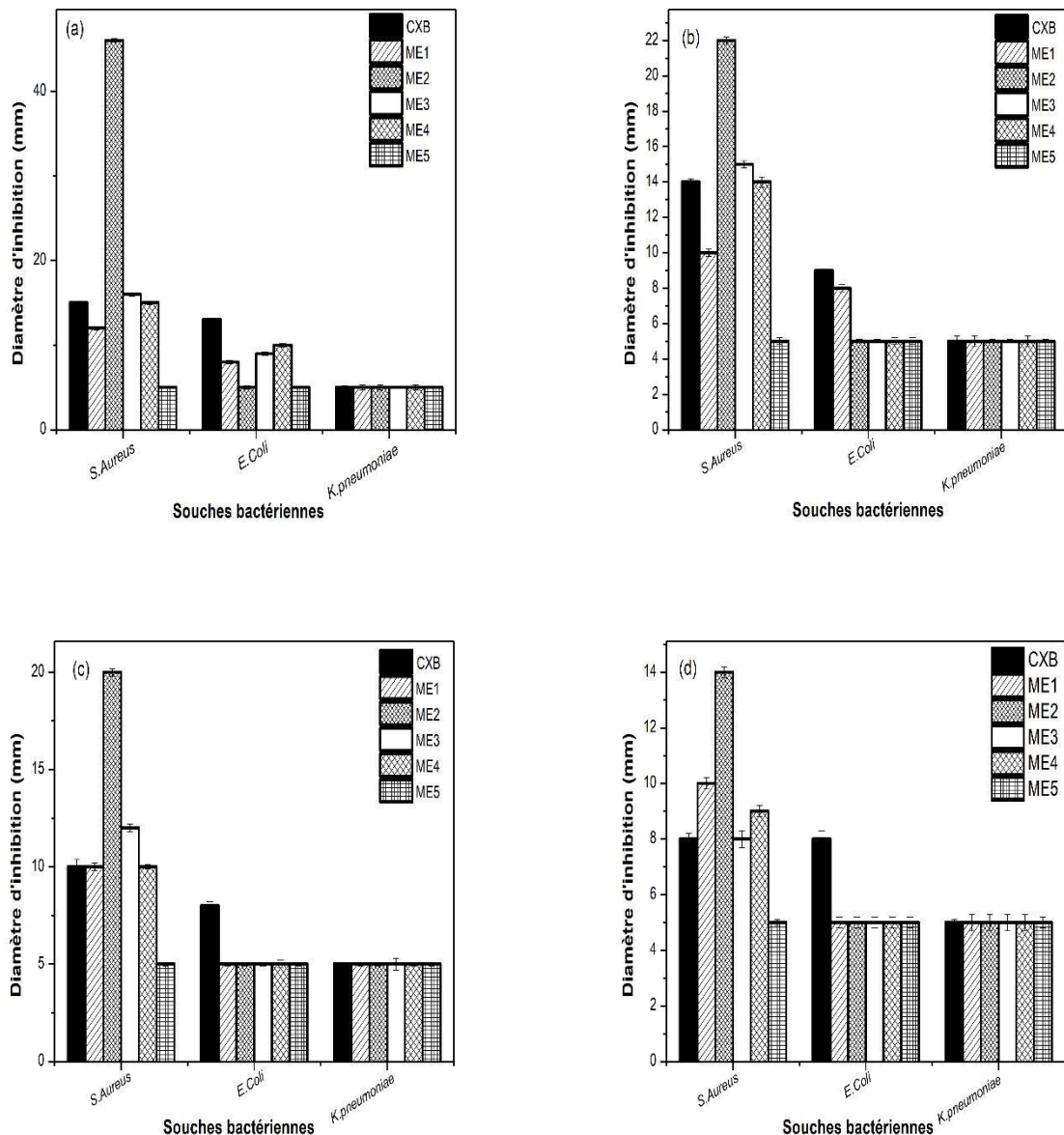
La (Figure III.7) montre qu'aucune inhibition de croissance n'est observée pour le contrôle négatif. Le DMSO n'exerce aucun effet sur la croissance de toutes les bactéries en milieu gélosé. Ceci confirme le bon choix du solvant utilisé pour la solubilisation.



**Figure III.7 : Effet du contrôle négatif (DMSO) sur les quatre souches bactériennes testées (original,2024).**

### III.3.1.3. Activité antibactérienne sur disque des différents mélanges eutectiques

Les antibiogrammes des différents mélanges binaires bruts et dilués étudiés et formés de la combinaison binaire PA/coformeur sont récapitulés dans le (Tableau III.2) et illustrés sur la (Figure III.8).



**Figure III.8.** Histogrammes des résultats des antibiogrammes des cinq mélanges eutectiques vis-à-vis les souches bactériennes testées : **(a)** Histogramme comparatif des cinq mélanges binaires de concentration  $C_0$  ; **(b)** Histogramme comparatif des cinq mélanges binaires dilués de concentration  $C_0/2$  ; **(c)** Histogramme comparatif des cinq mélanges binaires dilués de concentration  $C_0/5$  ; **(d)** Histogramme comparatif des cinq mélanges binaires dilués de concentration  $C_0/10$ .

D'après les résultats obtenus nous pouvons déduire ce qui suit :

- ❖ Le célexocib brut agit sur les souches bactériennes testées dans cette étude selon la séquence suivante :

*Staphylococcus aureus* > *Escherichia coli* > *Klebsiella pneumoniae*

Ces résultats sont en accord avec les travaux de (M.Hayder et al.,2013). Cependant, le mécanisme d'action antibactérienne du célexocib est mal connu. Plusieurs hypothèses ont été proposées :

- Interaction avec les lipides de la membrane cellulaire des bactéries, perturbant leur intégrité et leur fonctionnement ;
- Inhibition de la synthèse des prostaglandines qui pourrait avoir un effet indirect sur la croissance bactérienne ;
- Perturbation des voies de signalisation cellulaire des bactéries, affectant leur métabolisme et leur survie ;
- Modulation de l'expression de certains gènes bactériens, engendrant ainsi son activité antibactérienne.

L'inflammation favorise la croissance bactérienne en entraînant une accumulation de liquide dans la zone de lésion, en raison de l'augmentation de la perméabilité vasculaire, conduisant à un œdème, qui peut en réalité favoriser la croissance bactérienne et causer des lésions tissulaires, fournissant ainsi un bon milieu et des nutriments pour les bactéries. Par conséquent, le CXB inhibe la croissance bactérienne en inhibant le processus inflammatoire. De plus, une déficience en COX-2 entraîne une réduction de l'inflammation et de la libération de cytokines.

- ❖ Les mélanges eutectiques **CXB-A.MAL**, **CXB-A.SAL**, **CXB-NIC** et **CXB-A.SUC** manifestent des diamètres d'inhibition allant de 8 à 46 mm. Les agents non antibactériens suscités ont une activité antibactérienne significative contre le *S.Aureus* selon la séquence de réactivité cidessous :

**CXB-A.MAL > CXB-NIC > CXB-A.SAL > CXB-A.SUC**

Cette réactivité peut être traduite par la structure chimique, la polarité de ces mélanges ainsi que la nature des interactions intermoléculaires mises en jeu dans ces combinaisons binaires et en particulier, les interactions hydrophobes qui, en augmentant, l'activité antibactérienne croît. Ainsi, les pouvoirs antibactériens les plus élevés ont été obtenus en présence du ME2 (CXB-A.MAL), avec un diamètre d'inhibition de 46 mm enregistré contre la *S. Aureus*. Ce halo d'inhibition élevé peut être expliqué par la stabilité du ME2, due à l'établissement de différentes interactions non covalentes, il s'agit en l'occurrence des interactions de Van der Waals, des interactions  $\pi$ - $\pi$  et de la liaison hydrogène qui se manifeste entre les groupements donneurs et accepteurs de protons existants dans les deux molécules. Le *S.Aureus*, bactérie gram-positive est caractérisé par une paroi épaisse de peptidoglycane, facilitant l'insertion et la solubilisation du mélange hydrophobe dans la membrane plasmique, ce qui aboutit à une perte de l'intégralité de la bicouche lipidique et une modification de sa perméabilité aux ions et autres constituants cellulaires, conduisant ainsi, à la perte des éléments cytoplasmiques, la lyse et la mort cellulaire. Aussi, la perturbation de la structure

de la paroi ou l'inhibition des enzymes spécifiques, impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane permettent par conséquent, le passage de l'agent à activité antibactérienne pour atteindre l'ADN du micro-organisme. Une fois atteint, ce dernier se lie aux protéines nucléiques, il inhibe les protéines de synthèse, ce qui engendre l'inhibition ou la mort du microorganisme.

- ❖ Le ME5 synthétisé par la combinaison du CXB et de l'acide cinnamique n'a aucun effet antibactérien sur le *S.Aureus*. Cet effet nul peut être traduit par une polarité élevée et par conséquent une hydrophobicité petite, ce qui diminue son interaction avec les chaînes polysaccharides constituant la paroi, engendrant ainsi une imperméabilité au ME5.
- ❖ L'effet des mélanges eutectiques synthétisés sur les souches bactériennes à gram-négative est moins prononcé que l'effet obtenu contre le *S.Aureus*. Ce résultat est en accord avec la littérature (D. Mishra et al ,2010).
- ❖ Les bactéries gram-négatives testées dans ce travail, à savoir l'*E.Coli* et *K.pneumoneae* sont respectivement moins sensibles à résistantes. Le CXB pur ainsi que les mélanges eutectiques synthétisés manifestent des diamètres d'inhibition allant de 8 à 13 mm contre l'*Escherichia coli*. Cette sensibilité faible peut être traduite par la nature de la paroi cellulaire, dont ses caractéristiques uniques rendent souvent les bactéries gram-négatives plus résistantes contre de nombreux agents hydrophiles. Néanmoins, l'effet antibactérien observé peut être dû à l'action de l'agent avec les lipides de la membrane cellulaire, ce qui entraîne sa perturbation et par conséquent, elle devient perméable, provoquant une fuite de composants cellulaires essentiels tels que les ions, les nucléotides, et les métabolites.
- ❖ La perturbation de la membrane peut également affecter les fonctions membranaires critiques, telles que le transport des nutriments et l'élimination des déchets, conduisant à un stress accru et à la mort cellulaire.
- ❖ Le *Klebsiella pneumoniae* est une souche résistante au CXB pur et ses mélanges eutectiques avec un halo d'inhibition nul en raison d'une modification de la cible ou d'une inactivation enzymatique. Ce résultat est en accord avec la littérature (M.Hayder et al ,2013).

**Tableau III.2. Résultats des tests de l'activité antibactérienne obtenus par diffusion en milieu solide des cinq agents synthétisés.**

Diamètre de zone d'inhibition en (mm)																								
	Célécoxib pure				CXB+A.SAL				CXB+A.MAL				CXB + NIC				CXB + A.SUCC				CXB + A.CIN			
	Solution mère	1/2	1/5	1/10	Solution mère	1/2	1/5	1/10	Solution mère	1/2	1/5	1/10	Solution Mère	1/2	1/5	1/10	Solution mère	1/2	1/5	1/10	Solution mère	1/2	1/5	1/10
<i>E. coli</i>	13	9	9	8	8	8	5	5	5	5	5	5	9	5	5	5	10	5	5	5	5	5	5	5
<i>S. aureus</i>	15	14	10	8	12	10	10	10	46	22	20	14	16	15	12	8	15	14	10	9	5	5	5	5
<i>K.pneumoniae</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

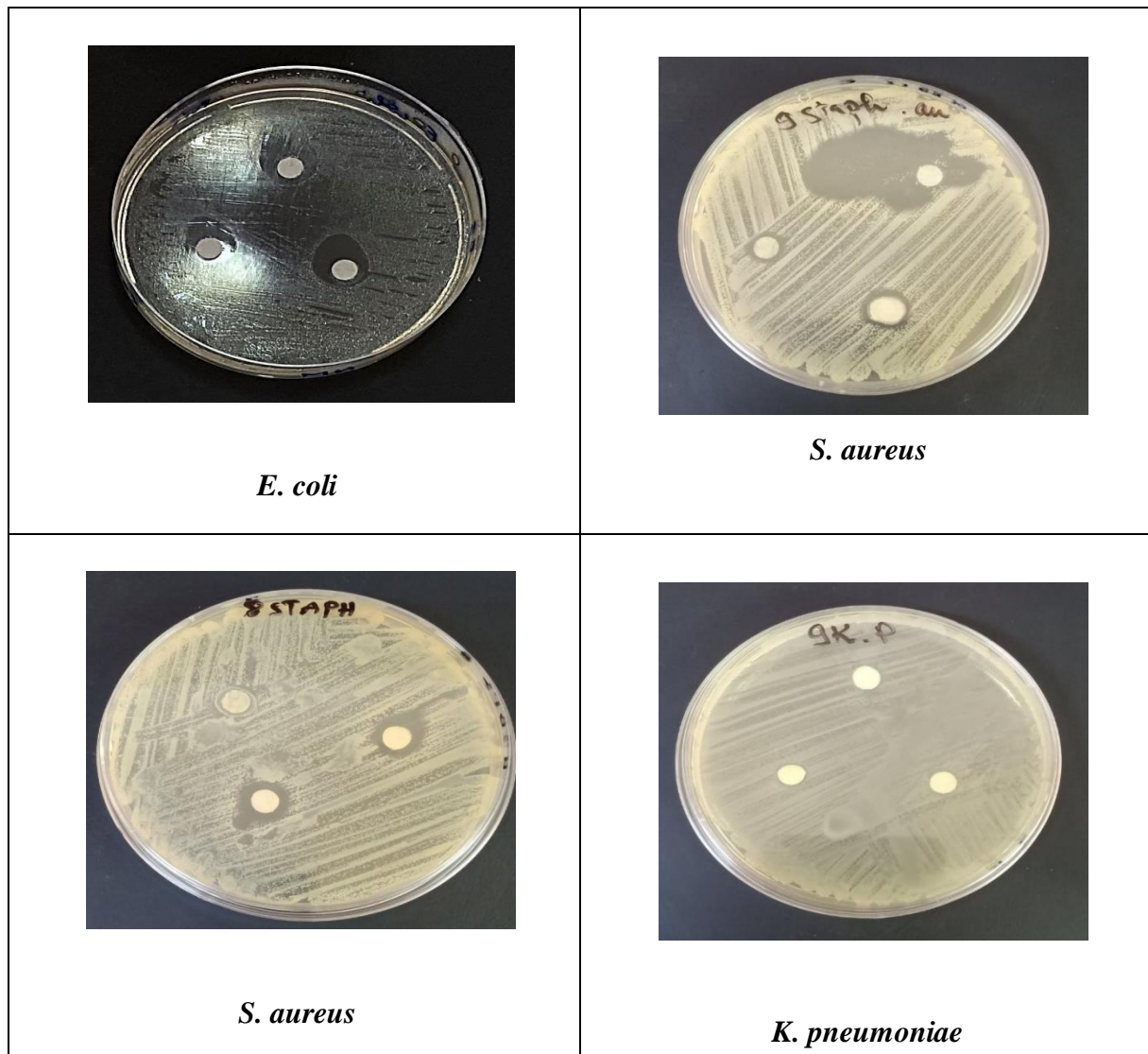


Figure III.9. Effet antibactérien du ME2 sur les trois souches testées.

### III.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) bactéricide (CMB)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration de l'inhibition de la croissance bactérienne, elle est évaluée par la méthode de microdilution sur microplaques. Cette dernière a révélé des puits transparents et d'autres troublés, dus à une concentration insuffisante du composé synthétisé nécessaire pour l'inhibition de la croissance bactérienne.

La (Figure III.10) illustre les histogrammes correspondant à la CMI obtenues du CXB pur et de ses mélanges eutectiques.

Les résultats obtenus de la CMI et de la CMB sont récapitulés dans le (Tableau III.3) et représentés sur les (Figure III.11-III.13).

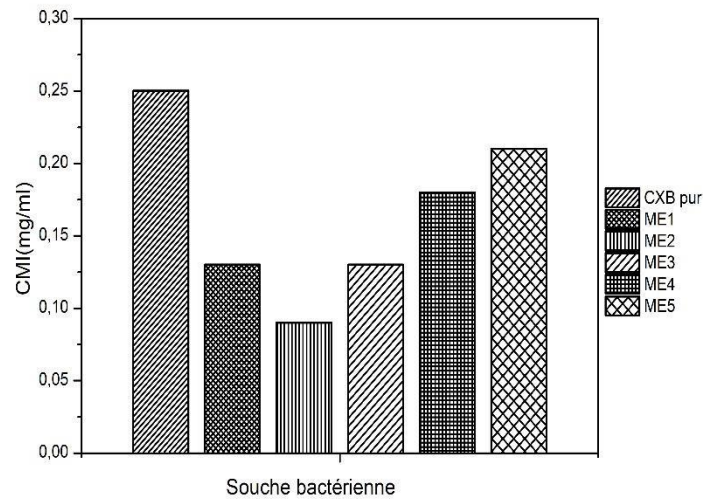
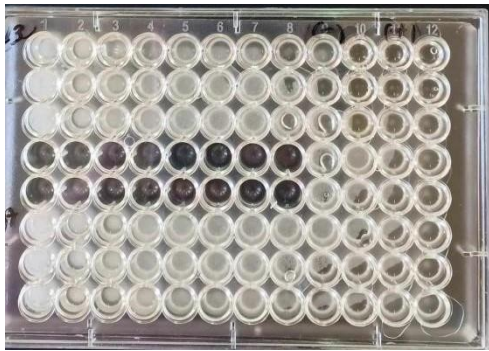


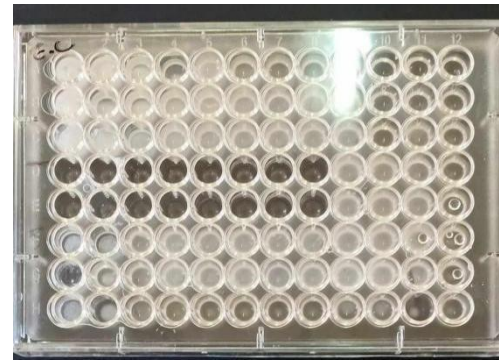
Figure III.10. CMI du CXB pur et de ses cinq mélanges eutectiques

Tableau III.3. CMI (mg/ml) et CMB (mg/ml) obtenues par la méthode de microdilution vis-à-vis les deux souches bactériennes

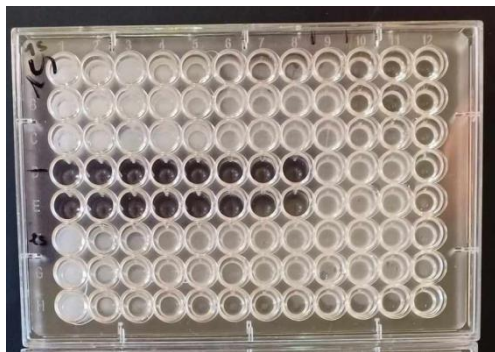
Constituant	Souches microbiennes	CMI(mg/ml)	CMB
CXB pur	<i>E. coli</i>	0.72	>0.72
	<i>S. aureus</i>	0.72	>0.72
CXB + A.SAL	<i>E. coli</i>	0.13	>0.13
	<i>S. aureus</i>	0.13	0.13
CXB+ A.MAL	<i>E. coli</i>	0.09	>0.09
	<i>S. aureus</i>	0.09	> 0.09
CXB + NIC	<i>E. coli</i>	0.12	> 0.12
	<i>S. aureus</i>	0.12	> 0.12
CXB + A.SUC	<i>E. coli</i>	0.18	>0.18
	<i>S. aureus</i>	0.18	>0.18
CXB + A.CIN	<i>S. aureus</i>	0.21	> 0.21



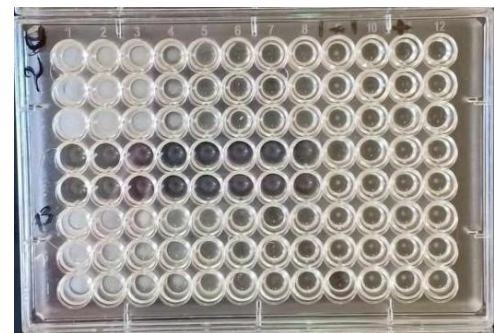
(a)



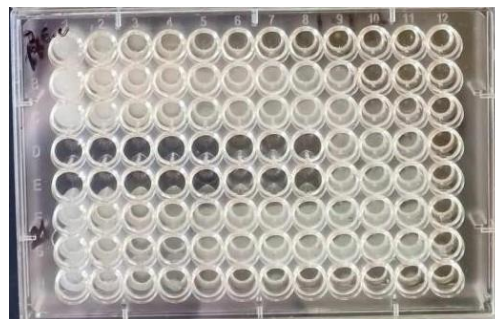
(b)



(c)



(d)



(e)

**Figure III.11. Détermination des CMI et CMB des cinq mélanges eutectiques étudiés contre : (a,b) *E.Coli* et (c,d,e) *S.Aureus***

Selon la littérature (N. Djabou et al, 2013) les bactéries sont :

- Résistantes lorsque leur CMI est comprise entre 25 et 50 mg/ml.
- Moyennement sensible (+) pour une valeur comprise entre 3 et 12.5 mg/ml.
- Sensibles (++) pour une CMI comprise entre 0.4 et 2 mg/ml.
- Extrêmement sensibles lorsque leur CMI est inférieure ou égale à 0.2 mg/ml.

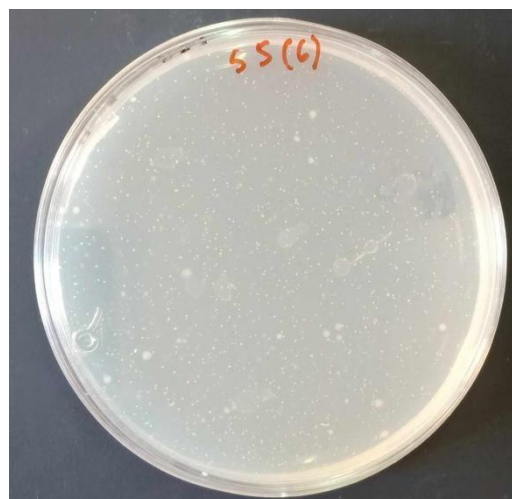
Les concentrations minimales d'inhibition évaluées dans cette étude varient entre 0.09 et 0,72 mg/ml. Ces valeurs traduisent la sensibilité des bactéries testées via les mélanges eutectiques synthétisés qui peuvent être caractérisés d'agents bactériostatiques et bactéricides à des concentrations plus élevées.

Une CMI de l'ordre de 0.09 mg/ml a été obtenue avec la combinaison binaire CXB-A.MAL contre les souches bactériennes (*E. Coli* et *Staphylococcus aureus*). Ce résultat est en accord avec les halo d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion en milieu solide. Le groupement sulfonamide du célécoxib peut interagir par le biais de la liaison hydrogène avec les groupement carboxyle et hydroxyle de l'acide maléique. Ces interactions engendrent une stabilité du mélange et contribuent ainsi à la réduction du point de fusion et par conséquent, à l'augmentation de l'efficacité thérapeutique. Les CMI les plus élevées ont été enregistrées dans les mélanges eutectiques CXB-A.CIN et CXBA.SUC.

La CMB permet de déduire la nature de l'agent utilisé pour un éventuel effet antibactérien.

Si cette concentration est égale à la CMI, l'agent est bactéricide ;

Si la CMB est supérieure à la CMI, il est bactériostatique. Nous pouvons déduire d'après nos résultats qu'aux concentrations prises, nos agents se comportent comme bactériostatiques.



**Figure III.12. CMB du ME 2 contre la souche bactérienne (*Staphylococcus aureus*).**

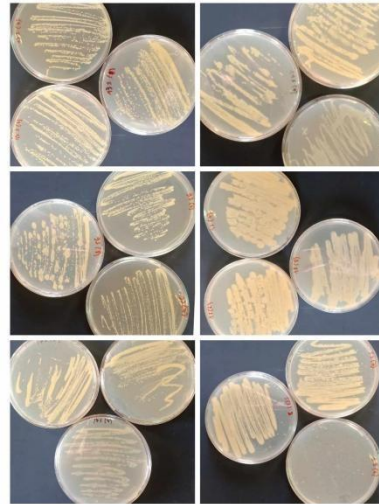


Figure III.13. CMB des différentes souches bactériennes

### III.4. Détermination de la solubilité

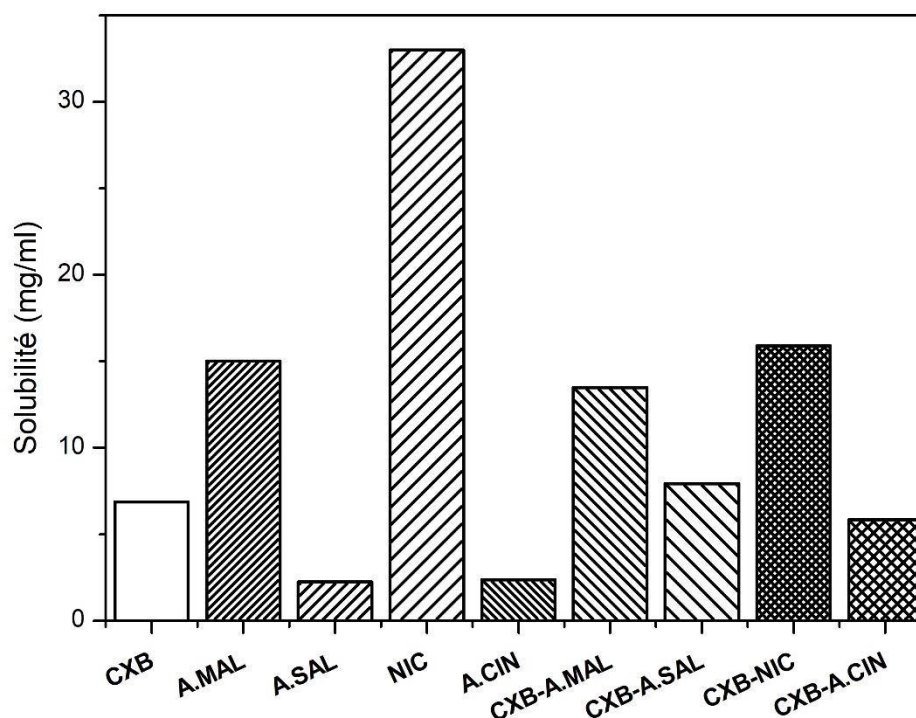
La solubilité est définie comme la quantité maximale d'une substance, qui se dissoudra dans une quantité donnée de solvant, à une température et une pression déterminées. Il s'agit d'une propriété caractéristique d'une combinaison spécifique soluté-solvant (B.Mittal et al.,2016). La solubilité thermodynamique représente la concentration d'un composé en équilibre avec un excès de phase solide non dissoute. L'essai est généralement réalisé en ajoutant une quantité excessive de solide au milieu de solubilité et en mélangeant pendant de longues périodes, généralement 24 à 48 heures, jusqu'à l'obtention de l'équilibre.

Une substance active est considérée comme ayant une haute solubilité lorsque la dose administrable maximale par libération immédiate est soluble dans 250 mL d'un milieu aqueux avec un pH allant de 1 à 6,8 à  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Quand plus de 85% de la dose de substance active initialement administrée est absorbée à travers la barrière intestinale, elle présente une haute perméabilité.

Les résultats de solubilité dans l'eau, déterminés par gravimétrie pour les corps purs et les mélanges eutectiques synthétisés sont récapitulés dans le (Tableau III.4) et représentés sur la (Figure III.14).

**Tableau III.4. Résultats des solubilités des différents corps purs et systèmes eutectiques synthésés.**

Constituants	Solubilité (mg/ml)
Célécoxib (CXB)	6,8765 15
Acide maléique (A.MAL)	0,0466
Acide salicylique (A.SAL)	33
Nicotinamide (NIC)	
Acide cinnamique (A.CIN)	2,37 13,48
CXB- A.MAL	5,186
CXB- A.SAL	15,89
CXB- NIC	5,84
CXB- A.CIN	



**Figure III.14. Solubilités des corps purs et des mélanges eutectiques synthésés.**

La solubilité du CXB a nettement augmenté dans les mélanges eutectiques : CXB-A.MAL, CXB-NIC. Elle a par conséquent, été multipliée par environ 2 pour le système CXB-A.MAL et par

environ 2,5 pour le système CXB-NIC. Ces améliorations peuvent être expliquées par les mécanismes suivants :

- Utilisation d'un coformeur très soluble dans l'eau tel que le nicotinamide ;
- Réduction de la taille des particules du principe actif et une meilleure mouillabilité de ses cristaux dans le milieu ;
- Impact de la nature hydrophile du coformeur sur l'amélioration de la solubilité.

# *Conclusion*

### Conclusion

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche PRFU, portant sur la synthèse, la caractérisation, l'amélioration de la solubilité et l'évaluation des activités biologiques des cocristaux et des mélanges eutectiques de principes actifs pharmaceutiques, élaborés par une combinaison binaire PA/ coformeurs de structures chimiques et de propriétés physico-chimiques diverses, conduisant à des hétérosyntons de solubilité, de biodisponibilité et d'effet thérapeutique nettement améliorés.

La stratégie utilisée dans cette étude consiste en le repositionnement d'un principe actif non antibactérien, qui est le célécoxib (CXB), utilisé en combinaison binaire avec cinq coformeurs, il s'agit en l'occurrence de l'acide salicylique, de l'acide maléique, du nicotinamide, de l'acide succinique et de l'acide cinnamique, dans la lutte contre l'antibiorésistance de certaines souches bactériennes multirésistantes et dans l'amélioration de la solubilité du CXB.

Les combinaisons binaires CXB-A.SAL, CXB-A.MAL, CXB-NIC, CXB-A.SUC et CXB-A.CIN ont été synthétisées par broyage assisté par solvant, dans un rapport stœchiométrique 1 :1 et caractérisées par DSC, DRX, MEB et FTIR.

L'activité antibactérienne du CXB pur et de ses mélanges eutectiques élaborés via les souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, a été évaluée par deux méthodes : la méthode de diffusion sur milieu solide et la microdilution en microplaques, permettant de déterminer respectivement, le diamètre des zones d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides.

Les thermogrammes des cinq combinaisons binaires synthétisées dans ce travail, obtenus par DSC, ont montré l'apparition d'un seul accident thermique, caractérisé par une température de fusion inférieure à celle des corps purs utilisés dans l'élaboration. Ces résultats peuvent être expliqués par la formation de mélanges eutectiques, via des interactions non covalentes, il s'agit en l'occurrence de la liaison hydrogène, des interactions  $\pi$ - $\pi$ , des forces électrostatiques et des interactions de Van der Waals.

Les analyses par DRX et par FTIR nous ont permis de confirmer la formation de mélanges eutectiques. En effet, les diffractogrammes obtenus par DRX et les spectres FTIR ont révélé respectivement, l'absence d'une nouvelle phase cristalline et l'existence des bandes caractéristiques du CXB et du coformeur sans altération et sans élargissement.

L'activité antibactérienne des mélanges eutectiques, évaluée in vitro par la méthode de diffusion sur disque, vis-à-vis les trois souches bactériennes testées, suit la séquence de réactivité :

***Staphylococcus aureus* > *Escherichia coli* > *Klebsiella pneumoniae***

Les agents non antibactériens **CXB-A.MAL**, **CXB-A.SAL**, **CXB-NIC** et **CXB-A.SUC** manifestent des diamètres d'inhibition allant de 8 à 46 mm, selon la séquence ci-dessous :

**CXB-A.MAL > CXB-NIC > CXB-A.SAL > CXB-A.SUC**

Cette réactivité peut être traduite par la structure chimique, la polarité de ces mélanges ainsi que la nature des interactions intermoléculaires mises en jeu dans ces combinaisons binaires et en particulier, les interactions hydrophobes qui, en augmentant, l'activité antibactérienne croit.

Ainsi, les pouvoirs antibactériens les plus élevés ont été obtenus en présence du ME2 (CXB-A.MAL), avec un diamètre d'inhibition de 46 mm, enregistrés contre la *S. Aureus*, expliqués par la stabilité des hétérosyntons du ME2.

Les souches bactériennes à gram-négative sont moins sensibles au CXB pur et ses mélanges eutectiques avec des diamètres de zone d'inhibition compris entre 8 et 13 mm. Ces résultats sont en accord avec la littérature.

Les valeurs des CMI obtenues sont comprises entre 0,09 et 0,72 mg/ml. Cette variation nous a permis de déduire que les mélanges eutectiques synthétisés sont bactériostatiques à la concentration minimale inhibitrice et bactéricides à une concentration supérieure à la CMI.

Afin d'améliorer la biodisponibilité et par conséquent, l'effet thérapeutique du CXB, nous avons procédé à la détermination de sa solubilité dans l'eau en utilisant la méthode gravimétrique. Cette dernière a nettement augmenté dans les mélanges eutectiques : CXB-A.MAL, CXB-NIC, en raison de la réduction de la taille des particules du principe actif et l'utilisation de coformeurs de nature hydrophile. **En perspectives**

D'autres études pourraient être envisagées pour approfondir certains points abordés au cours de ce manuscrit.

Il serait donc, intéressant de :

- Repositionner une variété d'agents non antibactériens dans la lutte contre les bactéries multirésistantes ;
- Elaborer des mélanges eutectiques avec formation d'hétérosyntons de propriétés physicochimiques et thérapeutiques différentes ;
- Evaluer leur solubilité dans une gamme de solvants eutectiques profonds (DES).

# *Références bibliographiques*

### Références bibliographiques

#### A

**Al-Kuraishy, H. M, Algareeb, A, Al-windy, A.S, (2013).** Experimental antibacterial activity of selective cyclooxygenase antagonist, *Int J Basic Clin Pharmacol.* Aug;2(4), 381-385

**Alshaikh, R.A., Essa, E.A., El Maghraby, G.M., (2019).** Eutexia for enhanced dissolution rate and anti-inflammatory activity of nonsteroidal anti-inflammatory agents: Caffeine as a melting point modulator. *Int. J. Pharm.* 563, 395–405. <https://doi.org/10.1016/j>

**Amanda Koberstain Surur Morandin Ferrisse , Analú Barros de Oliveira , Carla Raquel Fontana, (2024).** Bacterial resistance to antimicrobial photodynamic therapy: A critical update. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 255 112905

**Araya-Sibaja, A., Vega-Baudrit, J., Guillén-Girón, T., Navarro-Hoyos, M., Cuffini, S., (2019).** Drug solubility enhancement through the preparation of multicomponent organic materials: eutectics of lovastatin with carboxylic acids. *Pharmaceutics* 11, 112. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11030112>.

#### B

**Blain, H., Jouzeau, J. Y., Netter, P., & Jeandel, C. (2000).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *La revue de médecine interne*, 21(11), 978-988

**Bouskraoui M, Zouhair S, Soora N, Benaouda A, Zerouali K, Mahmoud M. (2017).** Guide pratique des bactéries pathogène.

**Bursaux, E. (1994).** Connaître les cyclooxygénases pour mieux contrôler les effets des antiinflammatoires non-stéroïdiens.

#### C

**Cervello, M., Bachvarov, D., Cusimano, A., Sardina, F., Azzolina, A., Lampiasi, N., ... & Montalto, G. (2011).** COX-2-dependent and COX-2-independent mode of action of celecoxib in human liver cancer cells. *Omics: a journal of integrative biology*, 15(6), 383-392.

**Chadha, K., Karan, M., Chadha, R., Bhalla, Y., Vasisht, K., (2017a).** Is failure of cocrystallization actually a failure; Eutectic formation in cocrystal screening of hesperetin. *J. Pharm. Sci.* 106, 2026– 2036. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.04.038>

**Chadha, R., Sharma, M., Haneef, J., (2017b).** Multicomponent solid forms of felodipine: preparation, characterisation, physicochemical and in-vivo studies. *J. Pharm. Pharmacol.* 69, 254–264. <https://doi.org/10.1111/jphp.12685>.

**Chiu, H. C., Lee, S. L., Kapuriya, N., Wang, D., Chen, Y. R., Yu, S. L., ... & Chen, C. S. (2012).** Development of novel antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20(15), 4653-4660

**Chiu, H. C., Yang, J., Soni, S., Kulp, S. K., Gunn, J. S., Schlesinger, L. S., & Chen, C. S. (2009).** Pharmacological exploitation of an off-target antibacterial effect of the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib against *Francisella tularensis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(7), 2998-3002.

**Chong, C. R., and Sullivan, D. J. (2007).** New uses for old drugs. *Nature* 448, 645–646. doi: 10.1038/448645a

### D

**D’Costa V, King C, Kalan L, Morar M, Sung W, Schwarz C, et al. (2011).** Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 477:457-61.

**Dadiboyena, S., & T Hamme II, A. (2012).** Synthesis of celecoxib and structural analogs-a review. *Current Organic Chemistry*, 16(11), 1390-1407.

**DB Salunke, BG Hazra, VS Pore (2006)** Steroidal conjugates and their pharmacological applications, *Current medicinal chemistry* 13 (7), 813-847

**Muster D,** Medicaments de inflammation Anti-inflammatory drugs, (2005) Volume 1, Issue 1, March, Pages 21-29

### E

**Emami, S., Siahi-Shadbad, M., Barzegar-Jalali, M., Adibkia, K., (2018).** Characterizing eutectic mixtures of gliclazide with succinic acid prepared by electrospray deposition and liquid assisted grinding methods. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 45, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.03.006>.

### F

**Fares E.M. Ali, Mustafa Ahmed Abdel-Reheim , Emad H.M. Hassanein ,Mostafa K.Abd ELAziz, Hanan S. Althagafy, Khalid S.A. Badran (2024).** Exploring the potential of drug repurposing for liver diseases: A comprehensive study; Life Sciences 347 122642.

### G

**Giovana Carolina Bazzo, Bianca Ramos Pezzini, Hellen Karine Stulzer, (2020).** Eutectic mixtures as an approach to enhance solubility, dissolution rate and oral bioavailability of poorly water-soluble drugs; International Journal of Pharmaceutics 588 119741

**Goud, N.R., Suresh, K., Sanphui, P., Nangia, A., (2012).** Fast dissolving eutectic compositions of curcumin. Int. J. Pharm. 439, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.045>. **H**

**Haneef, J., Chadha, R., (2017).** Drug-drug multicomponent solid forms: cocrystal, coamorphous and eutectic of three poorly soluble antihypertensive drugs using mechanochemical approach. AAP PharmSciTech 18, 2279–2290. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0701-1>

**Haneef, J., Chadha, R., (2018).** Antioxidant-based eutectics of irbesartan: viable multicomponent forms for the management of hypertension. AAPS PharmSciTech 19,1191–1204. <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0930-y>

**Hao-Chieh Chiu,<sup>1</sup> Jian Yang,<sup>1</sup> Shilpa Soni,<sup>2,3</sup> Samuel K. Kulp,<sup>1</sup> John S. Gunn,<sup>2,3,4</sup> Larry S. Schlesinger, and Ching-Shih Chen<sup>1</sup>, (2009).** Pharmacological Exploitation of an Off-Target Antibacterial Effect of the Cyclooxygenase-2 Inhibitor Celecoxib against *Francisella tularensis*\_ ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, p. 2998–3002 Vol. 53, No. 7

**Hyun, S.-M., Lee, B.J., Abuzar, S.M., Lee, S., Joo, Y., Hong, S.-H., Kang, H., Kwon, K.-A., Velaga, S., Hwang, S.-J., (2019).** Preparation, characterization, and evaluation of celecoxib eutectic mixtures with adipic acid/saccharin for improvement of wettability and dissolution rate. Int. J. Pharm. 554, 61–71. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2018.10.044>

### K

**Kablan B, Adiko M, Abrogoua D. (2008).** Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de Kalanchoe crenata et de Manotes longiflora utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. 6(5):282-

8.

**Kushwaha N.D ,Mohan J , B.Kushwaha, Ghazi T, Nwabufe**

**J.C. , Koorbanally N, Chuturgoon A. (2023).** A comprehensive review on the global efforts on vaccines and repurposed drugs for combating COVID-19. *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 260, 15, 115719

L

**La Revue de Médecine Interne** [Volume 21, Issue 11](#), November (2000), Pages 978-98

**Levoïn, N. (2002).** Métabolites réactifs des anti-inflammatoires non stéroïdiens : Bases structurales de leurs interactions avec les cibles protéiques impliquées dans les processus inflammatoires (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).

**Lode H. (2009)** Clinical impact of antibiotic-resistant Gram-positive pathogens. *Clin Microbiol Infect.* 15 :212-7.

M

**Márió Gajdács, (2020)** Non-antibiotic compounds affecting the growth of urinary pathogens during urine culture: a preliminary *in vitro* study, *APH*;90:185-191

**Malaise, M. (1996).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Revue Médicale de Liège*, 51(1).

**Maragakis L, Perencevich E, Cosgrove S. (2008)** Clinical and economic burden of antimicrobial resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther.*; 6:751-63.

**Mishra D, Sudhir P, Panda P.K. (2010)** Evaluation of antimicrobial activity of selective COX-2 inhibitor. *Rasayan J.Chem*, Vol.3, No.3, 532-538 P

**Pillon, F. (2014).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(534), 43-46.

R

**Rangel-Vega, A., Bernstein, L. R., Mandujano-Tinoco, E. A., Garcia-Contreras, S. J., and Garcia-Contreras, R. (2015).** Drug repurposing as an alternative for the treatment of recalcitrant bacterial infections. *Front. Microbiol.* 6:282. doi: 10.3389/fmicb.2015.00282

**Riekes, M.K., Engelen, A., Appeltans, B., Rombaut, P., Stulzer, H.K., Van den Mooter, G., (2016).** New perspectives for fixed dose combinations of poorly water-soluble compounds: a case study with ezetimibe and lovastatin. *Pharm. Res.* 33, 1259–1275. <https://doi.org/10.1007/s11095016-1870-z>.

**RN Saha, C. Sajeev, PR. Jadhav, SP Patil, N. Srinivasan. (2002).** Dosage du célécoxib dans les formulations pharmaceutiques utilisant la spectrophotométrie UV et la chromatographie liquide.

### S

**Said Moshawih, Qais Jarrar, Abdul Alim Bahrin, Ai Fern Lim, Long Ming, Hui Poh Goh, (2024).** Evaluating NSAIDs in SARS-CoV-2: Immunomodulatory mechanisms and future therapeutic strategies, *Heliyon* 10 e25734

**Sang-Min Hyun, Benjamin Joon Lee, Sharif Md Abuzar, Soohun Lee, Yechan Joo, SeungHyeon Hong, Han Kang, Kyung-Ae Kwon, Sitaram Velaga, Sung-Joo Hwang,** Preparation, characterization, and evaluation of celecoxib eutectic mixtures with adipic acid/saccharin for improvement of wettability and dissolution rate, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.10.044>

**S. Alghadeer, K. Aljuaydi, S. Babelghaith, A. Alhammad, M. Alarifi, (2018).** Self- medication with antibiotics in Saudi Arabia, *Saudi Pharm. J.* 26, <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.02.018>

**Shankar Thangamani, Waleed Younis and Mohamed N. Seleem (2015),** Repurposing celecoxib as a topical antimicrobial agent, *Front. Microbiol.* 6:750. doi: 10.3389/fmicb.2015.00750

**Srinivasu, M. K., Rao, D. S., & Reddy, G. O. (2002).** Determination of celecoxib, a COX-2 inhibitor, in pharmaceutical dosage forms by MEKC. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 28(3-4), 493-500.

**SZ Alshawwa, AA Kassem, RM Farid, SK Mostafa, GS Labib (2022).** Nanocarrier drug delivery systems: characterization, limitations, future perspectives and implementation of artificial intelligence *Pharmaceutics* 14 (4), 883.

### T

**Thayyil AR, Juturu T, Nayak S, Kamath S. (2020).** Pharmaceutical co-crystallization: Regulator aspects, design, characterization, and applications. *10(2)* :203.

**Tive, L. (2000).** Celecoxib clinical profile. *Rheumatology*, 39 (suppl\_2), 21-28.

**Tołoczko-Iwaniuk, N., Dziemiańczyk-Pakiela, D., Nowaszewska, B. K., Celińska-Janowicz, K., & Milyk, W. (2019).** Celecoxib in cancer therapy and prevention—review. *Current Drug Targets*, 20(3), 302-315.

### Z

**Zhengge Yang, Ru Ma, Yin Chen, Yifang Zhang, Xin Liu, Bi-Feng Liu, Guisen Zhang, Chao Hao; (2022).** Drug-drug eutectic mixtures of celecoxib with tapentadol and milnacipran which could improve analgesic and antidepressant efficacy, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 67 10299.

# *Annexe*

## ANNEXE

### Annexe 1 : Préparation de milieu de culture.

Milieu de culture	Propriété	Préparation
Mueller Hinton	solide	38 g (MH) + 1 litre eau distillée
Bouillon de Mueller- Hinton	Liquide	21 g (MHB) + 1 litre eau distillée

### Annexe 2 : Résultats des zones d'inhibition des mélanges eutectiques contre les trois souches bactériennes.



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de Célécoxib pur contre *S. aureus*.



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.SAL contre *S. aureus*.



Photo représentative des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.MAL contre *S. aureus*.



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.CIN contre *S. aureus*.



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+NIC contre *S. aureus*.

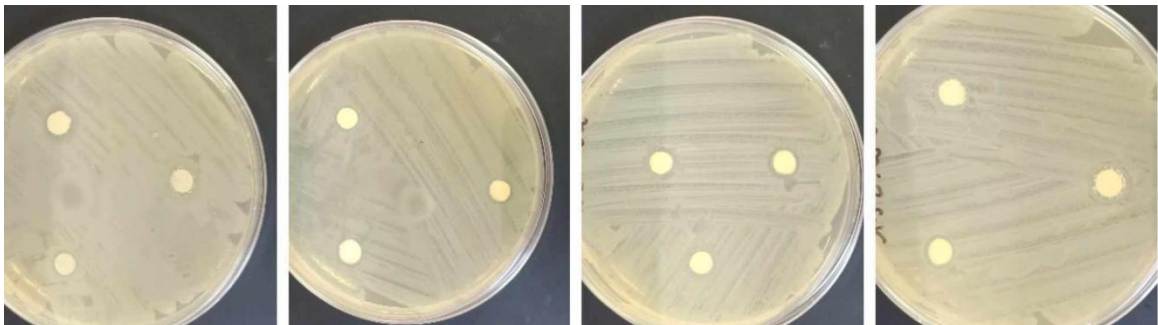


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.SUC contre *S. aureus*.



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de célecoxib pur contre *E. coli*.



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.SAL contre *E. coli*.

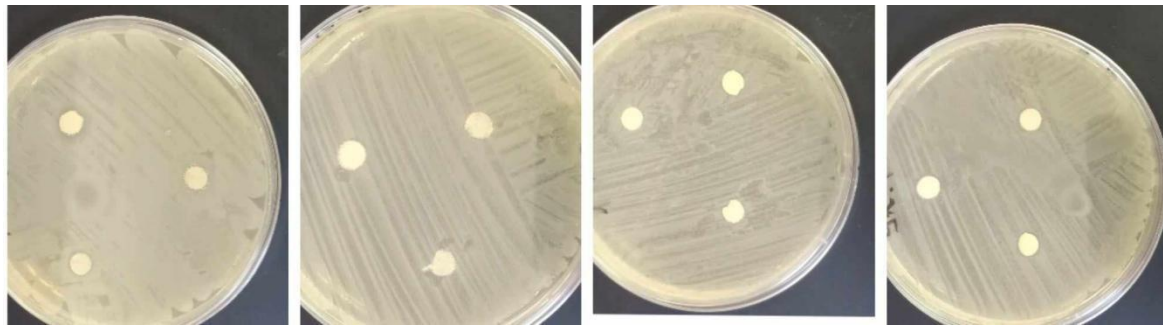


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.SUC contre *E. coli*.

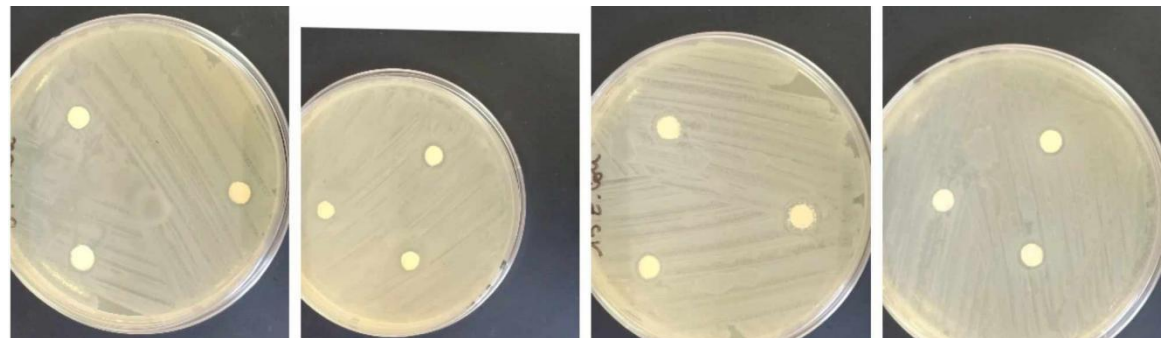


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.MAL contre *E. coli*.

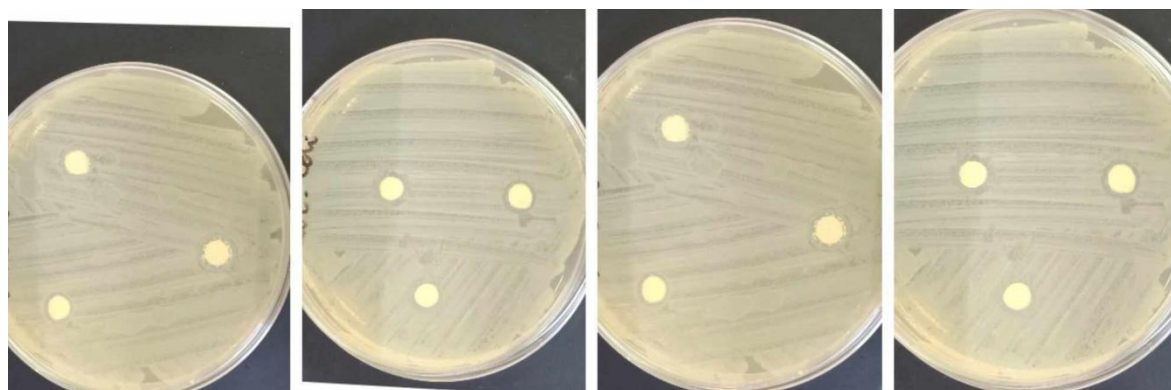


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+NIC contre *E. coli*.

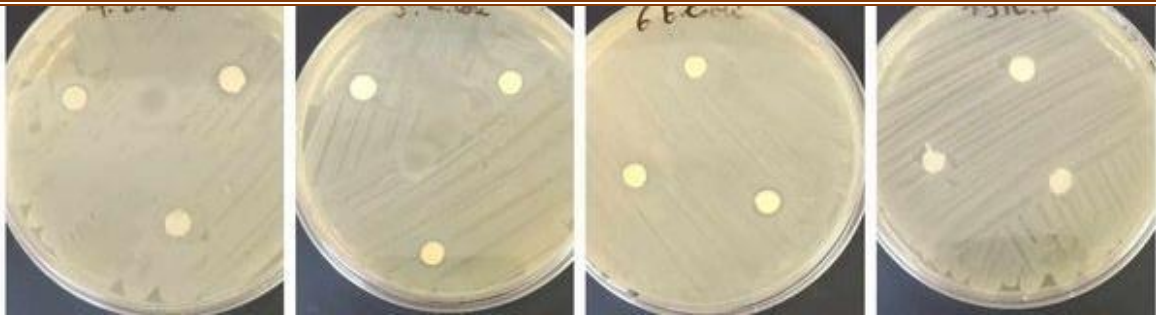


Photo représentatif des zones d'inhibition ( 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.CIN contre *E. coli*.

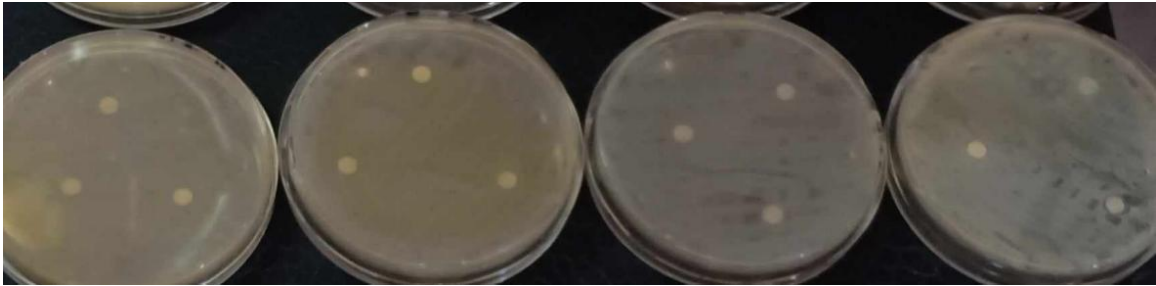


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) du Célécoxib pur contre *K. pneumoniae*

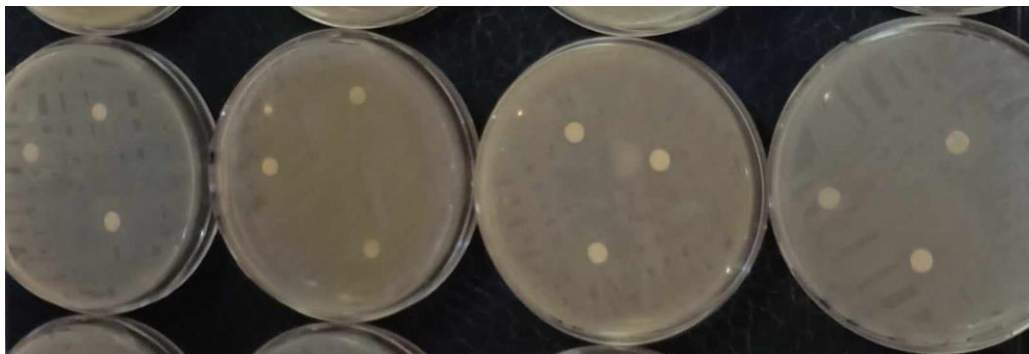


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+ A.SAL contre *K. pneumoniae*



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.MAL contre *K. pneumoniae*



Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+A.CIN contre *K. pneumoniae*

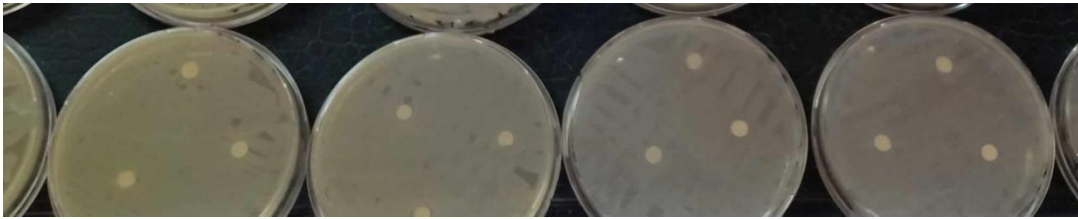


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+NIC contre *K. pneumoniae*

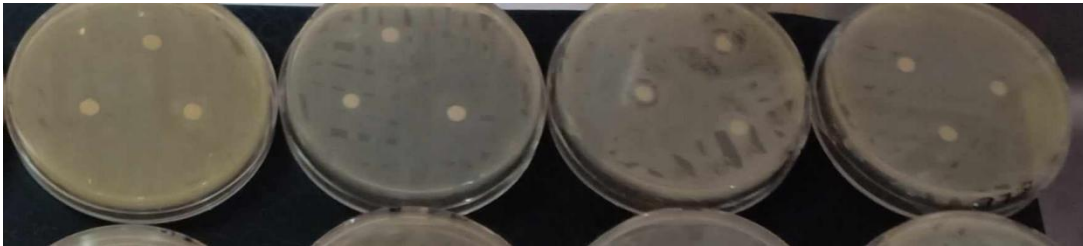


Photo représentatif des zones d'inhibition (Brut, 1/2, 1/5, 1/10) de CXB+SUC contre *K. pneumoniae*



Figure 1. Détermination des CMI des mélanges eutectiques.

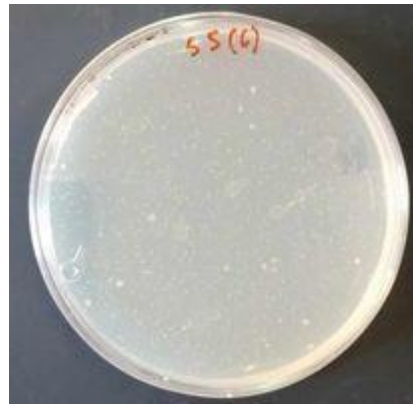


Figure 2. CMB du ME 2 contre la souche bactérienne (*Staphylococcus aureus*)

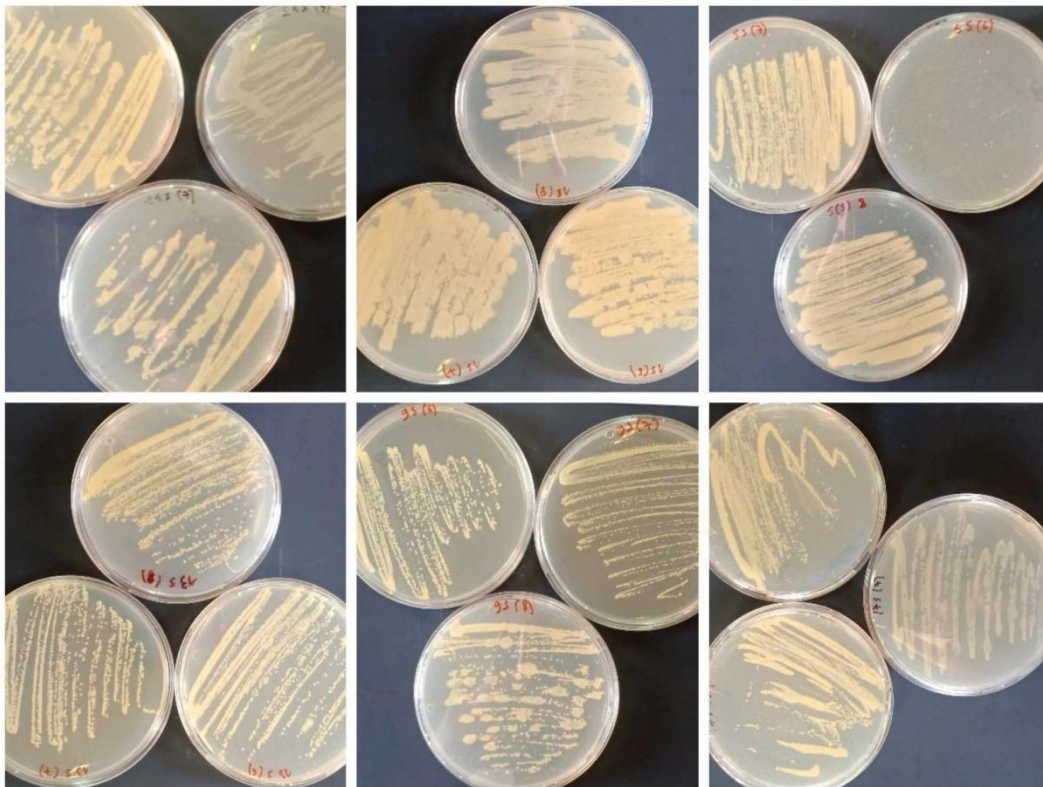


Figure 3. CMB des différents ME contre (*Staphylococcus aureus*)

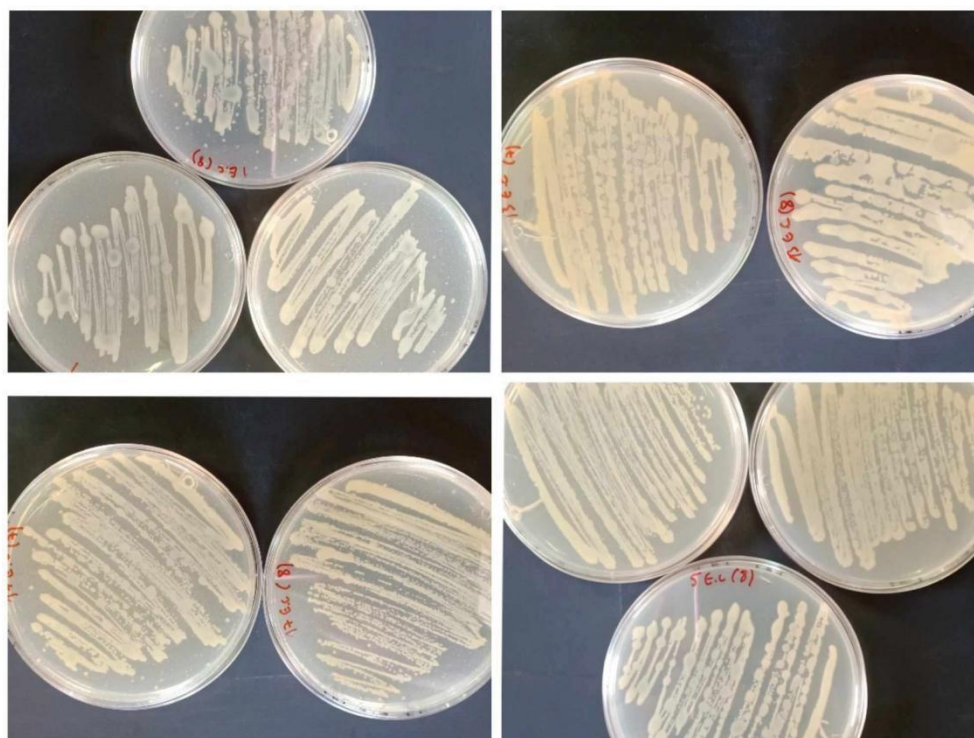


Figure 4. CMB des différents ME contre (*E. Col*).

Annexe 3 : Mélanges eutectique synthétisés.

ME 1	Célécoxib-acide salicylique
ME2	Célécoxib-acide maléique
ME3	Célécoxib-nicotinamide
ME4	Célécoxib-acide succinique
ME5	Célécoxib-acide cinnamique

Annexe 4: Matériels utilisés

Ance de platine	Microplaques
Autoclave	PH mètre
Balance	Plaque chauffante agitatrice
Bec Bunsen	Porte tube
Bécher	Seringue
Boite de pétri	Spatule
Écouvillon	Tubes à essai
Entonnoir	Verre de montre
Erlenmeyer	Vortex
Etuve	