

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département du Génie des Procédés

THESE DE DOCTORAT D-LMD

Spécialité : Génie Pharmaceutique

THEME

**ETUDE DE L'INTERACTION DE POLYSACCHARIDES
POUR LA MISE EN ŒUVRE DE COMPLEMENTS
ALIMENTAIRES ANTI OBESITE**

Par

GHERRAK Fouzia

Devant le jury composé de :

O. BOURAS	Professeur.	USDB	Président du jury
A. HADJ ZIANE	Professeur.	USDB	Examinatrice
K. DAOUD	Professeur.	USTHB	Examineur
K. BOUTEMAK	MCA.	USDB	Examinatrice
A.HADJSADOK	Professeur.	USDB	Directeur de thèse
S. LEFNAOUI	Professeur.	U.de Médéa	Co-Directrice de thèse

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département du Génie des Procédés

THESE DE DOCTORAT D-LMD

Spécialité : Génie Pharmaceutique

THEME

**ETUDE DE L'INTERACTION DE POLYSACCHARIDES
POUR LA MISE EN ŒUVRE DE COMPLEMENTS
ALIMENTAIRES ANTI OBESITE**

Par

GHERRAK Fouzia

Devant le jury composé de :

O. BOURAS	Professeur.	USDB	Président du jury
A. HADJ ZIANE	Professeur.	USDB	Examinatrice
K. DAOUD	Professeur.	USTHB	Examineur
K. BOUTEMAK	MCA.	USDB	Examinatrice
A.HADJSADOK	Professeur.	USDB	Directeur de thèse
S. LEFNAOUI	Professeur.	U.de Médéa	Co-Directrice de thèse

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تصميم أنظمة مشتقة من عديد السكريات المصممة للوقاية من السمنة وعلاج زيادة الوزن عن طريق تحفيز الشبع لدى ذين متناوليهما. وقع اختيارنا على ثلاثة عديد سكريات: ألجينات الصوديوم، والكتوزان، وصمغ الغوار الكاتيوني، استنادًا إلى مزاياها المثبتة مسبقًا في مكافحة السمنة وخصائصها التي تسمح لها بتكوين المواد الهلامية في الموقع.

قمنا بصياغة نظامين : الأول مكون من مزيج ألجينات الصوديوم والكتوزان على شكل حبيبات لتكوين معلق عن طريق الفم. النظام الثاني مكون من ألجينات الصوديوم والغوار في شكل هلام عن طريق الفم يغلف مادة نشطة بيولوجيًا.

أظهرت الدراسة التي أجريت في الجسم الحي أن الهلام المتكون من معلق 4 غ (100 مل) من ألجينات الصوديوم و0.5 غ (100 مل) من الشيتوزان و 4 غ (100 مل) من كربوكسي ميثيل سلولوز الصوديوم يحتل تقريبًا كل حجم المعدة لمدة 3 ساعات، خفض استهلاك الغذاء بنسبة 60% وزيادة الوزن بنسبة 64% في الفئران المكتملة بالصيغة مقارنة بمجموعة التحكم في الجرذان.

بالنسبة للنظام الثاني تم الحصول على المواد الهلامية الأكثر إثارة للاهتمام بنسبة ألجينات الصوديوم والغوار تساوي (40:60) وحركية إطلاق المادة النشطة بيولوجيًا هي من النوع المطول المقاوم للمعدة على ضوء هذه النتائج، نعتقد أن كلا النظامين يمتلكان الخصائص التي تؤهلها لإحداث الشعور بالامتلاء وبالتالي يمكن استخدامهما كنظام للوقاية من السمنة وزيادة الوزن.

الكلمات المفتاحية: السمنة وزيادة الوزن، الهلام في الموقع، ألجينات الصوديوم، الكيتوزان، الغوار الكاتيوني، الريولوجيا، تصميم التجارب، الإطلاق المستمر.

ABSTRACT

The aim of this work was to design polysaccharides combination of systems intended for the prevention of obesity and the treatment of overweight by inducing satiety in the subjects who administer them.

Therefore, two systems were formulated; the first one from the combination of sodium alginate and chitosan in the form of granules for oral suspension for In-Situ gelation and the second, based on sodium alginate and guar in the form of oral jelly encapsulating a bioactive material. The In-Situ gelation mechanism is based on the ionization states of the biopolymers and the hydrophobic properties depending on the pH of the medium.

The in vivo study showed that the gel formed from a suspension containing 4 g / 100 mL of sodium alginate, 0.5 g / 100 mL of chitosan and 4 g / 100 mL of sodium carboxymethylcellulose occupies the almost all of the stomach volume for 3 hours, reduced food consumption by 60 % and weight gain by 64 % in rats supplemented with this formula compared with the control group of rats.

The most interesting gels for the second system were obtained with a sodium alginate and guar ratio equal to (60 : 40) and the release kinetics of the bioactive substance are of the gastro-resistant prolonged type.

In light of these results, we believe that both systems possess the properties qualifying them as inducing a feeling of fullness and can therefore be used as a system for the prevention of obesity and overweight.

Key words: obesity and overweight, In-Situ gelation, sodium alginate, chitosan, cationic guar, rheology, design of experiments, sustained release.

RESUME

Le but de ce travail est de concevoir des systèmes issus de l'association de polysaccharides destinés à la prévention de l'obésité et au traitement du surpoids par induction de satiété chez les sujets qui les administrent.

De ce fait, nous avons formulé deux systèmes ; le premier issu de l'association alginate de sodium et chitosane se présentant sous forme de granulés pour suspension buvable pour gélification In-Situ et le deuxième à base d'alginate de sodium et de guar sous forme de gelée orale associée à une matière bioactive. Le mécanisme de gélification In-Situ repose sur les états d'ionisation des biopolymères et des propriétés d'hydrophobie en fonction du pH du milieu.

L'étude in vivo a montré que le gel formé à partir d'une suspension à $4\text{ g} / 100\text{ mL}$ d'alginate de sodium, $0,5\text{ g} / 100\text{ mL}$ de chitosane et $4\text{ g} / 100\text{ mL}$ de carboxyméthylcellulose de sodium occupe la quasi-totalité du volume stomacale pendant 3heures, réduit de 60 % la consommation alimentaire et de 64 % le gain pondéral des rats par rapport au groupe de rats témoin.

Les gels les plus intéressants pour le deuxième système sont obtenus à un rapport de mélange alginate de sodium : gomme guar cationique égale à (60 : 40) avec une libération de la substance bioactive est de type prolongée gastro-résistante.

À la lumière de ces résultats, nous pensons que les deux systèmes possèdent les propriétés les qualifiant comme induisant une sensation de satiété et pouvant donc être utilisés comme système de prévention de l'obésité et du surpoids.

Mots clés : obésité et surpoids, gélification In-Situ, alginate de sodium, chitosane, guar cationique, rhéologie, plans d'expériences, libération prolongée.

REMERCIEMENTS

Dieu merci, de m'avoir donné le courage et la volonté de mener et achever ce travail.

Je tiens à remercier tout d'abord, le Professeur A. HADJSADOK de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'encadrer mes travaux de thèse, pour sa disponibilité et son aide tout au long de la réalisation de ce travail, pour ses précieux conseils et son soutien qui m'ont toujours donné du courage.

Je remercie également Madame S. LEFNAOUI, Professeur à l'université de Médéa qui a co-encadré mon travail, aidé et donné conseils. Veuillez trouver Madame mes remerciements.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur O. BOURAS Omar, Professeur à l'université de Blida1, de m'avoir fait honneur en acceptant de présider mon Jury, ainsi qu'à ses conseils et encouragements. Veuillez accepter, monsieur ma profonde reconnaissance.

Mes sincères remerciements vont à l'égard de Madame A. HADJ ZIANE (Professeur à l'université de Blida1), Monsieur K. DAOUD (Professeur à l'USTHB), Madame K. BOUTEMAK (Maitre de conférences à l'université de Blida) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie aussi Madame Z. AIT MESBAH et Madame N. TAOUALITE pour toute leur aide et soutien morale durant mon cursus à l'université de Blida.

Je remercie toute l'équipe du laboratoire de l'analyse fonctionnelle avec qui le travail était agréable et qui ont rendu les moments de découragement surpassable.

À titre plus personnel je remercie chaleureusement mes parents pour leurs encouragements, sacrifices et prières ; mes deux sœurs Karima et Lamia et mon petit frère qui n'ont jamais cessé de m'encourager, aider et qui ont su supporter mes moments les plus décourageant.

Je remercie vivement mon mari qui a collaboré en une façon spéciale à la réalisation de ce travail, pour sa présence, sa compréhension et soutien moral.

Je remercie toutes mes amies avec qui j'ai partagé beaucoup de souvenirs spécialement Khadidja.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	10
CHAPITRE 1: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	12
1.1. L'obésité.....	12
1.2. Substances naturelles et traitement de l'obésité.....	16
1.3. Gels à base de polysaccharides	25
1.4. Interactions polysaccharides ciblées dans l'étude pour application anti-obésité ..	30
CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODES	32
2.1. Matériel	32
2.2. Extraction et caractérisation des matières actives	32
2.3. Caractérisation des matières actives	34
2.4. Système (Alginate de sodium / Chitosane).....	34
2.5. Système (Alginate de sodium / Guar cationique)	40
CHAPITRE 3: RESULTATS ET DISCUSSION.....	43
3.1. Caractérisation des matières actives extraites.....	43
3.2. Système (Alginate de sodium / Chitosane).....	46
3.3. Système (Alginate de sodium / Guar cationique)	67
CONCLUSION.....	90
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	92
APPENDICE A.....	104
APPENDICE B.....	106
APPENDICE C.....	109
APPENDICE D.....	112

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.

Figure 1.1 : Les maladies liées à l'obésité.	13
Figure 1.2. : Planisphères de l'Indice de Masse Corporelle (IMC) en 2016 et de la variation 1976-2016 de la prévalence de l'obésité des adultes en pourcentage.....	14
Figure 1.3 : Différents mécanismes de médication anti-obésité courante.	16
Figure 1.4 : Structure chimique des fucoxanthines [51]......	19
Figure 1.5 : Voies métaboliques des lipides dans le corps humain [66]......	20
Figure 1.6: Quelques produits disponibles sur le marché à base de chitosane.	22
Figure 1.7 : Structure chimique des quatre principales catéchines présentes dans le thé vert.	24
Figure 1.8 : Différentes approches de gélification In-Situ.....	25
Figure 1.9 : Structure chimique de la gomme guar cationique.	30
Figure 2.1 : Préparation de la suspension reconstituée d'AlgNa/CHI et gélification In-Situ.	36
Figure 3.1: Courbes d'écoulements des deux chitosanes extraits, ajustées par les modèles : de Carreau (C CHI) et de Newton (S CHI) à 20 ° C.....	44
Figure 3.2 : Evolution des modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la déformation de chaque type de chitosane en combinaison avec AlgNa, T = 37 °C.....	44
Figure 3.3 : Criblage phytochimique de l'extrait du thé vert, les tubes (a-f) sont les résultats des test chimiques des composés phytochimiques (a) Anthraquinones, (b)Anthocyanines (c) Quinone (d) Tannins, (e) flavonoïdes : (f) Saponines.....	45
Figure 3.4 : Spectres IRTF des catéchines de référence (en vert) et de ceux extraits à partir des feuilles de thé vert (en violet).	46
Figure 3.5 : Effet de la concentration de la CMC Na concentration sur le temps de dispersion des granulés dans l'eau à température ambiante (Eau : Ethanol = 50 : 50).	47
Figure 3.6 : Distribution granulométrique des mélanges de granules en fonction du ratio Eau : Ethanol (CMC Na = 2 g / 100 mL).....	48
Figure 3.7 : Cinétique de tassement des mélanges de granulés en fonction du ratio..... (Eau : Ethanol).	49
Figure 3.8 : Photos des gels récupérés:(a) gel d'AlgNa / CHIT expulsant du liquide, (b) gel d'AlgNa / CHIT homogène baignant dans le liquide, (c) suspension d'AlgNa / CHIT	

transformé en gel avec un faible volume de liquide, (d) AlgNa / CaCO ₃ , (e) , AlgNa seul dans le SGF.....	50
Figure 3.9 : Courbes d'écoulement typique des suspensions de d'AlgNa / S CHIT et de AlgNa / CaCO ₃ ajustées par le modèle de Carreau à T = 20 °C, 2 g /100 mL	52
Figure 3.10 : Variation des modules de conservation G' et de perte G'' , en fonction de la déformation à T = 37 °C des gels de : AlgNa seul, chitosane seul, AlgNa / CaCO ₃ et le gel typique du plan d'expérience résultant de l'association AlgNa / CHI.	53
Figure 3.11 : Evolution du pH du milieu gastrique simulé après incorporation d'une suspension type (AlgNa/CHI).....	54
Figure 3.12 : Micrographes de : (a) AlgNa, (b) CHI et (c) l'association des deux polymères dans le SGF.....	55
Figure 3.13 : Spectres IRTF de (a) poudre d'AlgNa, (b) poudre de CMC Na, (c) poudre de CHIT, (d) granulés secs (e) hydrogel obtenu.....	56
Figure 3.14: Histogramme illustrant les valeurs des indicateurs de qualité des quatre modèles MSR aux deux niveaux de CMC Na.	58
Figure 3.15: Courbes iso-réponse 3D en fonction de la variation simultanée de l'AlgNa et du CHI de : (a) à la viscosité au repos à CMC Na bas et (b) à CMC Na haut (c) module de conservation G' à bas CMC Na et (d) à haut CMC Na (e) % du volume liquide libre non absorbé à CMC Na bas et (f) à haut CMC Na.	63
Figure 3.16 : Consommation alimentaire par lot de rats après 1, 2,3,4 et 24 heures de prise de 1,5mL de la suspension d'AlgNa /CHI.	65
Figure 3.17 : Effet de la suspension reconstituée AlgNa/CHI E1 et E2 sur le gain pondéral par lots de rats.	66
Figure 3.18 : Visualisation du gel dans l'estomac après : (a) 30 minutes, (b) 1 heure, (c) 3heures après prise de 1,5 mL de suspension E2.....	66
Figure 3.19 : Pourcentage restant du gel après 30 minutes ; 1 heure et 3 heures d'administration de 1,5 mL de suspension E2.	67
Figure 3.20 : Variation de la viscosité apparente de la GGC en fonction du temps,.....	68
C= 2 g / 100 mL, T= 20°C.....	68
Figure 3.21 : Courbes d'écoulement de l'AlgNa à 2 g / 100 mL ajustées avec le modèle de Carreau et de Newton, à différent pH, T = 20 °C.	69
Figure 3.22: Courbes d'écoulement de la guar cationique aux différents pH, ajustées avec le modèle de Carreau (pH 6 et 7), T = 20 °C.	70
Figure 3.23 : Variation de la turbidité en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC, .	71

C = 1 g / 100 mL, T = 20 °C.....	71
Figure 3.24 : Variation de la masse surnageante relative en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC pour les trois procédés, C= 1 g / 100mL, T = 20 °C.....	72
Figure 3.25 : Variation du module de conservation G' du culot obtenu en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC, C = 1 g / 100 mL, T = 20°C.....	73
Figure 3.26 : Variation du rapport (η_s/η_m) en fonction du rapport de mélange.....	74
AlgNa : GGC pour les différents procédés utilisés C = 1 g / 100 mL, T = 20°C.	74
Figure 3.27: Variation du module de conservation (G') en fonction de l'accroissement et le décroissement de la température pour les différents rapports de mélange	75
AlgNa : GGC C _{tot} = 1 g / 100 mL.....	75
Figure 3.28 : Variation de la turbidité en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC à T = 20 °C et T = 70 °C, C = 1 g / 100 mL.	76
Figure 3.29 : Variation du rapport ($\eta_s\eta_m$) en fonction du rapport de mélange.....	76
AlgNa : GGC à T = 20 °C et T = 70 °C, C = 1g / 100 mL.	76
Figure 3.30 : Evolution de la masse surnageante relative en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC à T = 20 °C et T = 70 °C, C= 1g / 100 mL.	77
Figure 3.31: Variation des viscosités au repos des gelées en fonction de la variation du ratio en polymère AlgNa : GGC à différentes concentrations totales en polymères,.....	78
T = 20 °C.	78
Figure 3.32: Variation des viscosités finales des gelées en fonction de la concentration totale en polymères à différents rapports de mélange AlgNa : GGC,	79
T = 20 °C.	79
Figure 3.33: Variation des modules de conservation (G') des gelées en fonction de la concentration totale en polymères à différents rapports de mélange AlgNa : GGC,.....	80
T = 20 °C.	80
Figure 3.34 : Variation des modules de conservation (G') et de perte (G'') des gelées préparées en fonction de la fréquence pour les concentrations en polymères de 0,5 à 6 g / 100 mL, AlgNa : GGC (60 : 40), T = 20 °C.....	82
Figure 3.35 : Photos des gelées transformées en gels In - Situ, en fonction des rapports de mélange AlgNa : GGC à concentration totale en polymères = 4 g / 100 mL.....	83
Figure 3.36 : Variation des rapports entre le volume du liquide absorbé par les gels In-Situ et le volume de liquide totale (V_a/V_t) en fonction de la concentration totale en polymères à différents ratios AlgNa : GCC, T = 20°C.	83

Figure 3.37 : Evolution du module de conservation G' des gels formés In-Situ en fonction de la concentration totale en polymères, $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$.	84
La figure 3.38 représente les valeurs du rapport entre les modules de conservation des préparations AlgNa : GGC après gélification (G_f) et le module de conservation avant gélification (G_i). Il est apprécié que ce rapport est plus important avec les formules les plus concentrées en alginate et se voit diminuer quand on va dans le sens de la GGC.	85
Figure 3.38 : Variation du rapport (G_f) / (G_i) en fonction des différents rapports de mélange AlgNa : GGC.	85
Figure 3.39 : Spectres infrarouge de AlgNa, GGC et des gels résultants In-Situ à différents rapports de mélange.	86
Figure 3.40 : Micrographes des gels AlgNa : CHI (60 : 40) obtenus In-Situ à C_{tot} de 0,5 à 6 g / 100 mL de (a à g, respectivement).	87
Figure 3.41 : Profils de libération de la substance bioactive à partir des gels formés à partir des concentrations 3,4,5 et 6 à un rapport AlgNa : GGC = (60 : 40) au SGF puis SIF à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.	88
Tableau 2.1 : Valeurs nutritives de la nourriture consommée	39
Tableau 3.1. : caractéristiques physicochimiques et rhéologiques du (S CHI) et de (C CHI).	43
Tableau 3.2 : Composition phytochimique préliminaire de l'extrait du thé vert.	45
Tableau 3.3 : Résultats des paramètres de tassement des mélanges de granulés obtenus en fonction du ratio eau : éthanol : a (20 : 80), b (50 : 50), c (80 : 20).	48
Tableau 3.4: Matrice du plan d'expérience CCF contenant différents niveaux de facteurs et toutes les valeurs de réponses en fonction de l'ordre de l'essai.	57
Tableau 3.5: Analyse de la variance des réponses MSR.	59
Tableau 3.6 : Résultats de l'analyse microbienne des formulations préparées.	63
Tableau 3.7 : Ration alimentaire journalière consommée par lots de rats	64
Tableau 3.8 : Variation de $\tan\delta$ des gélées en fonction de la variation du ratio en polymère AlgNa/GGC à différentes concentrations totales en polymère, $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.	81
Tableau 3.9 : Résultat du test microbiologique des formules 1 et 2.	89

INTRODUCTION

L'obésité, est une maladie chronique, évolutive et complexe reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) depuis 1997[1] où l'accumulation de la graisse corporelle anormale ou excessive augmente le risque de complications médicales à long terme et réduit la durée de vie. Sa prévalence dans le monde est alarmante ainsi que ses comorbidités qui ne cessent d'augmenter. Selon les rapports épidémiologiques de l'OMS et de l'Organisation de coopération et de développement économiques, le surpoids et l'obésité sont la cinquième cause de décès dans le monde.

L'obésité et le surpoids sont considérés comme les conditions de la porte d'entrée de diverses maladies chroniques tels que l'hypertension artérielle [2], le diabète de type 2 [3], les maladies cardiovasculaires et de plusieurs types de cancer [4-6]. Elle contribue, parfois, au développement de dépression à cause de son impact sur le statut social.

Outre les facteurs génétiques, environnementaux et psychosociaux le surpoids et l'obésité se produisent lorsque la consommation d'énergie dépasse la dépense énergétique. La nourriture a un rôle crucial dans la gestion du poids.

La majorité des médicaments anti obésité soumis à une prescription médicale, ont été retirés du marché et leurs autorisations de mise sur le marché suspendu les uns après les autres en raison des effets secondaires induits. De nombreux compléments alimentaires pour perdre du poids existent également sur le marché mais leur efficacité est mise en question.

L'Orlistat, est le seul principe actif approuvé par la Food and Drug Administration. Son mécanisme d'action repose sur l'inhibition de la lipase pancréatique responsable de l'hydrolyse des graisses, mais il ne reste pas sans effets secondaires à long terme [7, 8].

En général, les autres stratégies actuelles comprennent l'intervention diététique, l'activité physique et la chirurgie de l'estomac, seules ou en combinaison. Malheureusement, il est difficile de les mettre en œuvre vu que la modification du mode de vie est difficile à persister et les régimes sont rarement poursuivis à cause des contraintes qu'ils imposent, et les interventions chirurgicales sont fréquemment accompagnées de nombreux types d'effets secondaires et de complications.

Par conséquent, il est absolument nécessaire de développer des entités sûres, efficaces et économiques avec une disponibilité facile. Actuellement, l'un des principaux

intérêts de recherche en science alimentaire est l'extraction et l'identification de composés anti-obésité d'origine naturelle.

Le but de ce travail était de mettre en œuvre des systèmes issus de l'association de polysaccharides destinés à la prévention de l'obésité et au traitement du surpoids par induction de satiété chez les sujets qui les administrent. Le choix des polysaccharides était fait, en se basant sur leurs vertus anti-obésité antérieurement prouvées ainsi que leur mode d'action similaire à l'Orlistat notamment le chitosane, l'alginate de sodium, la guar..., de plus leurs propriétés de générer des gels in-situ [9]. Ces systèmes agissent par trois mécanismes : la gélification In-Situ qui produit un gel susceptible de réduire la vitesse de vidange gastrique, stimuler les récepteurs d'étirement gastrique et influencer la réponse glycémique après les repas. Un autre mécanisme de satiété est basé sur le gonflement du gel qui permet d'inhiber la sécrétion d'une hormone digestive responsable de la sensation de faim. La troisième voie consistait à intégrer dans ces systèmes de polysaccharides des supprimeurs d'appétit qui sont des bioactifs d'origine végétale et dont l'activité d'inhibition des enzymes et des hormones responsables de la cessation de faim et du stockage d'énergie (graisses alimentaires) a été démontrée.

Ce travail est scindé en trois parties :

La première représentée dans le chapitre 1 où des généralités sur la médication anti-obésité existante, les données littéraires sur la gélification in-situ, les polysaccharides en question sont rapportés.

Le chapitre 2 où les techniques et protocoles entrepris dans la réalisation de ce travail sont décrits et détaillés.

Dans le troisième et dernier chapitre les résultats obtenus pour les deux systèmes sont présentés et discutés.

Et enfin une conclusion générale et des perspectives estimées pour ce travail sont établies.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. L'obésité

L'obésité devient un problème de santé croissant et est reconnue comme une maladie chronique par l'OMS depuis 1997 [1]. Elle est maintenant si courante au sein de la population mondiale qu'elle commence à remplacer la dénutrition et les maladies infectieuses. C'est un fardeau majeur pour ces coûts de soins. Cette maladie touche si bien les enfants et adolescents [10] ainsi que les adultes [11].

L'indice de masse corporelle, selon l'OMS, est une mesure simple de l'obésité. Il est défini comme étant le rapport du poids en (kg) sur le carré de la taille (cm^2). Une personne ayant un IMC égale à 30 kg m^{-2} ou plus est considérée comme obèse [12]. D'autres mesures de l'obésité existent également comme le tour de taille qui permet de déceler plus précisément un excès d'adiposité au niveau de l'abdomen, ou le rapport « tour de taille/tour de hanches » pour avoir une meilleure idée de la répartition de la masse grasse corporelle.

L'obésité peut être d'origine génétique, biologique (trouble de métabolisme), psychologique (tel que le stress ou bien l'effet antidépresseur que possède la nourriture sur l'individu), ou simplement la conséquence du comportement individuel telles que la sédentarité ainsi que la consommation excessive de la nourriture qui est devenue à présent pauvre en fibres et riche en graisses et acides gras avec une dominance d'aliments transformés à haut index glycémique.

La prise de médicaments est également un facteur inducteur d'obésité, citons à titre d'exemple les : antidépresseurs, neuroleptiques, contraceptifs, corticoïdes et certains protocoles de chimiothérapie utilisée dans le traitement du cancer du sein.

Plusieurs maladies sont liées à l'obésité (figure 1.1). L'augmentation de l'obésité du haut du corps est accompagnée d'une augmentation de la réponse en insuline ce qui pourrait à l'usage provoquer une résistance à l'insuline et donc un diabète de type 2 [13].

Les effets de l'augmentation de la masse grasse corporelle sur le fonctionnement cardiovasculaire sont prévisibles. La consommation totale d'oxygène corporel est augmentée à la suite d'une masse de tissu élargie ainsi que les demandes oxydatives de tissu adipeux métaboliquement actif, ceci est accompagné d'une

augmentation absolue du débit cardiaque. La pression artérielle est en fonction du débit cardiaque et de la résistance vasculaire contre laquelle le sang est pompé. Un débit cardiaque élevé est fréquent avec une obésité modérée, mais pas tous les patients obèses ne sont hypertendus même si ça augmente considérablement leur chance de l'être et d'être touchés de divers types de maladies cardiovasculaires [14].

L'obésité cause également des troubles respiratoires du sommeil, l'effet direct de la graisse présente dans la paroi thoracique et l'abdomen a un effet sur les propriétés mécaniques de la poitrine et le diaphragme conduisant à une altération des fonctions respiratoires, (pendant l'inspiration et l'expiration, et la réduction du volume pulmonaire) et des apnées de sommeil.[15, 16]. L'excès de poids peut aussi développer une arthrose des articulations porteuses (dernières vertèbres, hanches, genoux, pieds), une insuffisance veineuse responsable de jambes lourdes, varices, ulcères à cause d'une mauvaise qualité des tissus et d'un manque d'activité physique. De plus, des troubles psychologiques risquent d'accompagner la prise de poids excessive comme la dépression, des complexes, un rejet de son corps et de sa personne, un manque de confiance en soi ...

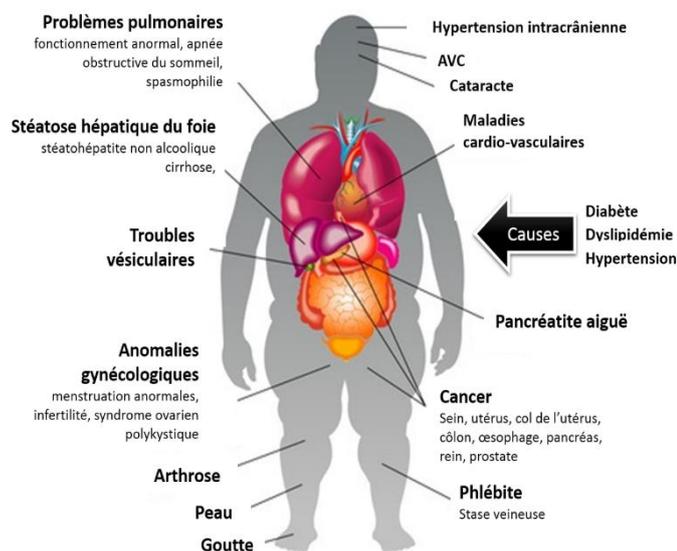


Figure 1.1 : Les maladies liées à l'obésité.

1.1.1. Prévalence de l'obésité

a) À l'échelle mondiale

D'après les estimations récentes de l'OMS la prévalence de l'obésité à l'échelle mondiale a presque triplé entre 1975 et 2016 (figure 1.2). Plus de 1,9 milliard d'adultes

(18 ans et plus) étaient en surpoids en 2016. Sur ce total, plus de 650 millions étaient obèses.

Globalement, environ 13% de la population adulte mondiale (11% des hommes et 15% des femmes) étaient obèses en 2016. 39% des adultes (39% des hommes et 40% des femmes) étaient en surpoids.

En Afrique, le nombre d'enfants en surpoids ou obèses a augmenté de près de 24% depuis 2000. Près de la moitié des enfants de moins de 5 ans en surpoids ou obèses vivaient en Asie en 2019.

Plus de 340 millions d'enfants et d'adolescents âgés de 5 à 19 ans étaient en surpoids ou obèses en 2016. La prévalence du surpoids et de l'obésité chez cette classe a augmenté de façon spectaculaire, passant d'à peine 4% en 1975 à un peu plus de 18% en 2016. L'augmentation a été la même chez les garçons que chez les filles: en 2016, 18% des filles et 19% des garçons étaient en surpoids [17].

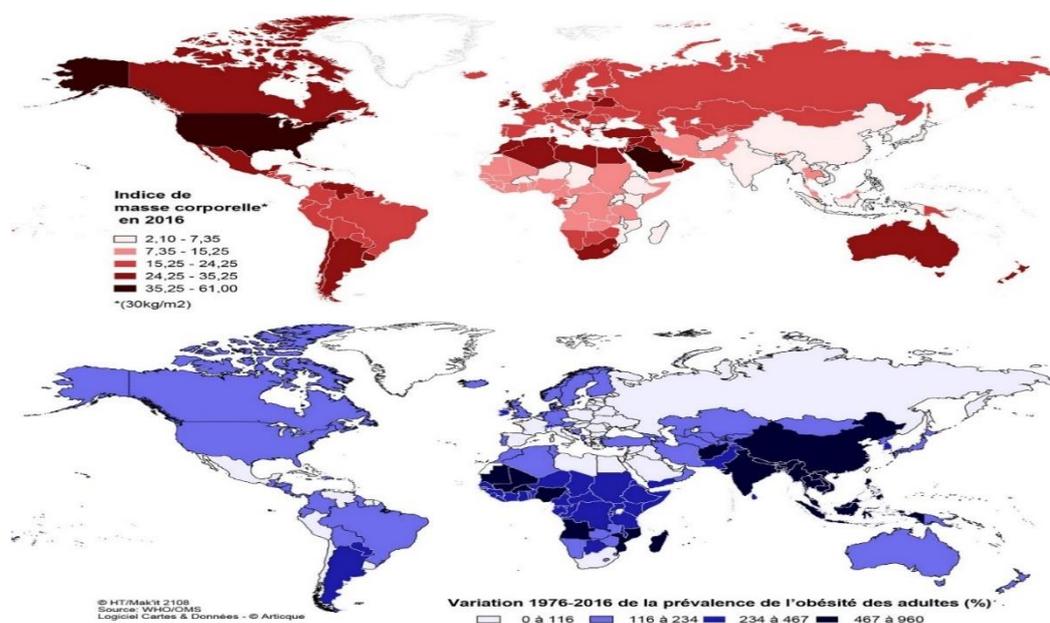


Figure 1.2. : Planisphères de l'Indice de Masse Corporelle (IMC) en 2016 et de la variation 1976-2016 de la prévalence de l'obésité des adultes en pourcentage [18] .

b) En Algérie

Les statistiques montrent une prévalence alarmante de l'obésité. L'étude menée par Marie et al., [19] en 2013 estime que le taux de personnes obèses et en surpoids, de sexe masculin âgées de 20 ans ou plus, était de 42 % et de 21,7 % chez les personnes

âgées de moins de 20 ans. Chez les sujets de sexe féminin, âgés de 20 ans ou plus, le taux était de 57,8 % et 30 % pour les filles de moins de 20 ans.

Une étude descriptive et transversale d'un échantillon représentatif d'une population du centre Algérien (Aïn Taya, Alger) comptant 1511 individus, montre que 25,9 % de la population était obèse dont (32,8 % Femmes, 12,2 % Hommes)[20]. Une autre enquête transversale descriptive menée en 2020 chez 1143 personnes dans l'est algérien a montré une prévalence de l'obésité de 30,9% où les femmes sont les plus touchées [21].

1.1.2. Les médicaments anti-obésité

On peut diviser les agents anti-obésité en deux grandes classes selon leur mécanisme d'action :

- **Action centrale**

La plupart des agents anti-obésité développés agissent sur les amines du système nerveux central (noradrénaline, dopamine, sérotonine). Elle se traduit par une modulation de l'appétit ; Malheureusement, tous ont entraîné des manifestations indésirables cardiovasculaires, ce qui a conduit, plus ou moins rapidement, à leur retrait du marché. Ce fut le cas des médicaments amphétaminiques (risque d'hypertension artérielle, d'angor et de troubles du rythme cardiaque), des médicaments facilitant la libération de sérotonine ou agissant comme agonistes sérotoninergiques comme la fenfluramine, la dexfenfluramine et le benfluorex (risque d'hypertension artérielle pulmonaire et de valvulopathies cardiaques), et de la sibutramine, agissant comme inhibiteur sélectif de la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine (augmentation des accidents cardiovasculaires dans une population à risque élevé) [22, 23]. Ces médicaments ont tous vu leur autorisation de mise sur le marché retirée à cause de leurs effets indésirables[24].

- **Action périphérique**

Ce mode d'action se traduit par une altération dans l'absorption des nutriments en agissant tels que des ralentisseurs de la digestion de gras [7, 9], des substances augmentant la dépense énergétique, des réducteurs de l'absorption des nutriments et l'élargissement du tissu adipeux(figure 1.3) [25]. L'Orlistat, bien qu'il possède des effets secondaires à long terme [7, 8], est le seul principe actif approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) et vendu sous les noms Xenical®(Roche), Alli ®(GlaxoSmithKline). C'est un dérivé hydrogéné synthétique de la lipstatine, qui agit comme un inhibiteur réversible à action prolongée des lipases pancréatiques et gastriques [26]. Il existe aussi divers coupe- faim à base de polysaccharides et de fibres alimentaires,

toutefois, ces produits ont fait l'objet de controverse quant à leur efficacité [27]. D'autres approches étaient d'utiliser des systèmes gastro-rétentifs à base de polymères réticulés, gonflables présentés sous forme de capsules induisant une sensation de plénitude [28, 29].

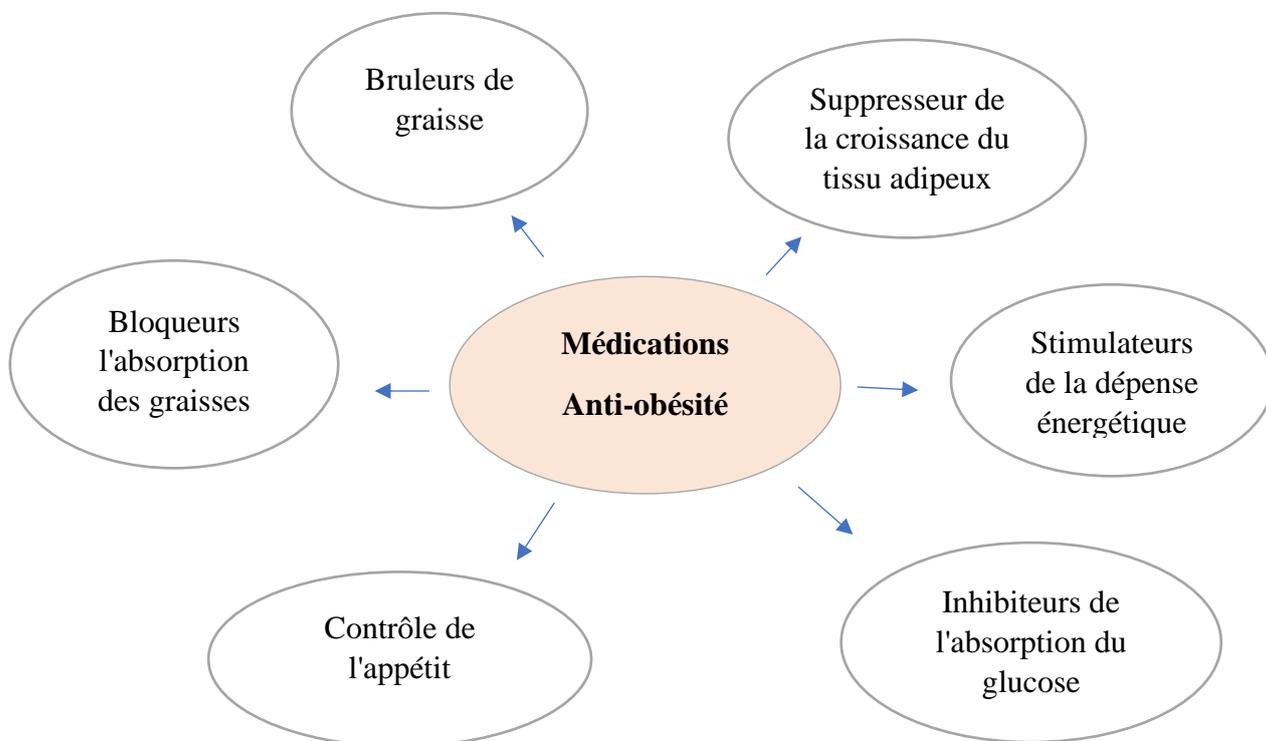


Figure 1.3 : Différents mécanismes de médication anti-obésité courante.

1.2. Substances naturelles et traitement de l'obésité

Plusieurs produits naturels sont utilisés comme interventions nutritionnelles ou peuvent être exploités pour développer de nouveaux traitements contre l'obésité sans autant causer les effets indésirables préalablement observés avec les précédents médicaments.

1.2.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont une classe de biopolymères constitués de monomères de sucre simples, souvent isolés de plantes terrestres et marines ou sont principalement les métabolites exogènes de certaines bactéries ; beaucoup sont modifiés par synthèse organique partielle.

Plusieurs études ont souligné l'effet de polysaccharides sur des sujets obèses par plusieurs mécanismes.

Le microbiote intestinal change en fonction de divers facteurs, tels que la génétique, la physiologie de l'hôte (âge, maladie ou stress) et le mode de vie ; il a été démontré une relation entre la structure globale du microbiote intestinal et l'augmentation

des risques d'obésité et comorbidités [30]. Plusieurs auteurs ont conclu que les polysaccharides alimentaires peuvent, par modulation du microbiote intestinal et amélioration du syndrome métabolique, réduire la prise de poids, améliorer la composition corporelle et inhiber l'accumulation de graisse induite par des régime riches en gras [31-33].

Les polysaccharides impactent aussi la prise alimentaire en induisant la satiété de façon mécanique, en diminuant la glycémie postprandiale et par réduction du taux de cholestérol et triglycérides sanguins.

Ci-dessous sont cités, non exhaustivement, les polysaccharides ayant fait preuve de vertus anti-obésité.

1.2.1.1. Les gommes

Les gommes possèdent des bienfait anti-obésité en induisant principalement la satiété, réduisant l'indice glycémique, et modifiant la motilité gastrique et les sécrétions hormonales intestinales.

La gomme arabique est constituée d'exsudats gommeux naturels séchés, transparents ou translucides, provenant de la tige et des branches de l'acacias. Sa teneur en fibres solubles naturelles, non visqueuses, est la plus riche. C'est une fibre alimentaire principalement utilisée dans les produits alimentaires et les formules pharmaceutiques comme émulsifiant et/ou agent de conservation [34]. Les résultats de la supplémentation en gomme arabique et huile de pépin ont montré un effet synergique sur la diminution de l'appétit et suppression de l'absorption intestinale du glucose [35].

La gomme guar se compose de galactomannane qui est un polysaccharide de galactose et de mannose. Riche en fibres hydrosoluble, l'ingestion de la gomme guar peut diminuer les lipides plasmatiques et hépatiques en augmentant l'excrétion des acides biliaires pour diminuer l'absorption des graisses [36]. L'un des mécanismes par lesquels la gomme guar peut réduire la teneur en lipides dans le foie peut être dû à la promotion de l'oxydation des acides gras dans le foie en augmentant les activités de la protéine kinase activée par AMP, du récepteur alpha activé par les proliférateurs de peroxysomes et de la protéine découplante mitochondriale UCP 2 dans le foie [37].

Une étude récente a montré également que la gomme guar partiellement hydrolysée contribue à la modification du microbiote intestinal [38].

Le Glucomananne est un polysaccharide de glucose et de mannose, extrait de la racine de konjac dont la structure est proche du galactomananne de la gomme guar. Il a la propriété de gonfler avec l'eau et former un gel non assimilable et fait augmenter le

volume du contenu de l'estomac sans pour autant augmenter l'apport calorique et glycémique. Il diminue les taux de cholestérol et de triacylglycérols dans le sang et absorbe les nutriments (saccharides, protéines et cholestérol) empêchant ainsi leur absorption dans le tractus gastro-intestinal. De plus, le konjac peut réduire le taux de glucose plasmatique humain en inhibant les activités de l' α -amylase et de la -glucosidase [39, 40].

1.2.1.2. Les fucoïdanes

Les fucoïdanes sont un type de polysaccharides hautement sulfatés, constitués de grandes quantités de fucose, principalement trouvée dans la matrice extracellulaire des algues brunes mais également dans la gelée d'œufs d'oursin et dans la paroi corporelle du concombre de mer [41]. Les études ont été concentrées sur l'effet antitumoral de la molécule [42]. Cependant, il a été trouvé que l'administration des fucoïdanes pendant trois mois par 25 sujets obèses ou en surpoids entraîne une diminution de la pression artérielle diastolique et des taux de cholestérol LDL et une augmentation de la sécrétion d'insuline [43].

Des études ont apporté la preuve de l'activité anti-adipogénique des fucoïdanes par la régulation de l'expression du gène de l'ARNm des marqueurs adipocytaires clés (par exemple, la protéine adipocytaire 2) et l'expression des gènes liés à l'inflammation dans les adipocytes pendant l'adipogenèse. Les fucoïdanes diminuent l'accumulation de lipides dans les adipocytes, inhibent l'accumulation de lipides dans les adipocytes différenciés 3T3-L1 et diminuent l'absorption de glucose 2-désoxy-D-[3H] induite par l'insuline [44, 45].

1.2.1.3. Les fucoxanthines

Les fucoxanthines sont des caroténoïdes marines largement présents dans les macroalgues et les microalgues [46]. La bioactivité de la fucoxanthine est attribuée à son chromophore polyène qui contient une liaison allénique et deux groupes hydroxyle (figure 1.4) [47]. Des études ont suggéré que les fucoxanthines possèdent des bienfaits anti-obésité en stimulant principalement l'expression de la protéine de découplage-1 dans le tissu adipeux blanc et l'inhibition de la différenciation adipocytaire [48, 49]. Un régime riche en fucoxanthines entraîne une suppression du gain de poids et une modulation des taux de glucose sanguin et d'insuline chez des souris ayant reçu un régime hyper gras [50]. Les mêmes auteurs ont constaté que l'alimentation des souris avec une combinaison de fucoxanthine et d'huile de poisson réduit le gain de poids du tissu adipeux blanc par rapport à celles nourries à la fucoxanthine seule.

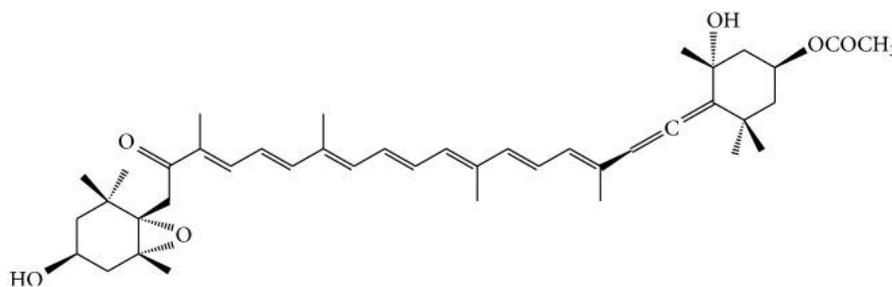


Figure 1.4 : Structure chimique des fucoxanthines [51].

1.2.1.4. Les β -glucanes

Les β -glucanes sont constitués de monomères D-glucose liés par des liaisons β -glycosidiques, leur structure est constituée de 1-3,1-4-D-glucanes linéaires. Les β -glucanes possèdent une activité anti-obésité potentielle grâce à leur nature de fibre soluble, ce qui peut augmenter la satiété et le temps de transit gastro-intestinal total et ralentir l'absorption du glucose [52].

Aucune conclusion n'a pu être tirée concernant les effets de l'administration de β -glucane sur la satiété et/ou l'appétit [53, 54] car quelques essais ont utilisé des scores subjectifs et d'autres n'ont montré des effets non significatifs sur la perte de poids avec l'administration de quantités de β -glucanes de 3 à 10 g / jour pendant 4 à 12 semaines [55, 56].

1.2.1.5. Les Alginate

La plupart des alginate utilisés sont extraites à partir d'algues brunes des genres *Laminaria*, *Macrocystis* et *Ascophyllum* et *Lessonia* [57]. Les espèces *Laminaria* et *Lessonia* représentent 81% des récoltes d'algues. L'alginate de sodium est un biopolymère anionique linéaire contenant deux unités : la β -D-mannuronique (unité M) et la α -L-guluronique (bloc G), associé par une liaison glycosidique (1 \rightarrow 4). Les alginate exercent leurs action anti-obésité par plusieurs mécanismes. La plupart des études humaines montrent que la consommation d'alginate entraîne un effet suppressif sur la prise alimentaire et une réduction du poids corporel plus important que le placebo [58, 59].

L'alginate utilisé seul ou en combinaison avec le calcium entraîne un retard de la vidange gastrique favorisant la satiété postprandiale et réduisant l'apport alimentaire. Les travaux antérieurs ont proposé deux mécanismes induisant ces effets rassasiants. En premier lieu, une étude a suggéré que la gélification de l'alginate dans l'estomac provoquerait une distension accrue de l'antre gastrique [60]. Cela est ensuite confirmé par une observation IRM chez des volontaires humains [61].

La formation d'un gel d'alginate augmente la sensation de satiété en atténuant les réponses glycémiques et insulinémiques [62]. Arshad et al., [63] ont rapporté que l'administration de l'alginate rajouté à du lait, après un repas de pizza ad libitum, chez 30 femmes supprime le taux de glucose sanguin et l'appétit moyen.

Les propriétés physiques de l'alginate telles que la viscosité et la rigidité du gel influencent également la satiété. Il a été conclu par observation IRM que les gels les plus rigides entraînent plus de satiété chez des volontaires humains [64]. Solah et al., [65] ont montré qu'une boisson à base d'alginate à haute viscosité possède un effet plus prononcé sur la réduction de la faim des sujets par rapport à celle à faible viscosité.

Les alginates possèdent également la propriété d'inhiber la lipase pancréatique qui est l'une des principales cibles thérapeutiques des médicaments anti-obésité. Plusieurs efforts ont été déployés afin de cribler des molécules naturelles ayant cette activité. Comme déjà cité, l'Orlistat, le seul médicament anti-obésité actuellement approuvé sur le marché, agit selon ce mécanisme [26].

Brièvement, le métabolisme des lipides dans le corps humain (figure 1.5) est décrit comme suit : Les graisses peuvent être dégradées par la lipase linguale mais très faiblement. Ensuite, il est hydrolysé en acides gras libres et en monoacylglycérol par la lipase gastrique (décomposition de 10 à 30 %) et la lipase pancréatique (décomposition de 50 à 70 %) dans le tractus gastro-intestinal et l'intestin grêle, puis le cholestérol et les lipoprotéines sont formés dans le corps. Les particules mixtes de lipides, tel que l'acide biliaire, sont absorbées par l'intestin grêle et la resynthèse du triacylglycérol stocke de l'énergie sous forme de tissu adipeux [66].

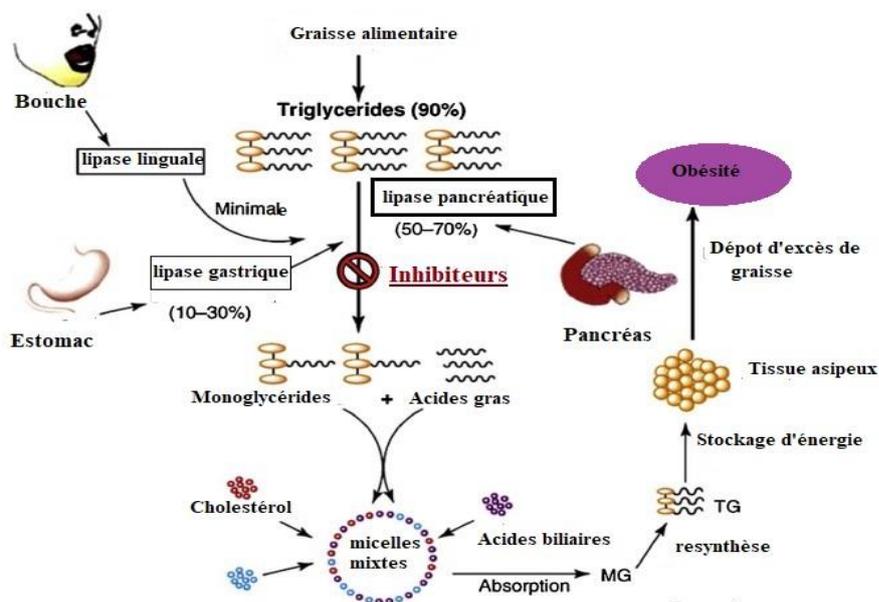


Figure 1.5 : Voies métaboliques des lipides dans le corps humain [66].

L'activité inhibitrice de l'alginate contre la lipase pancréatique peut varier avec la source et les formes chimiques du composé. Il est souligné que les alginates de *Laminaria hyperborea*, avec une teneur élevée en acide glucuronique, présentent une inhibition plus élevée de la lipase pancréatique que les alginates de *Lessonia nigrescens*, avec un bloc guluronique plus élevé [67]. Cependant l'inhibition de la lipase pancréatique par les alginates n'est pas affectée par le poids moléculaire de celles-ci. L'activité inhibitrice de la lipase pancréatique, n'est pas également affectée lorsque les alginates ajoutés à un support de pain ont été soumis à une cuisson à des températures allant jusqu'à 200 °C ou à une digestion dans un intestin modèle [68].

Les mécanismes d'action des alginates dans l'inhibition de la lipase suggèrent l'implication d'interactions avec l'enzyme par liaison hydrogène par le groupement hydroxyle, des interactions charge-charge avec les groupes carboxyle et le groupe COO⁻ chargé négativement de l'alginate. L'utilisation des alginates comme inhibiteur de la lipase pancréatique est brevetée et proposée comme agent anti-obésité [69]. Des études récentes ont également souligné que l'alginate aurait un effet anti-obésité en modulant le microbiote intestinal [70, 71]. Bien qu'il existe de multitude de produits à base d'alginate à différentes fin thérapeutiques mais aucun produit n'a été destiné pour application anti-obésité.

A la lumière de ses travaux, on peut conclure que l'alginate regroupe l'ensemble des mécanismes offerts par les polysaccharides faisant de lui un candidat idéal pour une médication anti obésité.

1.2.1.6. Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide linéaire composé d'unité de D-glucosamine liée en β -(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée) produit par une désacétylation de la chitine, conduisant à un produit final cationique soluble dans un milieu acide [72].

Dans une étude menée chez des humains en surpoids, le chitosane a induit une perte de poids corporel plus importante et un indice de composition corporelle amélioré que le groupe témoin placebo [73]. Des compléments alimentaires à base de chitosane, seul ou associé à d'autres substances bioactives, sont actuellement commercialisés (figure 1.6). Le chitosane empêche l'augmentation du taux de cholestérol sérique [74], aide à la prévention du diabète et équilibre les actions des cellules qui produisent de l'insuline en la rendant ainsi plus efficace pour réduire la glycémie [75, 76]. Ces propriétés ont été attribuées à un mode d'action similaire à celui de l'Orlistat, le chitosane possède la

propriété d'adsorber les lipides et peut fixer environ 15 fois son propre poids de lipides. Cette liaison ne pouvant être métabolisée, les graisses ne seraient donc pas résorbées par l'organisme et se retrouveraient éliminées dans les selles [77].

Les études récentes suggèrent un mode d'action plus complexe pour le chitosane, via la diminution de la prise alimentaire chez les souris supplémentées en chitosane [78], et montrent que l'exposition des pré-adipocytes au oligosaccharide de chitosane (oligochitosane) module la sécrétion d'adipokine et inhibe, ainsi, l'adipogenèse in vitro [79].

Walsh et al., [80] ont mis en évidence un nouveau mode d'action endocrinien du chitosane, avec une diminution du poids corporel et de l'apport alimentaire associé à une augmentation des concentrations sériques de leptine et une diminution des concentrations sériques de CRP et suggèrent donc un mode d'action plus complexe.



Figure 1.6: Quelques produits disponibles sur le marché à base de chitosane.

L'oligosaccharide de chitosane améliore la stéatose hépatique non alcoolique et améliore l'obésité induite par l'alimentation en réduisant le stress du réticulum endoplasmique [81, 82]. D'autres chercheurs ont trouvé que le chitosane et l'oligochitosane améliorent le métabolisme des lipides chez des souris nourries avec un régime hyper gras. L'étude a montré que le chitosane a un effet plus prononcé sur les activités des enzymes antioxydantes du foie, la glutathion peroxydase et la superoxyde dismutase, et réduit la peroxydation des lipides hépatiques. Par contre l'oligochitosane réduit l'absorption des lipides en réduisant l'expression des ARNm fabp 2 et fatp 4 [83].

1.2.2. Les polyphénols

1.2.2.1. Composés phénoliques dans le traitement de l'obésité

Les composés phénoliques constituent l'un des principaux groupes de composants alimentaires non essentiels produits par les plantes en tant que métabolites secondaires dans des conditions normales et de stress. Ils sont caractérisés par la présence d'un ou

plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle. Plus de 8000 types de polyphénols possédant des structures chimiques très diverses ont été identifiés [84].

Les polyphénols ont récemment attiré l'attention en raison de leur activité physiologique. Ceux qui suscitent plus d'intérêt quant à leurs propriétés anti-obésité sont l'épigallocatechine gallate, le resvératrol, la catéchine, la quercétine, les procyanidines et les anthocyanes [85-88].

Comme les polysaccharides, les polyphénols améliorent le métabolisme du glucose en réduisant le glucose plasmatique et diminuent l'hyperlipidémie, en réduisant les taux triglycérides et du cholestérol LDL plasmatique [88-91]. Des études réalisées sur des modèles animaux et volontaires humains ont montré que les polyphénols agissent comme inhibiteurs des lipases pancréatiques et synthèse d'acides gras [92, 93]. Le rôle prébiotique des polyphénols et leur contribution à la modulation compositionnelle et fonctionnelle du microbiote intestinal contrecarrant l'obésité est également mis en évidence [94].

L'administration d'un extrait apportant 4 mg / jour de coumarine conduit à une réduction significative du poids et du rapport taille : hanche chez 22 sujets obèses ou en surpoids [95]. Les polyphénols extraits de cannelle font également objet d'évaluation de leur effet anti-obésité et on a constaté leur efficacité de réduire la graisse corporelle et augmenter la masse maigre de 0,7 et 1,1 % respectivement chez 22 participants atteints de prédiabète et du syndrome métabolique par rapport au groupe témoin [96-98].

Les agrumes sont reconnus également comme étant une bonne source de polyphénols. C'est pour cette raison que leur extrait phénolique a fait l'objet d'étude comme potentiel agent anti-obésité. En fait un composé d'un extrait polyphénolique d'agrumes d'orange rouge, de pamplemousse et d'orange avec « 90 % de polyphénols, » 20 % de flavanones et entre 1 et 3 % de caféine naturelle a permis de réduire le tour de taille et de hanche et la graisse abdominale de volontaires en surpoids [99]. Toutefois l'étude n'a pas réussi à étudier les composés phénoliques cibles responsables de cette bioactivité.

1.2.2.2. Extraits de thé vert et traitement de l'obésité

Le thé vert et ses extraits représentent l'une des matrices riches en phénol les plus étudiées impliquées dans l'effet anti-obésité et d'excellentes critiques se sont concentrées sur l'explication de son mécanisme d'action possible [100, 101].

Le thé vert est un thé non fermenté (contrairement au thé noir fermenté et au thé Oolong partiellement fermenté) qui est produit à partir du séchage direct de feuilles de la

plante *Camellia Sinensis*. Au cours de ce processus, la polyphénol oxydase est inactivée et les polyphénols sont conservés [102]. Le thé vert contient la plus grande quantité de composés phytochimiques tels que les catéchines, les principaux polyphénols du thé vert qui constituent environ 10 à 35 % de son poids sec total. L'activité anti-obésité du thé vert est particulièrement attribuée aux catéchines, principalement l'épigallocatechine gallate EGCG qui représente environ 50 à 70 % des catéchines du thé vert[103-105]. Les autres principaux constituants sont (-) -épicatéchine (~ 6 %., (-) -épigallocatechine (~ 20 %), (-) -épicatéchine-3-gallate (~ 14 %) (figure 1.7).

La consommation à long terme de boissons contenant des catéchines inhibe la formation de lipides oxydés tels que le MDA-LDL, et c'est un facteur de risque de développer une artériosclérose[106]. De plus, l'apport de catéchine diminue la graisse corporelle.

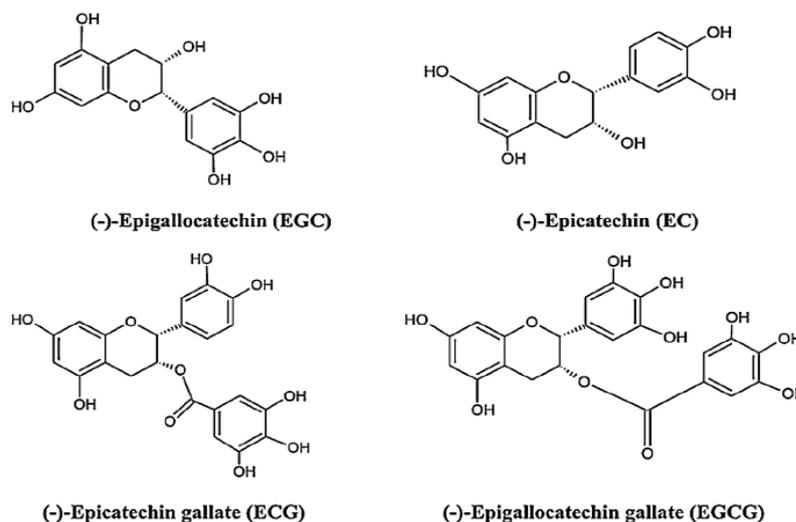


Figure 1.7 : Structure chimique des quatre principales catéchines présentes dans le thé vert.

Les mécanismes par lesquels les catéchines extraites du thé vert influencent le poids corporel et la composition corporelle restent un domaine d'investigation actif. Une grande partie des travaux chez l'homme se sont concentrés sur les effets des catéchines extraites de thé vert sur la thermogénèse et l'oxydation du substrat, qui sont tous les deux médiés par l'activité du système nerveux sympathique.

Les études réalisées sur des cultures cellulaires et des modèles animaux d'obésité ont démontré que les catéchines peuvent réduire la différenciation et la prolifération des adipocytes, la lipogénèse, la masse grasse, le poids corporel, l'absorption des nutriments, l'absorption des graisses par régulation négative des enzymes appliquées dans le

métabolisme des lipides hépatiques, les taux plasmatiques de triglycérides, les acides gras libres, le cholestérol, le glucose, l'insuline et la leptine et une modification du contrôle de l'appétit [107, 108].

1.3. Gels à base de polysaccharides

Les polysaccharides naturels et bactériens, chargés ou non, seuls ou combinés forment des réseaux tridimensionnels dans des conditions spécifiques.

Le mécanisme de gélification des polysaccharides a longtemps été étudié par de nombreux groupes de recherche non seulement pour un intérêt scientifique mais aussi pour l'importance de ce mécanisme dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, biomédicales, cosmétiques. La gélification est induite par des liaisons physiques ou chimiques [109] faisant appel à des mécanismes de formation de réseaux interpénétrés / semi-interpénétrés [110] ou polyélectrolytiques [111]. A noter que la réticulation physique qui ne fait pas intervenir des agents de réticulation toxiques constitue une approche plus sûre et intéressante dans la pratique clinique [112, 113].

Dans cette partie nous allons aborder particulièrement les mécanismes de gélification par deux voies : celle produite *in-situ* et celle par complexation polyélectrolytique.

1.3.1. Gélification In-Situ

La gélification *In-Situ* est définie comme une transition sol-gel que subissent les solutions ou suspensions après avoir atteint un site particulier en raison du contact avec des fluides corporels ou de changements physico-chimiques (pH, température, concentration ionique, rayonnement UV, présence de molécules ou d'ions spécifiques, déclencheurs externes, etc.) (figure 1.8) [114]. Les systèmes de gélification conçus à des fins thérapeutiques sont administrés par voies buccale, intrapéritonéale, nasale, oculaire, orale, parentérale, rectale, sous-cutanée, transdermique et vaginale [115].

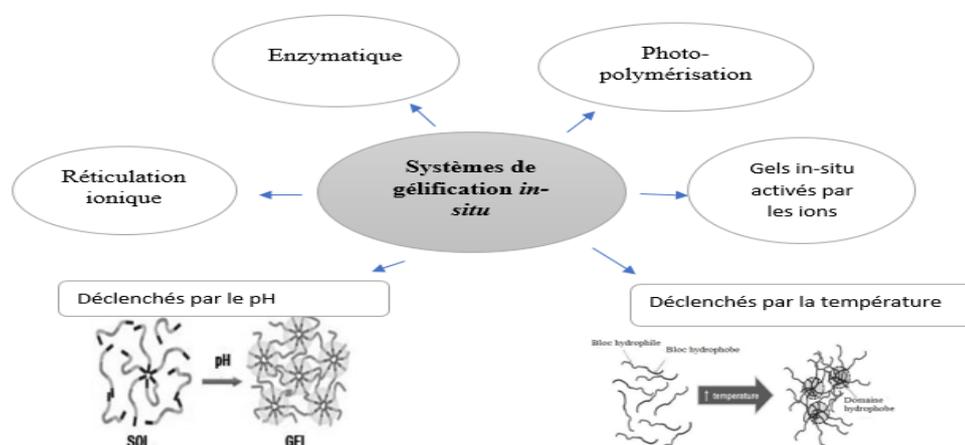


Figure 1.8 : Différentes approches de gélification *In-Situ*.

Ces systèmes présentent des potentiels prometteurs pour des applications cliniques telles que les implants injectables, l'ingénierie tissulaire et la libération prolongée des médicaments. Le médicament ou cellule peut être mélangé avec la solution aqueuse pour une administration commode, ensuite le dépôt de gel encapsulant le médicament ou cellules est formé In-Situ [116].

1.3.1.1. Caractéristiques idéales des polymères pour la préparation de gel In-Situ [117]

Selon leurs origines (naturelles ou synthétiques) les polymères, en général, doivent présenter des critères appropriés :

- ✓ Le polymère doit être capable d'adhérer à la membrane muqueuse.
- ✓ Il doit être bien compatible et ne doit pas fournir des effets toxiques.
- ✓ Il doit avoir une bonne tolérance et une clarté optique.
- ✓ Le polymère doit être capable de présenter un comportement rhéofluidifiant.

De plus les propriétés citées ci-dessus, l'utilisation polymères intelligents modifient leurs propriétés physico-chimiques en réponse à un environnement altéré [118]. Les polysaccharides sont la classe de polymères la plus fameuse possédant ces propriétés faisant l'objet de formulation des systèmes de gélification In-Situ sont : l'alginate, carraghénane, chitosane et ses dérivés thiolate, gomme guar, gomme gellane, pectine le xanthane, le xyloglucan, l'acide hyaluronique et hyaluronate de sodium, ...) [119].

L'alginate de sodium en raison de ses diverses propriétés a fait objet de plusieurs formulations in-situ pour plusieurs applications.

1.3.1.2. Systèmes gélifiants In-Situ à base d'alginate de sodium par voie orale

❖ Gélification In-Situ par présence de calcium

Les premiers systèmes thérapeutiques gélifiants In-Situ étaient engendrés en présence d'ions divalents, particulièrement le calcium en raison de sa faible toxicité et de sa grande disponibilité à bas prix comparés aux autres ions multivalents. Le mécanisme de gélification In-Situ des chaînes d'alginate, via la réticulation calcique, est à l'issue de la méthode dite réglage interne où la source d'ions est introduite dans la solution sous une forme inactive (généralement le chlorure de calcium) afin d'éviter une gélification prématurée de la préparation avant administration. Pour cette raison, le citrate de sodium est souvent utilisé pour former un complexe de citrate de calcium. Par la suite un facteur de déclenchement active les ions tel qu'un changement de la valeur du pH et/ou de la

solubilité de la source d'ions, placera des ions calcium libres dans la solution conduisant à la réticulation physique de l'alginate In-Situ [120].

Le taux de gélification est un facteur très important dans la formulation des systèmes de gélification In-Situ destinés à administration orale. Ce paramètre affecte l'uniformité et la résistance des hydrogels formés dans l'objectif de formulation gastro rétentive. Ceci peut être contrôlé par une manipulation appropriée des conditions, telles que le rapport entre les blocs constituant l'alginate G / M, contrôler la valeur du pH du liquide et la concentration de la source d'ions de calcium.

❖ **Systèmes d'alginate gélifiants In-Situ, à administration orale sans calcium**

Il convient de noter que le calcium peut induire une hypercalcémie pouvant avoir des conséquences sur la santé humaine, notamment, des complications rénales (la polyurie et la polydipsie) [121] et des troubles du mouvement ventriculaire (tachycardie, fibrillation ventriculaire) [122]. Le calcium peut aussi causer des interactions médicamenteuses chez les patients déjà sous traitement [123].

Cela a conduit à l'alternative constituant l'établissement de systèmes s'abstenant au calcium et de s'appuyer sur l'association de l'alginate de sodium avec d'autres biopolymères.

L'alginate a été combiné avec le xyloglucane pour libération de paracétamol à partir d'un liquide du mélange liquide contenant, respectivement, (0,5 % m / v) et (1,5 % m / v) de chaque polymère. Cette formule a montré une libération plus soutenue sur 6 h de cette association de polymères par rapport à la solution de xyloglucane (1,5 %) seule [124]. L'alginate en association à la méthylcellulose modifie la libération du paracétamol et a amélioré le profil de libération prolongée in-vitro par rapport à chaque polymère seul [125].

Plus tard d'autres travaux ont proposé le chitosane comme candidat idéal remplaçant le calcium grâce à son caractère cationique en milieu acide et à sa capacité de former des gels forts en association avec les polyanions. El Maghraby et al., [126] ont exploité la gélification In-Situ à base d'alginate et de chitosane en association avec le calcium comme véhicule de libération prolongée du dextrométhorphan. Dans un autre travail, les mêmes auteurs ont utilisé le chitosane comme source de charges positives, en absence de Ca, pour la libération prolongée de Nateglinide [127] et Belhadji et al., [128] pour la libération prolongée de la Ranitidine.

Malgré l'absence de calcium, les liquides sans calcium subissent une gélification comparable à ceux contenant un complexe de calcium.

1.3.2. Les complexes polyélectrolytiques

Un polyélectrolyte est défini comme tout matériau macromoléculaire contenant des unités répétitives et se dissocie en une molécule polymère hautement chargée lors de son placement dans un solvant ionisant (par exemple, H₂O) formant une chaîne polymère chargée positivement ou négativement [129]. Un complexe polyélectrolytique est formé par des interactions électrostatiques coopératives, qui sont prédominantes, entre les polycations et les polyanions lors du mélange de solutions aqueuses de polyélectrolytes de charge opposée conduisant à la formation d'une phase dense qui est séparée du solvant [130].

Les interactions inter-macromoléculaires sont impliquées, notamment la liaison hydrogène, les forces de van der Waals, les interactions hydrophobes et les interactions dipolaires. Toutes ces interactions conduisent à la formation de réseaux non permanents sans nécessité de réticulants chimiques. En général, les complexes polyélectrolytiques sont bien tolérés, biocompatibles et sensibles aux changements des conditions environnementales et présentent ainsi des avantages pour l'usage pharmaceutique, par exemple pour contrôler la libération de médicaments.

1.3.2.1. Facteurs influençant la complexation polyélectrolytiques

a) Présence de sel

Habituellement, les sels réduisent l'interaction entre les polyélectrolytes et permettent le processus de réarrangement. La présence de sel lors de la formation des complexes polyélectrolytiques conduit à une réduction drastique de l'agrégation en raison d'une structure moins rigide et plus enroulée. Une augmentation supplémentaire de la concentration en sel (c'est-à-dire la force ionique) a provoqué une agrégation secondaire conduisant à une floculation macroscopique [131].

b) Effet du pH sur la formation des complexes

La formation des complexes polyélectrolytiques et leur stabilité dépendent principalement du pH des polyélectrolytes utilisés. Des changements de phase des complexes polyélectrolytiques peuvent survenir en raison des changements de concentration et du pH de la solution. La quantité d'anions carboxylates dissociés est essentielle pour générer un complexe stable. Habituellement, à un pH extrêmement bas et à des concentrations élevées, les polyanions ne peuvent pas se dissocier et ne formeront

pas de complexes en raison du manque d'anions carboxylates dissociés. Une augmentation supplémentaire du pH ou une dilution, conduit à la formation d'un complexe stable des polyanions avec les polycations en raison de la quantité de sites anioniques de carboxylate dissociés dépasse la valeur critique. A ce stade, le complexe se présente sous la forme d'un précipité caillé. Lors d'une augmentation supplémentaire du pH ($\text{pH} > 7,0$) et lors de la dilution, un coacervat de complexe électrolytique équimolaire est produit en raison de la dissociation totale des polyanions [132].

c) Méthodes d'incorporation de la substance active dans les complexes polyélectrolytiques et de sa libération

La substance active peut être incorporée dans les particules ou colloïdes de complexes polyélectrolytiques de quatre manières [133].

- ✓ Incorporation par piégeage de la substance active, qui est présente en solution, lors de la précipitation du complexe.
- ✓ Incorporation par absorption de la substance active à partir d'une solution avec laquelle le complexes polyélectrolytiques déjà préparé entre en contact (notamment dans le cas de matériaux poreux ou de gels à propriétés spongieuses).
- ✓ Précipitation du complexe polyélectrolytique, dans laquelle le composé actif est chimiquement lié soit au polyanion, soit au polycation ou aux deux.
- ✓ Incorporation en utilisant le composé actif comme partenaire dans la formation du complexes polyélectrolytiques.

1.3.2.2. Détermination du rapport optimal entre les polyélectrolytes

Le rapport optimal entre les polyélectrolytes peut être détecté par les méthodes suivantes [134]:

- Rendement sec du complexe : dans ce procédé, le complexe a été préparé en prenant différents rapports pondéraux des polymères et le rendement a été mesuré en tant que teneur en pourcentage du polysaccharide initial. À des rapports pondéraux particuliers où le rendement maximal est obtenu, est le point de complexation.
- Viscosité intrinsèque : le rapport optimal entre les polymères peut être obtenu lorsque le surnageant de viscosité est proche de la viscosité du solvant.
- Titrages potentiométriques et conductimétriques : il peut y avoir une neutralisation de la charge lorsque les polyélectrolytes de charge opposée se mélangent et le mélange présente une conductivité et un profil de pH différents.

- Méthode turbidimétrique : la turbidité est proportionnelle à la concentration des solutions de polyélectrolyte et également à leur poids moléculaire. Les concentrations optimales de polymères pour la formation de complexes polyélectrolytiques peuvent être déterminés pour la mesure de la turbidité à différentes longueurs d'onde comprises entre 400 et 625 nm à température constante [135].

1.4. Interactions polysaccharides ciblées dans l'étude pour application anti-obésité

1.4.1. Interaction Alginate de sodium - Chitosane

Rares sont les auteurs ayant travaillé sur les systèmes de gélification in-situ dans le cadre de la lutte contre l'obésité. Dettmar et al., [58] ont proposé un système gélifiant in-situ à base d'alginate de sodium en présence du calcium, comme source de cations divalents. La formule s'est avérée efficace pour limiter la prise de nourriture entre repas et pour réduire le taux de cholestérol sanguin et du glucose. Des billes à base d'alginate de sodium et de calcium ont aussi induit la satiété chez des volontaires humains, dans une étude portée par Hoad et al., [64]. On se propose l'exploitation du système alginate de sodium/chitosane comme nouveau produit dans le cadre de la prévention de l'obésité et la lutte contre le surpoids.

1.4.2. Interaction Alginate de sodium - Guar cationique

La gomme guar cationique (GGC) est une gomme guar modifiée dans laquelle les groupes hydroxyle sont remplacés par des groupes triméthylammonium (figure 1.9). Cette substitution confère à la gomme une charge positive nette et peut être facilement réticulée avec d'autres anions.

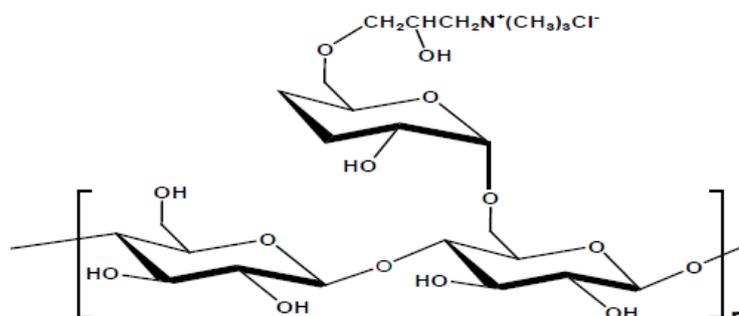


Figure 1.9 : Structure chimique de la gomme guar cationique.

Des travaux associant la guar avec des polyanions par complexation polyélectrolytiques sont réalisés, tels que des systèmes sensibles au pH [136], des microsphères à libération prolongée [137, 138]. L'interaction entre la guar cationique et l'alginate de sodium a été étudiée, premièrement par Dong-Bao et al, [139] mais aucune étude n'est réalisée, dans le cadre de la gélification in-situ ainsi que dans le domaine de la prévention du surpoids. On s'est donc proposé ce système comme un deuxième moyen avec un potentiel anti-obésité dans ce travail par cessation de faim et de libération d'une substance à action brûle-graisse prouvée.

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel

L'alginate de sodium a été fourni par Naturel SNAP Pvt. Limited (Mumbai, Inde). Sa viscosité à 1 % en solution est $5,5 \pm 2$ mPa.s avec un rapport des groupes G / M égal à 1,5. La gomme guar a été procurée auprès de Care Chemicals, son pH en solution de 1 % est de 9-10,5. La carboxyméthylcellulose de sodium (Ac-Di-Sol) et le stéarate de Mg ont été gracieusement donnés par le groupe pharmaceutique algérien, GROUPE SANTE, pour leur rôle désintégrant et lubrifiant respectivement. Le polyéthylène glycol (PEG) a été procuré par BIOCHEM Chemopharma grade 4000.

Le chitosane a été obtenu par extraction à partir de deux sources différentes : Les carapaces de crevettes (C CHIT) et des os de sépia (S CHIT).

Les catéchines ont été extraites à partir des feuilles de thé vert séchées (Camellia Sinensis) acheté chez un herboriste à Alger.

2.2. Extraction des matières actives

2.2.1. Extraction du chitosane

❖ Déminéralisation

La teneur en minéraux de l'exosquelette des crustacés n'est pas la même pour chaque espèce, les ressources en chitine étudiées n'ont donc pas besoin des mêmes traitements.

Les carapaces de crevettes ont été déminéralisées avec une solution d'HCL à 1N et les os de sépia avec une solution HCl à 2 N. À un rapport (1 : 10) (m : v) à $T = 20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ en maintenant une agitation constante pendant 24 H pour les deux sources. La suspension est ensuite rincée avec de l'eau de robinet puis distillée jusqu'à atteindre la neutralité. Le filtrat récupéré a été séché.

❖ Déprotéinisation

La déprotéinisation a été effectuée avec du NaOH 1 N à 80°C pendant 24 heures sous agitation constante. Après 24 heures, l'échantillon a été filtré, le filtrat a été rincé comme précédemment et séché.

❖ Désacétylation

La chitine a été désacétylée avec 40 % de NaOH, chauffée pendant 6 heures à 110 °C sous agitation constante, puis 10 % (m / m) d'acide acétique ont été ajoutés à l'échantillon et maintenus pendant 12 heures à température ambiante sous agitation constante.

L'échantillon dissout a été reprecipité en ajoutant 40 % de NaOH à pH 10. L'échantillon a ensuite été lavé avec de l'eau distillée et ramené à neutralité.

❖ Blanchiment

Le contenu est de nouveau rincé avec 20 mL de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 30% pour blanchir le produit ensuite un ultime rinçage à l'acétone permet d'entraîner les impuretés lipidiques résiduelles. Le contenu du flacon est à nouveau rincé abondamment à l'eau distillée jusqu'à ce que le pH de l'eau de lavage atteigne la neutralité. Le filtrat est alors transféré dans une coupelle préalablement pesée qui sera par la suite placée dans l'étuve à 30 °C pendant 20 heures et ensuite à 90 °C pendant 12 heures.

2.2.2. Extraction des catéchines

Les catéchines ont été extraites à partir des feuilles de thé vert séchées et finement broyées par extraction solide-liquide par soxhlet suivi d'extraction liquide-liquide.

La masse végétale a été mélangée avec du carbonate de calcium à un rapport (2 : 1) (m / m) placée dans une cartouche en cellulose. Le solvant utilisé était de l'eau avec un rapport (10 / 100) (m / v). Pendant l'étape d'extraction, certaines précautions ont été prises afin de protéger les polyphénols et d'autres biomolécules particulièrement sensibles à toute dégradation éventuelle, en particulier en les protégeant de la lumière. De ce fait, chaque ballon d'extraction a été entièrement recouvert d'une feuille d'aluminium.

L'extraction est maintenue jusqu'à l'obtention d'une solution concentrée d'extrait et un siphonage clair c'est à dire jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche.

L'extrait obtenu est filtré.

➤ **Élimination de la caféine et des impuretés non polaire de l'extrait**

Les pigments et les impuretés non polaires présent dans l'extrait aqueux sont éliminés par extraction liquide-liquide, trois fois, dans du chloroforme à un rapport (5 / 10) (V / V) [140].

La phase aqueuse contenant les catéchines est récupérée et ces derniers sont proprement extraites par l'acétate d'éthyle pour extraire profondément les composés des

catéchines. Cette étape est également répétée trois fois sur la phase aqueuse d'acétate d'éthyle, puis évaporée à l'aire libre.

2.3. Caractérisation des matières actives

2.3.1. Détermination du degré de désacétylation du chitosane

Le degré de désacétylation du chitosane a été déterminé par infrarouge en appliquant la formule : $A_{1320}/A_{1420} = 0,3822 + 0,03133 \times (100 - DA) \dots\dots(2.1)$

Le pic à 1320 cm⁻¹ est caractéristique de la fonction amine acétylée ou amide tandis que celui qui est à 1420 cm⁻¹ est choisi comme pic de référence.

2.3.2. Détermination du poids moléculaire du chitosane

Le poids moléculaire du chitosane a été déterminé par rhéométrie en appliquant la relation de Mark-Houink-Sakurada reliant la viscosité réduite d'un polymère à sa masse moléculaire [141].

2.3.3. Criblage phytochimique de l'extrait de catéchines

C'est une technique qui permet de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes, les hétérosides cardiotoniques, les huiles essentielles, les sucres... (voir appendice A)

2.4. Système (Alginate de sodium / Chitosane)

Le but de cette première partie de travail est de mettre au point un système à base d'Alginate de sodium/Chitosane (AlgNa/CHI) se présentant sous forme de granulés pour suspension gélifiant In-Situ.

Nous avons réalisé, en premier temps, des essais préliminaires de gélification In-Situ, afin de trancher entre les deux sources de chitosane et l'alginate de Na. Nous avons dispersé 2 g d'AlgNa avec 0,75 g de chitosane dans 150 mL d'eau minérale sous agitation magnétique pendant 20 minutes. La suspension obtenue a été ensuite versée dans un bécher contenant du SGF à 37 °C et pH = 1.2 et le gel récupéré a été évalué quant à sa rigidité par rhéométrie, en utilisant le test de viscoélasticité en régime dynamique.

2.4.1. Préparation de granulés pour suspension reconstituée

Les caractéristiques visées, dans ce travail, pour obtenir des granulés de qualité sont le temps de dispersion dans l'eau, la coulabilité et leurs tailles.

Premièrement, le temps de dispersion des granulés dans l'eau a été optimisé en se basant sur la variation exclusive de CMC Na, compte tenu de son effet dominant potentiel sur la dispersion, en variant sa concentration de 1 à 6% et en gardant les autres constituants constants. Sur la base des résultats de nos travaux antérieurs [128], les concentrations d'AlgNa et de CHI ont été fixées respectivement à 2 g / 100 mL et 0,75 g / 100 mL. Le solvant constitué du mélange (Eau : Ethanol) a été utilisé dans une proportion égale de 50 : 50 (m / m).

Les six mélanges (100g pour chaque mélange) ont tous été introduits dans un mélangeur à cuve cubique à axe de rotation fixe pendant 20 minutes à 25 rpm puis transférés dans un granulater planétaire à 100 rpm. La solution de liaison a été préparée en dissolvant 4 grammes de PEG 4000 dans 100 mL de solvant eau : éthanol à 65°C sous agitation jusqu'à obtention d'une solution limpide. La solution est laissée à température ambiante pendant 2 heures. La solution liante a été introduite dans le granulater à l'aide d'un pulvérisateur jusqu'à l'obtention de granulés cohérents. Les granulés obtenus sont séchés à l'étuve à 70 °C pendant 10 minutes puis calibrés à 1,2 mm. La teneur en humidité mesurée pour tous les échantillons par un dessiccateur (METTLER TOLEDO HB43-S).

Enfin, 0,5% de stéarate de Mg (lubrifiant) a été ajouté aux granulés obtenus dans le mélangeur cubique.

Pour évaluer le temps de dispersion, une quantité de granulés de chaque mélange a été dispersée dans 150 mL d'eau potable par simple agitation manuelle à l'aide d'une cuillère. Le temps de dispersion a été estimé dans lequel un aspect visuellement homogène de la suspension a été obtenu.

Après avoir optimisé la quantité de CMC Na par rapport au temps de dispersion, d'autres mélanges ont été préparés, dans un deuxième temps, afin d'observer l'effet des ratios (Eau : Ethanol) sur la granulométrie et la coulabilité des granulés.

Le rapport (Eau : Ethanol) a été varié à 20 : 80 (mélange a), 50 : 50 (mélange b) et 80 :20 (mélange c) (m/m). Les granulés ont été préparés dans les mêmes conditions citées précédemment et de même la qualité de gélification In-Situ.

Le volume nécessaire à la granulation a été déterminé en variant la masse de la poudre de 50 à 150 g et de déterminer un rapport entre chaque masse et volume consommés selon la formule suivante :

$$\text{Rapport} = V (\text{solution liante})/m (\text{du mélange de poudre}) \dots\dots\dots (2.2)$$

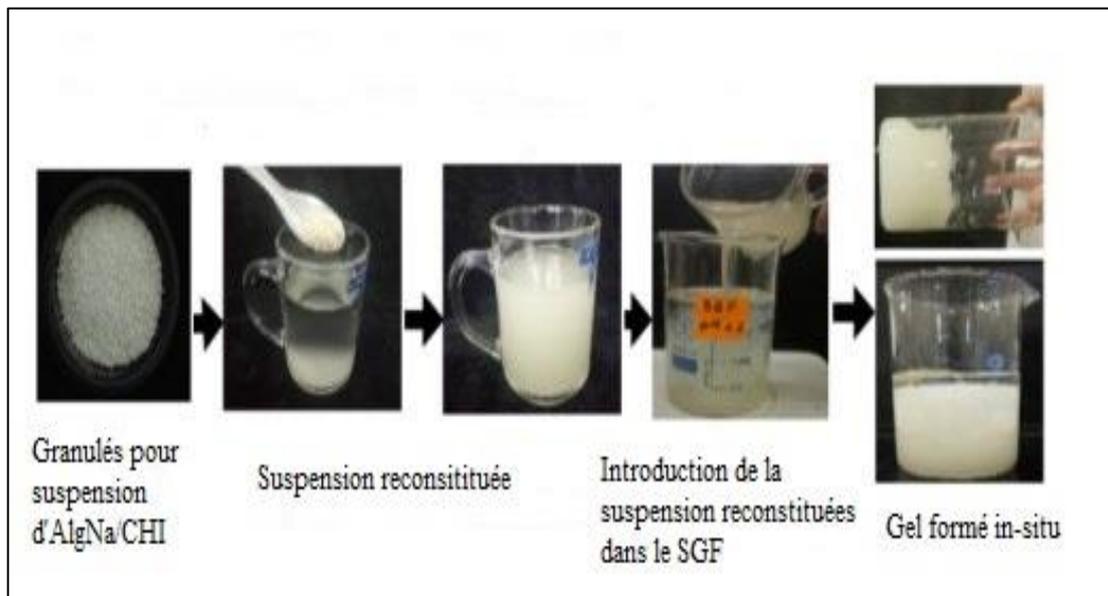


Figure 2.1 : Préparation de la suspension reconstituée d'AlgNa/CHI et gélification In-Situ.

2.4.2. Analyse granulométrique, aptitude au tassement

La distribution granulométrique et l'aptitude au tassement des granulés obtenus sont déterminés suivant la méthode décrite dans la pharmacopée européenne [142].

2.4.3. Gélification In-Situ

Le but du test de gélification In-Situ est de confirmer que le gel peut être formé dans un environnement gastrique simulé. Après optimisation du temps de dispersion des granulés en fonction de la CMC Na, des paramètres de coulabilité et de taille en fonction des ratios Eau : Ethanol, l'évaluation de la gélification In-Situ est alors entreprise en fonction des concentrations de l'AlgNa et du CHI, sur la base des valeurs proposées par un plan d'expériences.

Les granulés obtenus à partir du plan d'expériences sont dispersés dans 150 mL d'eau pour obtenir la suspension. Les mélanges sont introduits dans des béchers (500 mL de 6-7 cm de diamètre) contenant 150 mL de liquide gastrique simulé (SGF) à pH 1,2 ainsi qu'un liquide intestinal simulé (SIF) à pH 6,8. La température est maintenue à 37°C

pour les deux milieux [84]. En plus des suspensions gélifiantes proposées à base d'AlgNa et de CHI, d'autres systèmes gélifiants sont également préparés comme modèles de contrôle. Ces systèmes sont basés sur un mélange AlgNa/CaCO₃ et AlgNa seul dans SGF, respectivement. Dans le cas d'AlgNa/CaCO₃, nous avons opté pour un mélange physique avec une concentration de 2 g / 100 mL et 0,93 g / 100 mL respectivement, selon Dettmar et al., [58]. Après gélification, un certain volume de liquide surnageant a été observé représentant la différence entre le volume total avant gélification et le volume piégé dans le gel. Celui-ci a été quantifié.

2.4.4. pH du milieu gastrique pendant la gélification In-Situ

La mesure du pH du milieu après incorporation de la suspension reconstituée est un paramètre important, car il peut modifier la formation du gel dans une gamme de pH où les deux biopolymères étaient dans leur état ionisé ou au moins l'un d'entre eux [64, 85]. Le pH a été mesuré par une électrode combinée WTW®. Les valeurs de pH en fonction du temps ont été enregistrées sur une période de 30 minutes.

2.4.5. Caractérisation rhéologique

La caractérisation rhéologique a été réalisée sur un rhéomètre à contraintes et déformations imposées de la marque MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Allemagne). Pour les suspensions reconstituées et gelées préparées, une géométrie cône-plan avec $r = 60$ mm et une conicité de 01 degré à 20 °C ont été utilisées. Comme pour les gels, une géométrie plan-plan avec $r = 25$ mm a été utilisée à 37 °C. Les résultats expérimentaux ont été analysés par le logiciel Rheoplus US200.

La rigidité des gels formés in-situ et leur résistance mécanique dans le milieu gastrique ont été évaluées, par détermination de leurs propriétés viscoélastiques qui ont abouti au module d'élasticité (module de conservation) G' et au module de dissipation (module de perte) G'' à 37 °C.

2.4.6. Analyse spectroscopique Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Une analyse par spectroscopie infrarouge a été entreprise pour évaluer l'existence d'une interaction entre l'alginate de sodium et le chitosane après gélification. L'analyse a été réalisée avec un spectromètre (BRUKER TENSOR II) sur une gamme d'ondes de 400 à 4000 cm⁻¹. Tous les produits ont été déposés directement sous forme solide (sans préparation préalable).

2.4.7. Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La caractérisation de surface des deux biopolymères dans le SGF et du gel formé a été réalisée après métallisation du carbone à l'aide d'un microscope électronique de type FEI Quanta 650 en mode vide poussé et à une tension d'accélération des électrons égale à 10 Kv.

2.4.8. Modélisation de la surface de réponse

Le but de cette expérience était de comprendre l'effet du CHI et de l'AlgNa à différentes concentrations sur le processus de gélification. La CMC Na n'a été utilisée que pour améliorer la dispersion de l'AlgNa dans l'eau froide. La valeur de sa concentration a été trouvée 2%. Ainsi, il a été décidé de réaliser deux plans d'expérience associés à une valeur de CMCmin = 2 % et CMCmax = 4 %. Les concentrations expriment la masse des granulés par rapport au volume en eau. Un plan composite central centré a été utilisé (CCF) avec objectif de la méthodologie de surface de réponse (RSM) en utilisant un modèle polynomial du second degré avec la présence d'interactions d'ordre 1 [86]. Le nombre de facteurs étant égal à deux (AlgNa et CHI), le logiciel utilisé MODDE 6.0 (UMETRICS) a généré 11 tests dont 3 de reproductibilité. D'après l'équation suivante :

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \dots\dots\dots (2.3)$$

Où, y représente l'une des réponses retenues dans ce test, à savoir, la viscosité au taux de cisaillement nul noté η_0 , le module de conservation G' et le volume de liquide résiduel non absorbé par le gel noté respectivement V. Les variables centrées réduites X_1 et X_2 sont respectivement associées à AlgNa et CHI, et varient entre -1 et +1.

Les valeurs des coefficients des différents polynômes de réponse ont été calculées par la méthode MLR (Multi-Linear-Regression), à partir des résultats des différentes analyses qui ont été réalisées sur les suspensions (courbe d'écoulement) et les gels (Viscoélasticité et volume libre non absorbé).

2.4.9. Pureté microbiologique de la suspension

Le test de pureté microbiologique dans les conditions normales ($30 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$; $65 \% \pm 5 \% \text{ HR}$) et accélérées ($40 \pm 2 \text{ °C}$, $75 \% \pm 5 \% \text{ HR}$) a été effectué suivant la méthode décrite dans la pharmacopée européenne [142]. Deux formules AlgNa/CHI contenant 4 g / 100 mL et 0,5 g / 100 mL contenant seulement le chitosane comme agent conservateur naturel et la deuxième contenant un conservateur synthétique 0,2 % de sorbate de potassium. Trois flacons ont été utilisés pour chaque formule. Le dénombrement des

germes aérobie totaux (*GAT*), des levures et moisissures totales (*DLMT*), d'*Escherichia coli* (*E. coli*), et *staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ont été réalisés à $t = 0$ et à $t = 90$ jours.

2.4.10. Action coupe-faim de la suspension reconstituée AlgNa/CHI

L'objectif de cette partie d'étude est d'évaluer l'effet de la prise de la suspension reconstituée à base d'alginate de sodium et de chitosane sur l'appétit et l'apport alimentaire (effet anorexigène) sur des animaux de laboratoire. Pour cela, Deux suspensions (AlgNa 2 % / CHI 0,5 %) et (AlgNa 4 % / CHI 0,5 %) notés, respectivement, E1 et E2 contenant une concentration la plus élevée en CMC Na ont été préparées.

36 rats femelles albinos, pesant entre 150 et 190 g ont été utilisés dans cette étude. Les rats ont été procurés de l'institut pasteur en Algérie (Annexe de kouba) et ont été, ensuite acclimatés dans l'animalerie dans des conditions standard (température 23 – 24 ° C, humidité 32 - 33 %, cycle lumière / obscurité de 12 h / 12 h) et ont été nourries avec des granulés et de l'eau ad libitum.

L'aliment sous forme de granulés d'origine commerciale, fourni par l'Office National de l'Aliment du Bétail (O.N.A.B) [Tableau 2.1].

Tableau 2.1 : Valeurs nutritives de la nourriture consommée

Constituant	Protéines	Glucides	Lipides	Fibres	Minéraux	Vitamines
Valeur (%)	19	56	8,50	4	4	1

Les animaux ont été divisés au hasard en huit groupes comprenant chacun six rats comme suit :

Groupe 1 (témoin) : suivi de 24h de la ration alimentaire consommée pendant dix jours+ suivi pondéral pendant cinq semaines ; Groupe 2 : suivi de la ration alimentaire consommée pendant 24h après la prise de 1,5 ml la formule E1 suivi d'une eau citronnée pendant 10 jours + suivi pondéral pendant cinq semaines ; Groupe 3 : suivi de la ration alimentaire consommée de 24h après la prise de 1,5 ml la formule E2 suivi d'une eau citronnée pendant 10 jours+ suivi pondéral pendant cinq semaines ; Groupe 4 : administration de la formule E2 et sacrifice après 30 mn d'administration ; Groupe 5 : administration de la formule E2 et sacrifice après 1heure d'administration ; Groupe 6 : administration de la formule E2 et sacrifice après 3heures d'administration.

Nous avons choisi d'évaluer l'effet de l'unique formule E2 sur les groupes 4, 5 et 6. En se basant sur les résultats des apports alimentaires journaliers effectués sur les groupes 2 et 3, pendant 10 jours.

▪ **Visualisation des gels dans l'estomac du rat**

1,5 mL de suspension E2 (AlgNa 4 % / CHI 0,5 %) contenant 0,02 % de bleu brillant, comme colorant marqueur, a été administré par voie orale à des rats à jeun, comme décrit ci-dessus. Les estomacs ont été excisés après 30 minutes, 1 heure et 3 heures et les gels ont été retirés et pesés après élimination de la saleté de surface.

2.5. Système (Alginate de sodium / Guar cationique)

Des essais préliminaires ont été menés afin d'optimiser les conditions préparatoires des systèmes alginate de sodium et de gomme guar cationique (AlgNa : GGC).

Le comportement d'alginate de sodium et de gomme guar en fonction du pH a été évaluée.

2.5.1. Influence de la méthode d'incorporation des polymères

Trois façons ont été entreprises afin de déterminer la méthode d'incorporation des polymères conduisant à un maximum d'interaction entre ceux-ci.

Le premier, noté, procédés 1 : deux solutions mères de chaque polymère ont été préparées, ensuite des dilutions de chacune ont été effectuées dans 50 mL d'eau distillée pour un volume final de 100 mL avec des rapports finaux de (100 : 0), (20 : 80), (40 : 60), (50 : 50), (60 : 40), (80 : 20), (100 : 0) notés, respectivement, AlgNa, R2, R3, R4, R5, R6, GGC. La solution d'AlgNa a été introduite sur celle de GGC progressivement. Le pH a été ajusté à une valeur de $7 \pm 0,5$ à l'aide de l'acide citrique 1N et le mélange a ensuite été maintenu sous agitation à vitesse égale à 3000 tr/min.

Le procédé 2 consistait à ajuster le pH de chaque solution seule, ensuite effectuer le mélange en maintenant les mêmes conditions préparatoires.

Dans le procédé 3 une quantité adéquate d'alginate a été dissoute pendant une heure, puis a été saupoudrée une masse adéquate de GGC. Le pH a été ajusté avec la solution d'acide citrique 1N et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 1h.

Tous les mélanges issus des trois procédés ont été centrifugés, les surnageants et les culots ont été récupérés pour évaluation.

2.5.2. Influence de la température

Les préparations ont été réalisées suivant le procédé 2 à deux températures différentes : à température ambiante et une deuxième fois, en chauffant séparément les deux solutions de polymères à 70 °C et les mélangeant à cette même température. Les mélanges obtenus ont également été centrifugés.

2.5.3. Mesures turbidimétriques

Les mesures turbidimétriques ont été réalisées sur les surnageant récupérés afin d'apprécier l'interaction entre l'AlgNa et la GGC. Si la formation des complexes est plus importante, la turbidité devrait diminuer.

2.5.4. Quantification du liquide surnageant

Le liquide surnageant obtenu après centrifugation représente la différence entre masse totale avant centrifugation (M_{tot}) et la masse du culot récupéré après centrifugation (M_c). Il s'exprime en termes de masse surnageante relative : $\frac{M_{tot}-M_c}{M_{tot}} \times 100 \dots\dots (2.4)$

2.5.5. Gélification In-Situ

Après optimisation des conditions opératoires. Des mélanges à concentration totale en polymères variant de 0,5 à 6 (g / 100 mL) chacune avec des ratio d'AlgNa et GGC variant de (100 : 0) à (0 : 100) ont été réalisés. La méthode est identique à celle décrite dans le paragraphe (2.4.3).

2.5.6. Caractérisation rhéologique

Les gelées et les gels ont été analysés par le même protocole, décrit dans le paragraphe (2.4.5).

2.5.7. Analyse infrarouge à transformée de Fourier

L'analyse infrarouge des échantillons a été réalisée conformément au paragraphe (2.4.6).

2.5.8. Microscopie électronique à balayage

La méthode est identique à celle décrite dans le paragraphe (2.4.7).

2.5.9. Cinétique de libération de la matière active

100 mg de matière active (catéchines) ont été introduites dans 50 mL d'AlgNa. Cette solution a été incorporée progressivement dans une solution de GGC.

La libération de la substance active a été réalisée pour des gelées à concentrations totales en AlgNa et GCC de 3,4, 5 et 6 g / 100 mL avec un ratio AlgNa-GCC fixe égal à (60 : 40).

L'analyse de la libération de la matière active du gel a été réalisée selon une méthode décrite par L'USP Pharmacopeia [143] dans un dissolutest de marque ERWEKA est muni de 08 vases à palettes tournantes réglées à une vitesse de rotation de 50 rpm. La gelée a été incorporée dans 900 mL de milieu dissolution simulant le suc gastrique au pH 1,2 pendant 2 heures puis dans un milieu simulant le milieu intestinal à pH 6,8. La température des deux milieux a été contrôlée par un bain d'eau thermostatée à 37 °C.

Le dosage des catéchines de chaque prélèvement a été effectué par spectrophotométrie UV / Visible, de marque 1700 pharماسpec Shimadzu à $\lambda = 272$ nm.

2.5.10. Pureté microbiologique

Le *DGAT*, *DLMT* et la recherche de *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* ont été effectués sur deux gelées, une, contenant 0,2 % de Sorbate de potassium, et l'autre sans conservateur, suivant la méthode décrite dans le paragraphe (2.4.9). Deux formules ont été utilisées (R3, C_{tot} 4 g / 100 mL), la première contient les catéchines comme conservateur et la deuxième formule contient 0,2 % de sorbate de potassium.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Caractérisation des matières actives extraites

3.1.1. Caractérisation physicochimique et rhéologique du Chitosane

Le chitosane, obtenu suite à la désacétylation, se présente sous forme d'une poudre de couleur légèrement brune claire pour le chitosane extrait de carapaces de crevette et de couleur blanche pour celui extrait à partir des os de sépia. Le rendement massique a été trouvé égal à 22,54 % pour la crevette et 15,9 % pour les os de sépia.

Tableau 3.1. : caractéristiques physicochimiques et rhéologiques du (S CHIT) et de (C CHIT).

Source	DDA (%)	PM (kDa)	pKa	Viscosités caractéristiques (Pa.s)	
				η_0	η_∞
C CHIT	76,50 ± 0,12	2093 ± 98	6,75 ± 0,22	3586 ± 213	0,077 ± 0,005
S CHIT	87,03 ± 0,75	650 ± 16,75	6,43 ± 0,22	0,540 ± 0,003	0,547 ± 0,003

Il a été remarqué que la valeur de DDA du C CHIT était dans la limite inférieure de substitution (76,5) et le PM est élevé (2093 ± 98 kDa), en comparaison avec le chitosane commercial à haut DDA qui, généralement, dépasse difficilement 500 kDa [144]. Contrairement au S CHIT avec un DDA meilleur (87,03 %) et un PM relativement plus faible (650 ± 16,75 kDa).

La figure 1 montre les deux courbes d'écoulement du C CHIT et du S CHIT ajustées, respectivement, par le modèle de carreau d'écriture : $\frac{\eta - \eta_\infty}{\eta_0 - \eta_\infty} = \frac{1}{(1 + (K\dot{\gamma})^2)^P}$, et de newton d'écriture : $\tau = \eta\dot{\gamma}$. Clairement, le comportement rhéologique des deux chitosanes, sous cisaillement variable, est complètement différent

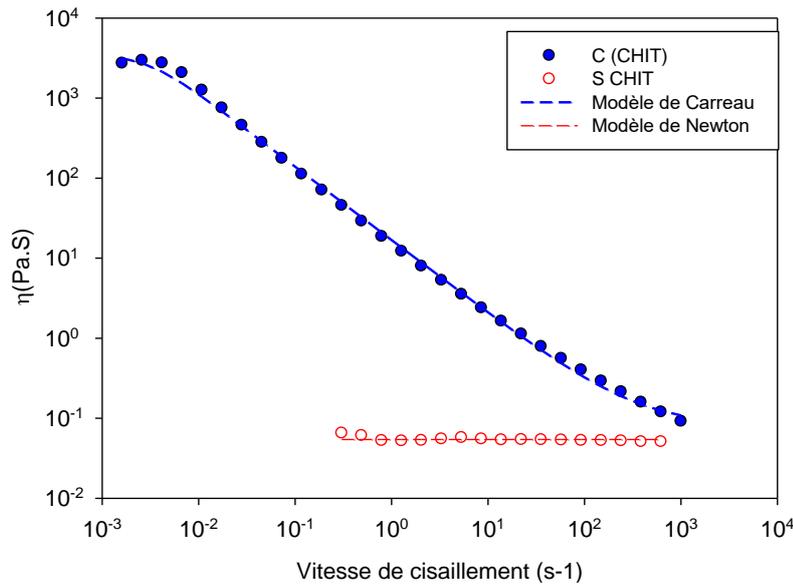


Figure 3.1: Courbes d'écoulements des deux chitosanes extraits, ajustées par les modèles : de Carreau (C CHI) et de Newton (S CHI) à 20 ° C.

Les résultats de gélification obtenus paraissent meilleurs avec le S CHIT (figure 3.2) avec des valeurs du module de conservation (G') nettement plus grandes. Notre choix s'est porté donc sur celui-ci pour la réalisation des essais. Notons, qu'à notre connaissance, très rares sont les auteurs qui ont étudié l'effet de la masse moléculaire et de la viscosité sur la gélification In-Situ du système alginate/chitosane. Nous avons opté pour l'abréviation CHI dans la suite de notre travail.

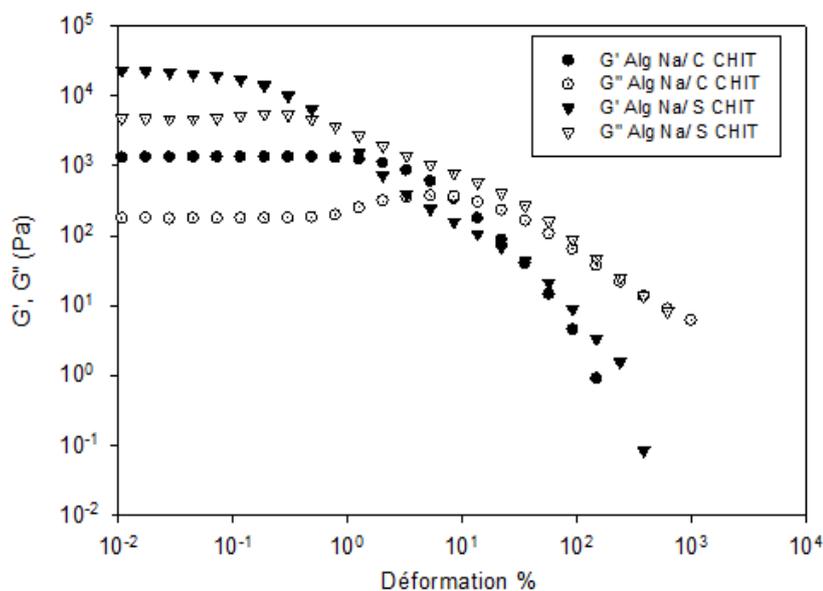


Figure 3.2 : Evolution des modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la déformation de chaque type de chitosane en combinaison avec AlgNa, $T = 37$ °C.

3.1.2. Criblage phytochimique de l'extrait du thé vert

Le rendement de l'extraction des catéchines a été estimé égale à 6 %. D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que l'extrait obtenu à partir des feuilles de thé vert, est très riche en flavonoïdes, de même nous avons enregistré une présence importante de tannins catéchiques. Pour les quinones, on note une faible présence dans l'extrait obtenu. Les anthocyanes, les anthraquinones et les saponines sont absents dans l'extrait obtenu (figure 3.3 et tableau 3.2).

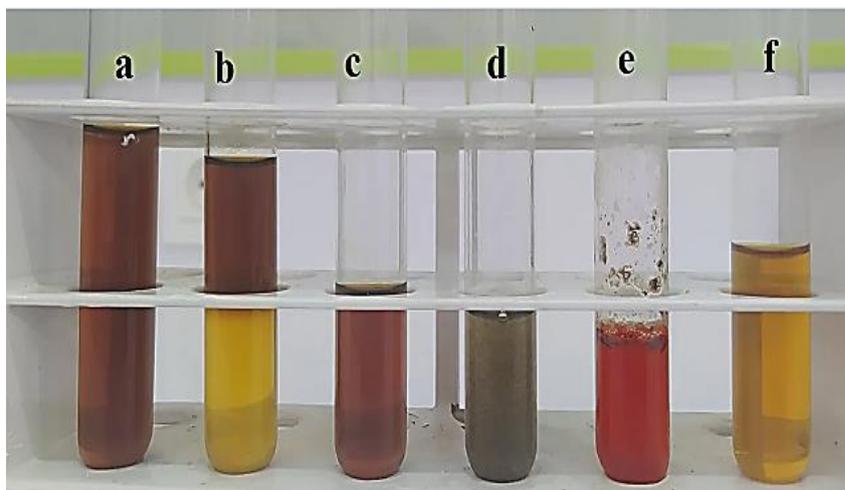


Figure 3.3 : Criblage phytochimique de l'extrait du thé vert, les tubes (a-f) sont les résultats des tests chimiques des composés phytochimiques (a) Anthraquinones, (b) Anthocyanines (c) Quinone (d) Tannins, (e) flavonoïdes : (f) Saponines

Tableau 3.2 : Composition phytochimique préliminaire de l'extrait du thé vert.

Composé		Révélation	
Flavonoïdes		+++	
Tannins		-	++
Galliques	Catéchiques		
Anthraquinones		-	
Anthocyanines		-	
Quinones		+	
Saponines		-	

(+++) fortement positif, (++) moyennement positif, (+) faiblement positif, (-) négatif

3.1.3. Identification Infrarouge à Transformée de Fourier de l'extrait catéchique

Sur la figure 3.4 sont présentés les spectres infrarouges de catéchine commercial (de référence) et celui extrait à partir du thé vert en laboratoire. Les deux spectres enregistrent des pics caractéristiques identiques à 1046 cm^{-1} attribué à l'élongation C-O et à 1460 cm^{-1} déformation OH, le pic à 1372 cm^{-1} est lié au groupement CH_2 [145]. Le pic à 1714 cm^{-1} correspondant à la liaison ester C = O attribué dans une étude précédente [146] au groupe galloyle attaché au 3ème atome de carbone du cycle C dans l'octa-acétate d'Epigalocatéchinegalate et l'hepta-acétate d'ECG respectivement. Le pic enregistré à 1621 cm^{-1} est lié à l'élongation aromatique C = C. L'élongation C-O-C du pyrane a été enregistrée à 1181 cm^{-1} . Le pic à 2925 cm^{-1} correspond à l'élongation = C-H.

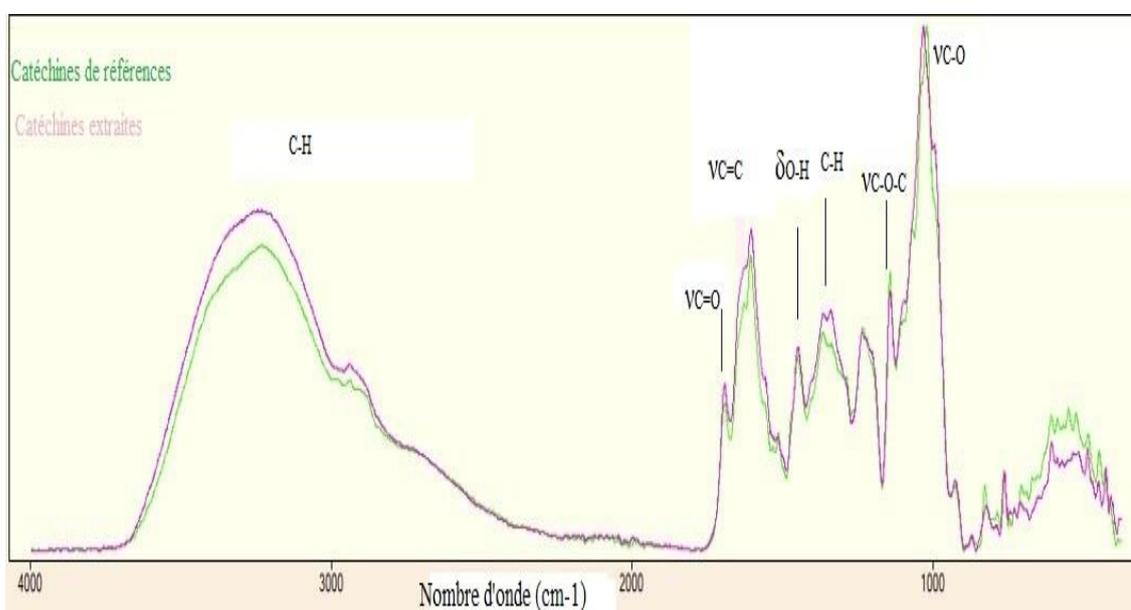


Figure 3.4 : Spectres IRTF des catéchines de référence (en vert) et de ceux extraits à partir des feuilles de thé vert (en violet).

3.2. Système (Alginate de sodium / Chitosane)

3.2.1. Temps de dispersion des granulés dans l'eau

La figure 3.5, montre clairement que la CMC Na influence considérablement la dispersion des granulés dans l'eau froide, par simple agitation manuelle et sans grumeaux d'alginate déjà observés avant granulation. L'accroissement de la concentration de CMC Na Jusqu'à $1\text{ g} / 100\text{ mL}$ améliore la dispersion. Au-delà de $2\text{ g} / 100\text{ mL}$, le temps de dispersion devient quasiment insensible.

Il est a noté, toutefois, que la CMC Na, dans le domaine ($1\text{ g} / 100\text{ mL}$ à $6\text{ g} / 100\text{ mL}$), a une influence sur les propriétés de gélification in-situ des suspensions d'où

l'établissent de deux plans d'expériences à deux facteurs (AlgNa et CHIT) en fixant la CMC à un niveau minimal de 2 g / 100 mL et à un niveau maximal de 4 g / 100 mL.

La teneur en humidité était comprise entre 5 et 7 %. Cette teneur élevée est probablement due à la nature hygroscopique des constituants, principalement AlgNa [34], CMC Na [147] et PEG [148]. Muti et al., ont trouvé que l'effet de l'humidité variait en fonction du liant [149]. Dans le cas du CMC Na, ils ont remarqué que le temps de désintégration était rapide et indépendant de l'humidité. En revanche, dans le cas de la polyvinylpyrrolidone (PVP), l'augmentation de l'humidité a eu un effet ralentissant sur le temps de désintégration

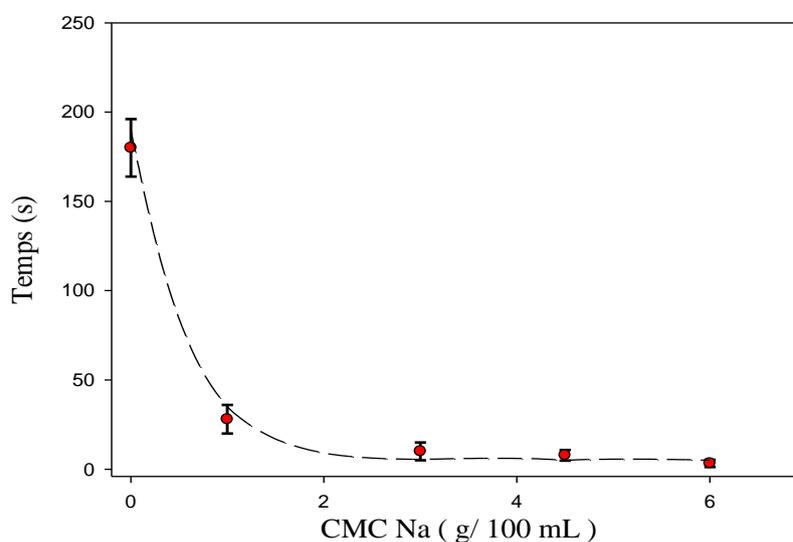


Figure 3.5 : Effet de la concentration de la CMC Na concentration sur le temps de dispersion des granulés dans l'eau à température ambiante (Eau : Ethanol = 50 : 50).

3.2.2. Analyse granulométrique du mélange des granulés

La figure 3.6 montre les distributions granulométriques des trois mélanges associés aux trois ratios Eau : Ethanol. Le mélange (a) présente une distribution bimodale avec un taux des fines supérieur à 20 %. Ce type de distribution peut causer une ségrégation par percolation des fines [150]. La distribution granulométrique du mélange (b), paraît monomodale, avec un diamètre modal de 925 μm pour les grosses. Le taux de fines, associé à ce mélange, est relativement faible, 5 ± 2 %, donnant aux mélanges une potentielle stabilité contre la ségrégation. La courbe représentative du mélange (c) montre une distribution granulométrique homogène avec un diamètre majoritaire de 930 μm , toutefois les grains formés étaient très durs au touché et se disperse difficilement dans l'eau.

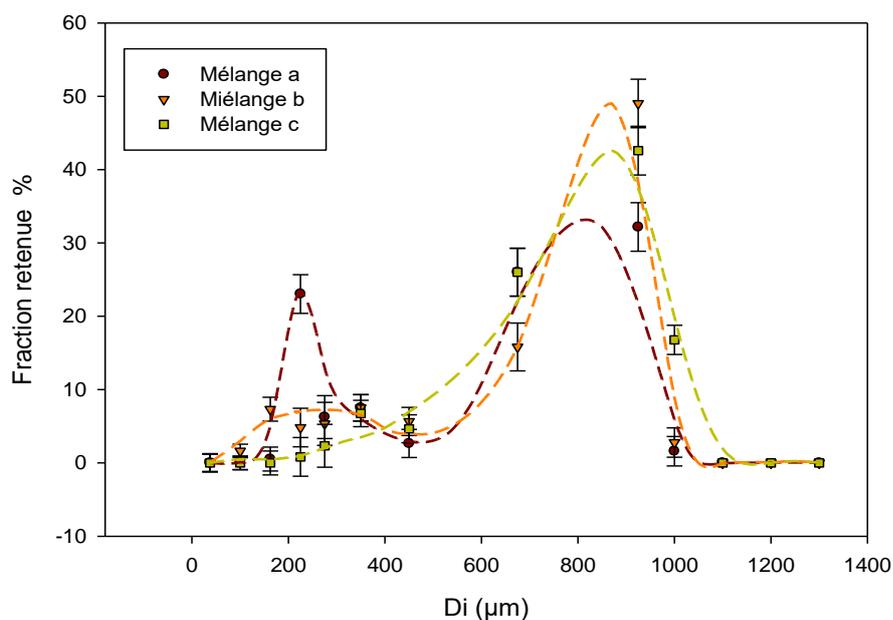


Figure 3.6 : Distribution granulométrique des mélanges de granules en fonction du ratio Eau : Ethanol (CMC Na = 2 g / 100 mL).

3.2.3. Écoulement et aptitude au tassement du mélange de granulés

Le tableau 3.3 regroupe les valeurs des paramètres caractéristiques du tassement et d'écoulement des granulés pour les trois ratios. Les valeurs associées à l'aptitude au tassement, $V_{10} - V_{500}$, sont acceptables pour les mélanges (b) et (c) mais pas pour le mélange (a). Pour ce dernier, il a été remarqué une grande friabilité de ces grains et une présence importante des fines.

Tableau 3.3 : Résultats des paramètres de tassement des mélanges de granulés obtenus en fonction du ratio Eau : Ethanol : a (20 : 80), b (50 : 50), c (80 : 20).

Test	Mélange (a)	Mélange (b)	Mélange (c)
V_0 (mL)	226	232	240
V_{10} (mL)	201	216	227
V_{500} (mL)	177	198	219
V_{1250}	170	195	211
$V_{10}-V_{500}$ (mL)	49	34	28
RH	1,33	1,19	1,13
IC (%)	32,94	18,97	13,74

La cinétique du tassement des trois mélanges (figure 3.7) montre une stabilité précoce des formules (b) et (c), où le volume se stabilise suite à un réarrangement des grains après 500 coups. Par contre, le mélange (a) continue à se tasser jusqu'aux 1250.

Quant à l'écoulement des granulés, les valeurs de l'indice de Carr et du ratio d'Hausner des formules (b) et (c) expriment un bon écoulement. Ceci n'est pas le cas du mélange (a) qui présente des valeurs de IC = 32,94 % et RH = 1,33, indiquant un très faible écoulement. Ces résultats sont vraisemblables du fait de la présence importante des fines particules et de la polydispersité qui seraient défavorables à l'écoulement.

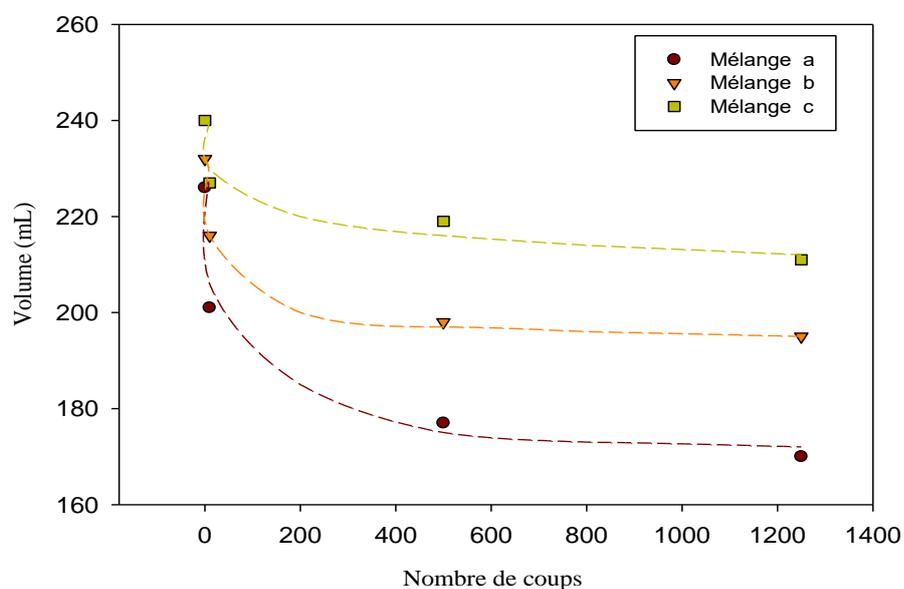


Figure 3.7 : Cinétique de tassement des mélanges de granulés en fonction du ratio (Eau : Ethanol).

3.2.4. Gélification In-Situ

Pour toutes les suspensions, aucune gélification n'a été observée dans le (SIF) le système est resté sous forme de suspension.

Après incorporation des suspensions dans le SGF, il a été observé la formation de gel dans un temps ne dépassant pas 2 minutes. Ces gels présentent trois aspects distincts ; i : le premier type (figure 3.8.a) semble être trop rigide, compact, contenant des agrégats et des grumeaux jaunâtres. La quantité du liquide surnageant a été observée relativement importante. En conséquence, non seulement, le gel ne satisferait pas l'effet de satiété espérée, mais pourrait générer des problèmes de mal-confort au niveau de l'estomac. ii :

Le deuxième type de gel obtenu, figure 3.8.b, présente un aspect homogène, onctueux baignant dans un volume de liquide moins important. iii : Le troisième type :

c'est la transformation quasi-totale de la suspension en un gel, homogène, relativement épais (Figure 3.8.c). Les figures 3.8.d et 3.8.e illustrent les gels récupérés des systèmes modèles, AlgNa / CaCO₃ et alginate seul respectivement. Le premier présente un aspect assez dispersé et le second est très mou. Les valeurs des volumes des liquides résiduels (non absorbés par les gels ou non concernés par la gélification) sont regroupées dans le tableau 3.4

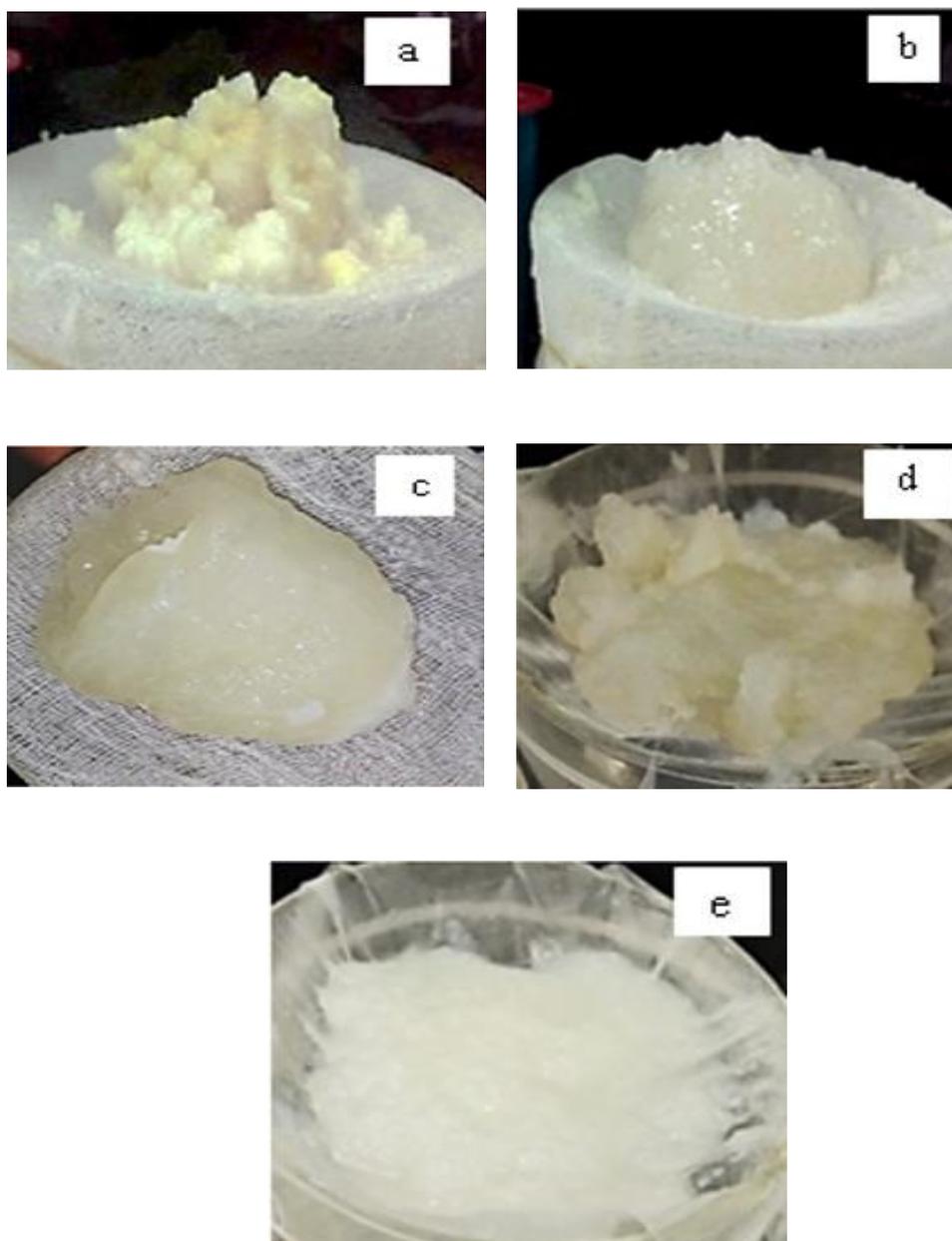


Figure 3.8 : Photos des gels récupérés:(a) gel d'AlgNa / CHIT expulsant du liquide, (b) gel d'AlgNa / CHIT homogène baignant dans le liquide, (c) suspension d'AlgNa / CHIT transformé en gel avec un faible volume de liquide, (d) AlgNa / CaCO₃, (e), AlgNa seul dans le SGF.

Popa et al.,[151] , ont rapporté que le mécanisme de gélification In-Situ du chitosane est basé essentiellement sur la formation de ponts hydrogènes et des interactions hydrophobes au sein de la macromolécule elle-même et avec l'eau. Les molécules de chitosane avec un degré de désacétylation compris entre 75 et 85 %, présentent des interactions hydrophobes très significatives.

Quant au mécanisme de gélification de l'alginate de sodium dans le SGF, il est connu que cette substance se gélifie lorsque le pH est inférieur au pKa de ses groupements carboxylates (COO⁻) des blocs mannuroniques et guluroniques (3,38 et 3,65) qui se protonent pour obtenir de l'acide alginique (COOH). Ce dernier se présente ainsi sous la forme non ionique et le gel est formé par des liaisons hydrogène intermoléculaires.

L'acide alginique non chargé avec le chitosane dans son état protoné forme un réseau physiquement semi-interpénétré, résultant par des interactions inter et intramoléculaire entre les deux biopolymères y compris des ponts hydrogènes et interactions hydrophobes individuellement et en coopération en même temps.

3.2.5. Propriétés rhéologiques des suspensions et des gels formés In-Situ

La figure 3.9 montre une courbe typique des courbes d'écoulements des suspensions à base d'AlgNa et de CHI réalisées, exprimant la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement, $\eta_{app} = f(\dot{\gamma})$ ajustée par le modèle structural de Carreau. La qualité des résultats de l'ajustement de toutes les courbes expérimentales a été satisfaisante avec un coefficient de détermination proche de 1. Le caractère rhéofluidifiant de la suspension impose la chute de sa viscosité apparente, par effet de cisaillement. Ainsi, suite aux mouvements péristaltiques dans l'estomac, la suspension devient moins visqueuse ce qui favorise les interactions avec le liquide SGF, conduisant à une gélification In-Situ. A noter que toutes les courbes d'écoulement des suspensions AlgNa / CHI sont similaires à celle du système modèle AlgNa / CaCO₃.

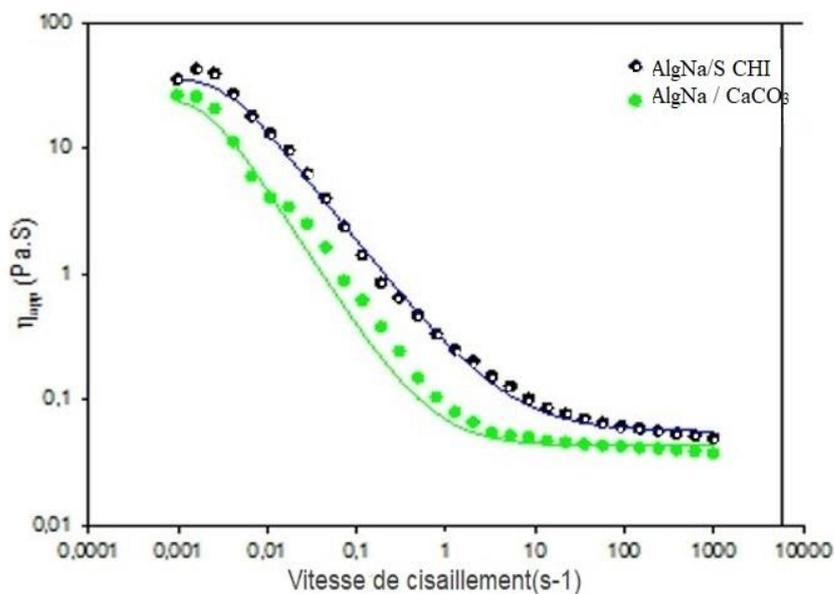


Figure 3.9 : Courbes d'écoulement typique des suspensions de d'AlgNa / S CHIT et de AlgNa / CaCO₃ ajustées par le modèle de Carreau à T = 20 °C, 2 g /100 mL

Suite au test de viscoélasticité en rampe croissante de déformation appliqué aux différents gels du plan d'expériences et ceux obtenus par les systèmes : AlgNa / CaCO₃, AlgNa seul et CHI seul, nous avons remarqué que le module de conservation G' est toujours supérieur au module de perte G'' et cela, spécifiquement, dans le domaine de viscoélasticité linéaire (LVE), figure 3.10. Ceci démontre que tous les gels exhibent le comportement d'un solide viscoélastique. À noter les faibles valeurs des modules du gel de chitosane seul ($G'_{LVE} \cong 3.5 \text{ Pa}$, $G''_{LVE} \cong 1 \text{ Pa}$, contrairement à l'alginate seul qui a exhibé des valeurs relativement élevées ($G'_{LVE} \cong 1350 \text{ Pa}$, $G''_{LVE} \cong 220 \text{ Pa}$).

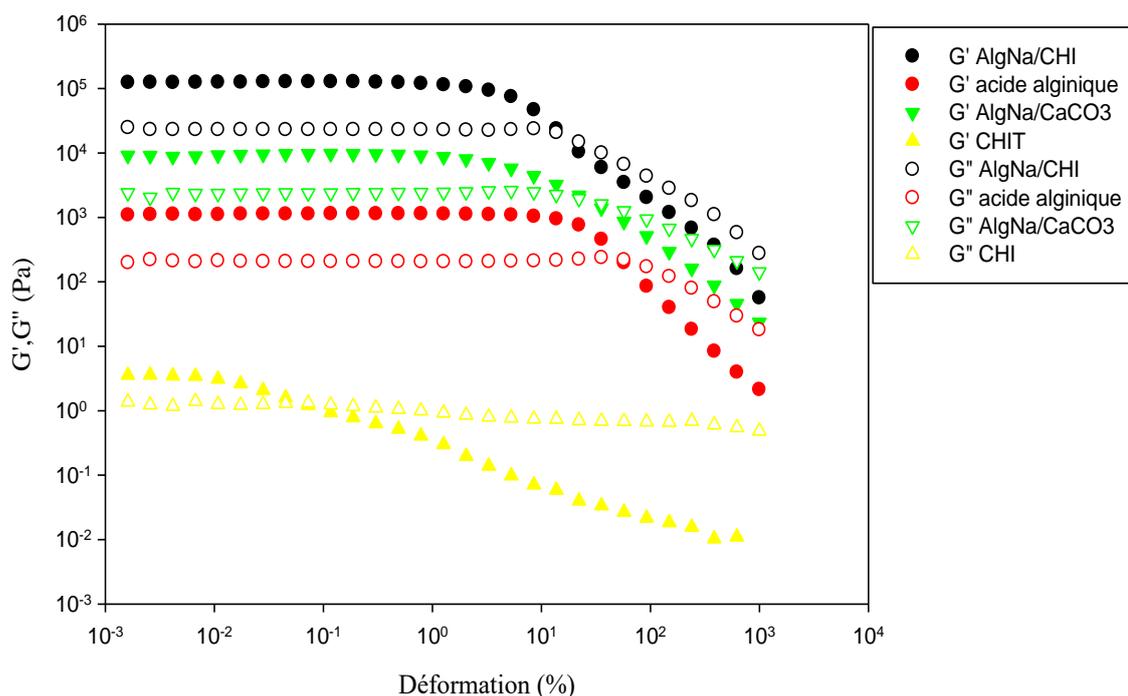


Figure 3.10 : Variation des modules de conservation G' et de perte G'' , en fonction de la déformation à $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ des gels de : AlgNa seul, chitosane seul, AlgNa / CaCO_3 et le gel typique du plan d'expérience résultant de l'association AlgNa / CHI.

Après incorporation de la suspension dans le milieu gastrique (SGF), le suivi de l'évolution du pH en fonction du temps a été effectué pendant 30 min. La figure 3.11 montre la cinétique d'évolution du pH d'un essai qui est représentatif de l'ensemble des essais. A noter que la valeur maximale du pH atteinte, après gélification, est inférieure à 4.

L'augmentation du pH du milieu gastrique est due à la protonation des molécules de chitosane et d'alginate qui provoque une alcalinisation de la phase continue. Cela rejoint l'explication donnée ci-dessus sur la nature des interactions entre les biopolymères par rapport à l'état d'ionisation. En fait, la formation du gel résulte des interactions non ioniques, auquel cas AlgNa se trouverait dans sa forme acide et le CHI serait complètement solubilisé avec un caractère cationique. Les interactions qui sont mises en jeu sont telles que les liaisons covalentes, les ponts d'hydrogènes et les interactions hydrophobes qui contribuent à la formation d'un réseau tridimensionnel.

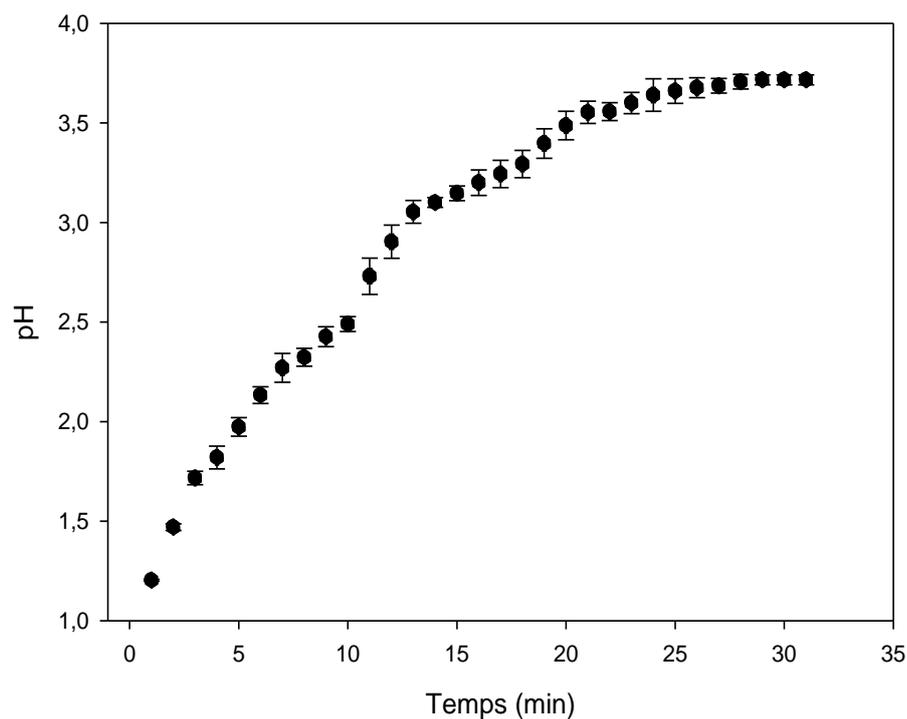


Figure 3.11 : Evolution du pH du milieu gastrique simulé après incorporation d'une suspension type (AlgNa/CHI).

3.2.6. Caractérisation Microscopique Electronique à Balayage (MEB)

Les images MEB illustrées sur la figure 3.12 montrent que les échantillons d'AlgNa dans le SGF présentent une surface de structure fibreuse avec des pores et des grappes et le CHI présente un aspect de surface moins fibreux et qui semble plus homogène. Le gel résultant de l'association des deux biopolymères présente une surface plus lisse et un aspect plus homogène et plus dense avec légères stries que la structure des deux biopolymères seuls et où le réseau de chitosane semble occuper la phase externe renfermant, ainsi, celui de l'acide alginique.

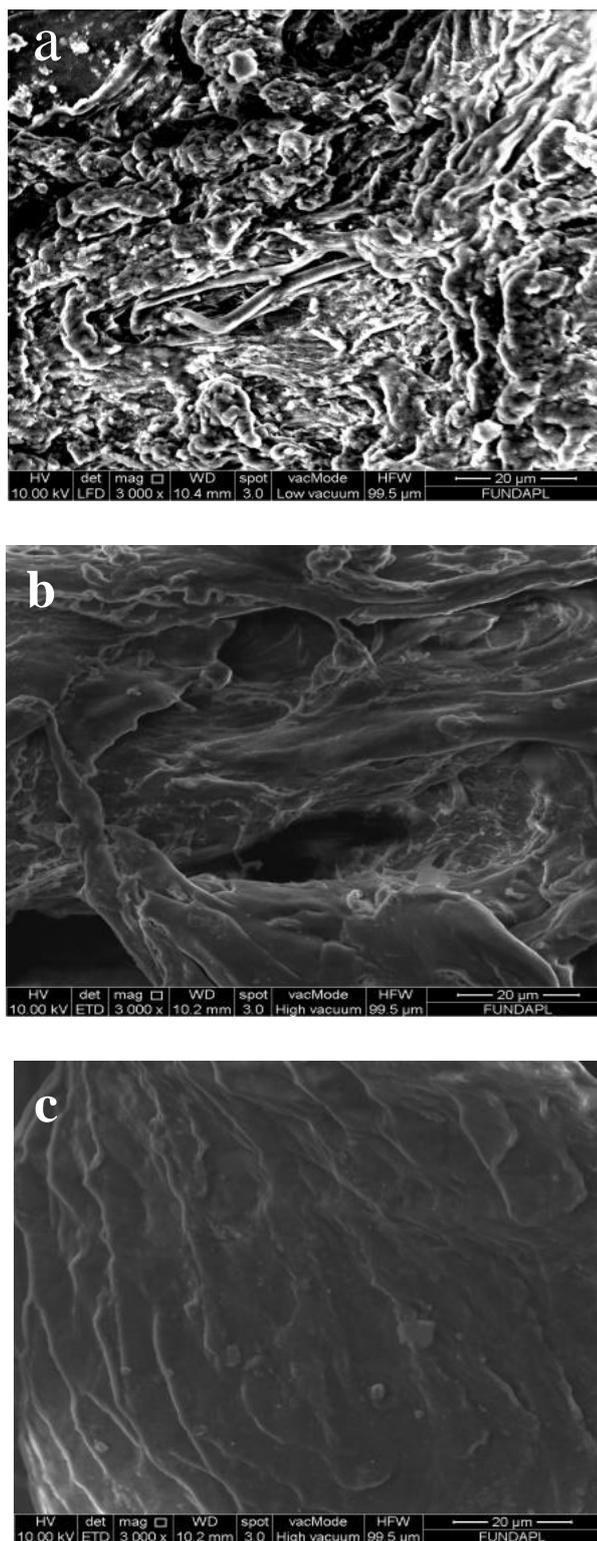


Figure 3.12 : Micrographes de : (a) AlgNa, (b) CHI et (c) l'association des deux polymères dans le SGF.

3.2.7 Analyse spectroscopique infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Les spectre IRTF illustrés dans la figure 3.13 révèlent que la AlgNa et la CMC Na présentent des pics caractéristiques à 1601 cm^{-1} et à 1409 cm^{-1} correspondant

respectivement aux groupement carbonyle et aux vibrations d'étirement symétrique et antisymétriques des groupement COO [152, 153] les pics caractéristiques du chitosane se situent à 1648 (amide I) et à 1575 (amide II) [154, 155], les bandes situées aux alentours de 3380, sont attribuées aux vibrations d'étirement des groupement hydroxyles.

Le spectre du gel formé présente une large et moins intense bande à 3420 peut être due à la formation de liaisons hydrogènes entre les macromolécules d'AlgNa, CMC Na et CHIT [153]. on enregistre la disparition de la bande à 1601 cm^{-1} indiquant la disparition des groupement carboxylate et l'apparition d'une nouvelle bande dans le spectre correspondant au groupement carboxylique enregistrée à 1730 cm^{-1} [127]. Les bandes correspondantes aux vibrations de flexions de l'amide I et l'amide II et amines du chitosane après incorporation dans le SGF, se voient apparaître respectivement à 1614 cm^{-1} et 1515 cm^{-1} . Cette dernière se voit moins intense, attribué à l'apparition de groupement amines protonés [156]. D'autre part la bande amine du chitosane située à 1150 se voit presque disparaître dans le spectre du gel [157]. Ces résultats sont en accord avec les hydrogels déjà réalisés à base d'alginate et de chitosane et montrent que le gel résulte d'interactions entre les polymères et n'est pas seulement un mélange physique.

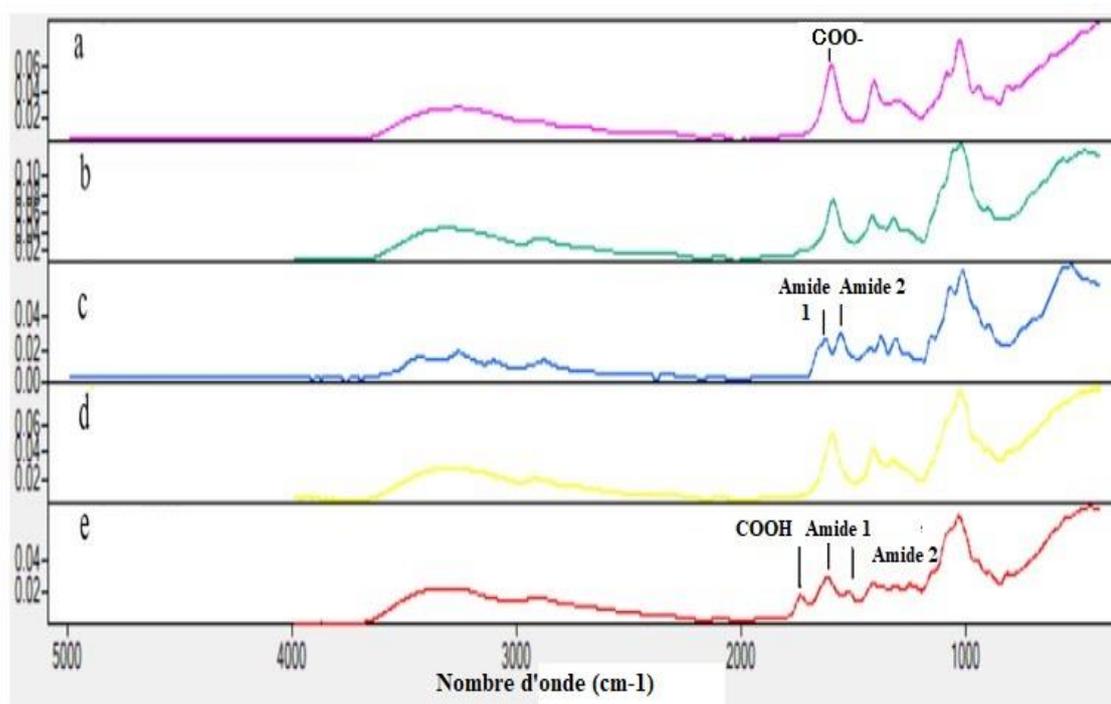


Figure 3.13 : Spectres IRTF de (a) poudre d'AlgNa, (b) poudre de CMC Na, (c) poudre de CHIT, (d) granulés secs (e) hydrogel obtenu.

3.2.8. Modélisation en surface de réponses (MSR)

L'évaluation de la qualité des modèles de MSR au sens statistique (figure 3.14), suite à l'identification de leurs paramètres par la méthode MLR. Cette qualité est conditionnée par l'évaluation de quatre paramètres, avec un coefficient de détermination (R^2) supérieur à 0,99 ; le coefficient de prédiction (Q^2) entre 0,75 et 0,99). Le troisième paramètre est caractéristique de la validité du modèle MLR (Model Validity) ; lorsque sa valeur est supérieure à 25 %, l'erreur du modèle est dans la même plage que l'erreur pure et donc les trois modèles sont intéressants est exploitables.

Tableau 3.4: Matrice du plan d'expérience CCF contenant différents niveaux de facteurs et toutes les valeurs de réponses en fonction de l'ordre de l'essai.

Expé- rience N°	Viscosité de la suspension au taux de cisaillement nul à 20 °C η_0 (Pa.s)		Module de conservation du gel à 37 °C G' (Pa)		Volume libre (non absorbé par le gel) (mL)	
	CMC _{min} 2g/100mL	CMC _{max} 4g/100mL	CMC _{min} 2g/100mL	CMC _{max} 4g/100mL	CMC _{min} 2g/100mL	CMC _{max} 4g/100mL
1	06	12	11607	4441	210,7	200
2	47	282	39	44429	102	67
3	08	54	8510000	004	136	175
4	18	402	543906	770	137	150
5	08	29	1220000	525	185	199
6	34	389	18046	22866	131	120
7	06	22	1120	23330	135	112
8	04	55	35700000	92	116	142
9	06	40	247325	5757	137	138
10	14	70	201050	2010	116	115
11	11	25	126000	12600	158	153

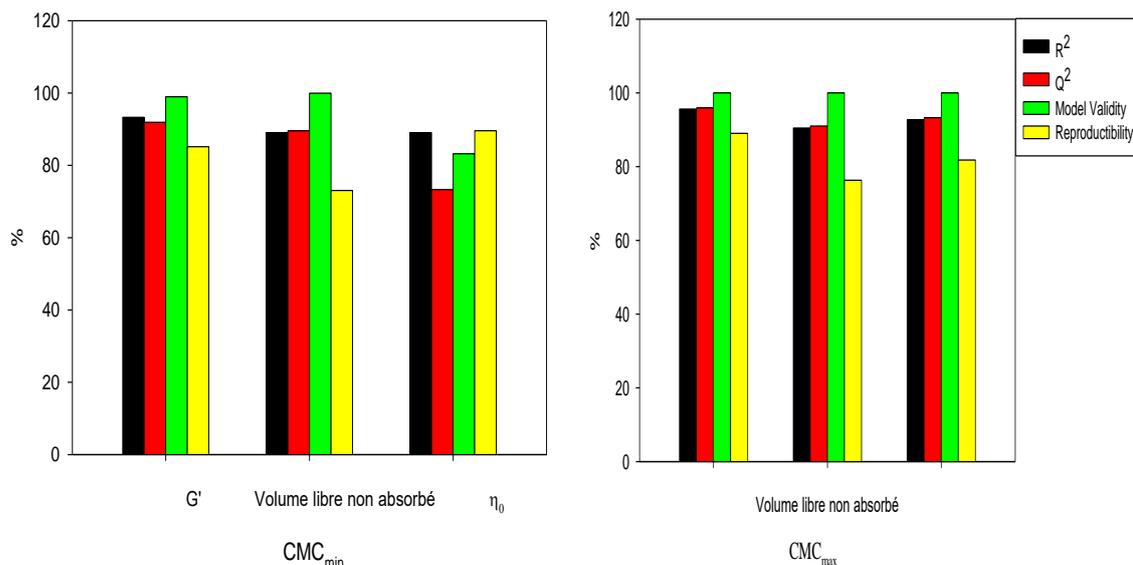


Figure 3.14: Histogramme illustrant les valeurs des indicateurs de qualité des quatre modèles MSR aux deux niveaux de CMC Na.

Les équations des trois modèles MSR associés aux trois réponses sont déterminées par la méthode MLR et écrites comme suit :

➤ Plan 1 (niveau minimal de CMC Na) :

$$\text{Log}\eta_0(X_1X_2) = 0,99 + 0,29X_1 + 0,076_2X_2 + 0,32X_1^2 - 0,17X_2^2 - 0,12X_1X_2 \quad (3.1)$$

$$\text{Log}G'(X_1X_2) = 5,08 - 0,91X_1 + 1,75X_2 - 0,033X_1^2 - 0,40X_2^2 + 32X_1X_2 \quad (3.2)$$

$$\frac{v}{v_{tot}}\%(X_1X_2) = 134,38 - 26,96X_1 - 9,8X_2 + 22,54X_1^2 - 9,95X_2^2 - 27,44X_1X_2 \quad (3.3)$$

➤ Plan 2 (niveau maximal de CMC Na) :

$$\text{Log}\eta_0(X_1X_2) = 1,61 + 0,56X_1 + 0,20_2X_2 + 0,41X_1^2 - 0,06X_2^2 - 0,12X_1X_2 \quad (3.4)$$

$$G'(X_1X_2) = 3,72 + 0,81X_1 - 1,20X_2 - 0,20X_1^2 - 0,57X_2^2 + 0,31X_1X_2 \quad (3.5)$$

$$\frac{v}{v_{tot}}\%(X_1X_2) = 136,21 - 39,43X_1 + 14,6X_2 + 22,41X_1^2 - 10,09X_2^2 + 26,9X_1X_2 \quad (3.6)$$

La signification du modèle quadratique choisis a été testée par ANOVA (tableau 3.5) qui a montré, par les tests de Fisher (F) qui est entre des valeurs de 17,22 et 44,46 pour les trois réponses. Les valeurs de P des trois réponses sont situées entre 0,0001 et 0,004 indiquant que le modèle est significatif et adapté à l'étude.

Tableau 3.5: Analyse de la variance des réponses MSR

Réponse	Degrés de liberté		Sommes des carrés		F		P		Ecart-type	
	CMC min (g/100mL)	CMCmax (g/100mL)	CMC min (g/100mL)	CMCmax (g/100mL)	CMCmin (g/100mL)	CMCmax (g/100mL)	CMCmin (g/100mL)	CMCmax (g/100mL)	CMCmin (g/100mL)	CMCmax (g/100mL)
LogI₀										
Regression	5	5	0,900	2,64	17,220	26,411	0,004	0,001	0,420	0,720
Résidus	5	5	0,052	0,10					0,102	0,141
Lack of fit	3	3	0,032	0,00	17,220	0,00059	0,511	1,000	0,104	0,005
V/V_{tot}%										
Regression	5	5	9276,060	14821,8	17,290	19,93	0,004	0,003	43,07	54,44
Résidus	5	5	536,217	743,33					10,35	12,19
Lack of fit	3	3	07,5501	005,32	0,009	0,00481	0,998	0,999	1,58	1,3
LogG'										
Regression	5	5	24,3349	14,260	28,750	44,4601	0,001	0,0001	2,20	1,680
Résidus	5	5	0,8460	0,3200					0,41	0,250
Lack of fit	3	3	0,0980	0,00085	0,088	0,0017	0,960	1,000	0,18	0,016

Afin d'appréhender l'évolution des réponses, on s'est proposé de représenter les surfaces iso-réponses en 3D (3D Plot) qui illustrent l'effet simultané des deux facteurs, à savoir l'alginate et le chitosane sur l'ensemble des réponses et cela pour les deux niveaux de la CMC Na. Les figures (3.15 a, b et c) sont associées à CMC Na_{min} et les figures (3.15 d, e et f) à CMC Na_{max}.

3.2.9. Etude des contours iso-réponses : η_0 , G' et V/V_{tot}

❖ Cas d'une concentration minimale de CMC Na (1 g/100 mL)

La figure 3.15.a associée à CMC Na_{min}, illustre les contours iso- η_0 en fonction des concentrations de CHI et d'AlgNa. Les valeurs de la viscosité variant dans l'intervalle 10 - 50 Pa.s a permis d'assurer la stabilité des suspensions contre la sédimentation des particules insolubles du chitosane. L'augmentation de la viscosité est conditionnée par l'augmentation d'AlgNa.

La figure 3.15.b montre les contours iso- $\log G'$ en fonction des concentrations du CHI et de l'AlgNa. Le module de conservation G' est représenté en échelle logarithmique, ses valeurs révèlent la puissance décimale du module (ex : si $G' \sim 10^5 Pa \Rightarrow \log G' \sim 5$). Le gel le plus rigide est obtenu pour une concentration la plus faible de AlgNa (1 g / 100 mL) et la plus grande pour CHI (2 g / 100 mL). La puissance décimale du module de conservation, associé à ce point est de 7. A l'inverse le gel le plus lâche est obtenu pour le couple (AlgNa_{max} (4 g / 100 mL), CHI_{min} (0,5 g / 100 mL)). La valeur de G' est dans la décade des dizaines.

Il est important de souligner que la qualité du gel, ne dépend pas seulement de sa force, mais également de la quantité relative du liquide libre non absorbée qui doit être minimale. Ces deux critères assureraient une texture meilleure du gel avec un volume pouvant occuper tout l'espace visé et souhaité dans l'estomac. Sur la figure 3.15.c sont représentés les contours iso-réponses de ce volume relatif du liquide non absorbé. Ses valeurs maximales, entre 45 et 55 %, sont enregistrées lorsque l'alginate est minimal (1 g / 100 mL).

❖ Cas d'une concentration maximale de CMC Na (4 g / 100 mL)

A l'image des contours iso- η_0 du cas de CMC Na minimale, ceux associés au cas d'une CMC Na maximale, figure 3.15.d, sont très semblables. Toutefois, les valeurs enregistrées de la viscosité sont dix fois plus grandes avec un ordre de grandeur dans la décade des centaines. Ceci était prévisible, car la quantité mise en jeu de la CMC Na est beaucoup plus importante. Le module de conservation des gels obtenus, suite à leur

formation par gélification in-situ, semble dépendre exclusivement de la quantité mise en jeu du chitosane, figure 3.15.e. Globalement, sa puissance décimale évolue de 1 à 5 lorsque le chitosane diminue de 2 g / 100 mL à 0,5 g / 100 mL. Ceci permet de déduire que ces gels sont moins forts, en comparaison aux gels du cas d'une CMC Na minimale et que leur module le plus grand n'est obtenu qu'avec une quantité minimale de chitosane, 0,5 g / 100 mL et une quantité maximale d'AlgNa. Pour mieux appréhender la qualité de ces gels, par rapport à la quantité du liquide libre non absorbée, la figure 3.15.f montre que celle-ci est maximale, aux alentours de 60 % lorsque l'alginate est minimal (1 g / 100 mL). Avec l'augmentation de ce biopolymère, il est observé que ce volume relatif baisse très fortement lorsque le chitosane est minimal pour atteindre des valeurs avoisinant les 25 %. Autrement-dit, la quantité du liquide emprisonnée dans le gel correspond à 75 % du volume total du liquide mis en jeu qui est de 300 mL. Les gels dans cette région présentent des modules les plus forts de l'ordre de 10^5 Pa, 10 et 100 fois plus rigides que les systèmes déjà établis dans la littérature (acide alginique et alginate /CaCO₃) pour lesquels a été observé une augmentation de la satiété, une diminution de l'apport énergétique, une atténuation du taux de cholestérol et des réponses glycémiques et insuliniques [58, 61].

Nous pouvons alors spéculer que nos gels pourraient présenter une qualité satisfaisante par rapport à l'objectif d'avoir une sensation de rassasiement par effet de stimulation des mécanorécepteurs et distension gastrique conduisant à la diminution ou l'inhibition de la prise alimentaire pendant ou entre les repas.

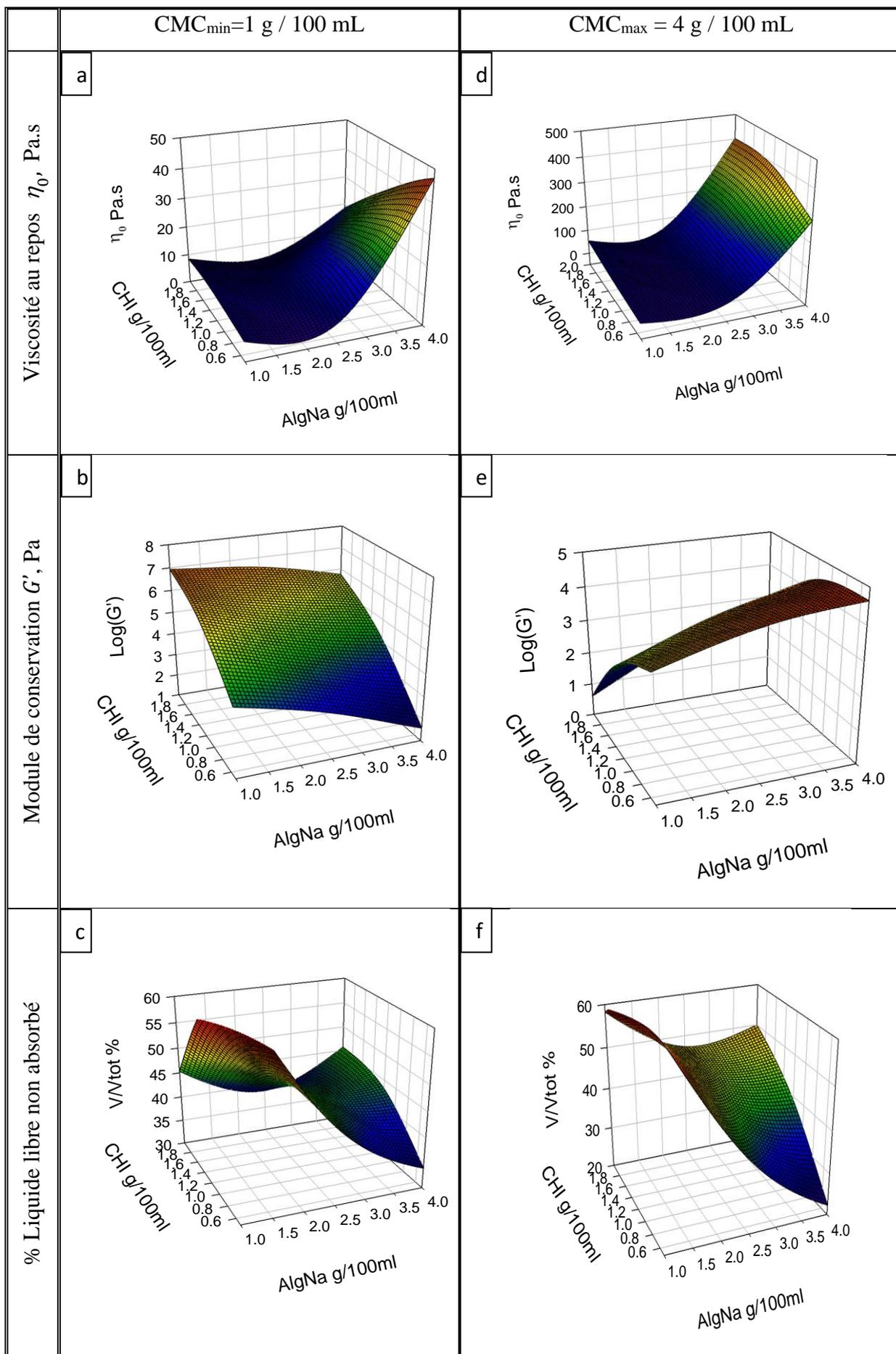


Figure 3.15: Courbes iso-réponse 3D en fonction de la variation simultanée de l'AlgNa et du CHI de : (a) à la viscosité au repos à CMC Na bas et (b) à CMC Na haut (c) module de conservation G' à bas CMC Na et (d) à haut CMC Na (e) % du volume liquide libre non absorbé à CMC Na bas et (f) à haut CMC Na.

3.2.10. Pureté microbiologique

Les résultats de caractérisation microbiologique présentés dans le tableau 3.6 montre que la formulation 2 est conforme. Tandis que la formulation 1 présente une prolifération bactérienne après 90 jours dans les conditions normales et accélérées.

L'activité antimicrobienne du chitosane dépend de plusieurs facteurs [158], cette activité est confirmée avec un chitosane de PM supérieur ou égal à 190 kDa et un DDA supérieur ou égal à 85 % [159, 160]. Les études ont montré que le chitosane à une concentration de 0,5 % possède une activité antimicrobienne [159].

Ces résultats sont peut-être dus à la présence du chitosane non ionique à l'état particulaire dans la suspension, ce qui ne permet pas une disponibilité des groupements amines. Ce résultat est confirmé par des études similaires [161] où les auteurs ont trouvé une meilleure activité lorsque le pH était inférieur au pKa du chitosane, contrairement à un pH= 7,5. A cet effet, le chitosane ne peut pas remplacer un agent de conservation et on opte pour le sorbate de potassium.

Tableau 3.6 : Résultats de l'analyse microbienne des formulations préparées.

	Conditions réelles				Conditions accélérées				Norme (UFC /mL) [142]
	Formule 1		Formule 2		Formule 1		Formule 2		
	J0	J90	J0	J90	J0	J90	J0	J90	
<i>DGAT</i>	< 0,1	< 01	< 01	< 01	< 0,1	190	< 01	< 01	200
<i>DLMT</i>	< 0,1	27	< 01	< 01	< 0,1	205	< 01	< 01	20
<i>E.Coli</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>S.aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>P.aeruginosa</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

*Abs : absence de microorganismes ; Les écritures en gras signifient des valeurs hors normes

3.2.11. Effet de la suspension sur la consommation alimentaire des rats

Le but étant d'estimer l'effet de l'administration de la suspension reconstituée sur la consommation alimentaire des rats sur une période de dix jours. Les formulations concernées par ce test sont E1 et E2 en comparaison à un groupe de rats témoins.

Les résultats des quantités de nourriture moyenne restante par chaque lot de rats pendant 10 jours sont regroupés dans le tableau 3.7.

Il est noté que la consommation alimentaire des groupes traités par les suspensions E1 et E2 est clairement inférieure à celle du groupe témoin. Avec un effet plus prononcé de la formule E2, au fait la consommation alimentaire du groupe traité par cette suspension représente $39,27 \pm 13,4$ % de la consommation du groupe témoin autrement dit, pendant 10 jours le groupe E2 consomme moins de 60,73 % de la portion prise par le groupe témoin.

Tableau 3.7 : Ration alimentaire journalière consommée par lots de rats

	Ration alimentaire restante(g)	Consommation par rapport à la quantité initiale (%)	Consommation par rapport au témoin (%)
E1	99,38 ± 27,73	50,31 ± 13,86	69,16 ± 22,01
E2	137,79 ± 16,98	31,21 ± 8,49	39,27 ± 13,4
Témoin	50,64 ± 14,56	74,68 ± 7,28	100

Sur la figure 3.16 est illustré le suivi quotidien de la consommation horaire pendant 24 heures (dans une période de 10 jours). Les résultats révèlent que la quantité de nourriture reste quasiment intacte 4 heures après administration de la suspension E2, la suspension E1 montre une diminution après 3 heures.

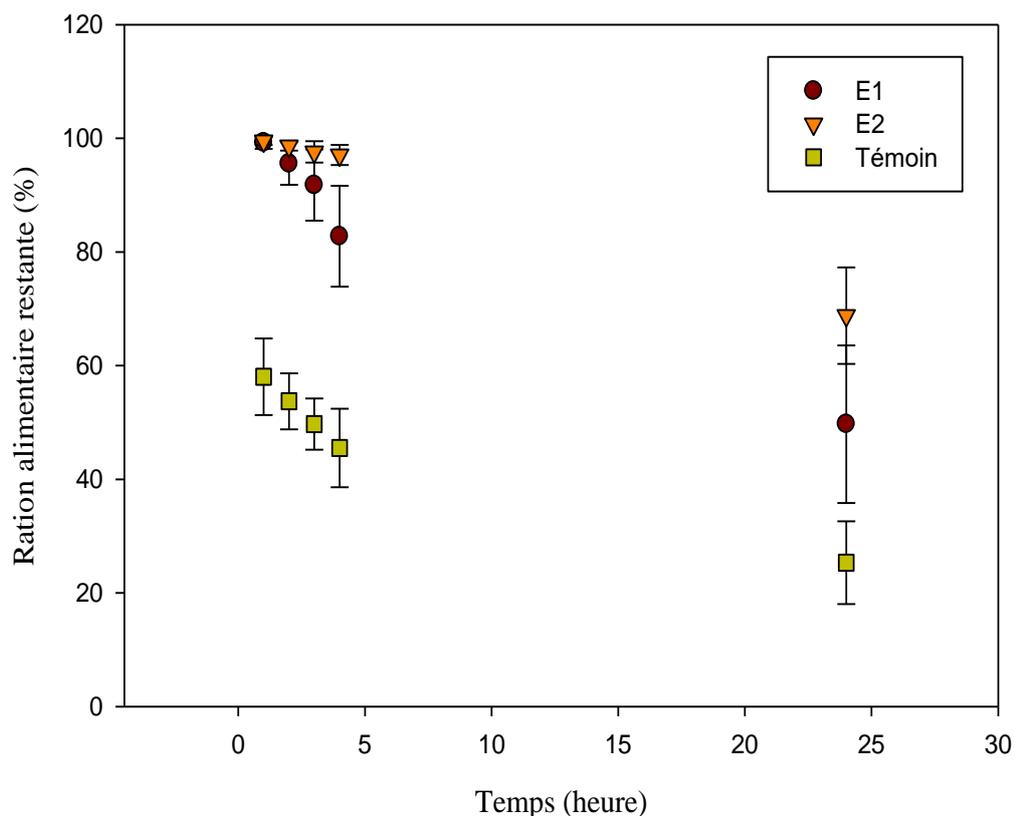


Figure 3.16 : Consommation alimentaire par lot de rats après 1, 2,3,4 et 24 heures de prise de 1,5mL de la suspension d'AlgNa /CHI.

3.2.12. Effet de la suspension AlgNa/CHI sur le gain pondéral des rats

Le but de cette partie était d'évaluer l'effet de la prise des suspensions reconstituée d'AlgNa / CHI E1 et E2 sur le poids des rats pendant cinq semaines.

On remarque sur la figure 3.17 que la prise des deux suspensions reconstituées de concentration E1 et E2 influe sur le gain pondéral des rats par rapport au lot témoin.

L'histogramme montre qu'au bout de cinq semaines le groupe témoin gagne $24,39 \% \pm 5,85$ de son poids initial et les groupes traités par les suspensions E1 et E2 $10,07 \pm 2,43$ et $8,63 \% \pm 2,01$. Autrement dit les groupes traités par les suspensions E1 et E2 gagnent moyennement moins de 58,7 % et 64,67 %, respectivement, du poids pris par le groupe témoin.

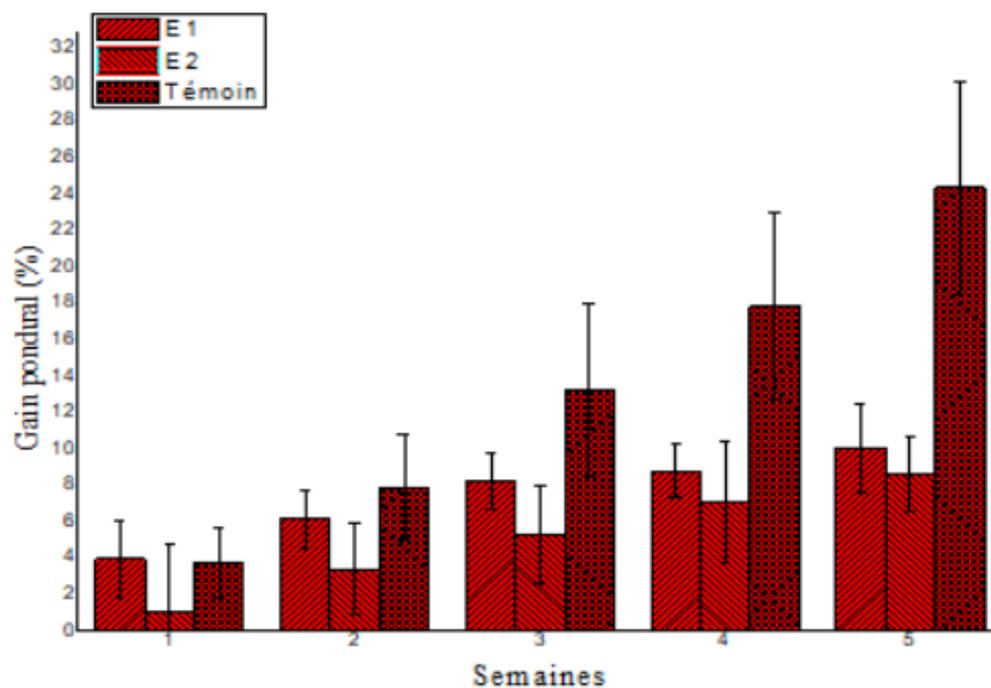


Figure 3.17 : Effet de la suspension reconstituée AlgNa/CHI E1 et E2 sur le gain pondéral par lots de rats.

✓ **Visualisation du gel *in vivo***

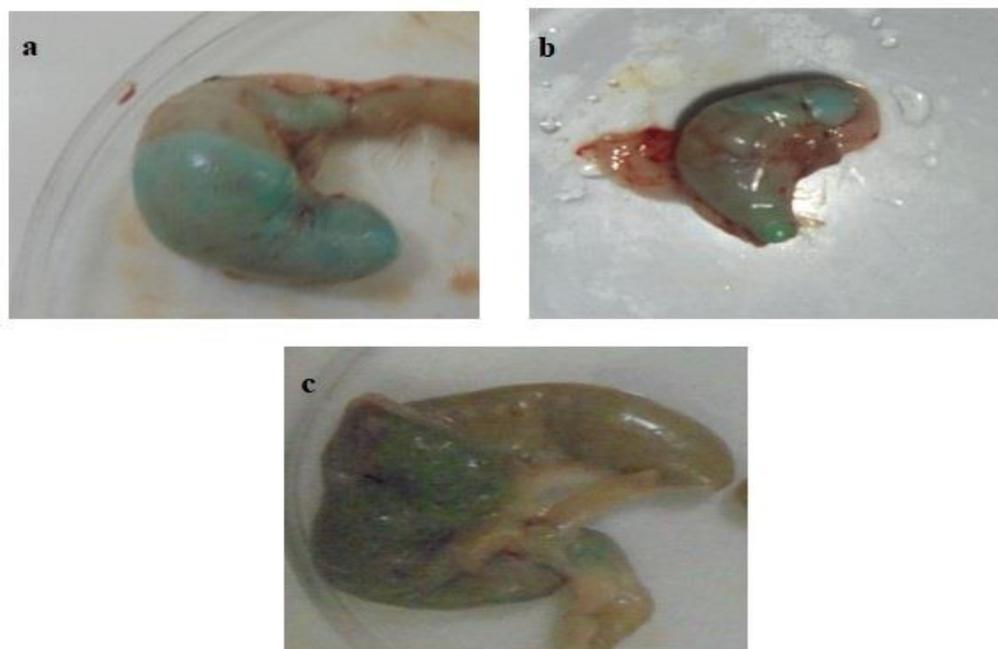


Figure 3.18 : Visualisation du gel dans l'estomac après : (a) 30 minutes, (b) 1 heure, (c) 3heures après prise de 1,5 mL de suspension E2.

On peut apprécier sur la figure 3.18 que le gel remplit pleinement l'estomac des rats, la figure 3.19 montre qu'après 30 minutes 99,93 % du poids du gel théorique se trouve à l'estomac, cette quantité diminue avec le temps jusqu'à atteindre 75,82 % après 3 heures.

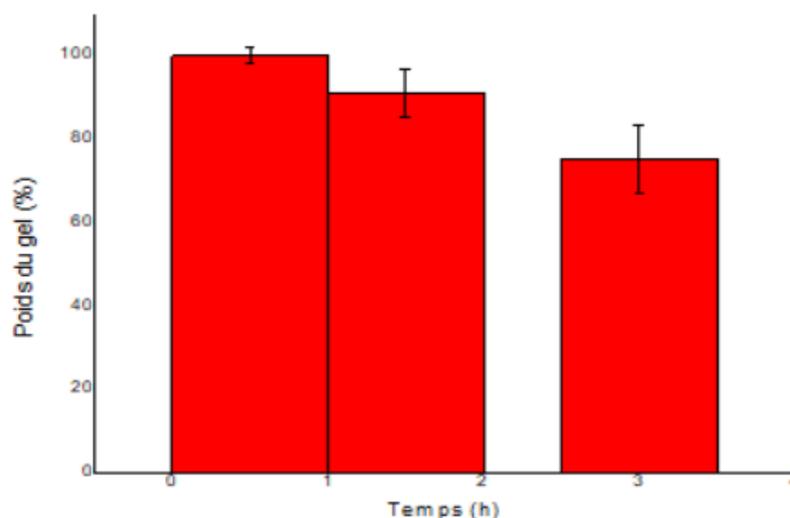


Figure 3.19 : Pourcentage restant du gel après 30 minutes ; 1 heure et 3 heures d'administration de 1,5 mL de suspension E2.

3.3. Système (Alginate de sodium / Guar cationique)

3.3.1. Études préliminaires

3.3.1.1. Thixotropie de la gomme guar cationique

Ce test avait pour but d'appréhender le comportement rhéologique de la guar et son temps de récupération et donc sa thixotropie à 2 %. Nous avons choisi cette concentration où nous savons que la guar native (non ionique) est thixotrope[34] mais aucune information concernant la gomme guar cationique (GGC) n'est donnée dans la littérature. L'analyse a été faite après avoir déposé l'échantillon pendant 18 heures sur le système de mesure pour s'assurer de l'état du repos total de la gomme et avoir les informations exactes sur le temps de récupération de la GGC.

Sur la figure 3.20 on remarque que dans la première région où nous avons simulé l'état quasi-repos de la solution de polymère, en appliquant une vitesse de cisaillement égale à $10^{-3} s^{-1}$ pendant une durée de 180 s que la viscosité de la gomme guar augmente et récupère progressivement sa structure.

Suite à quoi, la solution de la guar cationique est sollicitée par un cisaillement très fort égal à $100 s^{-1}$, simulant par exemple son agitation dans la cuve ou son transfert par

pompage. La durée de cette deuxième phase d'excitation est de 180 s. Il est remarqué que la viscosité de la gomme guar cationique chute progressivement ce qui traduit une certaine résistance à l'écoulement.

Dans la dernière étape, on revient à la situation de quasi-repos, en réappliquant un très faible cisaillement égal à $10^{-3} s^{-1}$ sur une durée plus longue (dix minutes) pour apprécier éventuellement sa cinétique de restructuration. A ce stade, il apparaît clairement que la gomme récupère très rapidement sa viscosité, après sa remise dans une situation de quasi-repos.

On déduit alors que ce produit nécessite des précautions à prendre pour la mesure de sa viscosité, après fabrication ou suite à une sollicitation mécanique antérieure (transfert, agitation, ré-analyse, ...).

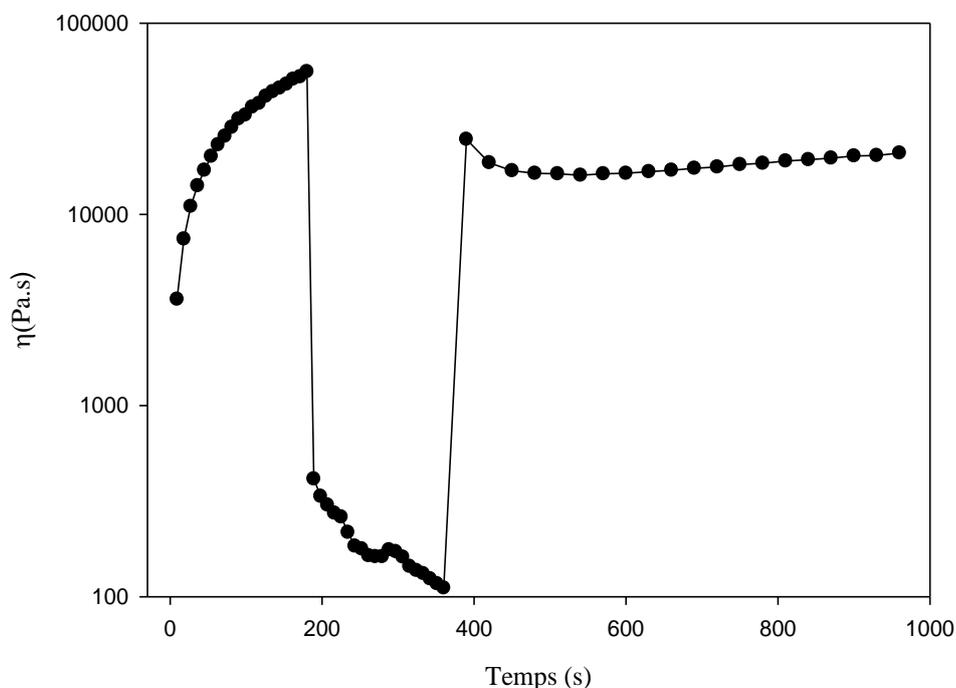


Figure 3.20 : Variation de la viscosité apparente de la GGC en fonction du temps, $C = 2 \text{ g} / 100 \text{ mL}$, $T = 20^\circ\text{C}$.

3.3.1.2. Comportement des matières premières (AlgNa, GGC) aux différents pH

❖ Alginate de Na

Sur les courbes d'écoulement présentées sur la figure 3.21, on peut observer qu'aux pH supérieurs à 3 les solutions d'AlgNa possèdent un comportement newtonien, ces courbes sont superposables et la variation de pH dans ce domaine n'influence donc pas le comportement rhéologique et la viscosité de l'AlgNa. Tandis qu'aux $\text{pH} \leq 3$, les

solutions de AlgNa changent de comportement et présentent une étroite région newtonienne suivi d'un comportement rhéofluidifiant aux moyens cisaillements avec un rehaussement remarquable des viscosités finales, ce qui traduit une certaine résistance des agrégats à l'écoulement aux forts cisaillements.

Les valeurs des viscosités au repos dans cette gamme de pH ($\text{pH} \leq 3$) subissent un changement drastique. Rappelons qu'on se situe dans le domaine de pH inférieur au pKa des groupement mannuronique et guluronique de l'alginate de sodium et ces valeurs de viscosités augmentent avec la diminution du pH ; ceci est dû à une agrégation par repliement des macromolécules sur elles-mêmes. Suite à quoi nous avons remarqué une diminution de la quantité de liquide initialement présente dans la solution. Ce processus d'agrégation est donc accompagné par un emprisonnement d'eau au sein des macromolécules repliées.

Dans l'esprit de l'application du système comme médication anti-obésité à action coupe-faim, ce phénomène d'agrégation est donc souhaité. C'est pourquoi nous optons pour des conditions favorisant l'agrégation avec emprisonnement d'eau dans la suite de cette partie de ce travail.

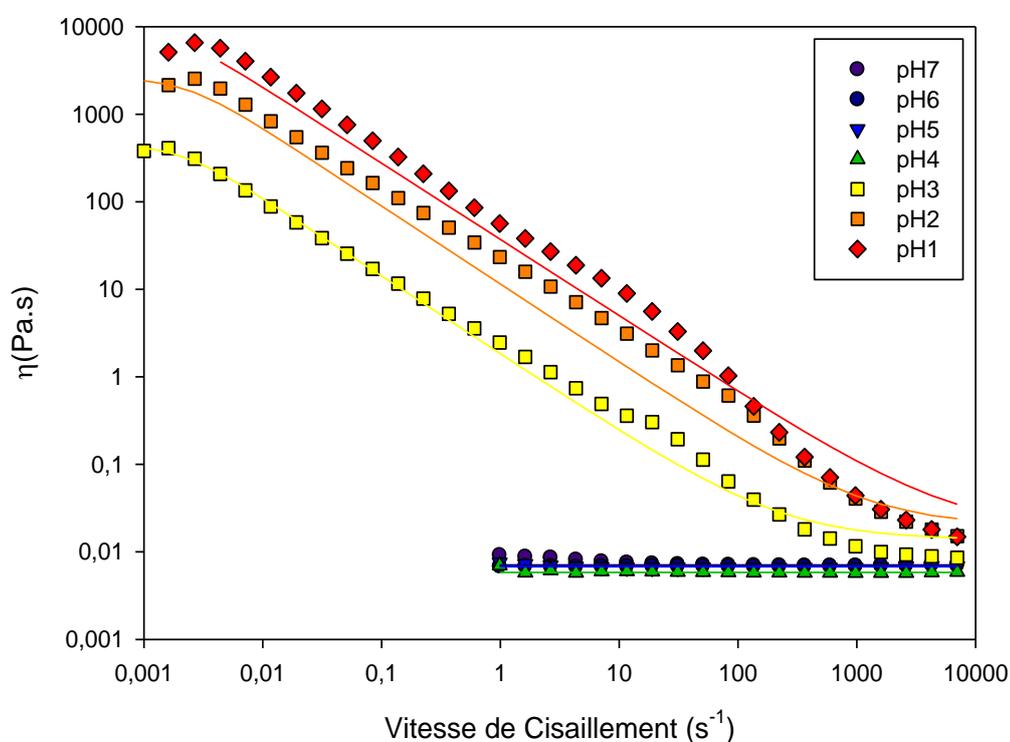


Figure 3.21 : Courbes d'écoulement de l'AlgNa à 2 g / 100 mL ajustées avec le modèle de Carreau et de Newton, à différent pH, $T = 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

❖ Gomme guar cationique

On voit clairement sur la figure 3.22 représentant les courbes d'écoulement des solutions de GGC que celles-ci exhibent un plateau newtonien au faible cisaillement suivi d'un comportement rhéofluidifiant aux pH 7 et 6. En diminuant le pH, à partir de 5, on remarque que la viscosité au repos tend vers l'infini, donc, en offrant à la guar plus de sites cationiques, les macromolécules de celle-ci se déploient à cause de la répulsion électrostatique entre les groupements cationiques. Les études de Kaur [138] ont révélé une augmentation du potentiel zêta de la GGC lorsqu'on passe à des valeurs de pH en dessous de 6,5 et la GGC se trouve dans un état hautement protoné, ces auteurs ont également suggéré une valeur de pKa de GGC entre 6 et 7.

Nous constatons alors qu'aux pH en dessous du pKa, les solutions de GGC ont acquis une contrainte seuil. C'est ce qui offre aux solutions une viscosité plus grande aux faibles pH et nous laisse suggérer que la protonation a contribué à former un réseau plus renforcé qui subit une déstructuration brutale au moyen de cisaillement, donnant à la GGC des viscosités plus faibles lors du comportement rhéofluidifiant.

Contrairement à l'alginate, le changement de pH n'influence pas les viscosités finales des solutions de GGC (figure 3.22).

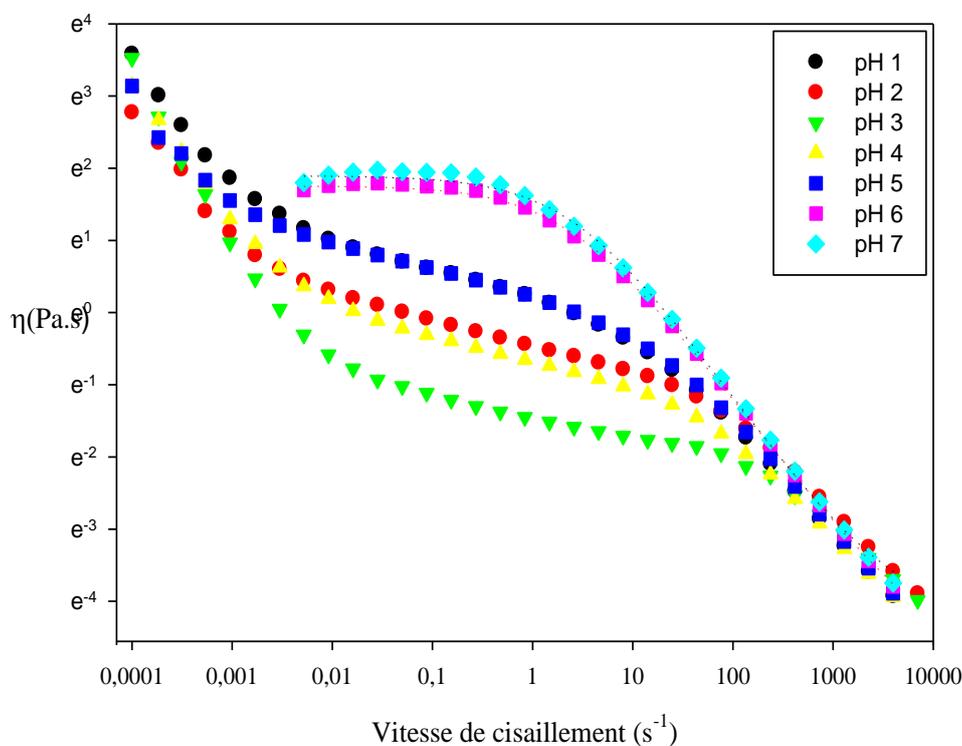


Figure 3.22: Courbes d'écoulement de la guar cationique aux différents pH, ajustées avec le modèle de Carreau (pH 6 et 7), $T = 20\text{ °C}$.

3.3.1.3. Influence de la méthode d'incorporation des polymères

La figure 3.23 illustre l'évolution de la turbidité du surnageant en fonction du rapport de mélange des polymères. Les mélanges d'AlgNa et de GGC étaient turbides. Après centrifugation du mélange de solutions, nous avons obtenu des surnageants plus ou moins limpides. Si l'interaction entre les deux polymères est plus importante, la turbidité diminue et la transmittance de la solution augmente.

Les valeurs de la turbidité les plus importantes ont été observées sur le surnageant obtenu à partir du procédé 3 et cela dans les formulations où la concentration en AlgNa est la plus importante. Cela est dû à la présence de particules de GGC qui n'ont pas eu la chance de se dissoudre et de s'hydrater, à cause de la viscosité de l'alginate de sodium.

La diminution observée pour la formulation où le rapport AlgNa : GGC est de 40 :60 (R5) est due à la chute de la viscosité du milieu, suite à la diminution appréciable en concentration d'AlgNa qui a donné plus de volume libre en eau permettant aux particules de GGC de se solubiliser et de s'interagir avec celles de l'AlgNa.

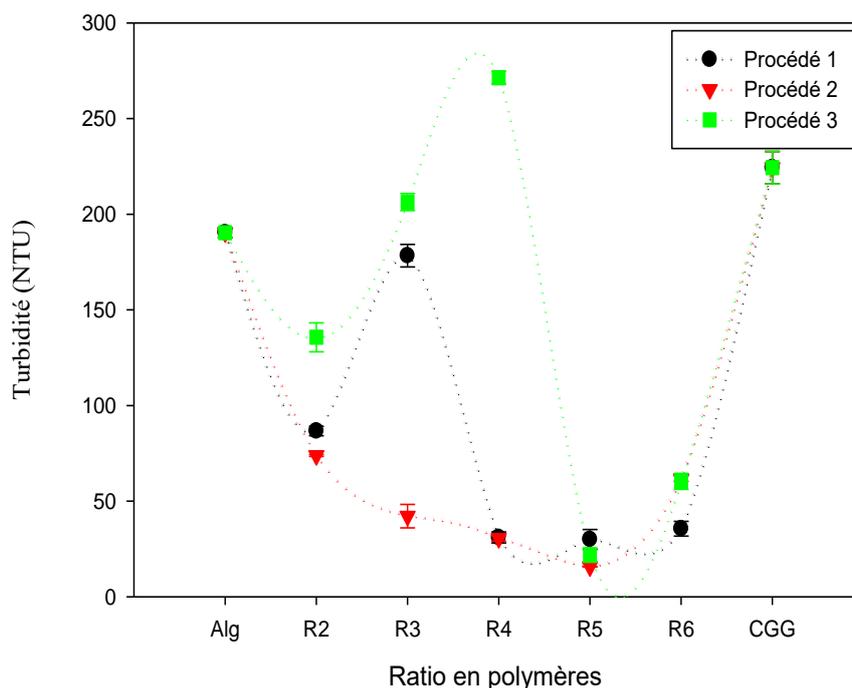


Figure 3.23 : Variation de la turbidité en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC, C = 1 g / 100 mL, T = 20 °C.

Le mélange AlgNa-GGC est réalisé dans des conditions de pH dans lequel les deux polymères se trouvent à l'état ionique de charges opposées conduisant à la formation

d'un complexe polyélectrolytique par attraction électrostatique entre ces derniers et suite à quoi une séparation nette de la phase a été observée.

Dans l'esprit de l'élaboration d'une préparation sous forme de gelée résultant d'interaction AlgNa-GGC à administration orale, l'obtention de formules avec le minimum de liquide surnageant est souhaitable. La figure 3.24, montre la variation de la masse surnageante relative à des préparations pour les trois procédés. Il a été remarqué que cette masse surnageante est conditionnée par le procédé entrepris et par la concentration totale en polymères ainsi que le ratio AlgNa : GGC. Il est clairement illustré que celle-ci est la plus importante aux formules : R4, R5 et R6 pour tous les procédés et atteint son maximum dans le procédé 3. Les valeurs les moins importantes sont enregistrées dans le cas du procédé 2.

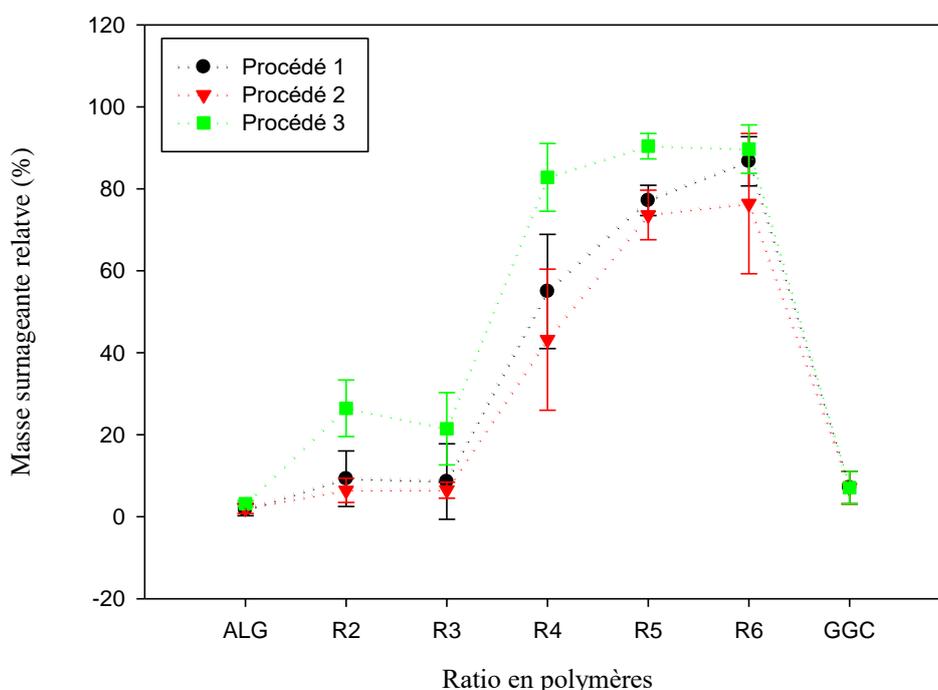


Figure 3.24 : Variation de la masse surnageante relative en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC pour les trois procédés, $C = 1 \text{ g} / 100\text{mL}$, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$.

La figure 3.25 représente la variation des valeurs du module de conservation (G') en fonction du ratio AlgNa : GGC pour les trois procédés. On remarque nettement que ce module augmente avec l'augmentation de la quantité de GGC mise en jeu et semble insensible au procédé utilisé.

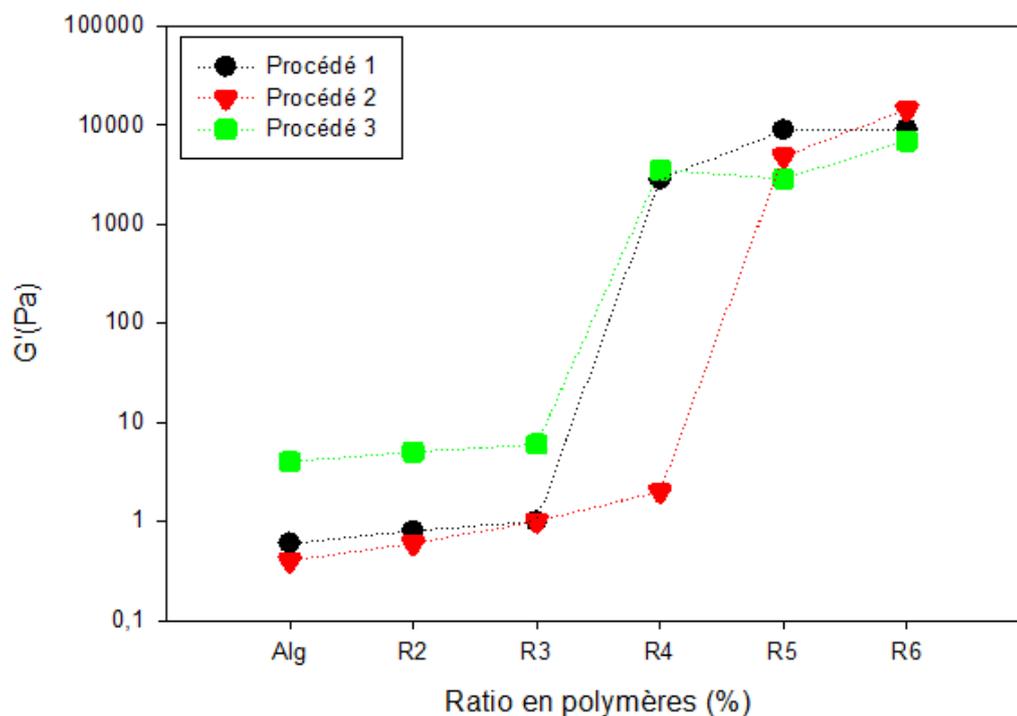


Figure 3.25 : Variation du module de conservation G' du culot obtenu en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC, $C = 1 \text{ g} / 100 \text{ mL}$, $T = 20^\circ\text{C}$.

La détermination de la viscosité du surnageant obtenu après centrifugation du mélange des deux polymères est d'une grande importance pour déterminer l'interaction entre les deux polymères[137, 138]. Nous avons choisi de représenter, sur la figure 3.26 les résultats sous forme de graphique exprimant le rapport : viscosité surnageante (η_s)/viscosité du mélange (η_m) qui permet d'évaluer l'importance de l'interaction. Les valeurs de ce rapport diminuent avec l'augmentation de la concentration en guar et on enregistre les valeurs les plus importantes avec le procédé 3 et les plus faibles dans le cas du procédé 2.

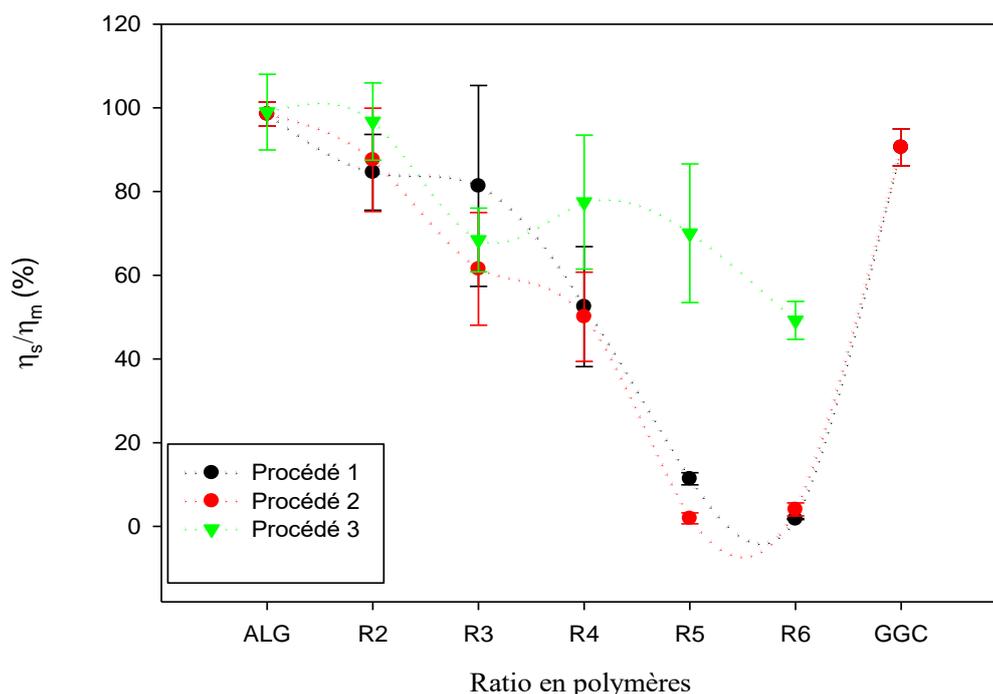


Figure 3.26 : Variation du rapport (η_s/η_m) en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC pour les différents procédés utilisés $C = 1 \text{ g} / 100 \text{ mL}$, $T = 20^\circ\text{C}$.

3.3.1.4. Influence de la température

Afin d'appréhender l'effet de la température sur le comportement des polymères à différents ratios, nous avons réalisé une expérience mesurant les modules viscoélastiques des polymères à différents ratio en rampe de température croissante et décroissante. La figure 3.27 indique les valeurs de G' dans un rampe de température croissante rapide de $5^\circ\text{C} / \text{min}$ dans la plage $20^\circ\text{C} - 70^\circ\text{C}$ suivi d'une rampe lente de 50°C à 70°C et enfin une rampe décroissante de 70°C à -5°C . Les résultats montrent que la GGC exhibe une sensibilité à la température qui fait augmenter son module de conservation mais qui est insensible au refroidissement. Cela indique que la GGC subit un changement conformationnel irréversible lors du chauffage. À noter que la GGC à 70°C devient très consistante et collante. Contrairement à la GGC, l'alginate ne montre aucun changement de son comportement lors du chauffage et du refroidissement et, au passage de 20 à -5°C , on remarque un léger rehaussement du module de conservation. Les mélanges (AlgNa : GGC) exhibent le même comportement que l'alginate lors du chauffage et du refroidissement dans la plage $20 - 70^\circ\text{C}$ et leurs modules restent toujours

constants dans la plage 20 °C (-5) °C. Ainsi, la présence de guar n'influence pas leur conformation pendant le chauffage ou le refroidissement du mélange.

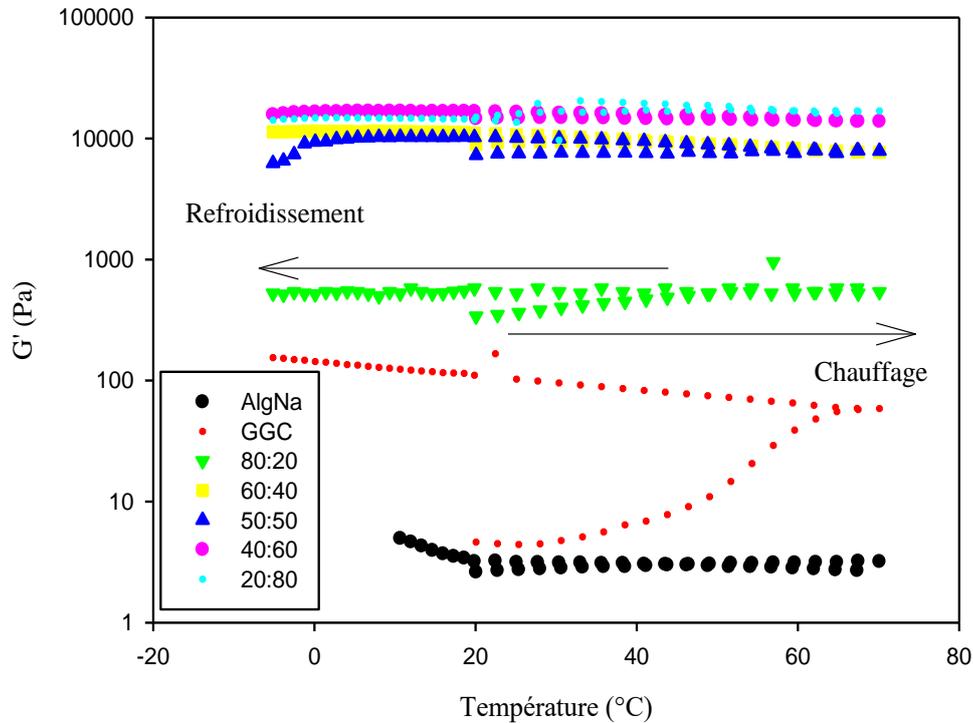


Figure 3.27: Variation du module de conservation (G') en fonction de l'accroissement et le décroissement de la température pour les différents rapports de mélange

AlgNa : GGC $C_{\text{tot}} = 1 \text{ g} / 100 \text{ mL}$.

Les valeurs de la turbidité en fonction des ratios de polymères utilisés, aux deux températures exprimées dans la figure 3.28, ne montrent pas une différence significative. À noter que ces mesures viennent suite aux résultats rhéologiques réalisés en rampe de température.

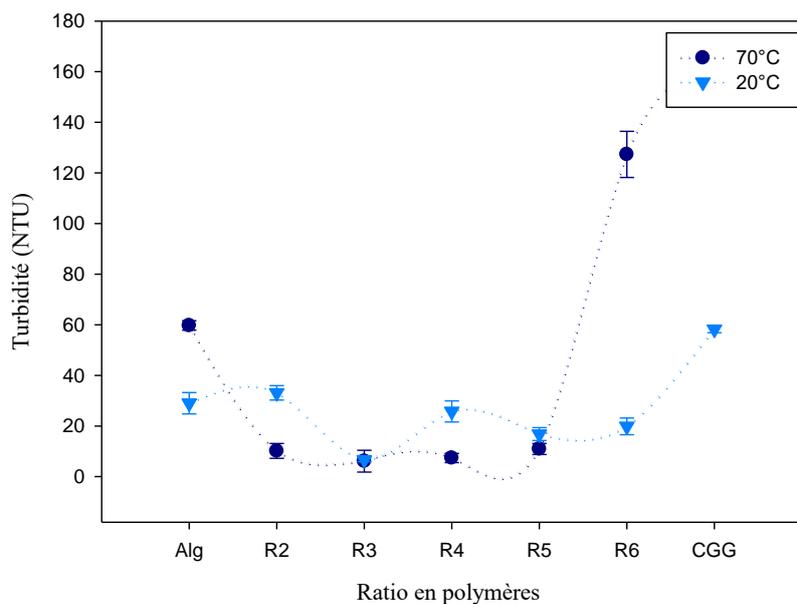


Figure 3.28 : Variation de la turbidité en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC à $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C = 1\text{ g} / 100\text{ mL}$.

La variation du rapport des viscosités (η_s/η_m) en fonction du ratio AlgNa/GGC (figure 30.29) ne semble pas présenter une différence significative entre 20 et 70 °C.

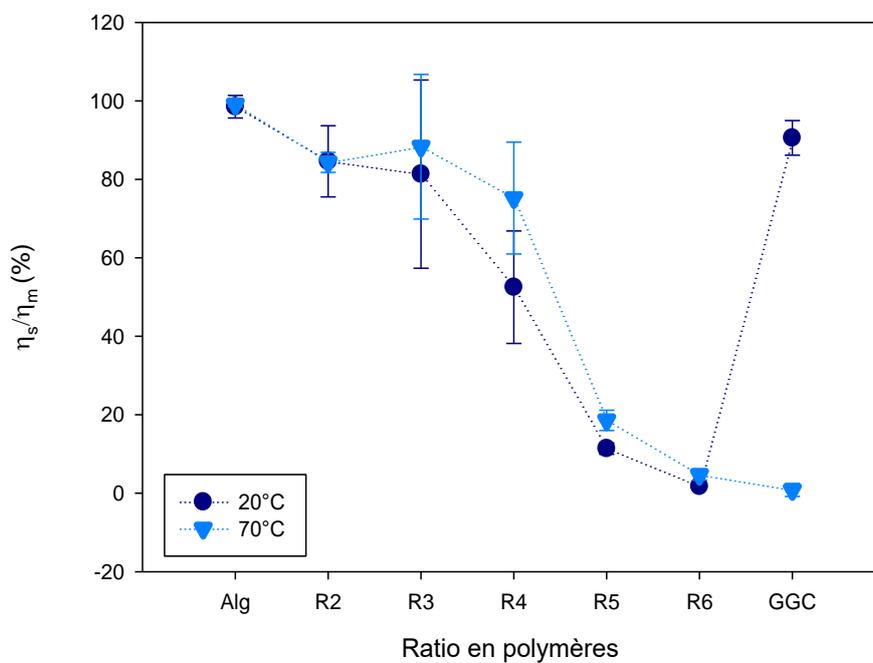


Figure 3.29 : Variation du rapport (η_s/η_m) en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC à $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $T = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $C = 1\text{ g} / 100\text{ mL}$.

En revanche, sur la figure 3.30, on remarque que les mesures de la masse surnageante des mélanges réalisés à $T = 70\text{ °C}$ sont supérieures à ceux réalisés à 20 °C .

À la lumière de ces résultats, on opte pour une $T = 20\text{ °C}$ pour la suite de ce travail.

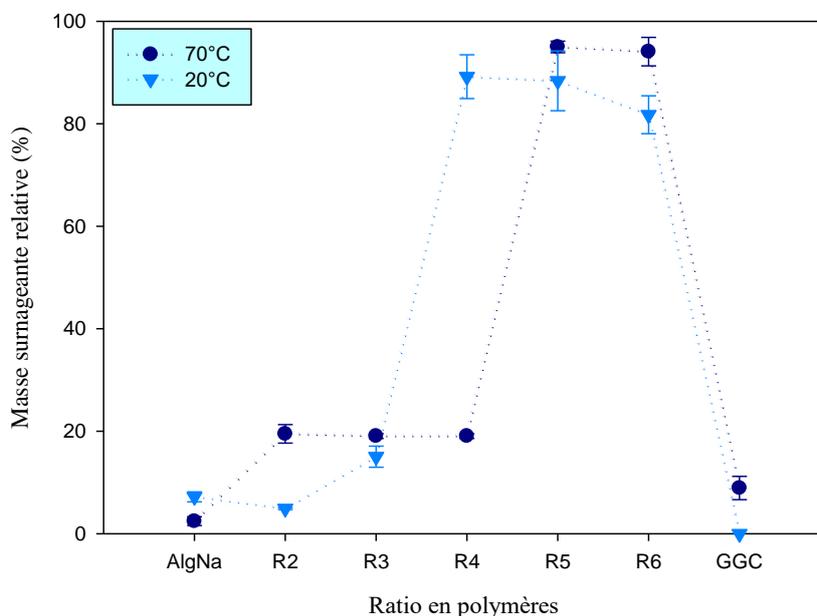


Figure 3.30 : Evolution de la masse surnageante relative en fonction du rapport de mélange AlgNa : GGC à $T = 20\text{ °C}$ et $T = 70\text{ °C}$, $C = 1\text{ g} / 100\text{ mL}$.

3.3.2. Effet de la concentration totale en polymère sur le système AlgNa-GGC

3.3.2.1. Caractérisation rhéologique des gelées préparées

La figure 3.31 montre que la viscosité au repos dépend de la concentration totale en polymères et aussi du rapport AlgNa : GGC. Il est clairement remarqué que la viscosité est la plus faible quand il s'agit du ratio AlgNa : GGC (100 : 00) et se voit se multiplier par 100 au ratio AlgNa : GGC (20 : 80) c'est à dire quand la guar est majoritaire. Après ce ratio, où il s'agit de AlgNa : GGC (0 : 100), la viscosité se voit chuter d'une décade. L'association de l'alginate de sodium et de la gomme guar cationique génère un effet synergique spectaculaire sur la viscosité au repos des gelées qui va dans le sens de la gomme guar et augmente avec l'augmentation de la concentration totale en polymères.

A noter que l'augmentation de la viscosité est accompagnée par un volume d'eau surnageant très faible.

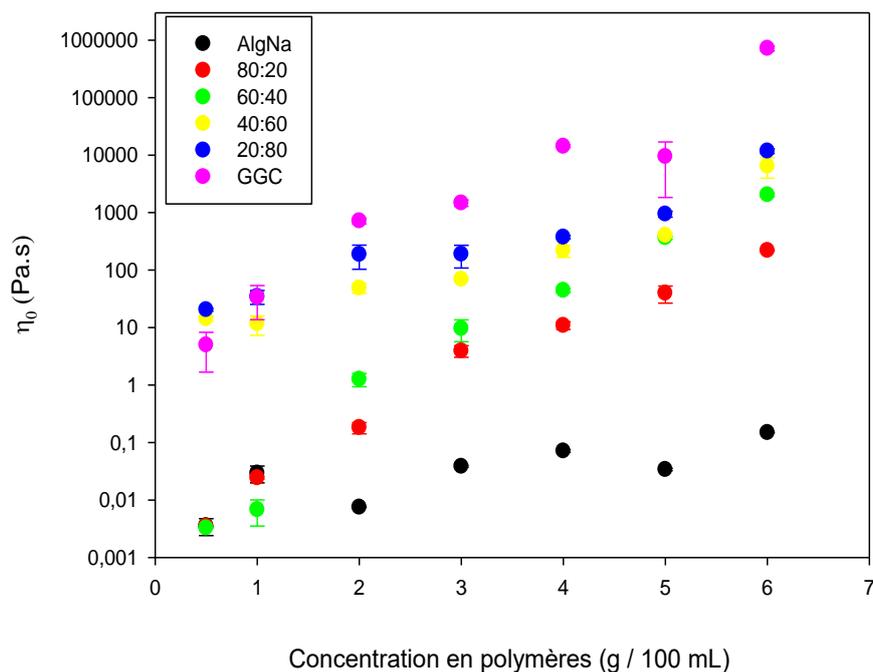


Figure 3.31: Variation des viscosités au repos des gelées en fonction de la variation du ratio en polymère AlgNa : GGC à différentes concentrations totales en polymères, $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

L'association des deux polymères a également un effet observable sur les viscosités finales des gelées préparées qui dépend de la concentration aussi bien du ratio en polymères (figure 3.32), sans pour autant atteindre des viscosités trop élevées qui pourraient causer des problèmes lors de l'application de très forts cisaillements (pendant le mélange par exemple).

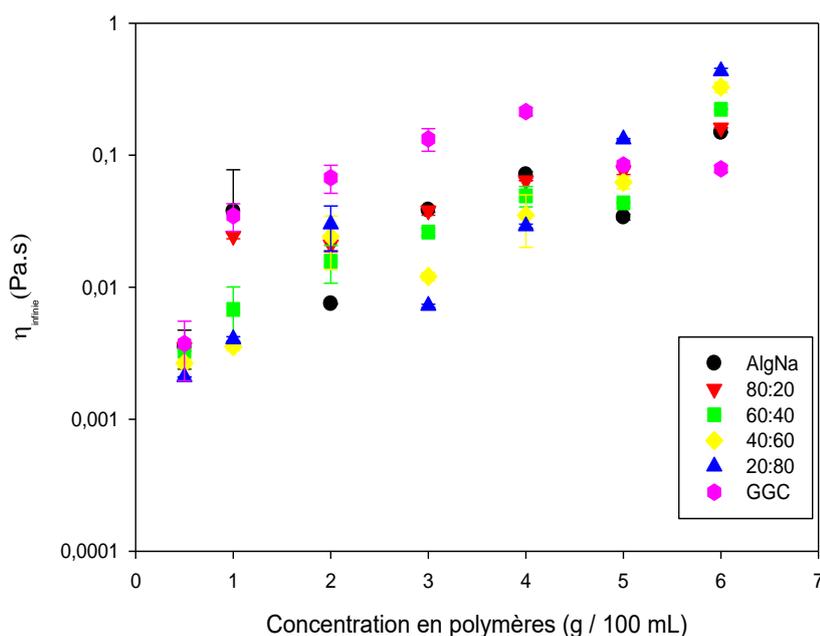


Figure 3.32: Variation des viscosités finales des gelées en fonction de la concentration totale en polymères à différents rapports de mélange AlgNa : GGC, $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La viscoélasticité des gels a été évaluée en suivant le module de conservation (élastique) (G'), le module visqueux (de perte) (G'') et la tangente de perte ($\tan\delta$). Le module élastique est connu pour être étroitement liée à la connectivité du réseau polymérique et quantitativement, est proportionnelle au nombre d'entités pouvant résister aux contraintes, c'est-à-dire des chaînes de réseau élastiquement actives. La tangente de perte représente le rapport entre les modules de perte et de stockage et est un autre bon indicateur de la viscoélasticité globale de l'échantillon [162]. Des valeurs de $\tan\delta$ inférieures à 1 indiquent la dominance des propriétés élastiques dans l'échantillon, c'est-à-dire des enchevêtrements de particules élevés [163].

On voit, sur la figure 3.33 où sont présentées les valeurs du module de conservation en fonction de la concentration en polymère, que la préparation avec un ratio AlgNa : GGC (100 : 00) présentent les valeurs les plus faibles. Les valeurs de $\tan\delta$ enregistrées dans la région linéaire viscoélastique (LVE), attribuées à ces préparations (tableau 3.8) sont supérieures à 1 ce qui est synonyme d'un comportement liquide viscoélastique, sauf pour les concentrations totales en polymères 1 et 2. Ce comportement liquide viscoélastique se voit inversé dès qu'on passe d'un ratio AlgNa : GGC (100 : 00) à un ratio AlgNa : GGC (80 : 20).

Au-delà du ration AlgNa : GGC (80 : 20), toutes les gelées exhibent un comportement solide viscoélastique et les valeurs de $\tan\delta$ se voient fluctuer entre 0,11 et 0,6. À partir de $C_{\text{tot}} = 3 \text{ g/mL}$ les rapports AlgNa : GGC (0 : 100) possèdent un comportement similaire à celui de l'AlgNa.

A noter, également, que la variation de G' dans la région LVE, en fonction du ratio en polymère, est négligeable, sachant que pour un changement appréciable dans la structure du gel le module de conservation G' se voit multiplié par 10 ce qui n'est pas le cas. Par contre, la variation de ce module change appréciablement lorsqu'on passe d'une concentration totale en polymère à une valeur plus grande (figure 3.33).

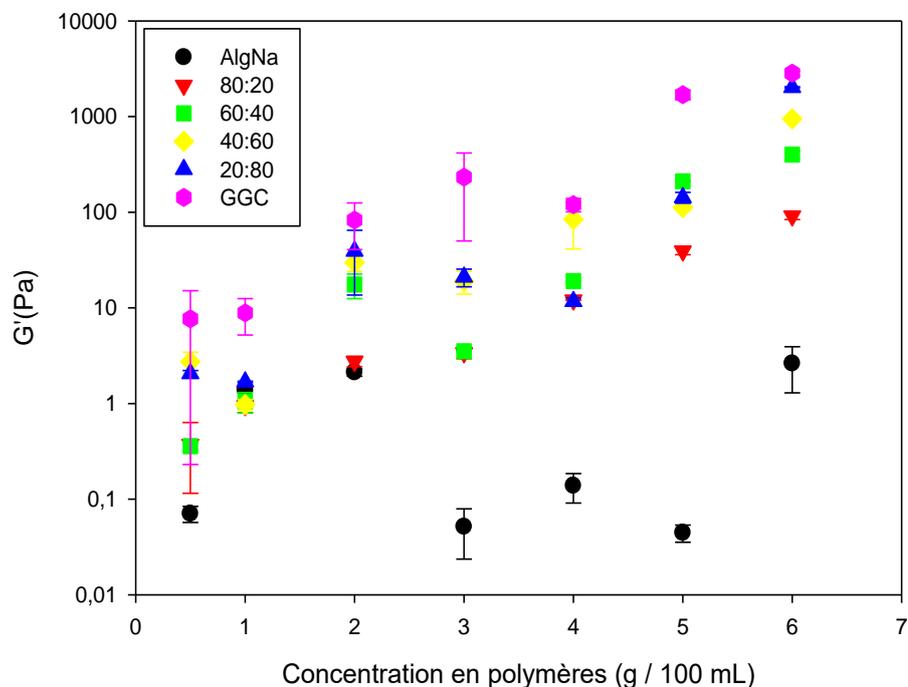


Figure 3.33: Variation des modules de conservation (G') des gelées en fonction de la concentration totale en polymères à différents rapports de mélange AlgNa : GGC, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tableau 3.8 : Variation de $\tan\delta$ des gelées en fonction de la variation du ratio en polymère AlgNa/GGC à différentes concentrations totales en polymère, $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Rapport de mélange (AlgNa : GGC)						
[C_{tot}] %	AlgNa	(80 : 20)	(60 : 40)	(40 : 60)	(20 : 80)	GGC
0,5	2,84±2,53	0,31±0,10	0,26±0,01	0,1±0,02	0,17±4e-4	1,33±0,2
1	0,42±0,09	0,27±0,01	0,25±0,06	0,23±0,05	0,19±0,02	1,02±0,08
2	0,38±0,01	0,57±0,08	0,30±0,08	0,25±0,06	0,24±0,06	0,61±0,12
3	9,36±5,21	1,37±0,11	0,83±0,02	0,27±0,01	0,18±8e-3	0,32±0,05
4	3,75±2,16	0,90±0,01	0,42±1e-3	0,40±0,01	0,6±0,02	0,56±0,03
5	5,92±1,19	0,90±0,05	0,32±0,03	0,52±7e-3	0,60±0,05	0,29±0,12
6	2,60±1,23	0,96±0,01	0,37±2e-4	0,32±6e-3	0,22±0,01	0,34±0,04

Les résultats de balayage en fréquence pour G' et G'' du rapport AlgNa : GGC (60 :40) pour C_{tot} de 0,5 à 6 g/100 mL sont présentés sur la figure 3.34. L'amplitude du module de conservation (G') était supérieure au module de perte (G'') pour tous les échantillons étudiés à une fréquence donnée.

Il a d'abord été remarqué, que pour les C_{tot} inférieures ou égales à 4 g /100 mL, les valeurs de G' présentent des fluctuations qui dépendent de la fréquence (de 100 à 10 s^{-1}), c'est-à-dire qu'elles ne sont pas supérieures à G'' à toutes les fréquences. Par conséquent, ces échantillons ne présentaient pas une prédominance élastique, car à certaines fréquences le comportement visqueux était plus dominant.

La linéarité expérimentale des modules dans la gamme de fréquences de 0,1 à 10 Hz où les échantillons présente la structure d'un pseudo-gel [165] suggère que les gelées peuvent être considérées comme potentiellement stables [164].

Les C_{tot} 5 et 6 g / 100 mL présentent deux stades différents, le premier étant attribué au comportement solide (élastique), par le fait que $G' > G''$ aux hautes fréquences, ceci indiquant que la structure formée en réseau par les chaînes moléculaires n'était pas facile à détruire [166]. La deuxième région était liée au liquide visqueux ($G'' >$

G'), au-delà d'une fréquence critique f_c . Cette relaxation n'était pas encore atteinte pour les autres formules aux basses fréquences.

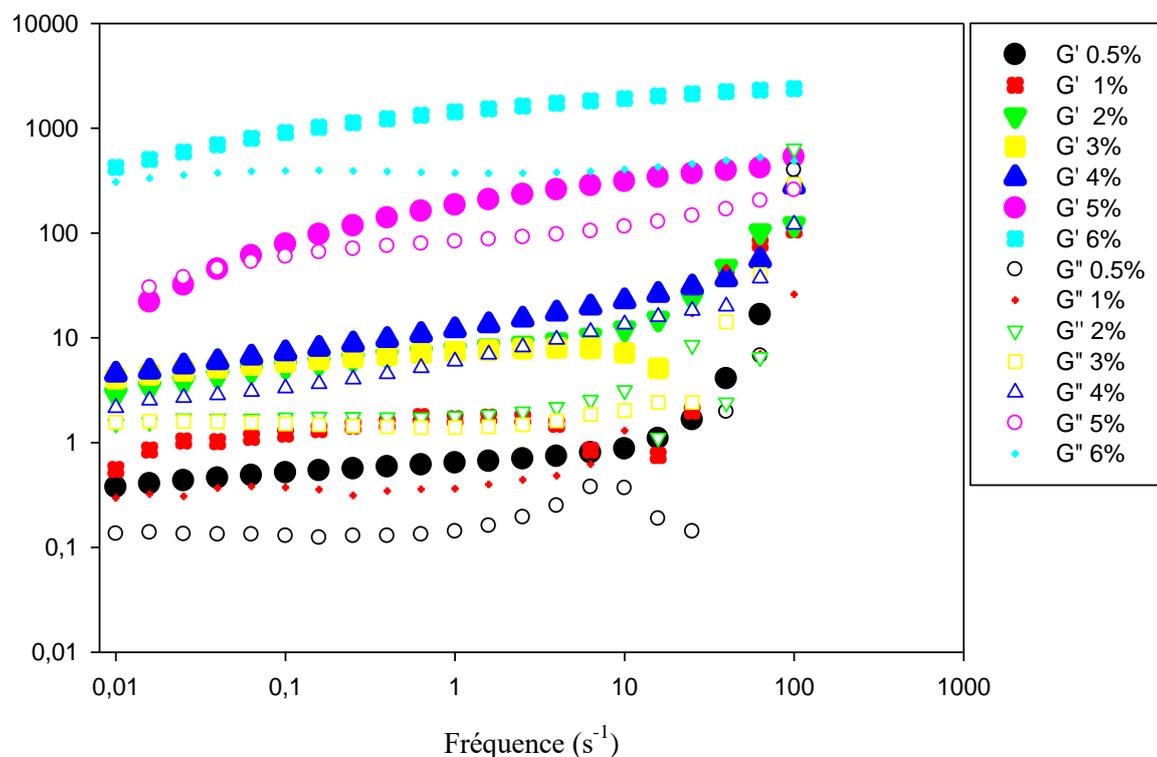


Figure 3.34 : Variation des modules de conservation (G') et de perte (G'') des gelées préparées en fonction de la fréquence pour les concentrations en polymères de 0,5 à 6 g / 100 mL, AlgNa : GGC (60 : 40), $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.3. Gélification In-Situ

Les photos des systèmes résultants d'un essai type ($C_{\text{tot}} = 4\text{ g} / 100\text{ mL}$ à différents rapports de mélange) après l'introduction des gelées dans le fluide gastrique simulé sont présentées sur la figure 3.35. Il est clair que toutes les gelées se sont transformées en gels In-Situ, la cinétique de gélification était rapide et le nouveau réseau formé semble visuellement plus consistant que la forme initiale.

Ces gels ont absorbé une quantité du liquide qui a été quantifiée et exprimé en rapport entre le volume de liquide absorbé par les gels formés In-Situ par rapport au volume total (V_a/V_t). On peut apprécier sur la figure 3.36 que ce rapport augmente avec l'augmentation de la concentration totale en polymères.

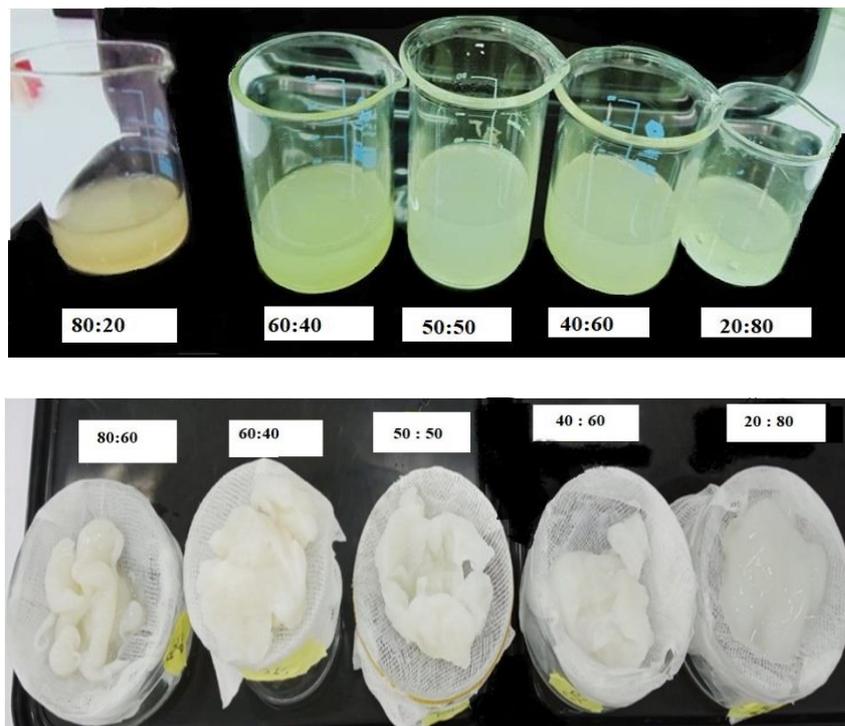


Figure 3.35 : Photos des gélées transformées en gels In-Situ, en fonction des rapports de mélange AlgNa : GGC à concentration totale en polymères = 4 g / 100 mL.

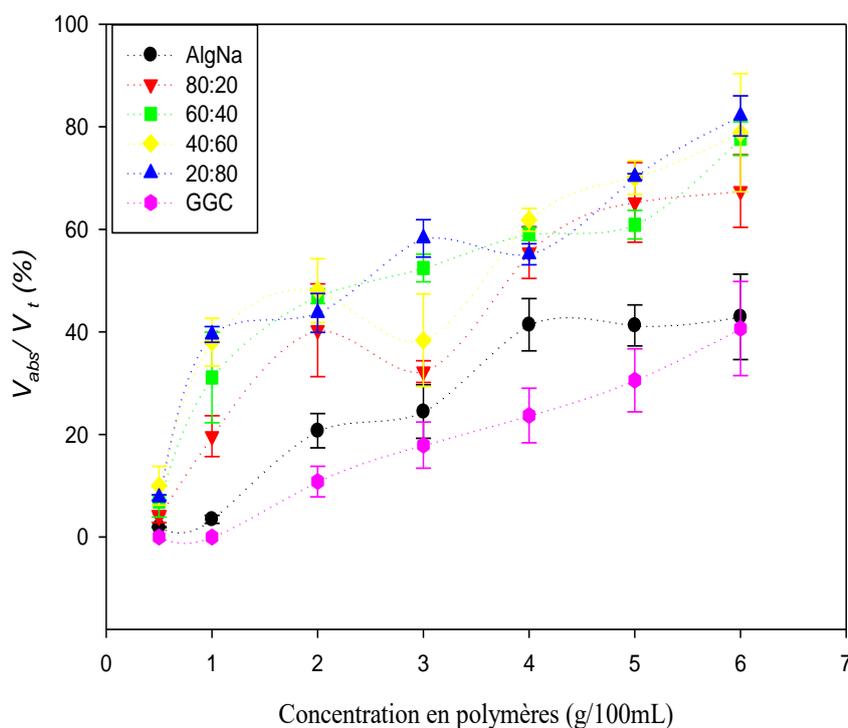


Figure 3.36 : Variation des rapports entre le volume du liquide absorbé par les gels In-Situ et le volume de liquide totale (V_a/V_t) en fonction de la concentration totale en polymères à différents ratios AlgNa : GCC, $T = 20^\circ\text{C}$.

3.3.4. Caractérisation rhéologique des gels obtenus In-Situ

La figure (3.37) représente la variation du module de rigidité en fonction de la concentration totale en polymère. G' augmente considérablement quand on passe d'une concentration de 0,5 à une concentration de 2 g / 100 mL. A partir de 3 g / 100 mL le module semble insensible à l'augmentation de la concentration en biopolymère, quant au ratio, la même figure montre que le G' est légèrement sensible au rapport de mélange et les modules les plus élevés sont enregistrés avec un ratio AlgNa : GGC égale à 60 : 40. A ce rapport, les interactions au niveau de la gelée ne sont pas maximales. On suppose que le système est renforcé, lors de la gélification In-Situ, par la formation d'un réseau entre les macromolécules non concernées par l'interaction AlgNa - GGC au stade de gelée par des réactions type ponts d'hydrogène. Les gels sont donc le résultat de la formation d'un nouveau réseau consolidant celui initialement issu des interactions électrostatiques (AlgNa - GGC), tout en le rendant plus consistant et en garantissant des modules de rigidité plus forts.

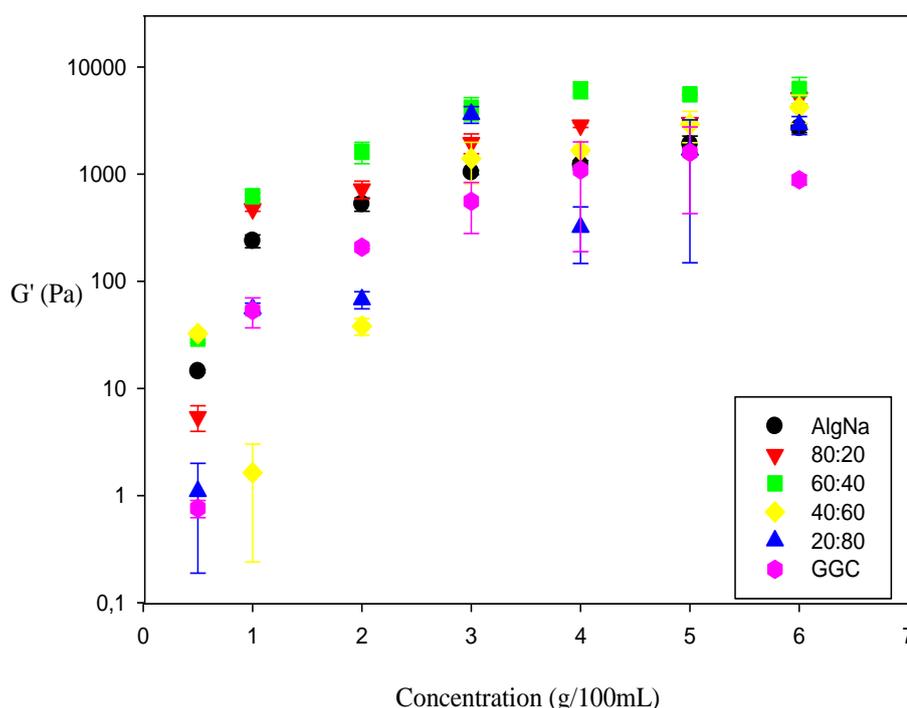


Figure 3.37 : Evolution du module de conservation G' des gels formés In-Situ en fonction de la concentration totale en polymères, $T = 37$ °C.

La figure 3.38 représente les valeurs du rapport entre les modules de conservation des préparations AlgNa : GGC après gélification (G_f) et le module de conservation avant gélification (G_i). Il est apprécié que ce rapport est plus important avec les formules les plus concentrées en alginate et se voit diminuer quand on va dans le sens de la GGC.

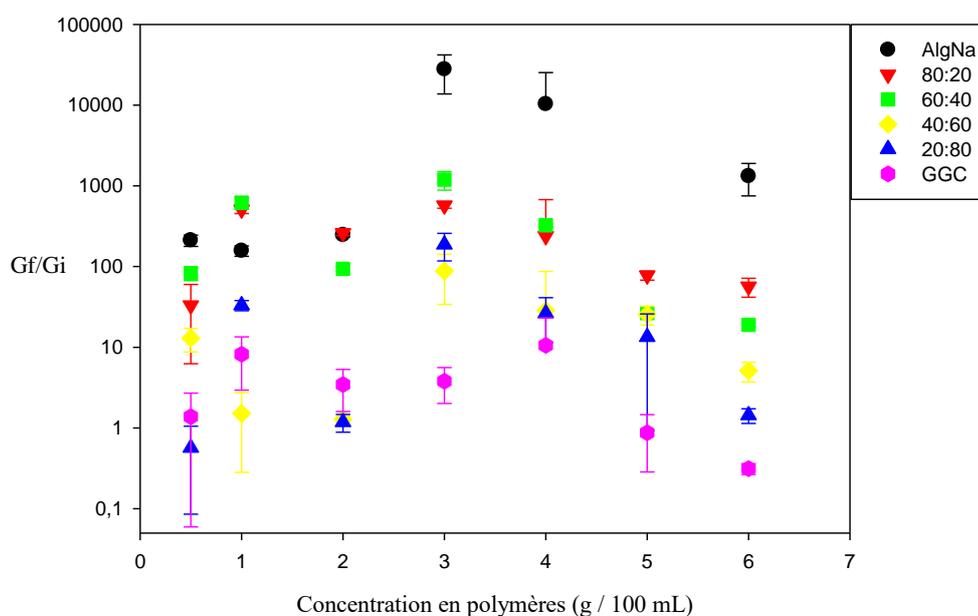


Figure 3.38 : Variation du rapport (G_f) / (G_i) en fonction des différents rapports de mélange AlgNa : GGC.

3.3.5. Analyse spectroscopique IRTF

Les spectres infrarouges de l'alginate de sodium, la GGC et du gel obtenu In-Situ à différents rapports de mélange, sont présentés dans la figure 3.39. L'alginate de sodium présente des pics caractéristiques à 1402 et à 1603 cm^{-1} . Celui de GGC a enregistré un pic pointu à 1649 et à 1475 cm^{-1} [167]. Les deux polymères présentent des spectres très proches ce qui rend le repérage des interactions entre les deux pas très claire.

Cependant, dans les spectres des gels formés in-situ nous remarquons que les pics des groupes carbonyles à 1602 et celui à 1475 cm^{-1} ont disparu et un pic de faible intensité est apparu dans la gamme de 1414 à 1421 cm^{-1} . Le pic à 1649 cm^{-1} s'est légèrement déplacé vers 1633 cm^{-1} , cela a été attribué par Kaur et al., qui ont obtenu des spectres de complexe de gomme gellane - GGC de même allure, à la présence des ions $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ [138].

L'absence d'un pic lié au groupement carboxylique dans les gels indique que finalement tous les groupements anioniques de l'alginate de Na étaient saturés et que la formation du gel n'est pas liée au passage de l'AlgNa en acide alginique mais que probablement la gelée formée par interactions électrostatique a été renforcé lors du passage en milieu gastrique simulé par d'autre liaison physique de type ponts d'hydrogène.

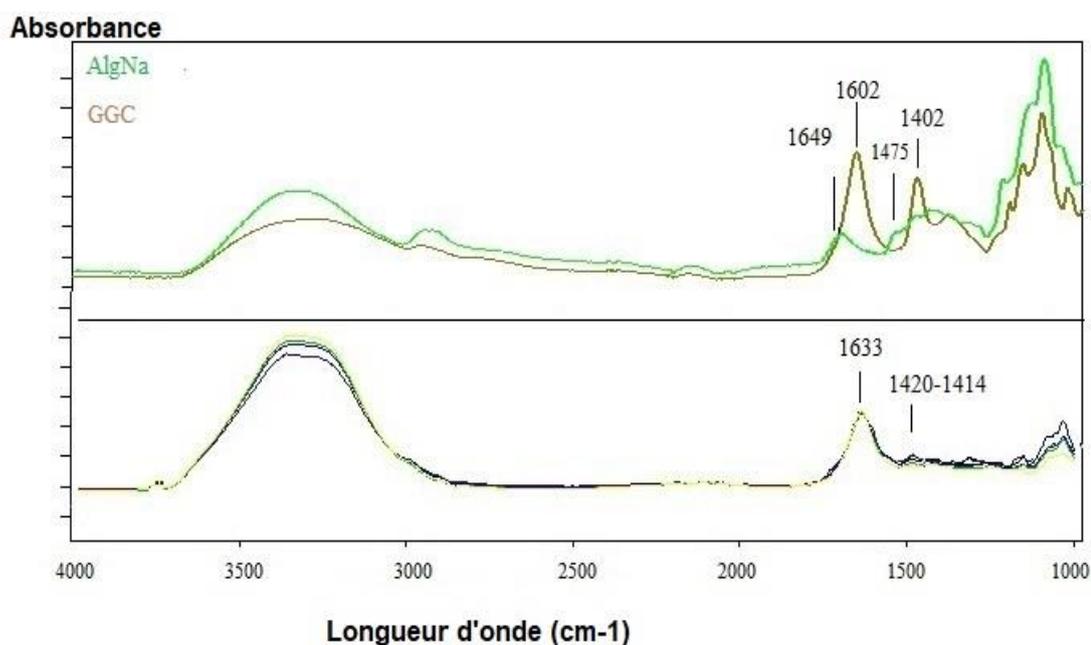


Figure 3.39 : Spectres infrarouge de AlgNa, GGC et des gels résultants In-Situ à différents rapports de mélange.

3.3.6. Microscopie à balayage électronique

Les morphologies des gels AlgNa : GGC (60 : 40) obtenus In-Situ pour les concentrations de 1 à 6 g / 100 mL sont présentées sur les photomicrographes MEB de la figure 3.40

L'étude morphologique des gels de 0,5 à 2 g / 100 mL (Figure 3.40 a-c) a démontré la présence d'un réseau de polymères. Ce réseau apparait comme étant desserré avec la présence de stries.

Lorsqu'on passe à une concentration de 3 g / 100 mL, un changement de morphologie est observé. La Figure (3.40 d-f) correspondant aux concentrations 3,4 et 5 montre une structure plus dure et rétrécie avec présence de microfissures. Cependant, ces fissures ont disparu à $C_{tot} = 6$ g / 100 mL et la structure semble plus rugueuse et compacte (Figure 3.40.g).

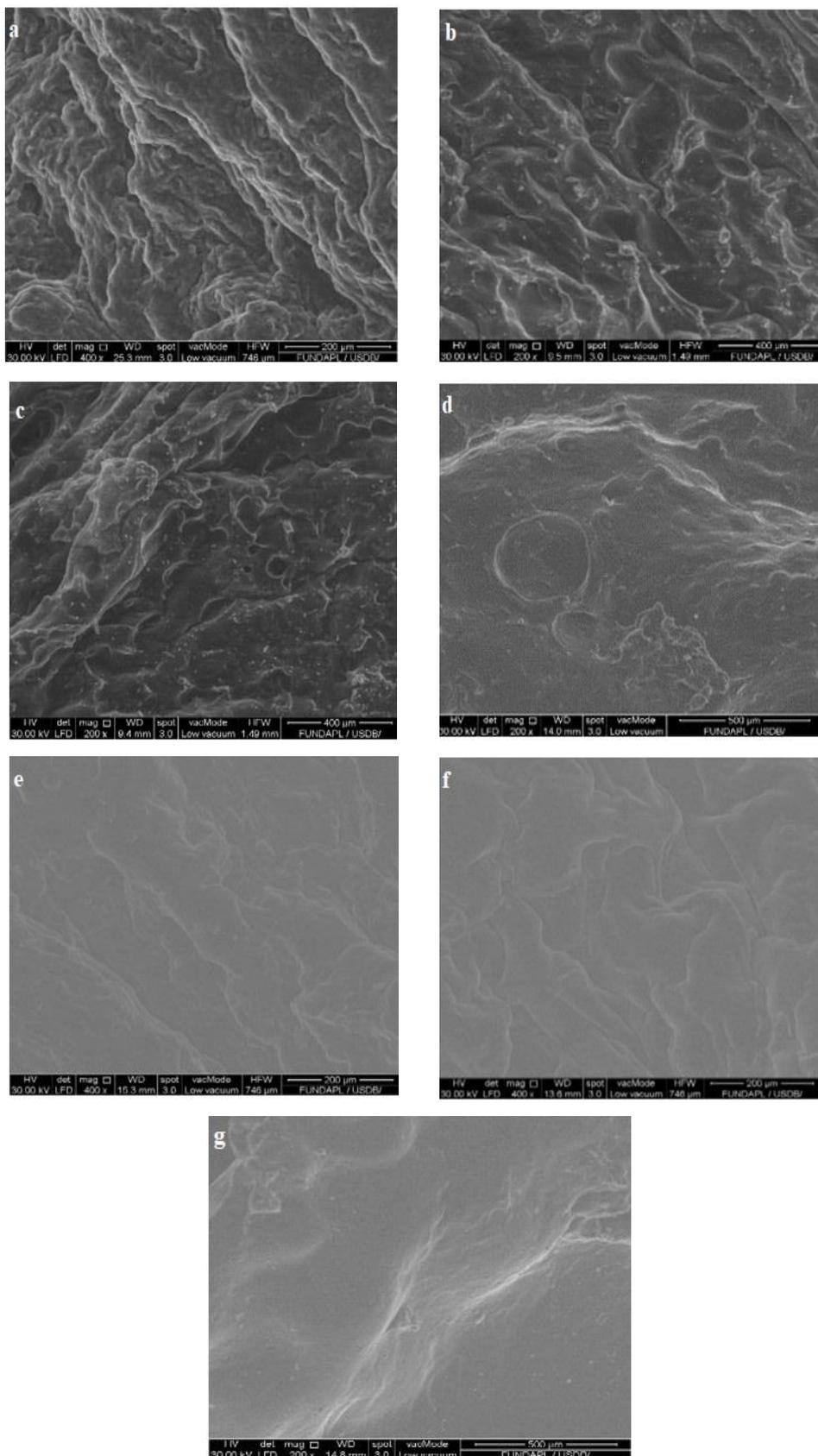


Figure 3.40 : Micrographes des gels AlgNa : CHI (60 : 40) obtenu In-Situ à C_{tot} de 0,5 à 6 g / 100 mL de (a à g, respectivement).

3.3.7. Cinétique de libération des catéchines à partir des gels

Les profils de libération des gels formés à partir des concentrations 3,4,5 et 6 à un rapport AlgNa : GGC au SGF puis SIF, présenté sur la figure 3.41 montre une cinétique de type prolongée. On remarque que la libération du principe actif à partir du gel dans le milieu décroît avec l'augmentation de la concentration totale en polymère. Une libération maximale de 28 % (concentration=3 g / 100 ml) pendant 2 h dans le SGF qui atteint un taux de 70 % dans le SIF dans les 16 heures qui suivent et reste constant au-delà de ce temps. Ces profils de libération sont de type gastro résistants.

La transformation de la gelée en gel dans le milieu gastrique offre une meilleure résistance et améliore, donc, la satiété par un mécanisme mécanique mais ralentit la libération. En milieu intestinal le gel a subi une érosion auquel cas l'entité s'est divisée en plusieurs unités. Dans ce cas, la surface d'échange entre l'environnement de dissolution a augmenté et de même augmenté la libération de la matière active. Ce système permet le passage au deuxième mécanisme qui est pharmacologique via la libération de la matière active, tout en gardant une libération prolongée, vu que les petites entités ont préservé leurs propriétés rhéologiques. Ces résultats permettent la proposition du système AlgNa - GGC pour une application anti-obésité à deux mécanismes : mécanique et pharmacologique.

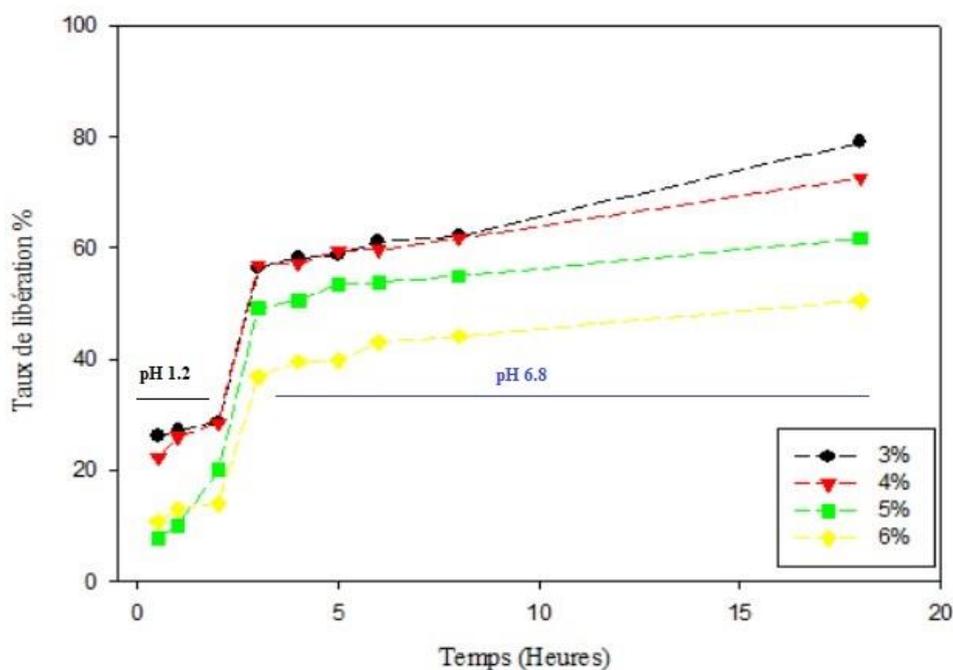


Figure 3.41 : Profils de libération de la substance bioactive à partir des gels formés à partir des concentrations 3,4,5 et 6 à un rapport AlgNa : GGC = (60 : 40) au SGF puis SIF à 37 °C.

3.3.8. Pureté microbiologique

Les résultats de la caractérisation microbiologique présentés dans le tableau 3.9 ne montrent aucune altération microbienne pour les deux formules après 90 jours dans les conditions réelles et accélérées. Cela est en accord avec des études montrant l'efficacité des catéchines contre différents microorganismes [168-170]. Notre formule peut donc s'abstenir quant à l'emploi d'un agent de conservation synthétique et est considérée comme étant une bio-préparation.

Tableau 3.9 : Résultat du test microbiologique des formules 1 et 2.

	Conditions réelles				Conditions accélérées				Norme (UFC /mL) [142]
	Formule 1		Formule 2		Formule 1		Formule 2		
	J 0	J 90	J 0	J 90	J 0	J 90	J 0	J 90	
<i>DGAT</i>	< 0,1	< 01	< 01	< 01	< 0,1	< 01	< 01	< 01	200
<i>DLMT</i>	< 0,1	< 0,1	< 01	< 01	< 0,1	< 01	< 01	< 01	20
<i>E. Coli</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>S. aureus</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
<i>P.aeruginosa</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

*Abs: absence de microorganismes

CONCLUSION

Le principal objectif de ce travail était de formuler des systèmes de gélification In-Situ à base de polysaccharides pour une potentielle application pour la lutte contre le surpoids et la prévention de l'obésité. Ces systèmes devraient présenter des propriétés rhéologiques spécifiques pour former des gels homogènes In-Situ, de même qu'une importante résistance mécanique exprimée par le module de conservation ainsi qu'une quantité relative minimale du liquide libre non absorbé par le gel afin que le gel puisse occuper la partie importante de l'estomac.

Le premier système proposé à base d'alginate de sodium et de chitosane se présente sous forme de granulés pour suspension. Celle-ci forme un gel au contact du suc gastrique résultant des interactions synergiques entre l'AlgNa et le CHI ainsi que la CMC Na. Cette dernière a été employée initialement pour son rôle désintégrant, mais avait, finalement, contribué à la formation du gel.

Les résultats ont montré que toutes les suspensions ont subi une gélification dans le SGF. Une étude de modélisation MSR approfondie a montré que l'effet des deux biopolymères (AlgNa et CHI) dépendait de la quantité de la CMC Na mise en jeu. L'obtention des gels les plus forts a été observée à un niveau minimal de CMC Na associé à une diminution de AlgNa avec une augmentation du CHI, mais ceux-ci correspondent aux volumes relatifs du liquide non absorbé les plus importants. Tandis qu'à un niveau maximal de CMC Na, on retrouve les gels les plus intéressants en qualité de volume avec une perte du module de conservation mais qui reste rigide et cela avec une quantité maximale de AlgNa et une quantité minimale de CHI. Ces résultats, en complément avec les résultats FTIR et MEB, montrent que l'association des deux polymères avec la CMC Na forme un réseau semi-interpénétrés satisfaisant comme système de rétention gastrique. Les études in-vivo ont confirmé que la suspension contenant 4 g / 100 mL d'alginate Na et 0,5 g / 100 mL affecte clairement la consommation alimentaire et réduit leur gain pondéral des rats traités par la suspension par rapport aux rats témoins. Le temps de séjour gastrique du gel chez les rats traités avec la suspension E2 a été trouvé supérieur à 3h.

Pour le deuxième système constitué de l'alginate de sodium et de guar cationique, les résultats montrent que la formation du gel est probablement due à la formation d'un

nouveau réseau, in-situ, plus consistant au sein du réseau issu d'interactions électrostatiques (AlgNa-GGC), tout en garantissant des modules de rigidité plus forts. L'évaluation rhéologique par le module de conservation montre que celui-ci dépend de la concentration totale en polymères et devient insensible à partir de $C_{tot}=4\%$. L'étude de la cinétique de libération du principe actif à partir des gels à différentes concentrations montre que celle-ci est de type prolongée gastro rétentive.

Ce travail mérite d'être poursuivi et approfondi par rapport à quelques points : il est nécessaire de réaliser des études in-vivo de l'activité anti-obésité poussées et cela sur des sujets obèses pour les deux systèmes. Celles-ci doivent être suivies par des études toxicologiques afin d'évaluer les risques potentiels de leurs prises à long terme.

La nature des interactions AlgNa-GGC aux différents pH et ce système, ainsi que réaliser des études de stabilité poussées pour les deux systèmes. Enfin il est souhaitable de prévaloir ces résultats sur le plan économique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. WHO, J. and F.E. Consultation, *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases* 2003: WHO Geneve.
2. Rahmouni, K., et al., *Obesity-associated hypertension: new insights into mechanisms*. Hypertension, 2005. **45**(1): p. 9-14.
3. Hossain, P., B. Kavar, and M. El Nahas, *Obesity and diabetes in the developing world—a growing challenge*. 2009.
4. Kurth T, Gaziano J., Berger K, Kase CS, Rexrode KM, Cook NR, Buring JE, Manson JE., *Body mass index and the risk of stroke in men*. Archives of internal medicine, 2002(162): p. 2557- 2562.
5. Schlienger, J. L., Luca, F., Vinzio, S., & Pradignac, A., *Obésité et cancer*. La Revue de médecine interne, 2009. **30**(9): p. 776-782.
6. Tan, B.H., et al., *Sarcopenia in an overweight or obese patient is an adverse prognostic factor in pancreatic cancer*. Clinical cancer research, 2009: p. 1078-0432. CCR-09-1525.
7. Point, V., Bénarouche, A., Zarrillo, J., Guy, A., Magnez, R., Fonseca, L., ... & Cavalier, J. F, *Slowing down fat digestion and absorption by an oxadiazolone inhibitor targeting selectively gastric lipolysis*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2016. **123**: p. 834-848.
8. Hompesch, A.J.K.K.F.M., *Evolution of pharmacological obesity treatments: focus on adverse side-effect profiles*. Diabetes, Obesity and Metabolism, 2016. **18**(6): p. 558-570.
9. Wan-Loy, C. and P. Siew-Moi, *Marine Algae as a Potential Source for Anti-Obesity Agents*. Marine drugs, 2016. **14**(12): p. 222.
10. Alman, K.L., et al., *Dietetic management of obesity and severe obesity in children and adolescents: A scoping review of guidelines*. Obesity reviews, 2021. **22**(1): p. e13132.
11. Wharton, S., et al., *L'obésité chez l'adulte: ligne directrice de pratique clinique*. CMAJ, 2020. **192**(49): p. E1757-E1775.
12. Simmonds, M., Llewellyn, A., Owen, C. G., & Woolacott, N., *Predicting adult obesity from childhood obesity: a systematic review and meta-analysis*. Obesity reviews, 2016. **17**(2): p. 95-107.
13. Leong, K.S. and J.P. Wilding, *Obesity and diabetes*. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 1999. **13**(2): p. 221-237.
14. Bastien, M., Poirier, P., Lemieux, I., & Després, J. P, *Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease*. Progress in cardiovascular diseases, 2014. **56**(4): p. 369-381.
15. Lam, J.C.M., J.C.W. Mak, and M.S.M. Ip, *Obesity, obstructive sleep apnoea and metabolic syndrome*. Respiriology, 2012. **17**(2): p. 223-236.

16. Jelic, S., Lederer, D. J., Adams, T., Padeletti, M., Colombo, P. C., Factor, P. H., & Le Jemtel, T. H., *Vascular inflammation in obesity and sleep apnea*. *Circulation*, 2010. **121**(8): p. 1014.
17. Organization, W.H., *Overweight and obesity*. 2020.
18. Théry, H. and P. Caron, *Circulation, consommation mondiale des viandes et obésité: coïncidences ou co-incidences?* *Confins. Revue franco-brésilienne de géographie/Revista franco-brasilera de geografia*, 2019(40).
19. Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., ... & Gakidou, E., *Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013*. *The lancet*, 2014. **384**(9945): p. 766-781.
20. Chibane, A., Attif, M. L., Makhoulouf, L., Lanasri, N., & Biad, A., *P111 Prévalence de l'obésité dans un secteur sanitaire de l'Algérois*. *Diabetes & Metabolism*, 2008. **34**: p. H74-H75.
21. Dalichaouch-Benchaoui, S. and N. Abadi, *Variables d'adiposité liées à l'obésité et aux états morbides d'une population de l'est Algérien*. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 2021.
22. Scheen, A.J. and L.F. Van Gaal, *Médicaments de l'obésité et risque cardiovasculaire: Anti-obesity drugs and cardiovascular risk*. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 2012. **6**(1): p. 31-37.
23. Carette-de Franssu, H., *Traitement pharmacologique de l'obésité*. *Médecine Clinique endocrinologie & diabète*, 2012(61).
24. Kang, J.G. and C.-Y. Park, *Anti-Obesity Drugs: A Review about Their Effects and Safety*. *Diabetes Metab J*, 2012. **36**(1): p. 13-25.
25. Pellegrinelli, V., S. Carobbio, and A. Vidal-Puig, , *Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues*. . *Diabetologia*, 2016.
26. Kakkar, A.K. and N. Dahiya, *Drug treatment of obesity: current status and future prospects*. *European Journal of Internal Medicine*, 2015. **26**(2): p. 89-94.
27. Pelkman, C. L., Navia, J. L., Miller, A. E., & Pohle, R. J., *Novel calcium-gelled, alginate-pectin beverage reduced energy intake in nondieting overweight and obese women: interactions with dietary restraint status—*. *The American journal of clinical nutrition*, 2007. **86**(6): p. 1595-1602.
28. Deneva, M. G., Yadid-Pecht, O., Fattouche, M., & Mintchev, M. P., *Utilization of temporary controllable intragastric pseudobezoars for the treatment of obesity*. *Current Obesity Reports*, 2012. **1**(2): p. 68-74.
29. Greenway, F.L., *A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Gelesis100: A Novel Nonsystemic Oral Hydrogel for Weight Loss*. *Obesity*, 2019. **27**(2): p. 205-216.
30. Holscher, H.D., *Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota*. *Gut microbes*, 2017. **8**(2): p. 172-184.
31. Shang, Q., Song, G., Zhang, M., Shi, J., Xu, C., Hao, J., ... & Yu, G., *Dietary fucoïdan improves metabolic syndrome in association with increased Akkermansia population in the gut microbiota of high-fat diet-fed mice*. *Journal of Functional Foods*, 2017. **28**: p. 138-146.

32. Sun, X., Duan, M., Liu, Y., Luo, T., Ma, N., Song, S., & Ai, C., *The beneficial effects of Gracilaria lemaneiformis polysaccharides on obesity and the gut microbiota in high fat diet-fed mice*. Journal of Functional Foods, 2018. **46**: p. 48-56.
33. Wen, L., Zhang, Y., Sun-Waterhouse, D., You, L., & Fu, X., *Advantages of the polysaccharides from Gracilaria lemaneiformis over metformin in antidiabetic effects on streptozotocin-induced diabetic mice*. RSC advances, 2017. **7**(15): p. 9141-9151.
34. Rowe, R.C., P. Sheskey, and M. Quinn, *Handbook of pharmaceutical excipients* 2009: Libros Digitales-Pharmaceutical Press.
35. Mohamed, S. and A. Fayed, *Anti-obesity synergistic effect of pomegranate seed oil (PSO) and Arabic Gum (AG) in albino rats*. International Journal of Veterinary Science, 2020. **9**(1): p. 84-89.
36. Jakobsdottir, G., Xu, J., Molin, G., Ahrne, S., & Nyman, M. (2013)., *High-fat diet reduces the formation of butyrate, but increases succinate, inflammation, liver fat and cholesterol in rats, while dietary fibre counteracts these effects*. PloS one, 2013. **8**(11): p. e80476.
37. Y Yang, T. H., Chiu, C. Y., Lu, T. J., Liu, S. H., & Chiang, M. T., *The Anti-Obesity Effect of Polysaccharide-Rich Red Algae (Gelidium amansii) Hot-Water Extracts in High-Fat Diet-Induced Obese Hamsters*. Marine drugs, 2019. **17**(9): p. 532.
38. Aoki, T., Oyanagi, E., Watanabe, C., Kobiki, N., Miura, S., Yokogawa, Y., ... & Yano, H., *The Effect of Voluntary Exercise on Gut Microbiota in Partially Hydrolyzed Guar Gum Intake Mice under High-Fat Diet Feeding*. Nutrients, 2020. **12**(9): p. 2508.
39. Keithley, J.K. and B. Swanson, *Glucomannan and obesity: a critical review*. Alternative therapies in health and medicine, 2005. **11**(6): p. 30-35.
40. Devaraj, R.D., C.K. Reddy, and B. Xu, *Health-promoting effects of konjac glucomannan and its practical applications: A critical review*. International journal of biological macromolecules, 2019. **126**: p. 273-281.
41. Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R., *Fucoxanthin: structure and bioactivity*. Molecules, 2008. **13**(8): p. 1671-1695.
42. Wu, L., Sun, J., Su, X., Yu, Q., Yu, Q., & Zhang, P., *A review about the development of fucoxanthin in antitumor activity: Progress and challenges*. Carbohydrate polymers, 2016. **154**: p. 96-111.
43. Hernández-Corona, D.M., E. Martínez-Abundis, and M. González-Ortiz, *Effect of fucoxanthin administration on insulin secretion and insulin resistance in overweight or obese adults*. Journal of medicinal food, 2014. **17**(7): p. 830-832.
44. Park, M.-K., U. Jung, and C. Roh, *Fucoxanthin from marine brown algae inhibits lipid accumulation*. Marine drugs, 2011. **9**(8): p. 1359-1367.
45. Xu, H., et al., *Fucoxanthin from the sea cucumber Acaudina molpadioides exhibits anti-adipogenic activity by modulating the Wnt/ β -catenin pathway and down-regulating the SREBP-1c expression*. Food & function, 2014. **5**(7): p. 1547-1555.
46. Xu, H., Wang, J., Chang, Y., Xu, J., Wang, Y., Long, T., & Xue, C., *A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the microalga Phaeodactylum*

- tricornutum*. Applied biochemistry and biotechnology, 2012. **166**(7): p. 1843-1855.
47. Miyashita, K., Nishikawa, S., Beppu, F., Tsukui, T., Abe, M., & Hosokawa, M., *The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011. **91**(7): p. 1166-1174.
 48. Gammone, M.A. and N. D'Orazio, *Anti-obesity activity of the marine carotenoid fucoxanthin*. Marine drugs, 2015. **13**(4): p. 2196-2214.
 49. Bae, M., Kim, M. B., Park, Y. K., & Lee, J. Y., *Health benefits of fucoxanthin in the prevention of chronic diseases*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 2020. **1865**(11): p. 158618.
 50. Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., & Miyashita, K., *Dietary combination of fucoxanthin and fish oil attenuates the weight gain of white adipose tissue and decreases blood glucose in obese/diabetic KK-Ay mice*. J. of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(19): p. 7701-7706.
 51. Zhang, H., Tang, Y., Zhang, Y., Zhang, S., Qu, J., Wang, X., ... & Liu, Z., *Fucoxanthin: A Promising Medicinal and Nutritional Ingredient*. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM, 2015. **2015**: p. 723515-723515.
 52. Ríos-Hoyo, A. and G. Gutiérrez-Salmeán, *New dietary supplements for obesity: What we currently know*. Current Obesity Reports, 2016. **5**(2): p. 262-270.
 53. Lyly, M., Liukkonen, K. H., Salmenkallio-Marttila, M., Karhunen, L., Poutanen, K., & Lähteenmäki, L., *Fibre in beverages can enhance perceived satiety*. European journal of nutrition, 2009. **48**(4): p. 251-258.
 54. Lyly, M., Ohls, N., Lähteenmäki, L., Salmenkallio-Marttila, M., Liukkonen, K. H., Karhunen, L., & Poutanen, K., *The effect of fibre amount, energy level and viscosity of beverages containing oat fibre supplement on perceived satiety*. Food & nutrition research, 2010. **54**(1): p. 2149.
 55. Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., ... & Čopíková, J., *Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms Pleurotus ostreatus and Pleurotus eryngii: Structure and potential prebiotic activity*. Carbohydrate polymers, 2009. **76**(4): p. 548-556.
 56. Maki, K. C., Galant, R., Samuel, P. R. I. S. C. I. L. L. A., Tesser, J. O. H. N., Witchger, M. S., Ribaya-Mercado, J. D., ... & Geohas, J. E. F. F. E. R. Y., *Effects of consuming foods containing oat β -glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure*. European journal of clinical nutrition, 2007. **61**(6): p. 786-795.
 57. Bixler, H.J. and H. Porse, *A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry*. Journal of applied Phycology, 2011. **23**(3): p. 321-335.
 58. Dettmar, P.W., V. Strugala, and J. Craig Richardson, *The key role alginates play in health*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(2): p. 263-266.
 59. Georg Jensen, M., M. Kristensen, and A. Astrup, *Effect of alginate supplementation on weight loss in obese subjects completing a 12-wk energy-restricted diet: a randomized controlled trial*. The American journal of clinical nutrition, 2012. **96**(1): p. 5-13.

60. Georg, M. G., Kristensen, M., Belza, A., Knudsen, J. C., & Astrup, A., *Acute effect of alginate-based preload on satiety feelings, energy intake, and gastric emptying rate in healthy subjects*. *Obesity*, 2012. **20**(9): p. 1851-1858.
61. Hoad, C. L., Rayment, P., Spiller, R. C., Marciani, L., Alonso, B. D. C., Traynor, C., ... & Gowland, P. A., *In Vivo Imaging of Intra-gastric Gelation and Its Effect on Satiety in Humans*. *The Journal of Nutrition*, 2004. **134**(9): p. 2293-2300.
62. Yavorska, N., *Sodium Alginate— A Potential Tool for Weight Management: Effect on Subjective Appetite, Food Intake, and Glycemic and Insulin Regulation*. *University of Toronto Journal of Undergraduate Life Sciences*, 2012. **6**(1).
63. Arshad, M. U., Ishtiaq, S., Anjum, F. M., Saeed, F., Chatha, S. A. S., & Imran, A., *Acute effects of different dietary polysaccharides added in milk on food intake, postprandial appetite and glycemic responses in healthy young females*. *International journal of food sciences and nutrition*, 2016. **67**(6): p. 715-722.
64. Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P., & Butler, M. F., *Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 2: In vivo characterisation*. *Food Hydrocolloids*, 2009. **23**(3): p. 833-839.
65. Solah, V. A., Kerr, D. A., Adikara, C. D., Meng, X., Binns, C. W., Zhu, K., ... & Prince, R. L., *Differences in satiety effects of alginate-and whey protein-based foods*. *Appetite*, 2010. **54**(3): p. 485-491.
66. Liu, T. T., Liu, X. T., Chen, Q. X., & Shi, Y., *Lipase inhibitors for obesity: A review*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020. **128**: p. 110314.
67. Wilcox, M. D., Brownlee, I. A., Richardson, J. C., Dettmar, P. W., & Pearson, J. P., *The modulation of pancreatic lipase activity by alginates*. *Food Chemistry*, 2014. **146**: p. 479-484.
68. Houghton, D., Wilcox, M. D., Chater, P. I., Brownlee, I. A., Seal, C. J., & Pearson, J. P., *Biological activity of alginate and its effect on pancreatic lipase inhibition as a potential treatment for obesity*. *Food Hydrocolloids*, 2015. **49**: p. 18-24.
69. Richardson, J.C.D., P.W.; Wilcox, M.D.; Brownlee, I.A.; Pearson, J.P, *Inhibition of Pancreatic Lipase*. U.S. Patent, 2010. **13/512**(118).
70. Li, S., Wang, L., Liu, B., & He, N., *Unsaturated alginate oligosaccharides attenuated obesity-related metabolic abnormalities by modulating gut microbiota in high-fat-diet mice*. *Food & function*, 2020. **11**(5): p. 4773-4784.
71. Zheng, W., Duan, M., Jia, J., Song, S., & Ai, C., *Low-molecular alginate improved diet-induced obesity and metabolic syndrome through modulating the gut microbiota in BALB/c mice*. *International journal of biological macromolecules*, 2021. **187**: p. 811-820.
72. M, M., *Rheological characteristics of semi-dilute chitosan solutions*. *Macromol. Chem. Phys.*, 1997. **198**: p. 471-484.
73. Kaats, G.R., J.E. Michalek, and H.G. Preuss, *Evaluating efficacy of a chitosan product using a double-blinded, placebo-controlled protocol*. *Journal of the American College of Nutrition*, 2006. **25**(5): p. 389-394.
74. Singla, A.K. and M. Chawla, *Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects –an update*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2001. **53**: p. 1047–1067.

75. Risbud, M.V. and R.R. Bhonde, *Islet immunoisolation: experience with biopolymers*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2001. **12**(11): p. 1243-1252.
76. Bondiolotti, G., Bareggi, S. R., Frega, N. G., Strabioli, S., & Cornelli, U., *Activity of two different polyglucosamines, L112® and FF45®, on body weight in male rats*. European journal of pharmacology, 2007. **567**(1-2): p. 155-158.
77. Castel, A., *L'orlistat dosé à 60 mg, ALLI®, premier médicament en vente libre pour traiter le surpoids et l'obésité*, 2012. p. 137.
78. Rahman, M.A., S.G. Kumar, and J.W. Yun, *Proteome analysis in adipose tissue of ob/ob mice in response to chitosan oligosaccharides treatment*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2010. **15**(4): p. 559-571.
79. Bahar, B., J.V. O'Doherty, and T. Sweeney, *A potential role of IL-6 in the chito-oligosaccharide-mediated inhibition of adipogenesis*. British journal of nutrition, 2011. **106**(8): p. 1142-1153.
80. Walsh, A. M., Sweeney, T., Bahar, B., & O'Doherty, J. V., *Multi-functional roles of chitosan as a potential protective agent against obesity*. PloS one, 2013. **8**(1): p. e53828.
81. Qian, M., Lyu, Q., Liu, Y., Hu, H., Wang, S., Pan, C., ... & Wang, L., *Chitosan Oligosaccharide Ameliorates Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) in Diet-Induced Obese Mice*. Marine drugs, 2019. **17**(7): p. 391.
82. Deng, X., Ye, Z., Cao, H., Bai, Y., Che, Q., Guo, J., & Su, Z., *Chitosan oligosaccharide ameliorated obesity by reducing endoplasmic reticulum stress in diet-induced obese rats*. Food & function, 2020. **11**(7): p. 6285-6296.
83. Liu, S.-H., R.-Y. Chen, and M.-T. Chiang, *Effects and Mechanisms of Chitosan and ChitosanOligosaccharide on Hepatic Lipogenesis and Lipid Peroxidation, Adipose Lipolysis, and Intestinal Lipid Absorption in Rats with High-Fat Diet-Induced Obesity*. International Journal of Molecular Sciences, 2021. **22**(3): p. 1139.
84. Velderrain-Rodríguez, G. R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J. F., Chen, C. O., Robles-Sánchez, M., ... & González-Aguilar, G. A., *Phenolic compounds: their journey after intake*. Food & function, 2014. **5**(2): p. 189-197.
85. Décordé, K., Teissède, P. L., Sutra, T., Ventura, E., Cristol, J. P., & Rouanet, J. M., *Chardonnay grape seed procyanidin extract supplementation prevents high-fat diet-induced obesity in hamsters by improving adipokine imbalance and oxidative stress markers*. Molecular Nutrition & Food Research, 2009. **53**(5): p. 659-666.
86. Rabadan-Chávez, G., Quevedo-Corona, L., Garcia, A. M., Reyes-Maldonado, E., & Jaramillo-Flores, M. E., *Cocoa powder, cocoa extract and epicatechin attenuate hypercaloric diet-induced obesity through enhanced β -oxidation and energy expenditure in white adipose tissue*. Journal of Functional Foods, 2016. **20**: p. 54-67.
87. Gourineni, V., Shay, N. F., Chung, S., Sandhu, A. K., & Gu, L., *Muscadine grape (Vitis rotundifolia) and wine phytochemicals prevented obesity-associated*

- metabolic complications in C57BL/6J mice*. Journal of agricultural and food chemistry, 2012. **60**(31): p. 7674-7681.
88. Villalpando-Arteaga, E. V., Mendieta-Condado, E., Esquivel-Solís, H., Canales-Aguirre, A. A., Gálvez-Gastélum, F. J., Mateos-Díaz, J. C., & Márquez-Aguirre, A. L., *Hibiscus sabdariffa L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis through down-regulation of PPAR- γ and SREBP-1c in diet-induced obese mice*. Food & function, 2013. **4**(4): p. 618-626.
 89. Min, S. Y., Yang, H., Seo, S. G., Shin, S. H., Chung, M. Y., Kim, J., & Lee, K. W., *Cocoa polyphenols suppress adipogenesis in vitro and obesity in vivo by targeting insulin receptor*. International journal of obesity, 2013. **37**(4): p. 584-592.
 90. Herranz-López, M., Barrajon-Catalán, E., Segura-Carretero, A., Menéndez, J. A., Joven, J., & Micol, V., *Lemon verbena (Lippia citriodora) polyphenols alleviate obesity-related disturbances in hypertrophic adipocytes through AMPK-dependent mechanisms*. Phytomedicine, 2015. **22**(6): p. 605-614.
 91. Agouni, A., Lagrue-Lak-Hal, A. H., Mostefai, H. A., Tesse, A., Mulder, P., Rouet, P., & Andriantsitohaina, R., *Red wine polyphenols prevent metabolic and cardiovascular alterations associated with obesity in Zucker fatty rats (Fa/Fa)*. PloS one, 2009. **4**(5): p. e5557.
 92. Jiang, H. Z., Quan, X. F., Tian, W. X., Hu, J. M., Wang, P. C., Huang, S. Z., ... & Zhao, Y. X., *Fatty acid synthase inhibitors of phenolic constituents isolated from Garcinia mangostana*. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 2010. **20**(20): p. 6045-6047.
 93. Roh, C. and U. Jung, *Screening of crude plant extracts with anti-obesity activity*. International Journal of Molecular Sciences, 2012. **13**(2): p. 1710-1719.
 94. Rodríguez-Daza, M. C., Roquim, M., Dudonné, S., Pilon, G., Levy, E., Marette, A., ... & Desjardins, Y., *Berry polyphenols and fibers modulate distinct microbial metabolic functions and gut microbiota enterotype-like clustering in obese mice*. Frontiers in microbiology, 2020. **11**: p. 2032.
 95. Zulet, M. A., Navas-Carretero, S., y Sánchez, D. L., Abete, I., Flanagan, J., Issaly, N., ... & Martinez, J. A., *A Fraxinus excelsior L. seeds/fruits extract benefits glucose homeostasis and adiposity related markers in elderly overweight/obese subjects: A longitudinal, randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled nutritional intervention study*. Phytomedicine, 2014. **21**(10): p. 1162-1169.
 96. Ziegenfuss, T. N., Hofheins, J. E., Mendel, R. W., Landis, J., & Anderson, R. A., *Effects of a water-soluble cinnamon extract on body composition and features of the metabolic syndrome in pre-diabetic men and women*. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 2006. **3**(2): p. 1-9.
 97. Sartorius, T., Peter, A., Schulz, N., Drescher, A., Bergheim, I., Machann, J., ... & Hennige, A. M., *Cinnamon extract improves insulin sensitivity in the brain and lowers liver fat in mouse models of obesity*. PloS one, 2014. **9**(3): p. e92358.
 98. Soliman, M. M., Attia, H. F., El-Shazly, S. A., & Saleh, O. M., *Biomedical effects of cinnamon extract on obesity and diabetes relevance in Wistar rats*. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2012. **2**(3): p. 133-135.

99. Dallas, C., Gerbi, A., Elbez, Y., Caillard, P., Zamaria, N., & Cloarec, M., *Clinical study to assess the efficacy and safety of a citrus polyphenolic extract of red Orange, grapefruit, and Orange (Sinetrol-XPur) on weight management and metabolic parameters in healthy overweight individuals*. *Phytotherapy Research*, 2014. **28**(2): p. 212-218.
100. Wolfram, S., Y. Wang, and F. Thielecke, *Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench*. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2006. **50**(2): p. 176-187.
101. Huang, J., Wang, Y., Xie, Z., Zhou, Y., Zhang, Y., & Wan, X., *The anti-obesity effects of green tea in human intervention and basic molecular studies*. *European journal of clinical nutrition*, 2014. **68**(10): p. 1075-1087.
102. Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., Mo, H., Shastri, A., Su, R., ... & Shen, C. L., *Novel insights of dietary polyphenols and obesity*. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2014. **25**(1): p. 1-18.
103. Nagle, D.G., D. Ferreira, and Y.-D. Zhou, *Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical and biomedical perspectives*. *Phytochemistry*, 2006. **67**(17): p. 1849-1855.
104. Sae-Tan, S., C.J. Rogers, and J.D. Lambert, *Decaffeinated green tea and voluntary exercise induce gene changes related to beige adipocyte formation in high fat-fed obese mice*. *Journal of Functional Foods*, 2015. **14**: p. 210-214.
105. Okla, M., Kim, J., Koehler, K., & Chung, S., *Dietary factors promoting brown and beige fat development and thermogenesis*. *Advances in nutrition*, 2017. **8**(3): p. 473-483.
106. Nagao, T., Komine, Y., Soga, S., Meguro, S., Hase, T., Tanaka, Y., & Tokimitsu, I., *Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde-modified LDL in men*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **81**(1): p. 122-9.
107. Neyrinck, A. M., Bindels, L. B., Geurts, L., Van Hul, M., Cani, P. D., & Delzenne, N. M., *A polyphenolic extract from green tea leaves activates fat browning in high-fat-diet-induced obese mice*. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2017. **49**: p. 15-21.
108. Rains, T.M., S. Agarwal, and K.C. Maki, *Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review*. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2011. **22**(1): p. 1-7.
109. Gyles, D. A., Castro, L. D., Silva Jr, J. O. C., & Ribeiro-Costa, R. M., *A review of the designs and prominent biomedical advances of natural and synthetic hydrogel formulations*. *European Polymer Journal*, 2017. **88**: p. 373-392.
110. Jana, S. and S. Jana, *Interpenetrating Polymer Network: Biomedical Applications* 2020: Springer Nature.
111. Hamman, J.H., *Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems*. *Marine drugs*, 2010. **8**(4): p. 1305-1322.
112. Jennings, J.A. and J.D. Bumgardner. *Chitosan based biomaterials. Volume 1, Volume 1.* 2017; Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=1144225>.
113. Hennink, W.E. and C.F. van Nostrum, *Novel crosslinking methods to design hydrogels*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012. **64**: p. 223-236.

114. Sarada, K., S. Firoz, and K. Padmini, *In-situ gelling system: A review*. Int J Curr Pharma Rev Res, 2014. **15**(5): p. 76-90.
115. P Venkatesh, M., K Liladhar, P., MP Kumar, T., & G Shivakumar, H., *In situ gels based drug delivery systems*. Current Drug Therapy, 2011. **6**(3): p. 213-222.
116. Almdal, K., Dyre, J., Hvidt, S., & Kramer, O., *Towards a phenomenological definition of the term 'gel'*. Polymer Gels and Networks, 1993. **1**(1): p. 5-17.
117. Mohanty, D., Bakshi, V., Simharaju, N., Haque, M. A., & Sahoo, C. K., *A review on in situ gel: a novel drug delivery system*. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res, 2018. **50**(1): p. 175-81.
118. Moghanjoughi, A.A., D. Khoshnevis, and A. Zarrabi, *A concise review on smart polymers for controlled drug release*. Drug delivery and translational research, 2016. **6**(3): p. 333-340.
119. Konatham, M., Gorle, M. T., Pathakala, N., Bakshi, V., Mamidisetti, Y. D., Chinthakindi, P., & Jadi, R. K., *IN SITU GEL POLYMERS: A REVIEW*. International Journal of Applied Pharmaceutics, 2021: p. 86-90.
120. Pawar, S.N. and K.J. Edgar, *Alginate derivatization: a review of chemistry, properties and applications*. Biomaterials, 2012. **33**(11): p. 3279-3305.
121. Guidon, C., *Hypercalcémies sévères*. EMC - Anesthésie-Réanimation, 2005. **2**(2): p. 114-131.
122. R, Z., *Hypercalcemic crisis*. J Am Soc Nephrol, 2001 **12**(Suppl 17:S3-9.).
123. J.Desmeules, *Interactions des médicaments avec l'alimentation*. PHARMA-FLAFH, 2002. **29** (05): p. ISSN 0378-7958.
124. Itoh, K., Tsuruya, R., Shimoyama, T., Watanabe, H., Miyazaki, S., D'Emanuele, A., & Attwood, D., *In situ gelling xyloglucan/alginate liquid formulation for oral sustained drug delivery to dysphagic patients*. Drug development and industrial pharmacy, 2010. **36**(4): p. 449-455.
125. Shimoyama, T., Itoh, K., Kobayashi, M., Miyazaki, S., D'Emanuele, A., & Attwood, D., *Oral liquid in situ gelling methylcellulose/alginate formulations for sustained drug delivery to dysphagic patients*. Drug development and industrial pharmacy, 2012. **38**(8): p. 952-960.
126. El Maghraby, G.M., E.M. Elzayat, and F.K. Alanazi, *Development of modified in situ gelling oral liquid sustained release formulation of dextromethorphan*. Drug Dev Ind Pharm, 2012. **38**(8): p. 971-978.
127. El Maghraby, G.M., A.E. Elsis, and G.A. Elmeshad, *Development of liquid oral sustained release formulations of nateglinide: In vitro and in vivo evaluation*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015. **29**: p. 70-77.
128. Belhadji, L., A. HadjSadok, and N. Moulai-Mostefa, *Design and characterization of calcium-free in-situ gel formulation based on sodium alginate and chitosan*. Drug Dev Ind Pharm, 2018. **44**(4): p. 662-669.
129. Lankalapalli, S. and V. Kolapalli, *Polyelectrolyte complexes: A review of their applicability in drug delivery technology*. Indian journal of pharmaceutical sciences, 2009. **71**(5): p. 481.
130. Jha, P. K., Desai, P. S., Li, J., & Larson, R. G., *pH and salt effects on the associative phase separation of oppositely charged polyelectrolytes*. Polymers, 2014. **6**(5): p. 1414-1436.

131. Dautzenberg, H., *Polyelectrolyte complex formation in highly aggregating systems. 1. Effect of salt: polyelectrolyte complex formation in the presence of NaCl*. *Macromolecules*, 1997. **30**(25): p. 7810-7815.
132. Müller, M., Keßler, B., Fröhlich, J., Poeschla, S., & Torger, B., *Polyelectrolyte complex nanoparticles of poly (ethyleneimine) and poly (acrylic acid): preparation and applications*. *Polymers*, 2011. **3**(2): p. 762-778.
133. Krone, V., *Pharmacological composition containing polyelectrolyte complexes in microparticulate form and at least one active agent*, 1997, Google Patents.
134. Maciel, J., et al., *Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability*. *European Polymer Journal*, 2005. **41**(11): p. 2726-2733.
135. Webster, L., M.B. Huglin, and I.D. Robb, *Complex formation between polyelectrolytes in dilute aqueous solution*. *Polymer*, 1997. **38**(6): p. 1373-1380.
136. Huang, Y., H. Yu, and C. Xiao, *pH-sensitive cationic guar gum/poly (acrylic acid) polyelectrolyte hydrogels: Swelling and in vitro drug release*. *Carbohydrate polymers*, 2007. **69**(4): p. 774-783.
137. Sandeep, C., T.K. Deb, and H. Shivakumar, *Cationic Guar Gum Poly Electrolytecomplex-Microparticles*. *Journal of Young Pharmacists*, 2014. **6**(4): p. 11.
138. Kaur, J. and G. Kaur, *Optimization of pH conditions and characterization of polyelectrolyte complexes between gellan gum and cationic guar gum*. *Polymers for Advanced Technologies*, 2018. **29**(12): p. 3035-3048.
139. Dong-Bao, H. E., Li-hua, L., Qing, L., & Xiao-zhen, Y., *Synergistic interaction and gelation in cationic guar gum-sodium alginate system*. *Wuhan university journal of natural sciences*, 2004. **9**(3): p. 371-374.
140. Gadkari, P.V. and M. Balaraman, *Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review*. *Food and Bioproducts Processing*, 2015. **93**: p. 122-138.
141. Knaul, J. Z., Kasaii, M. R., Bui, V. T., & Creber, K. A., *Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review*. *Canadian Journal of Chemistry*, 1998. **76**(11): p. 1699.
142. European Pharmacopoeia, *Council of Europe*. Strasbourg, 2008. **France**.
143. USP, U.S.P.C., Inc. *The United States Pharmacopeia (USP 24)*,. Rockville MD, 2000.
144. Roux, R., *Élaboration d'assemblages colloïdaux à partir de nanoparticules de poly (acide lactique) et de chitosane*, 2013, Université Claude Bernard-Lyon I.
145. Lee, M.-S., *The characterization of caffeine and nine individual catechins in the leaves of green tea (Camellia sinensis L.) by near-infrared reflectance spectroscopy*. *Food Chemistry*, 2014. **158**: p. 351-357.
146. Selvi, I.K. and S. Nagarajan, *Separation of catechins from green tea (Camellia sinensis L.) by microwave assisted acetylation, evaluation of antioxidant potential of individual components and spectroscopic analysis*. *LWT*, 2018. **91**: p. 391-397.
147. Kapoor, D., Maheshwari, R., Verma, K., Sharma, S., Ghode, P., & Tekade, R. K., *Coating technologies in pharmaceutical product development*, in *Drug Delivery Systems 2020*, Elsevier. p. 665-719.

148. Baird, J.A., *Effect of molecular weight, temperature, and additives on the moisture sorption properties of polyethylene glycol*. Journal of pharmaceutical sciences, 2010. **99**(1): p. 154-168.
149. Muti, H. and S. Othman, *Effects of binders and moisture content on the disintegration, hardness and friability of paracetamol and orphenadrine citrate tablets*. Drug development and industrial pharmacy, 1989. **15**(12): p. 2017-2035.
150. Bodson, C., *Application de la technologie analytique des procédés dans l'étude de l'homogénéité de mélanges de poudres pour compression directe*. 2007.
151. Kapoor, D., Maheshwari, R., Verma, K., Sharma, S., Ghode, P., & Tekade, R. K..
152. El-Sakhawy, M., et al., *Preparation and infrared study of cellulose based amphiphilic materials*. Cellulose Chemistry and Technology, 2018. **52**: p. 193-200.
153. Daemi, H. and M. Barikani, *Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles*. Scientia Iranica, 2012. **19**(6): p. 2023-2028.
154. Fernandes Queiroz, M., et al., *Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?* Marine drugs, 2015. **13**(1): p. 141-158.
155. Yasmeen, S., Kabiraz, M. K., Saha, B., Qadir, M. R., Gafur, M. A., & Masum, S. M., *Chromium (VI) ions removal from tannery effluent using chitosan-microcrystalline cellulose composite as adsorbent*. International Research Journal of Pure and Applied Chemistry, 2016: p. 1-14.
156. Lee, S. T., Mi, F. L., Shen, Y. J., & Shyu, S. S., *Equilibrium and kinetic studies of copper(II) ion uptake by chitosan-tripolyphosphate chelating resin*. Polymer, 2001. **42**(5): p. 1879-1892.
157. Liu, Q., Li, Q., Xu, S., Zheng, Q., & Cao, X., *Preparation and Properties of 3D Printed Alginate-Chitosan Polyion Complex Hydrogels for Tissue Engineering*. Polymers, 2018. **10**(6): p. 664.
158. Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steurbaut, W., et al., *Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action*. Biomacromolecules, 2003. **4**(6): p. 1457-1465.
159. Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X., *Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles*. Carbohydrate research, 2004. **339**(16): p. 2693-2700.
160. Raafat, D., Von Bargen, K., Haas, A., & Sahl, H. G., *Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound*. Applied and environmental microbiology, 2008. **74**(12): p. 3764-3773.
161. Stössel, P. and J. Leuba, *Effect of chitosan, chitin and some aminosugars on growth of various soilborne phytopathogenic fungi*. Journal of Phytopathology, 1984. **111**(1): p. 82-90.
162. Ross-Murphy, S.B. and H. McEvoy, *Fundamentals of hydrogels and gelation*. British polymer journal, 1986. **18**(1): p. 2-7.
163. Gasperlin, M., Tusar, L., Tusar, M., Kristl, J., & Smid-Korbar, J., *Lipophilic semisolid emulsion systems: viscoelastic behaviour and prediction of physical stability by neural network modelling*. International journal of pharmaceutics, 1998. **168**(2): p. 243-254.

164. Gabriele, D., B. de Cindio, and P. D'Antona, *A weak gel model for foods*. *Rheologica Acta*, 2001. **40**(2): p. 120-127.
165. Yoon, W.-B. and S. Gunasekaran, *Investigation of linear viscoelastic properties of xanthan-carob mixture in sol and gel states*. *Food Science and Biotechnology*, 2009. **18**(3): p. 618-623.
166. Ross-Murphy, S.B., *Physical gelation of biopolymers*. *Food Hydrocolloids*, 1987. **1**(5-6): p. 485-495.
167. Singh, M., A. Tiwary, and G. Kaur, *Investigations on interpolymers complexes of cationic guar gum and xanthan gum for formulation of bioadhesive films*. *Research in pharmaceutical sciences*, 2010. **5**(2): p. 79.
168. Hisano, M., Yamaguchi, K., Inoue, Y., Ikeda, Y., Iijima, M., Adachi, M., & Shimamura, T., *Inhibitory effect of catechin against the superantigen staphylococcal enterotoxin B (SEB)*. *Archives of Dermatological Research*, 2003. **295**(5): p. 183-189.
169. Kim, Y. W., Chun, H. J., Kim, I. W., Liu, H. B., & Ahn, W. S., *RETRACTED ARTICLE: Antimicrobial and antifungal effects of green tea extracts against microorganisms causing vaginitis*. *Food Science and Biotechnology*, 2013. **22**(3): p. 713-719.
170. Friedman, M., *Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas*. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2007. **51**(1): p. 116-134.

APPENDICE A
LISTE DES SYMBOLES ABREVIATIONS

OMS : l'Organisation Mondiale de la Santé

IMC : L'indice de masse corporelle

CRP : C Reactive Protein (protéine C réactive)

LDL : Low density lipoprotein (lipoprotéine de faible densité)

PM : poids moléculaire

DDA : degré de désacétylation

CHI : Chitosane

C CHIT : Chitosane extrait à partir de carapaces de crevettes

S CHIT : Chitosane extrait à partir des os de sépia

AlgNa : Alginate de sodium

CMC Na : Carboxyméthylcellulose sodique

GGC: Gomme Guar Cationique

SIF: Simulated Gastric Fluid

SGF : Simulated Intestinal Fluid

MSR : Modélisation en Surface de Réponse

MLR : Multi-Linear-Regression

CCF : Composite Centred Face (plan composite à face centrée)

CMC Na_{max} Carboxyméthylcellulose à niveau maximal

CMC Na_{min}: Carboxyméthylcellulose à niveau minimal

FTIR : Fourier Transforms InfraRed.

DGAT : Dénombrement des Germes Aérobie Totaux

DLMT : Dénombrement des Levures et Moisissures Totales

E.Coli : Escherichia coli

S.aureus : Staphylococcus aureus

P.aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa

η_{app} : Viscosité apparente

η_0 : Viscosité apparente au repos

η_∞ : Viscosité apparente finale

γ : Vitesse de cisaillement

γ : Déformation

G' : Module de conservation

G'' : Module de perte

LVE: Linear ViscoElastic region

η_s : Viscosité du surnageant

η_m : Viscosité du mélange

G_i : Module de conservation avant gélification

G_f : Module de conservation après gélification

$\tan\delta$: Tangente de perte

C_{tot} : Concentration totale

APPENDICE B

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

✓ Méthode de détermination du poids moléculaire du chitosane

Le poids moléculaire a été déterminé par mesure de viscosités apparente de solutions de chitosane préparé à différentes concentrations dans un solvant constitué de 0,1M d'acide acétique et 0,2 M de NaCl.

Les solutions ont été obtenus par dilutions d'une solution mère de chitosane pour obtenir les concentrations variant de 0,1 à 4 mg / mL.

Les mesures ont été faite à l'aide d'un rhéomètre MCR 302 Anton PaarPhysica (Anton Paar, GmbH, Allemagne) offrant la viscosité des solutions de chitosane correspondant à un domaine dilué possédant un comportement Newtonien.

Les viscosités réduites des solutions de chitosane ont été obtenu en appliquant la relation liant la viscosité intrinsèque d'une solution de polymère à sa viscosité réduite par la relation suivante :

$$\eta_{red} = \frac{\eta - \eta_0}{C \times \eta_0}$$

Où : η_0 Correspond à la viscosité du solvant. ; η : la viscosité de la solution de chitosane ;
 C : concentration de la solution de polymère

Les figures 1 et 2 représentent, respectivement, la variation des viscosités réduites en fonction de la concentration pour le chitosane extrait à partir de carapace de crevettes et celui extrait à partir des os de sépia.

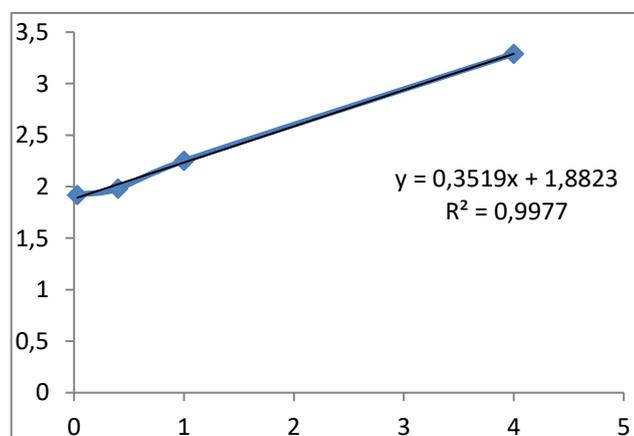


Figure 1 : variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration du chitosane extrait à partir de carapace de crevette.

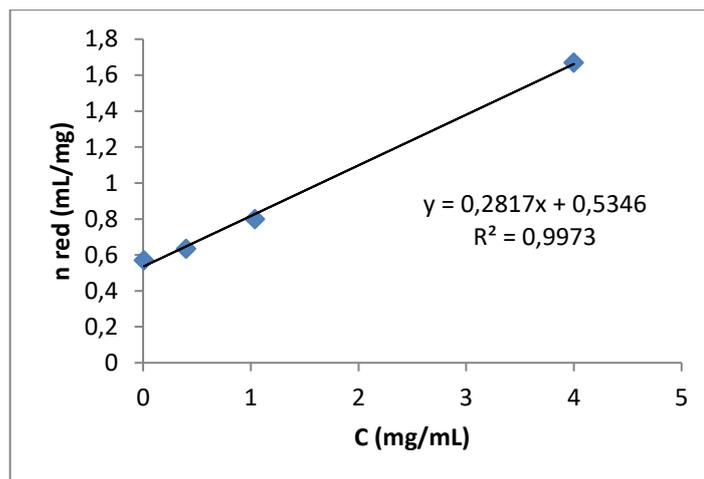


Figure 2 : variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration du chitosane extrait à partir des os de Sépia.

À partir de ces droites ; $[\eta] = KM^\alpha$, où M est la masse molaire moyenne viscosimétrique du polymère, k et α sont les coefficients de Mark-Houwink dont les valeurs sont respectivement $1,81 \cdot 10^{-3}$ ml / g et 0,93 pour des solutions de chitosane préparées dans l'acide acétique 0,1 M / NaCl 0,2 M à 20 °C [1].

La relation peut être réécrite sous la forme suivante en prenant le logarithme de chacun de ces termes :

$$\ln([\eta]) = \ln(K) + \alpha \times \ln(M)$$

✓ Méthode de détermination de la composition chimique de l'extrait obtenu à partir des feuilles de thé vert

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée. Les tests de caractérisation sont basés en partie sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration [2].

➤ Tannins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 mL de chaque extrait, 1 mL d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée à 1% L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleue verte indique la présence des tanins. L'apparition d'une coloration vert foncé indique la présence des tanins catéchiques. L'apparition d'une coloration bleue-verte indique la présence des tanins galliques [3].

➤ **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Deux (2) mL de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique a intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes [4].

➤ **Saponines**

La solution testée a été mélangée avec de l'eau à l'aide d'un tube à essai et secouée correctement. La formation de mousse suggère la présence de saponine.

➤ **Détection des Quinones**

Un aliquote de résidu dissout dans 5 ml de HCl dilué au 1/5, est chauffée au bain-marie bouillant pendant 30 min, puis extraite avec 20 ml de CHCl₃ après refroidissement. À la phase organique, sont additionnés 0,5 ml de NH₄ OH diluée à 50%. L'apparition d'une teinte allant du rouge au violet indique une réaction positive.

➤ **Anthraquinone**

À 10 mL de chacun de nos extraits, on ajoute 5 mL de NH₄OH à 10% et on agite. L'apparition de couleur violette indique un test positif.

➤ **Anthocyanes**

2 mL d'HCl 2 N ont été ajoutés à l'extrait. L'apparition d'un rose-rouge virant au bleu-violet par l'ajout d'ammoniaque indique la présence d'anthocyanes.

APPENDICE C
EVOLUTION PONDERALE/CONSOMMATION ALIMENTAIRE DES
RATS PAR LOTS

Tableau 1 : Evolution pondérale du groupe ayant reçu la suspension E1.

Rats/jours	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 5	Semaine 6
Rat 1	163	172	175	177	184	184
Rat 2	170	179	180	183	183	180
Rat 3	189	191	193	201	206	214
Rat 4	172	177	187	193	186	188
Rat 5	173	188	189	/	/	/
Rat 6	184	187	196	203	204	212
Moyenne	175,16	182,33	186,66	191,4	192,6	195
Ecart-type	9,57	7,42	7,91	11,26	11,39	16,14

Tableau 2 : Evolution pondérale du groupe ayant reçu la suspension E2

Rats/jours	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 5	Semaine 6
Rat 1	179	175	178	183	186	192
Rat 2	178	181	185	191	196	199
Rat 3	190	192	194	195	198	203
Rat 4	178	187	189	192	193	201
Rat 5	165	171	188	194	176	181
Rat 6	186	189	192	194	197	203
Moyenne	179,33	182,5	187,66	191,5	191	196,5
Ecart type	8,57	8,28	5,68	4,41	8,53	8,61

Tableau 3 : Evolution pondérale du groupe Témoin

Rats/jours	Semaine	Semaine	Semaine	Semaine	Semaine	Semaine
	1	2	3	4	5	6
Rat 1	178	182	185	196	213	232
Rat 2	184	199	209	238	255	267
Rat 3	195	201	216	223	229	233
Rat 4	202	209	215	228	239	248
Rat 5	172	178	189	196	211	232
Rat 6	185	191	199	209	215	237
Moyenne	186	193,33	202,16	215	227	241,5
Ecarttype	10,97	11,87	13,27	17,43	17,48	13,89

Tableau 4 : Ration alimentaire restante du groupe ayant reçu une la suspension E1

Jours /Heure	1	2	3	4	24 Heures
	Heure	Heures	Heures	Heures	
Jour 1	200	198	196	192	66,4
Jour 2	200	199	198	188	153
Jour 3	192	178	132	115	79,2
Jour 4	200	198	179	178	112
Jour 5	200	198	194	160	124
Jour 6	198,8	198	193,4	148	99
Jour 7	200	194	192	162	64,6
Jour 8	194	184	184	172,8	86,8
Jour 9	200	186	178	155,4	61,6
Jour 10	200	197,2	190	164	147,2
Moyenne	198 ,48	191,12	183,54	165,52	99,38
Ecart type	2,19	7,49	22,52	27,44	27,73

Tableau 5 : Ration alimentaire restante du groupe ayant reçu une la suspension E2

Jours /Heure	1 Heure	2 Heures	3 Heures	4 Heures	24 Heures
Jour 1	200	199,2	198,2	196	126,4
Jour 2	200	199	199	199	153
Jour 3	200	198	195	192	119,2
Jour 4	200	199	199	198	152
Jour 5	200	199	199	198,2	124
Jour 6	197,4	194	194	193	159
Jour 7	200	197	186	182	98,6
Jour 8	198	196	197	194,4	134,8
Jour 9	194,4	194	190	189,6	141,6
Jour 10	200	198	198	196	167,2
Moyenne	199,02	197,32	195 ,22	194,12	137,58
Ecart type	1,37	1,66	3,77	3,52	16,98

Tableau 6 : Ration alimentaire restante, en gramme, du groupe témoin

Jours /Heure	1 Heure	2 Heures	3 Heures	4 Heures	24 Heures
Jour 1	144	128	120	82	50
Jour 2	103	100.6	99	82	34
Jour 3	124	110	108	99	56
Jour 4	113	105,2	102	114	64
Jour 5	129	116	96	95	60
Jour 6	86	84.2	85	57	20.4
Jour 7	95	92	82	76	58
Jour 8	130	118	109	121	88
Jour 9	117	114,4	103	89	40
Jour 10	120	106	90	95	36
Moyenne	116,1	107,44	99,4	91	50,64
Ecart type	13,48	9,84	9	13,5	14,56

APPENDICE D

RHEOLOGIE

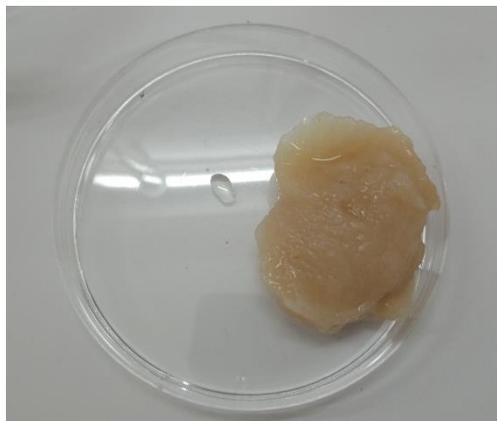


Figure 1 : photo d'un gel type AlgNa : GGC encapsulant l'extrait catéchique de thé vert

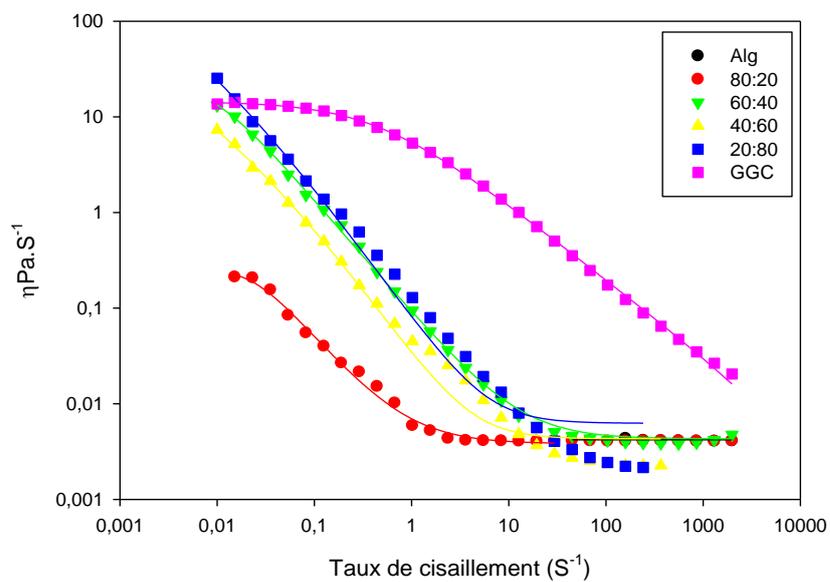


Figure 2 : courbes d'écoulement des mélange alginate de sodium/gomme guar à concentrations égales à (a) 1 %.

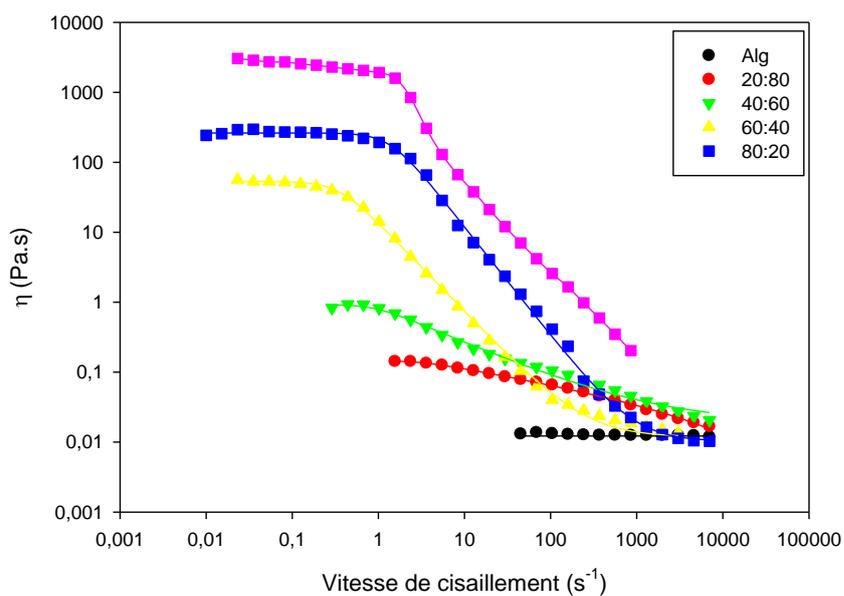


Figure 3 : courbes d'écoulement des mélange alginate de sodium/gomme guar à concentrations égales à 2 %.

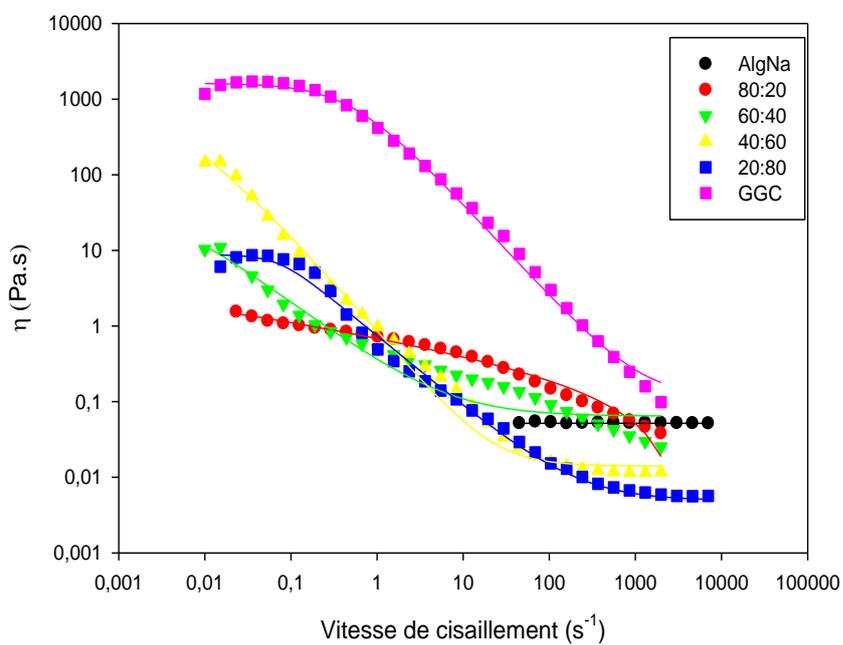


Figure 4 : courbes d'écoulement des mélange alginate de sodium/gomme guar à concentrations égales à 3 %.

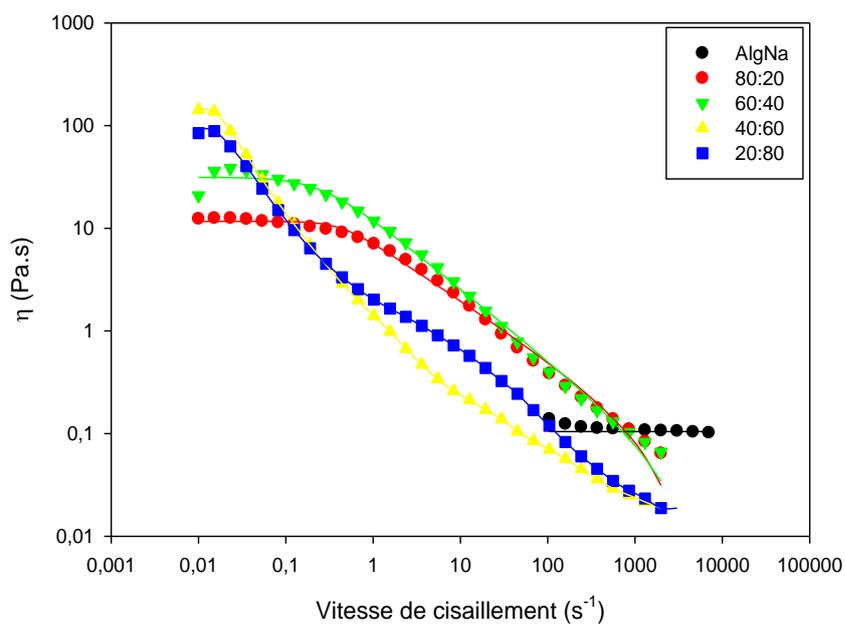


Figure 5: courbes d'écoulement des mélange alginate de sodium/gomme guar à concentrations égales à 4 %.

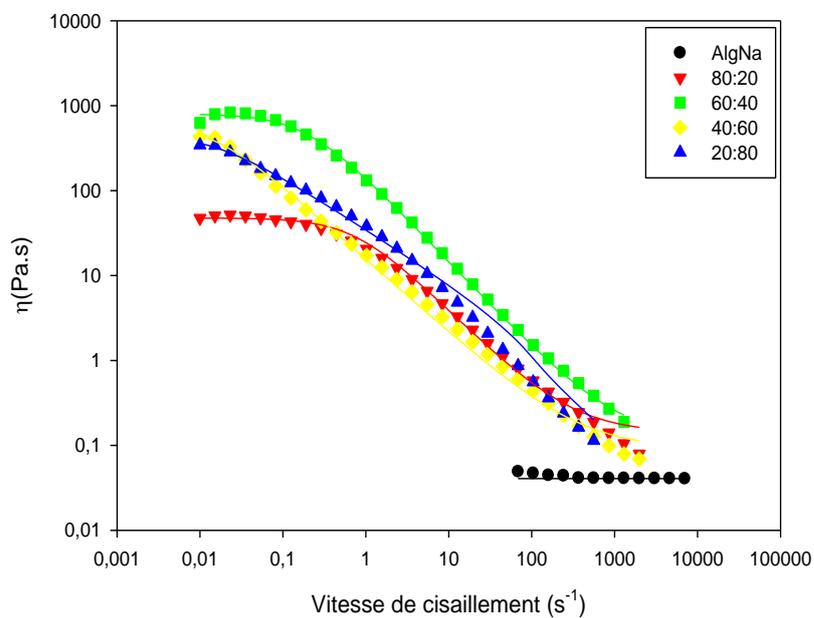


Figure 6 : courbes d'écoulement des mélange alginate de sodium/gomme guar à concentrations égales à 5 %.

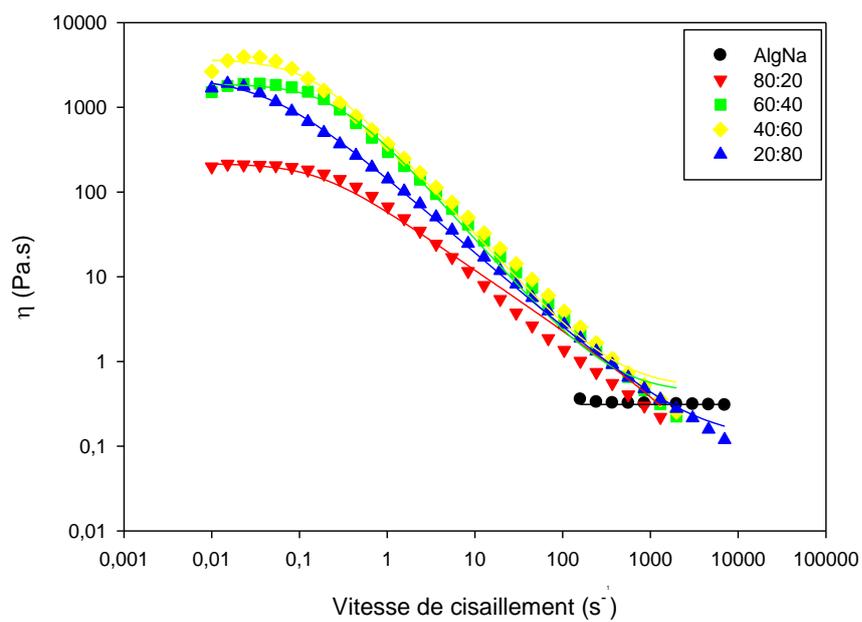


Figure 7 : courbes d'écoulement des mélange alginate de sodium/gomme guar à concentrations égales à 6%.

Références bibliographiques

1. Roberts, G.A. and J.G. Domszy, *Determination of the viscometric constants for chitosan*. International journal of biological macromolecules, 1982. **4**(6): p. 374-377.
2. Badiaga, M., *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali*, 2011, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
3. Boufellous, M., et al., *Phytochemical screen-ing of a medicinal plant: Lavandula stoechas (Lamiaceae)*. J. Pharmacogn. Phytochem, 2017. **6**: p. 56-62.
4. Azzi, R., *Contribution a l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucre dans l'ouest algérien: enquête ethno pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (figus carica) et de coloquinte (citrulluscolocynthis) chez le rat WISTAR*. Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar, Université Abou BekrBelkaid–Tlemcen,(Alger, Algérie), 2013. **13**.