

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ BLIDA 1
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER EN GENIE DES PROCEDES
Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intituler

**Etude de L'effet d'un bio polymère sur la
libération prolongée de la Metformine**

Présenté par :

Amamri Zoubida

Tobal Seghir Nour El Islam

Encadré par :

Promotrice : **Pr Zermane Faiza**

Co-promotrice: **Mourachedi Youssaira**

Co- promotrice : **Dr Zeffouni Z**

Année universitaire 2021/2022

Remerciement

Nous remercions dieu tout puissant qui nous a donné la force, la santé, le courage et la volonté tout au long de notre travail pour qu'il soit une réussite méritée.

Nous tenons à exprimer notre gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice « professeur ZERMANE » Pour avoir suivi attentivement la progression de notre travail, par ses précieux conseils et sa patience, à notre égard.

Nous remercions notre Co-promotrice Docteur « Zeffouni » pour sa collaboration .

Nous remercions la doctorante Mourachedi Youssaira durant cette période, pour sa participation essentielle, pour son soutien et son encouragement.

Nous remercions M^{lle} Chabou AZIZA , pour le temps qu'elle a consacré à nous, pour sa gentillesse et ses précieux conseils ,ainsi que M^{lle} haffsa , et Mme basma pour leur soutien et leur encouragement

Nous remercions le professeur CHEKNNANE, pour son aide et ses instructions qui ont participé à diriger ce travail vers le meilleur.

Nos remerciements s'adressent aussi à notre responsable de master, professeur *HADJ ZIANE*,

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements, à tous ceux et celles qui nous ont soutenu de près ou de loin, lors de la réalisation de ce modeste travail.

Zoubida et N.Islem

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes les années d'étude, pour ses encouragements et ses orientations.

Ma très chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa patience.

A ma chère sœur : Imene

A mes chers frères Mohamed Larbi et Abderraouf

A mes chères copines : Zahra et Lamia « En témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments passés ensemble, je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux

A mon binôme : islem

A Toutes mes camarades, mes cousines, mes tantes, mes amis sans exception

A ma famille et toutes les personnes que j'aime.

A tous mes collègues de la promotion 2021/2022 pharmacie industrielle

Zoubida

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

A mes très chers parents ;

*Ma mère **Hayet** et mon père **Ali***

*Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir, et
de m'encourager pour que je puisse atteindre mes objectifs*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et mes
sincères remerciements*

Que ce travail traduit ma gratitude, ma reconnaissance et mon affection

Je vous remercie d'avoir été toujours à mes côtés

A ma sœur et mon frère

A mon binôme ,

*A tous mes amis en particulier **Boualam** et , **Abdessalam***

A toute ma famille,

Merci à vous tous

N. Islem

ملخص: الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تسليط الضوء على تأثير بوليمر حيوي على الإطلاق المستمر للميتفورمين للقيام بذلك اخترنا البكتين كبوليمر حيوي وكازين كبروتين في صياغة الهيدروجيل وألجينات الصوديوم والبوفيدون في صياغة حبات الجل. تشهد هذه البوليمرات الحيوية تطورًا ملحوظًا في العديد من التطبيقات الطبية والتجميلية والغذائية بسبب أصولها البيولوجية من الموارد النباتية والحيوانية وخصائصها المختلفة مثل ؛ قدرتها على التبلور ، وقابلية الذوبان في الماء ، والتوافق الحيوي والتحلل البيولوجي. أجريت دراسات التحرر في المختبر في وسائط محفزة (المعدة عند درجة الحموضة 1.2 ، و4، والأمعاء عند درجة الحموضة 7) للإفراج الخاضع للرقابة. كان إطلاق الميتفورمين المحتجز في الهيدروجيل المحتوي على خليط البكتين / الكازين فورياً في وسط المعدة المحاكي ، من ناحية أخرى ، أظهرت نتائج إطلاق الميتفورمين من حبيبات الألجينات. إطلاقاً مطولاً في. الوسط المعوي و اطلاقاً فورياً في الوسط المعدي

الكلمات المفتاحية: هيدروكلوريد الميتفورمين ، البوليمر الحيوي ، ألجينات الصوديوم ، البكتين ، إطالة ممتدة

Résumé : L'objectif principal de ce présent travail est de mettre en évidence l'effet d'un biopolymère sur la libération prolongée de la metformine pour ce faire on a choisi la pectine comme un bio polymère et la caséine comme protéine dans la formulation de l'hydrogel et l'alginate de sodium et la povidone dans la formulation des billes gélifiées. Ces biopolymères connaissent un développement remarquable dans divers applications médicales, cosmétiques, et alimentaires du fait de leurs origines biologiques de ressources végétale-animales et leurs diverses propriétés tel que ; leur capacité de gélification, l'hydrosolubilité, la biocompatibilité et leur caractère biodégradable.

Des études de libération in vitro ont été réalisées dans les milieux stimulé (gastrique à pH=1.2, pH=4 et intestinal à pH=7) pour une libération contrôlée. La libération du metformine emprisonné dans l'hydrogel contenant le mélange pectine/caséine était immédiate dans le milieu gastrique simulée, par contre le profil de libération de la metformine a partir du système matricielle des billes d'alginate a montré une libération prolongée dans le milieu intestinale simulé et immédiat dans les deux milieux gastriques.

Mots clés : chlorhydrate de metformine, biopolymère, alginate de sodium, pectine, libération prolongée.

Abstract: The main objective of the present work is to demonstrate the effect of a biopolymer on the sustained release of metformin. For this purpose, pectin as a biopolymer and casein as a protein were chosen in the formulation of the hydrogel and sodium alginate and povidone in the formulation of the gelled beads. These biopolymers are experiencing a remarkable development in various medical, cosmetic, and food applications due to their

biological origins from plant-animal resources and their various properties such as; their gelling capacity, water solubility, biocompatibility and biodegradability.

In vitro release studies were performed in stimulated media (gastric at pH=1.2, pH=4 and intestinal at pH=7) for controlled release. The release of metformin entrapped in the hydrogel containing the pectin/casein mixture was immediate in the simulated gastric environment, however the release profile of metformin from the matrix system of alginate beads showed prolonged release in the simulated intestinal environment and immediate release in both gastric environments.

Key words: metformin hydrochloride, biopolymer, sodium alginate, pectin, extended release.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

TABLE DES MATIERE

LISTES DES FIGURES

LISTES DES TABLEAUX

LISTES DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE 01

Partie N°01 Recherche bibliographique

CHAPITRE 1 Synthèse bibliographique..... 02

1.1.1. 1.1. Aperçu sur la libération prolongée 02

1.1.2. Conception d'un système à libération prolongée 02

1.1.3. Les avantages et les inconvénients des formes à libération prolongée..... 03

1.1.4. Propriétés physicochimiques modulant la cinétique de libération..... 04

A. Solubilité dans le milieu aqueux..... 04

B. Coefficient de partage 04

C. Interactions avec les protéines plasmatiques..... 05

1.1.5. Système matricielle..... 05

1.2.1. Définition des biopolymères..... 06

1.2.2. Classification des biopolymères..... 06

A. Les polymères naturels..... 06

B. Les polymères synthétisés..... 06

C. Les polymères synthétiques..... 06

1.2.3. Les biopolymères dans les systèmes à libération..... 07

1.2.4. Conditions d'utilisations des polymères en libération prolongée..... 08

1.3.1. Définition des polysaccharides..... 08

1.3.2. Classification des polysaccharides..... 08

a. Les polysaccharides hydrosolubles..... 09

b. Les polysaccharides en solution aqueuse..... 09

1.3.3. Propriétés des polysaccharides..... 10

1.3.4. Les hydrogels 11

1.4. Substance pectique..... 12

1.4.1. Description des pectines et leurs origines..... 12

1.4.2 définition de pectine.....	12
1.4.3. Propriétés physico-chimique des pectines.....	13
a. La solubilité.....	13
b. La viscosité.....	13
c. Stabilité et dégradation.....	14
d. Structure des pectines.....	15
1.4.4. Classification des pectines et leur particularité.....	16
1.4.5. Les différentes méthodes d'extraction de la pectine.....	16
a. Hydrolyse en milieu acide.....	17
b. Extraction par micro-ondes.....	17
c. Extraction enzymatique.....	17
d. Extraction par chauffage assisté par ultrasons.....	18
e. Extraction avec des agents de chélation.....	18
f. Autres méthodes d'extraction.....	19
1.4.6. Application pharmaceutique des Pectines.....	19
1.5. Généralité sur la metformine.....	19
1.5.1. Mécanisme d'action de la metformine.....	20
1.5.2. Pharmacocinétique du chlorhydrate de metformine.....	20
a) Absorption.....	20
b) Distribution.....	20
c) Métabolisme.....	21
d) Elimination.....	21

Partie N°02 Partie expérimentale

CHAPITRE 2 Matériels et méthodes.....	22
2.1 Introduction	22
2.2 Matière première de la formulation.....	22
2.2.1 Principe actif (la metformine)	22
2.2.2 Présentation des excipients.....	24
a. L'alginat de sodium	24
b. Povidone K30.....	25
c. Le stéarate de magnésium	25
d. Le lactose monohydraté.....	25
2.3. Matériel et équipement.....	27

2.3.1. Matériels utilisés.....	27
2.4. Méthode de dosage de la metformine par UV-Visible.....	28
2.5. Extraction de la pectine	29
2.5.1. Préparation de la matière végétale.....	29
2.5.2. Préparation des films de pectines.....	30
2.6. Degré d'estérification (DE).....	31
2.6.1. Principe.....	31
2.6.2. Mode opératoire	31
2.7. Extraction de la caséine.....	32
2.8. Formulations.....	34
2.8.1. Formation de gel pectine/caséine	34
2.8.2. Procédé d'encapsulation de la metformine dans les billes gélifiées.....	34
2.9. Caractérisation des billes.....	35
2.9.1. Mesure diamètre des billes	35
2.9.2. Mesure de la densité des billes (masse volumique).....	35
2.9.3. Taux d'humidité.....	36
2.9.4. Mesure du taux de gonflement.....	36
2.9.5. Nombre des particules.....	37
2.10. Observation de la porosité des billes sous loupe.....	37
2.11. Test de dissolution.....	37
2.11.1. Définition.....	37
2.11.2. Courbes d'étalonnages.....	37
2.11.3. Préparation des milieux physiologiques.....	38
2.11.4. Principe du test	38
CHAPITRE 3 Résultats et discussions	42
3.1 Introduction	42
3.2. Détermination de la longueur d'onde la metformine par UV-Visible.....	42
3.3. Formulations	43
a. aspect du gel pectine /caséine.....	43
b. Encapsulation de la metformine dans les billes gélifiées d'alginate de sodium...	43
3.4. Caractérisation des billes.....	44
3.5. Observation de la porosité des billes sous loupe.....	44
3.6. Test de dissolution.....	45
a. Résultats de libération de l'hydrogel.....	45

b. Résultat de libération des billes.....	47
CONCLUSION GENERALE.....	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTES DES FIGURES

Figure 1.1 les profils de libération d'un principe actif	3
Figure 1.2 libération d'un principe actif a partir d'un système matriciel a libération contrôlée...	5
Figure 1.3 classification des biopolymères.....	7
Figure 1.4 Les zones de stabilité de la pectine	14
Figure 1.5 Schéma de la structure principale de la pectine.....	15
Figure 1.6 constituants des pectines.....	16
Figure 2.1 Poudre d'ecorce d'orange.....	29
Figure 2.2 Préparation de la matière végétale à partir des écorces d'oranges.....	30
Figure 2.3 Les etapes d'extraction de la pectine sous reflux.....	30
Figure 2.4 Echantillons de pectines avant et apres le sechage.....	31
Figure 2.5 Montage de determination du degre d'esterification.....	32
Figure 2.6 caseine.....	33
Figure 2.7 : Montage de formation des billes.....	35
Figure2.8 la dissolution de l'hydrogel dans le milieu gastrique pH 1.2.....	38
Figure2.9 la dissolution des billes dans les milieux ; tampon 1.2, tampon 4 et tampon 7 respectivement.....	39
Figure3.1 spectre uv de la metformine.....	42
Figure3.2 texture du gel pectine/caseine.....	43
Figure3. 3 les billes gelifiees.....	43
Figure3.4 porosite des billes.....	44
Figure3.5 Profils de dissolution de la metformine dans le milieu gastrique	45
Figure3.6 Courbe d'etalonnage de la metformine dans le tampon basique ph4.....	45

Figure3.7 Courbe d'étalonnage de la metformine dans le tampon phosphate pH745

Figure3.8 Profils de dissolution de la metformine dans les trois tampons 49

Figure3.9 Profils de dissolution de la metformine dans les trois tampons.....49

LISTES DES TABLEAUX

Tableau1.1 Exemples des polysaccharides	09
Tableau1.2 Principales sources de pectines d'interet industriel.....	13
Tableau2.1 Les propriétés physico-chimiques de la metformine.....	23
Tableau2.2 Les propriétés physico-chimiques des produits utilisés	24
Tableau2.3 Presentation des excipients.....	26
Tableau2.4 Matrice des excipients utilises	27
Tableau2.5 Matériels de preparation de l'hydrogel et des billes d'alginate de sodium.....	28
Tableau3.1 Caractéristiques physiques des billes	44
Tableau3.2 valeurs des concentrations de la metformine	46
Tableau3.3 Les pourcentages de dissolution de la metformine.....	46
Tableau3.4 valeurs des concentrations de la metformine dans les trois tampons.....	48
Tableau3.5 Les pourcentages de dissolution de la metformine dans les trois tampons.....	48

LISTES DES ABREVIATIONS

PA : Principe Actif

pH : potentiel Hydrogène.

FDA: Food and Drug Administration

l'UKPDS ‘‘United Kingdom Prospective Diabetes Study

RGI : Rhamnogalacturonane I.

RGII : Rhamnogalacturonane II.

DM : Degré de méthylation.

LM : lowméthoxy(faiblement méthylé).

HM : high méthoxy(hautement méthylé)

λ_{max} : Longueur d'onde maximale

PLA : l'acide polylactique

PHA : polyhydroxyalcanoate

PHB :polyhydroxybutyrate

LP : libération prolongée.

Mg : magnésium.

Mg : milligramme.

ml/min : millilitre par minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

mn : minute.

mol : mole.

HPMC : Hydroxy Propyl Methyl

Abs : absorbance

SGF : milieu gastrique stimulé

SIF : milieu intestinale simulé

GI : gastro intestinal

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

La pharmacie galénique est l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments [1]. Ces médicaments sont préparés à base d'un principe actif et des excipients. Il est important de noter que le principe actif ne peut pas être absorbé plus rapidement, ni plus complètement, qu'il ne s'est préalablement libéré de son support galénique puis dissous dans le milieu biologique du site d'administration. L'intensité et la vitesse de libération sont les facteurs limitant de l'intensité et de la vitesse d'absorption ; ils constituent le principe même de la conception des formes à libération prolongée. La modification de la libération peut résulter de caractéristiques voulues (excipients, processus de fabrication...) allant dans le sens de l'allongement de la libération ou de son raccourcissement par rapport à la libération immédiate [2].

Les formes à libération prolongée libèrent une quantité initiale du principe actif qui permet d'atteindre la zone d'efficacité thérapeutique, puis la libération continue à une vitesse telle qu'elle compense l'élimination du principe actif [3]

L'objectif de notre travail est donc de formuler un hydrogel et des billes à libération prolongée à base de Metformine destinés à une étude de dissolution in vitro. Pour atteindre notre objectif on a choisi d'utiliser des polymères naturels comme agents retardataires ; ces biopolymères sont la pectine et la caséine qu'on a extraites nous-mêmes pour formuler l'hydrogel, et l'alginate de sodium pour les billes.

Afin d'organiser notre mémoire nous l'avons structuré en deux parties :

La première consiste en une recherche bibliographique, dans laquelle nous rapportons d'abord quelques informations sur la libération prolongée ; ensuite nous faisons le point sur les polysaccharides et précisément les biopolymères, et enfin des généralités sur la Metformine.

La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, qui est organisée en deux chapitres ; le premier regroupe le matériel et les méthodes utilisés à savoir la présentation du principe actif (Chlorhydrate de metformine) et les excipients utilisés. Ainsi que les différents protocoles expérimentaux et les différents matériaux utilisés lors de ce travail. Le

deuxième chapitre regroupe les différents résultats expérimentaux ; ainsi que leur interprétation

Enfin ce manuscrit s'achève par une conclusion générale

Partie N°01

Recherche bibliographique

CHAPITRE 1

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I. Synthèse bibliographique

1.1. Aperçu sur la libération prolongée

1.1.1. Définition d'un système à libération prolongée

La libération prolongée d'un médicament signifie que le principe actif est libéré de sa forme galénique sur une période de temps plus ou moins étendu, parfois à vitesse constante. Le but étant de réduire la fréquence d'administration, et d'augmenter la durée d'action du principe actif en maintenant sa concentration plasmatique supérieure à la concentration minimale efficace le plus longtemps possible. Un système à libération prolongée permet de diminuer la toxicité du produit en réduisant la hauteur du pic de concentration dans l'organisme [4].

Le système idéal de libération contrôlée doit être de plus compatible, simple à stériliser, facile à utiliser, pour le patient. Il doit en outre permettre d'incorporer une grande quantité du principe actif tout en le protégeant des enzymes du corps humain et doit se dégrader ou être éliminé sans problème. Il doit présenter un profil de cinétique de libération du principe actif correspondant à l'objectif recherché [5]

1.1.2. Conception d'un système à libération prolongée

Un système de libération prolongée comporte un principe actif et le matériel dans lequel le principe actif est chargé. Pour cela, le choix du principe actif et du polymère avec les propriétés désirées est un facteur principal en concevant un système à libération prolongée. Avant de concevoir un système de libération prolongée, on doit choisir le chemin de libération des principes actifs avec plusieurs considérations incluant les propriétés physiques et chimiques de la drogue, les doses de PA, la voie d'administration, type de système de la libération, effet thérapeutique désiré, dégagement physiologique de la drogue du système de la livraison, biodisponibilité de drogue au site d'absorption, et la pharmacodynamie des drogues [6]

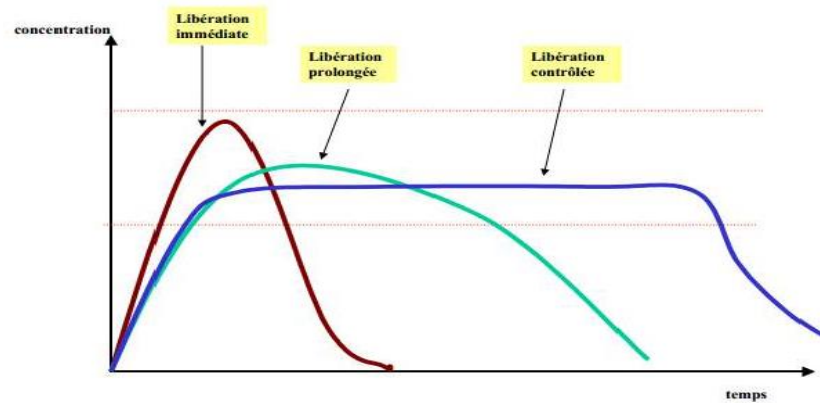


Figure 1.1 Les profils de libération d'un principe actif[5]

1.1.3. Les avantages et les inconvénients des formes à libération prolongée :

En contrôlant la vitesse de libération du PA à partir de la forme pharmaceutique, les formes à libération prolongée offrent plusieurs avantages par rapport aux autres formes : [7]

- La réduction des prises journalières
- Accroissement du confort du malade,
- Amélioration de l'observance du traitement,
- Diminution des effets secondaires indésirables par suppression des pics plasmatiques,

L'utilisation des formes à action prolongée comporte certains inconvénients tels que [08] :

- La difficulté d'interrompre instantanément le traitement en cas d'intolérance ou d'intoxication,
- Le risque de surdosage dû à un mauvais usage (mastication, broyage, etc.) ou à un défaut de fabrication,
- Les coûts élevés de fabrication,
- La possibilité réduite d'un ajustement des doses.

1.1.4. Propriétés physicochimiques modulant la cinétique de libération prolongée

Propriétés physicochimiques des drogues affectent les performances de libération dans l'organisme [09]. Elles peuvent être déterminées à partir des expériences in vitro [10].

Ces propriétés incluant la solubilité aqueuse, stabilité de drogue, la taille moléculaire, le coefficient de partage, et la liaison moléculaire aux protéines, peuvent empêcher/réduire l'emploi des drogues dans la libération contrôlée, limitent la voie d'administration de drogue, et limite de manière significative les performances de dégageant.

a. Solubilité dans le milieu aqueux

Les extrêmes dans la solubilité aqueuse d'un PA sont en général peu souhaitables lors de la préparation de formes à action prolongée. La raison principale de cette restriction est reliée à la vitesse de dissolution du médicament. Un PA faiblement soluble dans l'eau présente des problèmes dans la conception d'un système à libération contrôlée puisque la disponibilité du PA sera déjà contrôlée par sa vitesse de dissolution. Dans certains cas, la diminution de la taille des particules à moins de 1 micromètre a permis une augmentation significative de la vitesse de dissolution de principes actifs peu soluble rendant probablement leur incorporation dans une forme à action prolongée plus avantageuse.

Dans certains cas, à cause d'une vitesse de dissolution très élevée, les médicaments très solubles dans l'eau peuvent être difficiles à contrôler et/ou prolonger leur vitesse de libération à partir de formes à action prolongée [11].

b. Coefficient de partage

Le coefficient de partage et la taille moléculaire influence non seulement la perméabilité d'une drogue à travers la membrane biologique mais également la diffusion à travers une membrane ou une matrice contrôlant le taux libéré [12].

En général, les médicaments à très haut coefficient de partage (c.à.d. très liposolubles) vont pénétrer facilement les membranes du corps produisant une accumulation dans les tissus, suivie d'une élimination lente. Une autre possibilité est que le PA reste localisé dans la phase lipidique du tissu, puisqu'il doit traverser des barrières huileuses et aqueuses lors de son passage à travers les tissus. Dans les deux cas, un système à libération contrôlée paraît peu utile pour ce type de PA [13].

c. Interactions avec les protéines plasmatiques

L'interaction entre le PA et les protéines plasmatique influence la durée d'action de drogue. Il est bien connu que des protéines sanguines sont la plupart du temps recyclées et pas éliminées, ainsi la liaison entre les protéines et le PA peut servir à un dépôt du PA produisant un profil de libération prolongée si un degré élevé de la liaison se produit [14].

1.1.5. Le Système matricielle

Le système matriciel consiste en un principe actif dissous ou dispersé d'une manière homogène dans toute la matrice polymère (figure 02). La vitesse de libération du principe actif à partir de ce type de systèmes est constante (uniforme) [15,16]. Il existe plusieurs approches pour réaliser le système matriciel, citant ce qui suit [17] :

- Méthode de compression directe : il s'agit de mélanger des particules de polymère et de principe actif suivi par une compression directe pour avoir un comprimé.
- Dissolution du polymère et le principe actif dans un solvant approprié (adéquat) suivi par une extraction du solvant.
- Incorporation du principe actif dans un polymère par polymérisation du mélange principe actif-monomère ou par le gonflement d'un hydrogel dans une solution du principe actif.

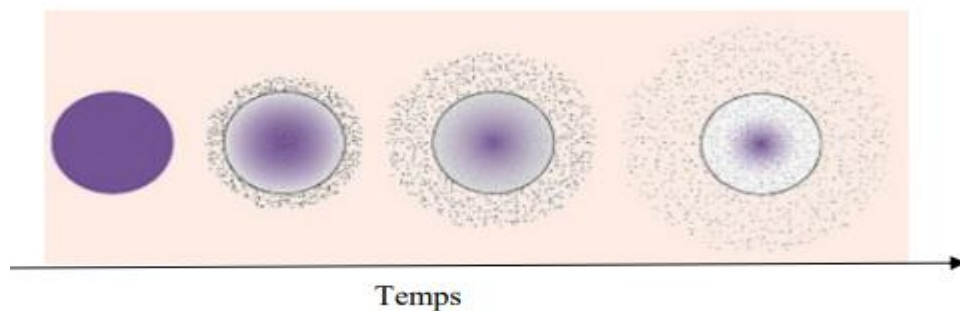


Figure 1.2 Libération d'un principe actif à partir d'un système matriciel à libération contrôlée[17]

1.2. Les biopolymères

1.2.1. Définition des biopolymères

Les bio-polymères sont des macromolécules synthétisées par des organismes vivants. Ils sont composés de glucides lorsqu'il s'agit de polysaccharides, d'acides aminés dans le cas des protéines ou encore d'alkanoates dans le cas des biopolymères d'origine bactérienne. Une autre famille de bio-polymères regroupe des molécules issues de la polymérisation de monomères naturels renouvelables, tels que l'acide lactique ou des triglycérides. Chez les polysaccharides, on distingue deux catégories : les homopolysaccharides, constitués du même ose comme le glucose dans la cellulose ou l'amidon, et les hétéropolysaccharides, formés de différents oses (pectines, hémicelluloses). Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs des parois cellulaires des végétaux (cellulose, pectines, hémicelluloses), contribuant aux propriétés mécaniques des organes et aux mécanismes de défense contre des agressions biotiques et abiotiques. Les polysaccharides comme l'amidon ont également un rôle essentiel dans le stockage de l'énergie. Ces bio-polymères se trouvent généralement sous la forme de composites complexes formés via des interactions avec différents types de macromolécules (différentes structures de polysaccharides, de protéines ou de polyphénols) [18].

1.2.2. Classification des biopolymères :

Les biopolymères peuvent être classés en trois groupes [19] :

- **Les polymères naturels**, qui sont divisibles en deux familles : polysaccharides (amidon, cellulose, chitine l'alginate, le caragenane.....) et protéines (animales ou végétales);
- **Les polymères synthétisés** par des bactéries (fermentation), tels que le polyhydroxyalcanoate (PHA) et le polyhydroxybutyrate (PHB);
- **Les polymères synthétiques** issus de biotechnologie de monomères naturels, tels que l'acide polylactique (PLA).

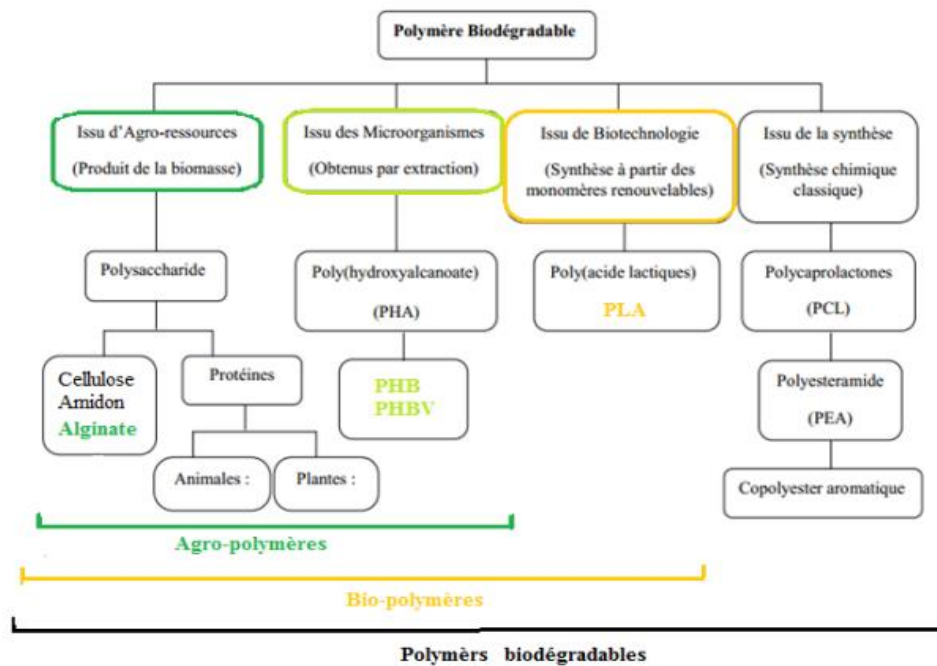


Figure 1.3 Classification des biopolymères [19]

1.2.3. Les biopolymères dans les systèmes à libération :

Les polymères, pendant des décennies, ont exécuté une fonction valable comme excipients dans les formulations de comprimé et de capsule entrés de façon constante dans l'arène parentérale, et sont maintenant capables des fonctions de plus en plus avancées. [20] [21]

Ils ont été utilisés en tout temps dans l'histoire de la médecine souvent de façon empirique. Dans les années 1960 à 1970, les polymères déjà disponibles sur le marché étaient utilisés pour développer des formulations à libération prolongée de médicaments. [22]

La libération prolongée des médicaments a eu son commencement par les enduits simples de cire, qui ont prolongé la libération des drogues prises oralement. La combinaison de très petits granulés de drogue ayant différentes solubilités et différentes épaisseurs d'enrobage encapsulés dans une capsule de gélatine a eu comme conséquence la première libération prolongée par formulation à froid. [23]

1.2.4. Conditions d'utilisations des polymères à libération prolongée :

Pour convenir à la réalisation d'une forme à libération prolongée, le polymère doit répondre aux trois exigences générales suivantes : [24]

- ✓ Il doit présenter certaines caractéristiques de libération du PA en relation avec les propriétés physico-chimiques du PA et les exigences pharmacocinétiques.
- ✓ Il doit posséder une résistance mécanique suffisante pour permettre l'administration de la forme médicamenteuse et le maintien de son intégrité relative au cours du traitement.
- ✓ Il doit être compatible avec les muqueuses et les tissus récepteurs.

L'importance relative de ces exigences change dépendamment à l'application particulière. Dans le développement d'un polymère pour l'usage dans la libération prolongée, les fabricants considèrent soigneusement chacun des facteurs mentionnés ci-dessus. La convenance des polymères aux applications particulières est déterminée, et le polymère est lancé sur le marché basé sur ses avantages. [25]

1.3.Généralités sur les polysaccharides :

1.3.1. Définition des polysaccharides :

Les polysaccharides sont des macromolécules de glucides polymériques constituées de longues chaînes d'unités de sucre liées entre elles par des liaisons glycosidiques et / ou combinés avec différentes chaînes de ramification. Leur structure Chimique varie de polymère linéaire à polymère ramifié. [26].

1.3.2. Classification des polysaccharides :

Les polysaccharides peuvent être classés :

- Les polysaccharides homogènes ou les homopolysaccharides (homoglycane) lorsque tous les monosaccharides sont du même type, comme la cellulose
- Les polysaccharides hétérogènes ou les hétéropolysaccharides (hétéroglycanes) lorsque plus d'un type de monosaccharide est présent, comme la pectine, etc. [26].

Dans le tableau suivant, nous citons des exemples de polysaccharides :

Tableau1.1 Exemples des polysaccharides [26]

Sources	Polysaccharides
Animale	Glycosaminoglycane : ✓ Chitine ✓ Hyaluronate ✓ Chondroïtine
Bactérienne	✓ Curdlane ✓ Gellane ✓ Pullulane ✓ Xanthane
Végétale	✓ Amidon ✓ Pectine ✓ Oligosaccharides ✓ Cellulose
Algale	✓ Agar ✓ Carraghénane ✓ Ulvane ✓ Alginates

a. Les polysaccharides hydrosolubles :

Cette classe de polysaccharide, semble être la plus répandue sur le plan pratique de point de vue applications dans des domaines variés, en vue de leur caractère très hydrophile ainsi que leur aptitude à l'hydratation, en fixant l'eau en empêchant le dessèchement des cellules et des tissus. En effet, Selon Glicksman [27], le mot « gommes hydrosolubles ou hydrocolloïdes » a un sens considérablement plus élargi, c'est des polysaccharides solubles ou faciles à disperser dans l'eau et qui donnent des solutions de très haut viscosité et dans certain cas, ils forment des gels à faible concentration [28]. .

b. Les polysaccharides en solution aqueuse :

Dans l'eau, les polysaccharides s'organisent sous forme d'un réseau transitoire dans lequel les liaisons intermoléculaires se forment et se rompent au cours du temps [29]. Ils adoptent dans l'espace une conformation qui dépend de sa structure moléculaire (masse molaire et flexibilité de la chaîne), qui peut aussi varier dans une gamme très large en fonction de son environnement (interactions entre les éléments de la chaîne et les molécules du solvant). En fonction de la concentration volumique apparente des polymères en solution, de la nature et de l'intensité de leurs interactions, de nouveaux types de structures collectives peuvent apparaître (enchevêtrements, agrégats) et considérablement affecter le comportement rhéologique de la solution [30].

1.3.3. Propriétés des polysaccharides :

Les polysaccharides présentent des critères intéressants qui suscitent un grand intérêt pour leur application dans des secteurs variés : agro-alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, industrie du papier, du textile et autres. Ils sont largement utilisés comme agent texturant ou stabilisant.

Ce sont des polymères naturels, hydrosolubles, biodégradables et biocompatibles. Ils sont utilisés aussi comme épaississantes (ex : le xanthane, la gomme de guar) et gélifiante (ex : l'alginate, la pectine) [31], car les polysaccharides sont principalement hydrophiles avec un poids moléculaire élevé et leur activité de surface est faible en raison de leur fort caractère hydrophile alors Ils sont couramment utilisés en stabilisation d'émulsion en tant qu'épaississants ou gélifiants de la phase aqueuse

Les polysaccharides ont aussi une affinité pour l'eau du fait de la présence des fonctions hydroxyles. Lors de leur dispersion les polysaccharides peuvent augmenter de volume jusqu'à 10 fois leur volume initial ; cette caractéristique leur confère des propriétés de rétention d'eau [32].

Les polysaccharides peuvent conférer de nombreuses propriétés aux solutions dans lesquelles ils sont solubilisés/dispersés. Ils agissent ainsi notamment sur :

Viscosité, Viscoélasticité, Formation de gel, Emulsification, Stabilisation colloïdale
Texture Gélifiantes et épaississantes

La gélification est un phénomène par lequel les molécules s'agrègent pour former un réseau ordonné (liaisons intermoléculaires plus ou moins fortes). [32]

- La structure gélifiée implique la formation d'un réseau tridimensionnel présentant un comportement (semi-)solide.
- Le solvant (eau) est emprisonné dans ce réseau et ne peut se déplacer librement.
- Si aucune liaison intermoléculaire n'est possible, on aura un épaissement pur. Le colloïde ne pourra donner que des solutions visqueuses.
- L'épaississement entraîne une modification de l'aspect (notion de viscosité) et de texture.
- La caractérisation des propriétés gélifiantes et épaississantes se fait à plusieurs niveaux:
 - Méthodes viscosimétriques (propriétés d'écoulement et propriétés viscoélastiques).
 - Analyse de texture (force de gel).
 - Influence de la concentration (détermination de la concentration minimale de gélification).
 - Comportement thermique (gélification à chaud/à froid, thermo réversibilité).

1.3.4. Les hydrogels :

Un hydrogel se définit comme un réseau tridimensionnel à base des polymères hydrophiliques synthétiques ou naturels qui se gonfle en présence d'eau. Le réseau est formé par la réticulation des chaînes de polymère entre elles par liaison covalente, liaison Hydrogène, interactions de Van der Waals. .

Les hydrogels forment une matrice qui protège le principe actif de la dégradation et de l'inactivation, sa forte hydrophilicité permet l'incorporation de substances hydrosolubles et lui confère un caractère biocompatible.

1.4.Substance Pectique :

1.4.1. Description des pectines et leurs origines :

Au début du XXème siècle, les pectines sont produites industriellement et sont utilisées comme agent gélifiant des denrées alimentaires. Les pectines participent à la cohésion de la cellule et au maintien des parois par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi. Bien que les pectines puissent être extraites d'un grand nombre de végétaux comme le montre le (Tableau I), les sources industrielles principales sont le marc de pomme et les écorces d'agrumes D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau [38].

1.4.2. Définition de pectine :

Les pectines sont des polysides, rattachées aux glucides. Ce sont des substances exclusivement d'origine végétale. Les pectines sont présentes en grande quantité dans les parois primaires des dicotylédones, et en particulier dans les parois végétales de nombreux fruits et légumes. Elles sont extraites industriellement des coproduits de l'industrie des jus de fruits, principalement des agrumes et en moins grande quantité des marcs de pomme [35]

Les pectines sont une famille de polysaccharides complexes, Elle est principalement composée de trois types : homogalacturonanes (HGA), rhamnogalacturonans I (RGI) et rhamnogalacturonans II (RGII) [36]

Les pectines sont largement utilisées en tant qu'agent épaississant, texturant, émulsifiant, stabilisant et gélifiant dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Ils ont diverses activités biologiques telles que la cicatrisation, la

réduction de l'activité de la lipase, l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses humaines par la stimulation de l'apoptose et la diminution du taux de cholestérol [37]

Tableau1.1 Principales sources de pectines d'intérêt industriel[38]

Fruit	Teneur en substances pectiques (% m/m)
Zeste d'orange	3,5-5,5
Pulpe de citron	2,5-4,0
Pomme	0,5-1,6
Banane	0,7-1,2
Pêche	0,1-0,9
Fraise	0,6-0,7
Tomate	0,2-0,6
Carotte	0,2-0,5
Fruit de passion	0,5
Mangue	0,26-0,42
Ananas	0,04-0,13

1.4.3. Propriétés physico-chimiques des pectines :

a. La solubilité :

D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau, celle-ci étant un bon solvant pour les pectines. La pectine est un bio polymère hydrosoluble qui donne des solutions visqueuses. En outre, la pectine a des capacités gélifiantes. Des solutés jusqu' à environ 4% (p/p) peuvent être préparés. L'hydrosolubilité diminue quand le DM diminue [39]

La pectine se solubilise grâce à 3 étapes successives : hydratation, gonflement et dissolution.

b. La viscosité :

La Viscosité des pectines est faible par rapport à la plupart des autres gommés. Les pectines ont la capacité de former des solutions viscoélastiques et un réseau structural qui

sont très utilisées dans les gelées, les confitures et marmelades. Toutefois, les pectines ont des conséquences intéressantes grâce au comportement newtonien des solutions de pectines à concentration faible.

La Viscosité est particulièrement remarquable chez les pectines d'agrumes qui possèdent des poids moléculaires élevés. Elles sont utilisées dans la production de certains produits comme les jus de fruits concentrés pour restituer la viscosité caractéristique des jus.

Les pectines de la betterave sucrière ont une faible viscosité et un faible pouvoir gélifiant par rapport à celles issues du citron ou de la pomme, ce qui limite leur application dans l'industrie alimentaire. Ces propriétés physiques ont été attribuées d'une part, au nombre important de groupements acétyles présents dans leurs chaînes et d'autre part, à leur poids moléculaire relativement faible [40].

c. Stabilité et dégradation :

Les pectines en solution sont stables à pH 3-4. Pour des pH et à basse température, les groupements acétyles et méthyles sont déstabilisés et les sucres neutres sont hydrolysés. Si la température augmente l'hydrolyse est accélérée.

En milieu alcalin et à basse température, les groupements esters sont saponifiés, En milieu neutre et à température ambiante, la saponification est accompagnée de la réaction de dépolymérisation.

Cette dégradation a lieu uniquement dans les liaisons glycosidiques et dans les résidus de l'acide galacturonique méthoxylés. À des températures $>60^{\circ}\text{C}$, la dégradation n'a lieu qu'à un pH légèrement acide (pH proche de 5) [40]. (Figure 04)

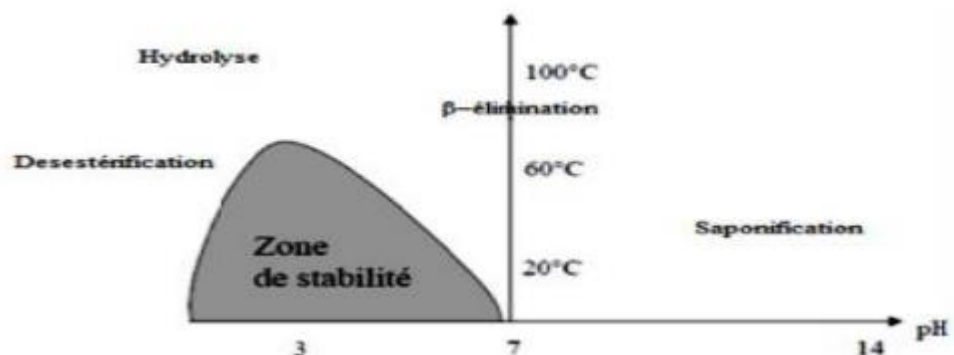


Figure 1.4 Les zones de stabilité de la pectine[40]

d. Structure des pectines :

La pectine est un hétéropolysaccharide complexe dont la composition varie selon l'origine de la matière première et les méthodes d'extraction, elle ne peut donc pas être caractérisée en termes de structure et de conformation générale spécifique. Cependant, il est possible d'identifier les éléments structuraux distinctifs contenus dans la substance pectique [41].

Les pectines ont pour structure de base un enchainement linéaire d'unités acide D-galacturonique (ou Homogalacturonane (**HG**) reliées entre elles par des liaisons glycosidiques α (1-4), plus ou moins estérifiées (méthyles) et/ou partiellement acétylés en **O-2** ou **O-3** (figure I.2). La chaîne principale peut être interrompue par des enchainements alternés de résidus rhamnose et acide D-galacturonique rhamnogalacturonanes (**RG**). Ces derniers enchainements peuvent être ramifiés par des chaînes latérales riches en unités arabinose et galactose (arabinanes, galactanes et arabinogalactanes [41]

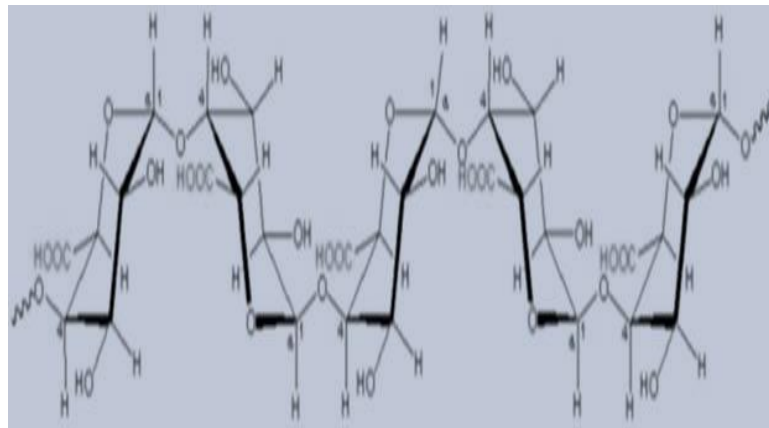


Figure 1.5 Schéma de la structure principale de la pectine [41]

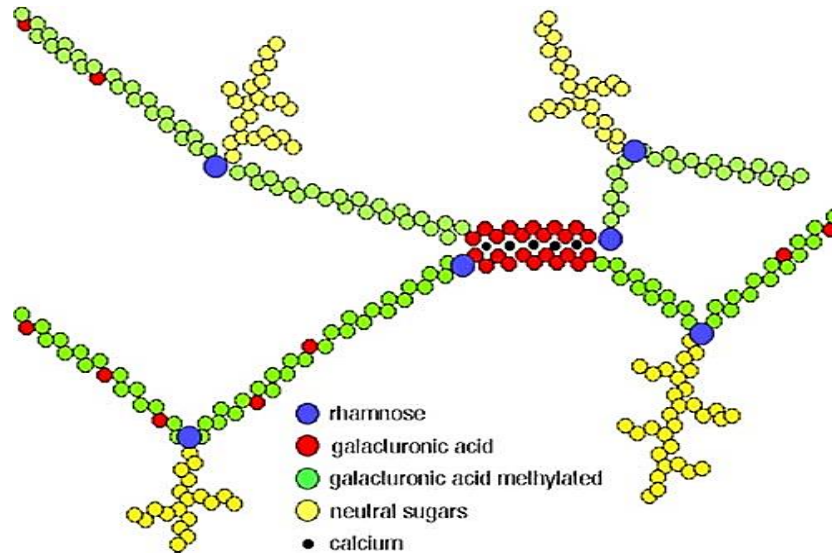


Figure 1.6 Constituants des pectines [41]

1.4.4. Classification des pectines et leur particularité :

Les pectines sont divisées en référence à leur degré de méthylation en deux catégories

a. Pectines hautement méthylées (HM) : ce sont les pectines dont plus de 50% des groupements carboxyles sont estérifiés avec le méthanol.

b. Les pectines faiblement méthylées (LM) : ce sont les pectines dont moins de 50% de groupements carboxyles sont estérifiés. Pour certaines pectines LM, les fonctions acides sont neutralisées par de l'ammoniac (NH_3) et forment une fonction amide. Ce sont les pectines amidées ou pectines LMA (low Methylated Amidated pectins) . [42]

1.4.5. Les différentes méthodes d'extraction de la pectine

La pectine fut isolée pour la première fois par J. Braconnot en 1825, mais ce n'est qu'au début du 20e siècle qu'elle est extraite de façon industrielle. D'abord pour compenser la faible teneur en pectine de certains fruits, aujourd'hui son usage s'est étendu dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire, notamment pour ses propriétés viscosifiantes, stabilisantes et gélifiantes .L'industrie utilise principalement des sources riches en pectine comme le marc de pomme (reste des pommes broyées et pressées) ou les écorces d'agrumes qui sont riches en propectine (précurseur de la pectine liée aux autres composants de la paroi primaire) et en acide pectinique. D'autres sources moins utilisées existent comme la betterave à sucre, la mangue et le fruit de la passion. [43]

a. Hydrolyse en milieu acide :

Le procédé d'extraction en milieu acide de la pectine consiste à hydrolyser le polymère, par cuisson en milieu acide des sous-produits issus de l'industrie du jus de fruits .

Dans une première étape, l'hydrolyse acide dans une solution chaude va transformer la propectine en acide pectinique. Cette réaction chimique intervient au niveau des liaisons entre la propectine et les autres constituants de la paroi cellulaire. Il en résulte une fraction insoluble, comprenant l'acide pectinique, et une fraction soluble. La fraction insoluble est séparée, puis concentrée. Elle est ensuite mélangée avec de l'alcool (isopropanol) pour faire précipiter la pectine et former un coagulum. Celui-ci est lavé, séché et broyé pour obtenir une poudre. La pectine obtenue est généralement HM, elle devra subir une seconde étape de désestérification chimique pour devenir LM [43]

b. Extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes est une méthode qui réduit considérablement le temps et les coûts d'extraction par rapport à l'hydrolyse en milieu acide. En effet, 15 min de chauffage par micro-ondes est équivalent, en quantité de pectine extraite, à une extraction de 3h en milieu acide. De plus, l'extraction par micro-ondes limiterait les phénomènes de dépolymérisation de la pectine qui peuvent être observés lors de l'extraction acide. Dans cette méthode, lors du chauffage par micro-ondes, la pression s'accumule dans le matériau à extraire. Cette pression modifie la structure cellulaire du résidu et permet une meilleure pénétration des solvants d'extraction (acide citrique, acide chlorhydrique, acide nitrique) [44]

c. Extraction enzymatique

L'extraction enzymatique de la pectine est effectuée par la pectinase.

La pectinase est une enzyme extraite de micro-organismes et de champignons. Le traitement enzymatique intervient sur les liaisons osidiques de la pectine et assure leurs coupures. Cette action diminue la viscosité de la solution, facilitant la filtration et la centrifugation. Cette méthode d'extraction a l'avantage d'être moins polluante que les précédentes. De plus, les pectinases ont une réactivité spécifique à la pectine. Cependant, la production enzymatique reste coûteuse et la réaction est difficile à contrôler. Enfin, cette méthode peut entraîner une dégradation de la pectine et une perte de ses propriétés [45]

d. Extraction par chauffage assisté par ultrasons :

L'extraction à chaud assisté par ultrasons est une méthode étudiée pour diminuer le temps d'extraction et augmenter le rendement par rapport aux méthodes classiques (hydrolyse en milieu acide). Cependant, les recherches portant sur ce type d'extraction restent limitées. En effet, il a été constaté que les ultrasons ont tendance à dégrader les polymères comme la pectine [46]

En milieu liquide, le traitement par ultrasons conduit à un phénomène de cavitation. Cela entraîne la formation de bulles microscopiques instables qui vont imploser. Ce phénomène fait varier la température et la pression à proximité des bulles. Ces conditions modifient la structure du résidu mis en solution, ce qui permet une meilleure pénétration des solvants d'extraction. [46]

e. Extraction avec des agents de chélation :

La pectine est très répandue dans la lamelle moyenne. Dans cette zone, elle forme des liaisons avec des ions calcium, formant des pectates de calcium. Ainsi, cette caractéristique est utilisée pour l'extraction par les agents chélateurs. Les chélateurs, comme l'éthylène diamine tétraacétate (EDTA), le cyclohexanediamine tétraacétate (CDTA) ou encore les tampons imidazole, vont capter le cation Ca^{2+} pour former un complexe. Cette capture entraîne une désorganisation de la structure formée avec le cation et permet l'extraction de la pectine désolidarisée de la matrice. Cette extraction a l'avantage de ne pas endommager les chaînes de pectine. Cependant, la purification des chélateurs est difficile. Et leur présence dans le produit final affectent les propriétés de gélification de la pectine. [47]

f. Autres méthodes d'extraction :

Il existe d'autres options pour l'extraction de la pectine comme l'extraction par l'autoclave, ou encore les procédés physiques comme le prétraitement par cuisson-extrusion.

1.4.6. Application pharmaceutique des Pectines :

Dans les applications pharmaceutiques modernes. La pectine a suscité un grand intérêt en tant qu'excipient pour les systèmes d'administration de médicaments. La libération du médicament à partir du côlon peut être obtenue en utilisant des formes posologiques contenant de la pectine seules ou en combinaison avec d'autres polymères. Le profil de libération du médicament peut varier en fonction du degré d'estérification. La pectine a des propriétés bioadhésives et peut être utilisée pour la libération nasale. De plus, la pectine est une fibre alimentaire soluble censée réduire le risque de cancer du côlon. La pectine peut être formulée sous forme de solution, de gel ou de film. Et pour les sirops, suspensions, pastilles, pâtes, comprimés et gélules.

1.5. Généralité sur la metformine :

Découverte en 1922, la Metformine ou diméthyl-biguanide a connu un début tumultueux jusqu'à son approbation par la Food and Drugs Administration (FDA) fin 1994 et sa consécration comme thérapeutique de première ligne suite aux résultats de l'UKPDS 'United Kingdom Prospective Diabetes Study [48]. La metformine est un médicament anti-hyperglycémiant préconisé au début du traitement du diabète de type 2, elle permet de diminuer le taux de glucose sanguin [49]. Elle est la molécule qui fait partie des biguanides, provenant du Lilas français (*Galega Officinalis*) une plante utilisée en médecine depuis des siècles dont le principe actif (PA) est la Galéguine ou Isomylinebiguanidine [50]. Cette molécule se distingue par un caractère basique, le pKa de la metformine mesurée est de 12.4 [51].

Le chlorhydrate de metformine est considéré actuellement comme un antidiabétique de premier choix par rapport à son efficacité/sécurité et son faible coût. Cette vieille molécule a déjà démontré sa capacité et sa position privilégiée dans la prise en charge pharmacologique des patients DT2 [52].

1.5.1. Mécanisme d'action de la metformine :

La metformine est un biguanide possédant des effets antihyperglycémiant, réduisant la glycémie basale et postprandiale. Elle ne stimule pas la sécrétion d'insuline et, par conséquent, ne provoque pas d'hypoglycémie.

Elle peut agir par l'intermédiaire de trois mécanismes :

- En réduisant la production hépatique de glucose, en inhibant la néoglucogenèse et la glycogénolyse .
- Au niveau musculaire, en augmentant la sensibilité à l'insuline, en favorisant la captation et l'utilisation périphérique du glucose ;
- Enfin, en retardant l'absorption intestinale du glucose.

La metformine stimule la synthèse intracellulaire du glycogène, en agissant sur la glycogène-synthase.

Elle augmente la capacité de transport de tous les types de transporteurs membranaires du glucose (GLUTs) connus à ce jour.

1.5.2. Pharmacocinétique du chlorhydrate de metformine :

De l'administration à l'élimination, le chlorhydrate de metformine subit différentes étapes dans l'organisme qui modulent ses effets. Le PA est libéré de sa forme solide et se retrouve dans les fluides physiologiques afin qu'il puisse être absorbé et traverser les biofilms dans le sang. Le chemin de la metformine passe par les étapes suivantes :

a) Absorption : le chlorhydrate de metformine est digéré et absorbé après administration orale, limité à la partie supérieure de l'intestin grêle, à l'état saturé, absorption incomplète, et le taux d'absorption maximal est atteint en 2 heures et 30 minutes [54, 55].

Les besoins quotidiens en chlorhydrate de metformine chez les patients diabétiques sont de 1,5 à 3 g/jour, et sa biodisponibilité est moyenne, avec des différences individuelles significatives (50 à 60 %) [54-56].

b) Distribution : Le chlorhydrate de metformine se diffuse rapidement dans les tissus. Des mesures de concentrations tissulaires effectuées chez plusieurs espèces animales ont montré que sa liaison aux protéines plasmatiques est négligeable et que seuls l'intestin, le foie et le rein l'accumulent pendant quelques heures. Sa diffusion présente une cinétique non linéaire et relativement lente, elle peut s'étaler sur une période de 6 heures, un phénomène rarement expliqué mais sans doute attribuer à ces propriétés physicochimiques [55,56].

c)Métabolisme : Le chlorhydrate de metformine est très faiblement métabolisé, il est excrété dans l'urine sous forme inchangée. Aucun métabolite n'a été identifié chez l'homme[54, 55].

d)Élimination : La clairance rénale de la metformine est supérieure à 400 ml/min, ce qui indique une élimination par filtration glomérulaire et par sécrétion tubulaire. Après une administration orale, la demi- vie apparente d'élimination terminal est d'environ 6,5 h [57].

Chez les patients ayant une fonction rénale diminuée (basée sur la clairance de la créatinine mesurée), la demi-vie plasmatique de la metformine est prolongée et la clairance rénale diminue proportionnellement à la diminution de la clairance de la créatinine, des essais Cliniques ont montré qu'une fraction non absorbée de metformine de 20 à 30% est retrouvé dans les fesses [57].

Partie N°02

Partie expérimentale

CHAPITRE 02

Matériels et méthodes

Chapitre 02. Matériels et méthodes

2.1.Introduction :

Dans ce chapitre nous présenterons en premier lieu le matériel, les matières et les méthodes de caractérisation de la matière première « metformine », objet de notre étude.

En second lieu nous décrivons le procédé de formulation d'un hydrogel à base de pectine ainsi que le protocole d'extraction de la matière végétale, ensuite nous détaillons le procédé de formulation des billes gélifiées à base l'alginate de sodium.

2.2.Matière première de la formulation :

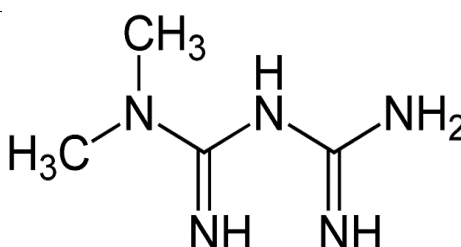
2.2.1. Principe actif (la metformine) :

La metformine fait partie de la famille des biguanides. C'est un antidiabétique oral le plus prescrit dans le monde. Ce PA a un effet bénéfique sur le contrôle du diabète, il reste l'antidiabétique oral de première intention chez la majorité des diabétiques de type 2.

Le chlorhydrate de metformine utilisé dans cette étude a été fourni par le laboratoire (SAIDAL DAR EL BAIDA) Algérie.

Le tableau ci-dessus présente les caractéristiques physico-chimiques de la metformine :

Tableau2.1 les propriétés physico-chimiques de la metformine

Formule chimique	C ₄ H ₁₂ N ₅
Structure chimique	
Nom chimique	Chlorhydrate de N, N-diméthyle-biguanide
Poids moléculaire	165.63 g/mol
Description	Cristaux blancs ou sensiblement blancs
Solubilité	Facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, pratiquement insoluble dans l'acétone et dans le chlorure de méthylène.
Point de fusion	222-226°C

Le tableau ci-dessus présente les caractéristiques physico-chimiques des produits utilisées :

Tableau2.2 propriétés physiques et chimiques des produits utilisés

	Propriétés chimique		Propriétés physiques			
	Formule brute	Masse molaire	pH	Solubilité	T° fusion	T° ébullition
Eau	H ₂ O	34g/mol	6.02		0°C	100°C
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.068 g/mol	7	Dans l'eau : miscible complète dans les solvants polaires et apolaires (acétone, éther, diéthylique)	-114°C	79 °C
Hydroxyde De Sodium	NaOH	39.99 g/mol	14	Dans l'eau à 20°C : 1090 g.L	318°C	1390°C
Acide chloridrique	HCl	36.46 g/mol	<1	700 g.L ⁻¹ (eau)	-30°C	48°C
Chlorure de sodium	NaCl	58.44 g/mol	7	357 g.L ⁻¹ (eau, 0°C)	801 °C	1465 °C
Acide borique	H ₃ BO ₃	61.83 g/mol	5.1	47.2 g.l ¹ (eau, 20°C)	Entre 169°C et 171°C	185°C
Chlorure de calcium	CaCl ₂	110,98 g/mol	8,5	Dans l'eau à 20°C :745 g.l ⁻¹	772 °C	1935°C

2.2.2. Présentation des excipients

a. L'alginat de sodium

L'alginat est un polysaccharide d'origine naturelle, extrait des algues brunes. Ce polymère présente une alternance de résidus d'acide β-D-mannuronique (M) et α-L-gulonique (G). En industrie alimentaire, l'alginat de sodium est largement utilisé comme agent épaississant, agent gélifiant et également comme stabilisateur colloïdal. C'est un additif peu coûteux, non toxique et biocompatible. L'une des particularités de

l'alginate, exploité pour la microencapsulation de bactéries probiotiques, est son aptitude à former un gel en présence de cations divalents (Ca^{2+}). Le gel formé est soluble à un pH neutre ou supérieur, et insoluble à un pH inférieur [58].

b. Povidone K30 :

La povidone K30 est le poly [1-(2-oxo-1-pyrrolidinyloxy)éthylène] et consiste en polymères linéaires de la 1-vinylpyrrolidin-2-one. La povidone contient au minimum 11,5 % et maximum 12,8 % d'azote, calculé par rapport à la substance anhydre. Les différents types de povidone se caractérisent par leur viscosité en solution, exprimée par la constante K.

La povidone est une poudre trouvée sous différentes formes d'une couleur blanche, ou blanc-jaune, inodore, et hygroscopique. La forme de poudre dépend de la valeur de grade K. La povidone avec un grade égale au grade K-30 ou inférieure sont fabriqués par un LAF et résulte à une forme de sphère, alors que la povidone d'un grade K-90 ou supérieure sont fabriqués par un séchage au tombereau et donne une forme de paillettes.

c. Le stéarate de magnésium :

Le stéarate de magnésium est le sel de magnésium de l'acide stéarique, qui est chimiquement plus connu que l'acide octa-décanoïque. Il est souvent utilisé comme diluant dans l'industrie des comprimés, capsules, et poudre. Il est aussi très utile pour ses propriétés lubrifiantes empêchant les ingrédients de coller aux équipements industriels pendant les procédés de fabrication des formes sèches. Sa structure chimique est illustrée par la figure 2.4 [59].

d. Le lactose monohydraté :

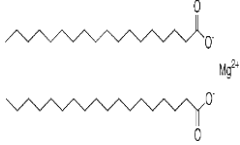
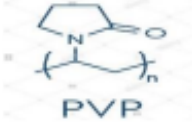
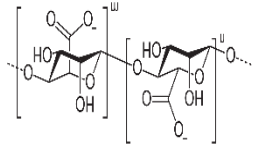
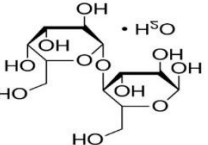
Le lactose est un glucide présent dans le lait des mammifères (de 10 à 80 g/L) y compris chez les humains, dont il tire son nom (étymologiquement sucre de lait) ; il est présent dans le lait de vache et de brebis (45-50 g/L), en moindre quantité dans le lait de chèvre (40-45 g/L) mais bien plus dans le lait maternel humain (65-70 g/L), un des plus riches qui soient en lactose.

Le lactose est un glucide naturellement présent dans le lait des mammifères. Le lactosérum (petit lait) obtenu après séparation des matières grasses et précipitation de la caséine est très riche en lactose, qui représente 70 % à 75 % des matières sèches. Par évaporation et

crystallisation du lactosérum, on obtient des cristaux durs et sablonneux d'hydrate de lactose (formule $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$). Les cristaux perdent leur eau par chauffage à 140 °C. Ils fondent et se décomposent à 202 °C. [60].

Le tableau ci-dessus présente les caractéristiques physico-chimiques des excipients :

Tableau2.3 Présentation des excipients

	Stéarate de magnésium	Povidone k30	Alginate de sodium	Lactose monohydrate
Formule brute	$C_{18}H_{35}NaO_2$	$C_{56}H_{108}O_{30}$	$C_6H_7NaO_6$	$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$
Structure chimique				
Aspect	Fine couche de couleur blanche à blanc crème, inodore ou presque, hygroscopique.	Fine couche de couleur blanche à blanc crème, inodore ou presque, hygroscopique.	Forme poudre orange	Poudre blanche et cristalline, inodore
Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'éthanol (95%), l'éther et l'eau. Légèrement soluble dans le benzène chaud et l'éthanol (95%) chaud.	Soluble dans les acides, l'éthanol à 95%, le méthanol, l'eau. Insoluble dans l'éther, les Hydrocarbures et l'huile minérale.	Soluble dans l'eau	La solubilité du lactose dans l'eau est de 18,904 9 g à 25 °C,
pH	Alcalin (pH>7)		pH < 4	pH près de 7

Nous avons résumé les pourcentages utilisés et les rôles des différents excipients (alginate de sodium, povidone, le stéarate de magnésium et le lactose monohydrate) dans le tableau suivant :

Tableau2.4 Matrice des excipients utilisés

Excipient	Utilisation	Concentration (%)
Alginate de sodium	Agent gélifiant	2.6%
Povidone k30	Agent retardateur	2%
Stéarate de magnésium	Lubrifiant	1%
Lactose monohydrate	Agent de remplissage	40%

2.3.Matériel et équipement :

Les équipements utilisés dans notre partie pratique se trouvent au niveau du laboratoire de recherche de chimie physique des interfaces des matériaux appliqués à l'environnement de l'université de Blida.

2.3.1. Matériels utilisés :

Les différents matériels utilisés pour la préparation de l'hydrogel et des billes d'alginate de sodium sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 2.5) :

Tableau2.5 Matériels de Préparation de l'hydrogel et des billes d'alginat de sodium

Appareillage	Marque	Utilité
Balance électronique	KERN ABJ-NM/AB5-N	La pesé des matières premières
Agitateur magnétique	Lab Tech	La dissolution des matières
Homogénéisateur	IKA®T25 digital ULTRA TURRAX®	L'Homogénéisation et la dispersion de la phase organique dans la phase aqueuse
pH mètre	OHAUS	Mesure de pH
Pompe à vide	LABOPORT	Filtration sous vide
Centrifugeuse	Nahita blue FUGE LAB-GB10	Separation des phases
Etuve	Memmert	Séchage
Pompe électrostatique	ISMATEC	Formulation des billes

2.4.Méthode de dosage de la metformine par UV-Visible :

L'équipement utilisé pour la spectroscopie ultraviolet-visible est un spectrophotomètre du type schimadzu UV-1900, constitué par un système optique, susceptible de fournir un rayonnement monochromatique dans la région 200-800 nm, et par un dispositif approprié à la mesure de l'absorbance. Il mesure l'intensité de la lumière (I) passant à travers un échantillon et la compare à l'intensité de la lumière avant ce passage (I₀). Le rapport I /I₀ est appelé transmittance, et est habituellement exprimé comme un pourcentage.

L'absorbance, A, est exprimée à partir de la transmittance :

$$A = - \log(T) \quad (2.1)$$

En analyse qualitative, par comparaison de notre spectre obtenu avec un spectre de référence, la metformine a été solubilisé dans l'eau distillé, dans lequel on a préparé une concentration de 0.01 mg/ml.

2.5.Extraction de la pectine :

2.5.1. Préparation de la matière végétale :

Le matériel végétal que nous avons étudié était des écorces d'orange, récoltées entre mars 2022 et avril 2022 dans la zone de la Wilaya, Blida. Ces oranges sont d'abord préparées selon le procédé suivant déjà optimisé dans notre laboratoire :

- a) Lavage :** Au laboratoire, les oranges sont lavées à l'eau du robinet, puis à l'eau distillée, brossées pour enlever la poussière et la crasse, séparées de la peau d'orange et coupées en petits morceaux.
- b) Séchage :** Les écorces ont été séchées à 40°C pendant 24 heures dans une étuve de type "memmert GmbH + Co. KG".
- c) Broyage :** Après séchage, l'écorce séchée est finement broyée à l'aide d'un moulin à grains Moulinex type DPA1 "La Moulinette 1000W" pour obtenir une poudre fine.



Figure 2.1 Poudre d'écorce d'orange

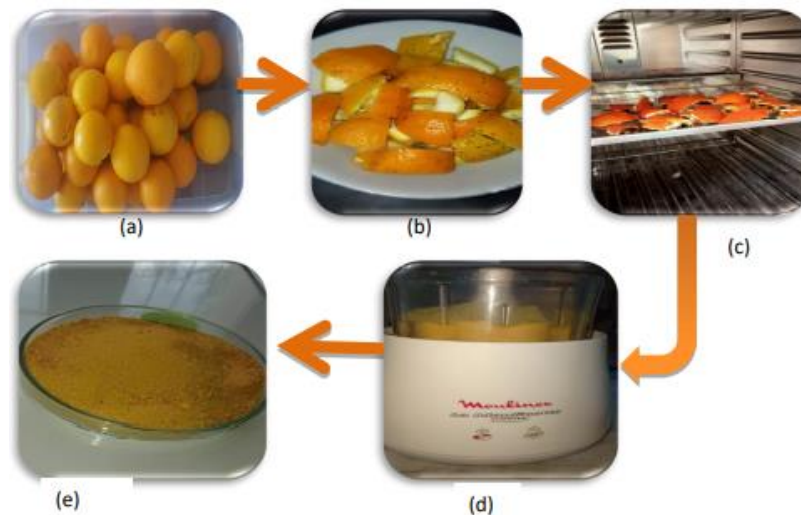


Figure 2.2 Préparation de la matière végétale à partir des écorces d'oranges

2.5.2. Préparation des films de pectines :

L'extraction des pectines est effectuée sous reflux dans un milieu acide. Dans un ballon Bicol d'une capacité de 250 mL, introduire 4 g de poudre d'écorce d'orange dans 100 mL d'eau, acidifié avec HCl (0.1M) . Le système baigne dans un cristalliseur rempli d'huile végétale et le tout est chauffé à une température précise sous agitation continue à l'aide d'un agitateur magnétique pendant un temps spécifique. Plonger un thermomètre électronique à l'intérieur du mélange pour relever la température dans le ballon. Une fois le temps d'extraction terminé, on filtre les résidus des écorces à chaud sur un papier filtre. On laisse le filtrat refroidir pour éviter la dégradation de la pectine

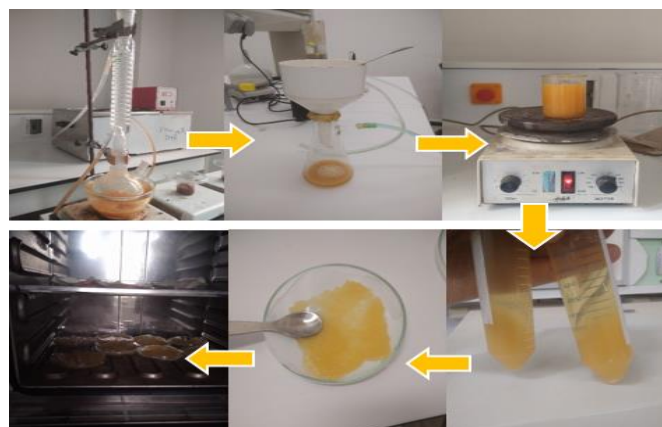


Figure 2.3 Les étapes d'Extraction de la pectine sous reflux

Après la filtration de l'extrait acide, on ajoute au filtrat un volume d'éthanol équivalent au volume de ce dernier. Le mélange est mis sous agitation pendant 20 min à 300 tr/min à une température ambiante. Séparer le gel obtenu par centrifugation de 4000 tours pendant 20 min. La pectine sous forme de gel est ensuite étalée sur des portefeuilles plastique et séchée dans une étuve à une température de 50 °C pendant 24 heures afin d'éliminer toute trace de solvant (éthanol).

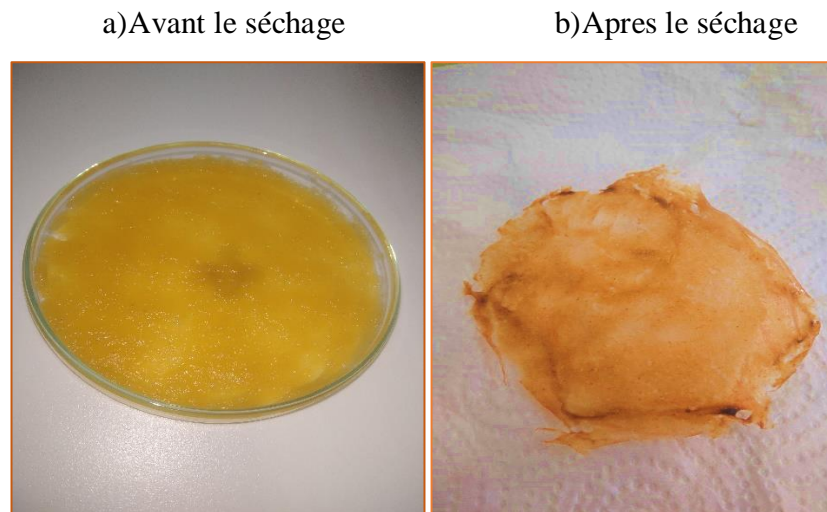


Figure 2.4 Echantillons de pectines avant et après le séchage

2.6. Degré d'estérification (DE) :

2.6.1. Principe :

Le degré d'estérification est déterminé par la méthode de titrage. C'est un paramètre très important pour connaître la nature des pectines (hautement ou faiblement méthylée), et par conséquent mettre en valeur ces différentes caractéristiques telles que les conditions de gélification.

2.6.2. Mode opératoire :

La méthode consiste à transférer 0,2 g de la pectine, humidifiée par 5 ml d'éthanol. On prépare une solution mère, en ajoutant 20 mL d'eau distillée, puis on laisse agiter pendant deux heures jusqu'à la dissolution totale de la pectine.

Après dissolution, on prépare une solution fille diluée dix fois (10 mL de la solution mère, puis on ajoute de l'eau distillé dans une fiole jugée de 100mL).

Le mélange est titré par une solution de NaOH (0,1M) en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine. Lorsque la couleur de solution vire vers le rose, on arrête le titrage, et on note le V1 (volume initial) .

Ensuite, on ajoute 20 mL de NaOH (0,1M) sous agitation et on laisse reposer 15 min. Ajouter 10 mL de l'HCl (0.1M) dans le bécher jusqu'à la disparition totale de la couleur rose. Faire un deuxième titrage avec du NaOH (0.1M) jusqu'à l'apparition d'une légère couleur rose. Ce volume de titrage est noté V2 (volume final),

Le Degré d'estérification est calculé par la formule suivante :

$$DE(\%) = \frac{V2}{(V2+V1)} * 100 \quad (2.2)$$



Figure 2.5 Montage de détermination du degré d'estérification

2.7. Extraction de la caséine :

La caséine est une protéine qui représente environ 80 % de la teneur totale en protéines du lait de vache. Existant sous forme de globules dans le lait et largement responsable de la couleur blanche du lait, la caséine précipite hors de la solution lorsqu'elle est chauffée puis exposée à l'acide. Une simple solution d'acide acétique, sous forme de vinaigre blanc

distillé, fonctionne bien pour extraire la caséine du lait en poudre écrémé reconstitué. La caséine précipitée forme une matière blanche élastique que vous pouvez retirer du liquide contenu dans le lait. La méthode d'extraction de la caséine est réalisée selon les étapes suivantes :

- Mélanger 50 g de lait écrémé en poudre et 1 litre d'eau distillée dans un récipient en verre résistant à la chaleur.
- Chauffez le mélange à 105 C°. Surveillez la température à l'aide d'un thermomètre électronique.
- Ajouter lentement le vinaigre au mélange de lait. Remuez doucement le mélange avec la spatule en plastique. Continuez à ajouter du vinaigre et remuez le mélange jusqu'à ce que la caséine commence à précipiter du liquide en petites gouttes de matière solide blanche
- Recueillir la caséine avec la spatule et la transférer dans un autre récipient. Continuez à ajouter du vinaigre et retirez la caséine précipitée jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de caséine.
- Versez tout liquide qui aurait pu se séparer de la caséine dans l'autre récipient en plastique.



Figure 2.6 caséine

2.8. Formulations :

2.8.1. Formation de gel pectine/caséine :

La formulation de gel pectine/caséine est réalisée selon le protocole donné dans les étapes suivantes :

- Dans un bécher, mélangez 1g de pectine dans 50ml d'eau distillé sous agitation à température 60°C jusqu'à la solubilité complète de la pectine
- Ajouter 1g de la matière active (metformine) au mélange précédent
- Mélangez 0.5g de la caséine dans 25 ml d'eau distillé sous agitation jusqu'à la solubilité complète de la caséine.
- Versez lentement le mélange de la caséine dans la solution de pectine.
- Le mélange pectine /caséine est titré par une solution de CaCl_2 (0,1M) jusqu'à la formation du gel.

2.8.2. Procédé d'encapsulation de la metformine dans les billes gélifiées :

La formulation des billes est l'un des points importants de ce travail. Pour s'inscrire dans une démarche d'écoconception, la matrice des billes est constituée d'alginate, un polymère naturel. L'utilisation de ressources naturelles, renouvelables, et disponibles en grandes quantités permet de développer un produit dont la production a un impact réduit sur l'environnement.

Le protocole de préparation des billes gélifiées à base metformine est réalisé en suivant les étapes citées ci-dessous :

- Mélangez 2.6g d'alginate de sodium dans 50ml d'eau distillé
- La solution d'alginate est soumise à une agitation magnétique (forte agitation)
- En parallèle, Mélangez tout les excipients avec le PA dans 50ml d'eau distillée.
- Versez goutte à goutte le mélange excipients/PA dans la solution d'alginate de sodium
- Le mélange des solutions est introduit goutte à goutte à l'aide d'une pompe péristaltique avec un débit de $3,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

- Ces gouttes tombent dans 200 mL d'une solution de chlorure de calcium CaCl_2 à 0,1M avec une hauteur de chute de 6,5 cm (de la sortie du tube à la solution CaCl_2) pour que les billes soient bien sphériques.
- Après leurs formations, les billes contenant des bulles d'air flottent à la surface et sont donc facilement éliminables. C'est pourquoi le mélange (CaCl_2 + billes) reste maintenu sous une faible agitation. Les billes obtenues sont laissées dans le bain de CaCl_2 pendant une durée totale de 24h.

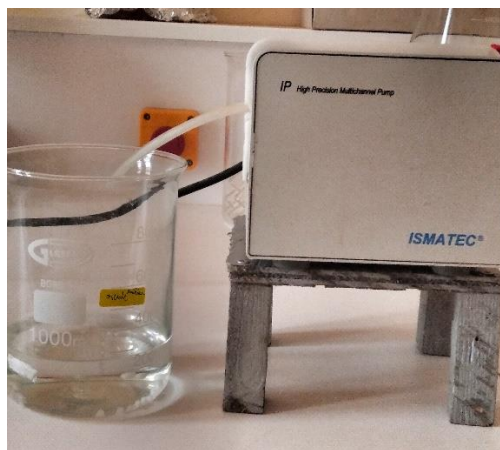


Figure 2.7 : Montage de formation des billes

2.9. Caractérisation des billes :

2.9.1. Diamètre des billes :

Le diamètre des billes a été déterminé en prenant une population de 10 billes, mesurer leur diamètre à l'aide d'une règle graduée et calculer le diamètre moyen de cette population.

2.9.2. Mesure de la densité des billes (masse volumique) :

La mesure de la densité réelle des billes d'alginate a été réalisée par la méthode de déplacement volumétrique.

La méthode de déplacement volumétrique consiste à peser une quantité (m) de billes d'alginate humide et placée dans une éprouvette graduée de volume d'eau mesuré.

L'augmentation du volume après l'ajout des billes a été mesurée, et la densité a été calculée à partir de la masse et le volume.

2.9.3. Taux d'humidité :

Pour déterminer le taux d'humidité (H) les billes sont chauffées à 105°C.

Des échantillons sont pesés et mis dans l'étuve à 105°C jusqu'à l'obtention de masses constantes.

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$\%TH = \frac{mH - ms}{mH} * 100 \quad (2.3)$$

Avec:

mH : la masse de billes humides

ms : la masse de billes sèches

2.9.4. Mesure du taux de gonflement :

Les échantillons de billes sont pesés et plongés dans l'eau distillé afin d'atteindre l'équilibre du gonflement pendant 48h.

Le taux de gonflement est calculé par la formule suivante :

$$G(\%) = \frac{m0 - mt}{m0} * 100 \quad (2.4)$$

Avec :

m0 : Masse initiale des billes à t=0 en g

mt : Masse des billes à chaque t en g

2.9.5. Nombre des particules :

Le calcul de nombre des billes se fait après le procédé d'encapsulation en comptant tout le nombre des billes.

2.10. Observation de la porosité des billes sous la loupe :

La porosité des billes est un paramètre essentiel à prendre en considération dans les phénomènes de diffusion et libération.

Afin d'observer la porosité des billes nous avons eu recours à la loupe pour examiner la structure de surface des particules.

La bille a été placée sur un support ensuite observée.

2.11. Test de dissolution :

2.11.1. Définition :

L'essai de dissolution est un test pharmaco-technique destiné à déterminer la plus ou moins aptitude des formes galéniques à laisser passer dans un milieu déterminé le principe actif quelle contient. Le passage en solution est apprécié par la présence du PA dans les échantillons prélevés du milieu de dissolution grâce aux dosages par spectroscopie UV-Visible.

2.11.2. Courbes d'étalonnages :

Des courbes d'étalonnages dans différents milieux (pH1.2, pH4 et pH7) ont été utilisées afin de déduire les concentrations de la metformine libérées durant les études de dissolution à des temps préétablis. La longueur d'onde 233 nm (qui correspond à un maximum d'absorption) a été retenue après un balayage spectral entre 190 et 500 nm de la molécule.

Pour réaliser la courbe d'étalonnage ; une série de solutions filles a été préparée à partir d'une solution mère. Nous avons préparé des courbes d'étalonnage dans les trois valeurs de (pH1.2, pH4 et pH7). Les absorbances ont été mesurées à 233 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Vis.

2.11.3. Préparations des milieux physiologiques :

La préparation des milieux physiologiques a été effectuée selon la pharmacopée européenne 6^{ème} édition publiée le 16 juillet 2008.

➤ Milieux gastriques :

Pour préparer le milieu à **pH=1.2** on a introduit 250 ml de chlorure de sodium (NaCl) 0,2M dans une fiole jaugée de 1000ml, on ajoute 425 ml d'acide chlorhydrique (HCl) 0,2M puis on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée.

Pour préparer le milieu à **pH=4** dans un bécher de 1L, ajouter environ 1L d'eau déminéralisée, 10 g de nitrate de potassium et 0,820 g d'acétate de sodium. Ensuite après dissolution de tous les cristaux on ajuste le pH en ajoutant soit de la soude soit d'acide chlorhydrique.

➤ Milieu intestinal :

Pour préparer le milieu à **pH=7** on a introduit 250ml de dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄) 0,2M dans une fiole jaugée de 1000ml, on ajoute 425ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.2M puis on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée.

2.11.4. Principe du test :

a. Test de dissolution de l'hydrogel :

L'essai de dissolution de l'hydrogel de pectine contenant la metformine a été réalisé à l'aide d'un dissolutest à palettes tournantes de marque Urweka permettant une agitation continue du milieu de dissolution et la dispersion de l'échantillon à analyser. Le gel est soumis à une agitation constante dans une cuve contenant 500 ml de milieu de dissolution (milieu gastrique 1.2), préparés au préalable et mis à une température de $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. La vitesse de rotation des palettes est fixée à 100 trs/min.

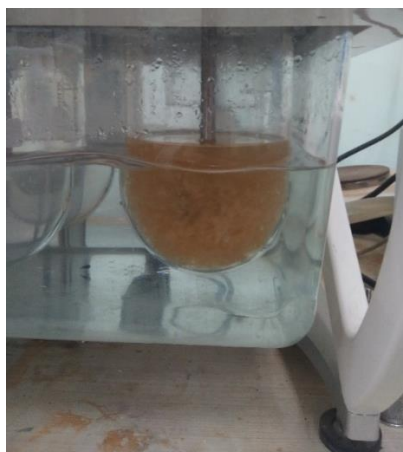


Figure 2.8 la dissolution de l'hydrogel dans le milieu gastrique pH 1.2

Dans chaque milieu, aux temps déterminés 40, 60, 120, 180, 240, 300, 360 minutes, des échantillons de 5 ml du milieu ont été prélevés manuellement à l'aide d'une pipette et une quantité équivalente du milieu de dissolution est ajoutée de nouveau pour maintenir le volume du milieu constant. Les échantillons sont ensuite passés à la filtration par un filtre seringue de 0,45 μm . Le filtrat obtenu est dilué avec le milieu adéquat puis dosés par spectrophotométrie UV-Visible à 233 nm.

b. Test de dissolution des billes :

Une fois le principe actif est encapsulé par la méthode d'extrusion, nous étudions l'aptitude de ces particules à pouvoir libérer le principe actif. Pour cela, nous procédons au test de dissolution qui nous permet de suivre à des intervalles de temps réguliers la libération de la metformine depuis les particules d'alginate dans des conditions opératoires bien définies afin de faire une comparaison entre les profils de dissolution dans trois tampons différents (deux tampons acide pH1.2, pH4, et un tampon phosphate pH7).

Les essais de dissolution des microparticules polymériques encapsulant la metformine ont été réalisés à l'aide d'un dissolvest à palettes tournantes permettant une agitation continue du milieu de dissolution et la dispersion de l'échantillon à analyser. Les échantillons de microcapsules sont soumis à une agitation constante dans des cuves contenant 500 ml du milieu de dissolution (milieu acide, milieu neutre et milieu basique), préparés au préalable et mis à une température de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. La vitesse de rotation des palettes est fixée à 100 trs/min.



Figure 2.9 la dissolution des billes dans les milieux ; tampon 1.2, tampon 4 et tampon 7 respectivement

Dans chaque milieu, aux temps déterminés 15, 60, 120, 180, 240, 300, 360 et 420 min, des échantillons de 5 ml du milieu ont été prélevés manuellement à l'aide d'une pipette et une quantité équivalente du milieu de dissolution est ajoutée de nouveau pour maintenir le volume du milieu constant. Les échantillons sont ensuite passés à la filtration par un filtre seringue de 0,45 μm . Le filtrat obtenu est dilué avec le milieu adéquat puis dosés par spectrophotométrie UV-Visible à 233 nm pour les trois milieux.

CHAPITRE 3

Résultats et discussions

Chapitre 3. Résultats et discussions

3.1.Introduction :

Dans ce chapitre seront présentés les principaux résultats expérimentaux obtenus avec les interprétations. Ils seront structurés comme suit :

- ✓ Détermination de la longueur d'onde de la metformine » par UV-Visible,
- ✓ Formulation de l'hydrogel et des billes.
- ✓ Études de libération prolongée in vitro.

3.2. Détermination de la longueur d'onde de la metformine par UV-Visible :

Afin de déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale de la metformine dissoute dans l'eau distillée, un balayage dans le domaine situé entre 190 et 500 nm a été réalisé. La figure ci-dessous illustre le spectre obtenu.

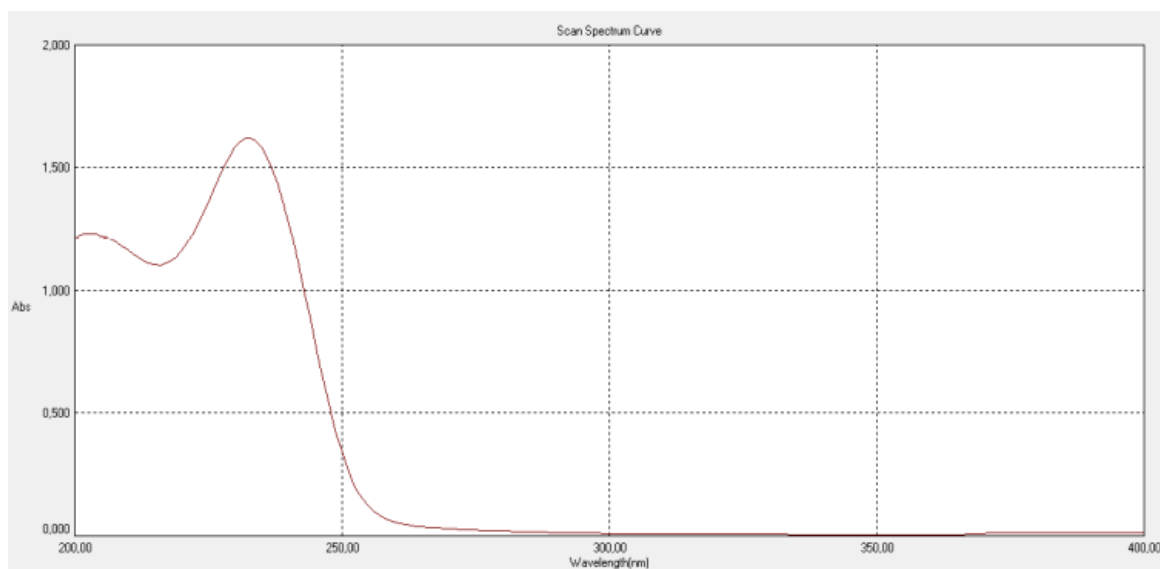


Figure3. 1 Spectre UV de la metformine

La Figure **3.1** montre le spectre d'absorption UV-Vis de la metformine dans l'eau distillée. On observe dans ce spectre une bande d'absorption maximale situé à $\lambda_{\max} = 233$ nm, cette longueur d'onde est similaire à celle mentionnée dans la bibliographie.

Dans ce cas, on peut utiliser l'UV-Vis comme outil de caractérisation qualitative de notre substance active.

3.3. Les formulations :

a. Aspect du gel pectine /caséine :

On a obtenu un gel visqueux relativement homogène de couleur orange



Figure3.2 Texture du gel pectine/caséine

b. Encapsulation de la Metformine dans les billes gélifiées d'alginate de sodium :

Les billes obtenues sont relativement homogènes en taille, de forme sphérique



Figure3.3 les billes gélifiées

3.4.Caractérisation des billes :

Nous avons résumé les valeurs de diamètre, densité, taux de gonflement et le taux d'humidité des billes dans le tableau suivant :

Tableau3.1 : Caractéristiques physiques des billes

	Diamètre	Densité	Taux de gonflement	Taux humidité
Billes	3.5 mm	1.055	15%	98%

- D'après les résultats illustrés dans le tableau, la densité des billes est supérieure à celle d'eau. Elle varie entre 1.03 et 1.243.
- Un faible taux de gonflement est obtenu grâce à la composition des billes
- Le taux d'humidité est très élevé car le solvant utilisé dans la formulation est de l'eau c'est pour cette raison les billes contiennent beaucoup d'eau.

- **Nombre de particules :**

On a calculé le nombre des billes, on a obtenu environs 520 billes en démarrant de 2.6g d'alginate de sodium.

3.5.Observation de la porosité des billes sous loupe :

Le résultat de l'observation des billes sous loupe est illustré sur la figure ci-dessous



Figure3.4 Porosité des billes

On remarque que la bille présente des pores qui vont jouer un rôle important dans la libération du principe actif. Parce que sans cette porosité on n'aura pas la libération du PA.

3.6. Test de dissolution :

Les courbes standard des trois milieux sont indiqués sur les figures ci-dessous

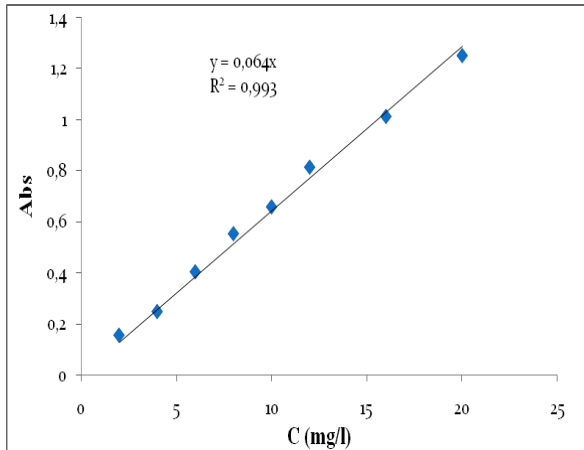


Figure 3.5 Courbe d'étalonnage de la metformine dans le tampon pH1.2

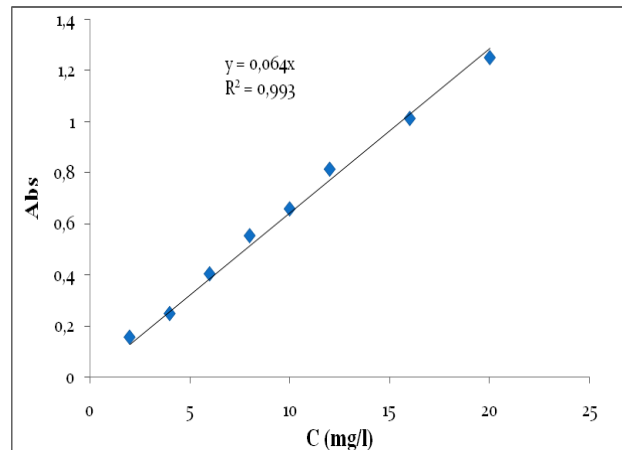


Figure 3.6 Courbe d'étalonnage de la metformine dans le tampon pH4

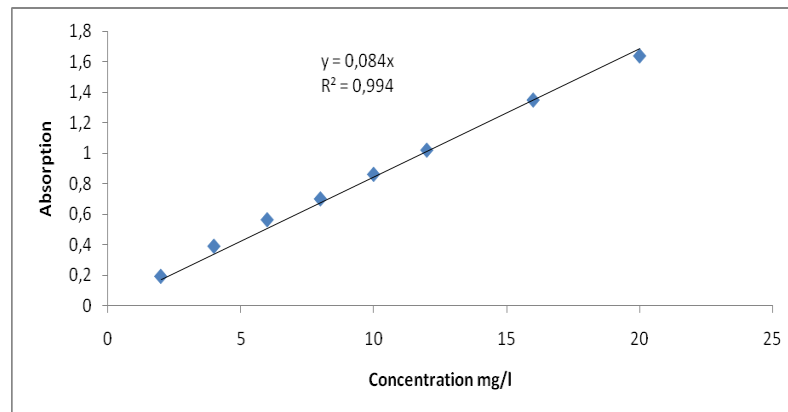


Figure 3.7 Courbe d'étalonnage de la metformine dans le tampon pH7

a. Résultats de libération de l'hydrogel :

On remarque visuellement que le gel ne s'est homogénéisé complètement dans le tampon acide pH= 1.2.

Calcul des pourcentages de dissolution :

Les valeurs des concentrations des échantillons collectés à différents intervalles de temps et analysés par UV-Visible ont été calculées en utilisant l'équation $y = 0.064x$ à partir de leur absorbances (Tableau 3.2)

Tableau3.2 valeurs des concentrations de la metformine

Temps (min)	0	40	60	120	180	240	300	360
C_{ech} (mg/ml)	0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

Le pourcentage de dissolution de la metformine a partir du gel a été calculé en utilisant la relation 3.1 :

$$\text{Le pourcentage de dissolution (\%)} = \frac{C}{C_0} * 100 \dots \dots \dots (3.1)$$

Sachant que :

C₀ : c'est la concentration initiale de l'échantillon, C₀=13 mg/l.

Le tableau 3.3 regroupe les pourcentages de dissolution de chaque échantillon en fonction du temps.

Tableau3.3 Les pourcentages de dissolution de la metformine

Temps (min)	0	40	60	120	180	240	300	360
Rendement (%)	0	76.92	76.92	76.92	76.92	76.92	76.92	76.92

La figure 3.8 illustre le profil de dissolution de la metformine dans le milieu gastrique

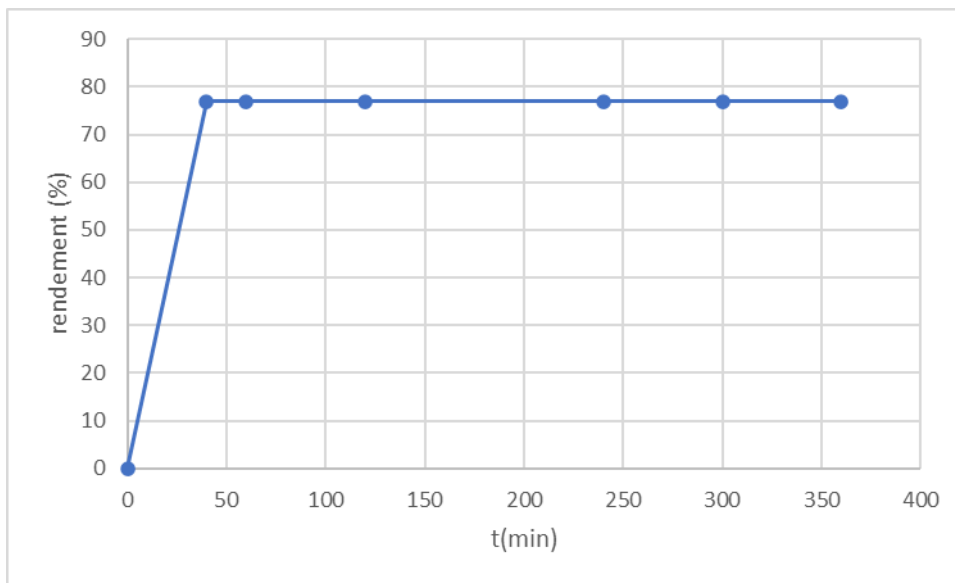


Figure 3.8. Profils de dissolution de la metformine dans le milieu gastrique

On remarque que la metformine s'est libérée complètement dans les premières 40 mn du test avec un rendement de 76.92%, on peut dire alors que cette forme présente une libération immédiate.

b. Résultat de libération de la metformine encapsulé dans les billes :

On remarque visuellement que les billes ne se sont pas solubilisées complètement dans les tampons acide (pH 1.2 et pH 4), contrairement au tampon phosphate (pH 7) où il se sont complètement solubiliser.

Calcul des pourcentages de dissolution :

A partir des courbes d'étalonnage des trois milieux différents ; illustrée dans les Figures 3.5, 3.6, 3.7 nous avons obtenu respectivement pour les milieux acides pH1.2, pH4, et le milieu neutre pH7 les équations suivantes : $y = 0.064x$, $y = 0.064x$ et $y = 0.084x$. Les valeurs des concentrations des échantillons collectés à différents intervalles de temps et analysés par UV-Visible ont été calculées en utilisant ces équations à partir de leur absorbances (Tableau 3.4)

Tableau3.4 valeurs des concentrations de la metformine dans les trois tampons

Tampon acide pH 1.2									
Temps (min)	0	15	60	120	180	240	300	360	420
C_{ech} (mg/ml)	0	0.031	0.16	0.1	0.11	0.14	0.14	0.13	0.13
Tampon acide pH 4									
Temps (min)	0	15	60	120	180	240	300	360	420
C_{ech} (mg/ml)	0	0.095	0.097	0.068	0.047	0.047	0.047	0.047	0.047
Tampon phosphate pH 7									
Temps (min)	0	15	60	120	180	240	300	360	420
C_{ech} (mg/ml)	0	0	0.2	0.22	0.25	0.26	0.27	0.27	0.28

Le pourcentage de dissolution de la metformine à partir des microcapsules polymériques a été calculé en utilisant la relation (3.1)

Sachant que :

C₀ : c'est la concentration initiale de l'échantillon, C₀=400 mg/l.

Le tableau 3.5 regroupe les pourcentages de dissolution de chaque échantillon en fonction du temps.

Tableau3.5 Les pourcentages de dissolution de la metformine dans les trois tampons

Tampon acide pH 1.2									
Temps (min)	0	15	60	120	180	240	300	360	420
Rendement (%)	0	7.81	39.06	27.34	28.2	35.15	34.14	31.25	31.25
Tampon acide pH 4									
Temps (min)	0	15	60	120	180	240	300	360	420
% de dissolution	0	23.82	24.21	17	11.72	11.72	11.72	11.72	11.72
Tampon phosphate pH 7									
Temps (min)	0	15	60	120	180	240	300	360	420
Rendement (%)	0	0	50	56	62.5	65	67	69.4	70.2

La figure 3.9 illustre le profil de dissolution de la metformine dans les trois tampons :

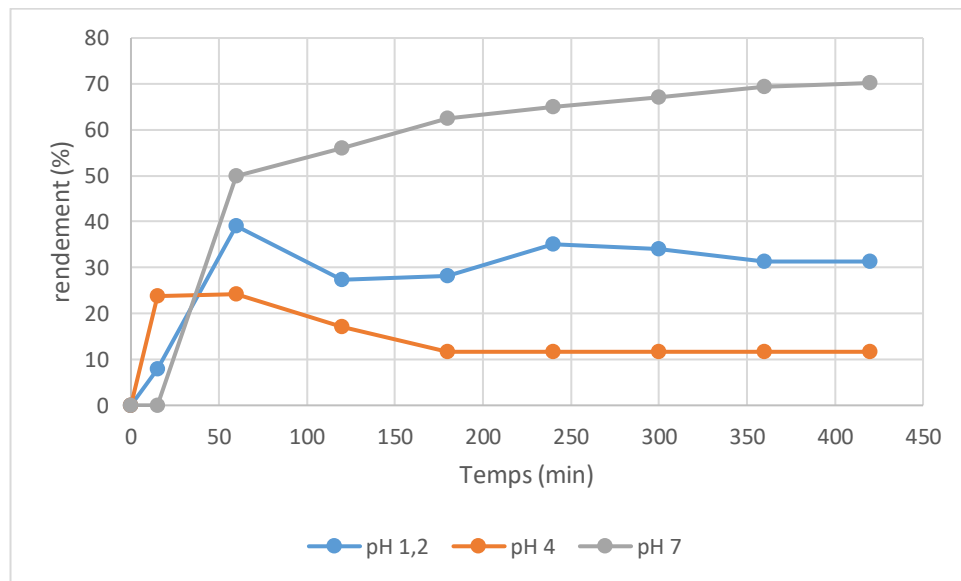


Figure 3.9 Profils de dissolution de la metformine dans les trois tampons

Après les 7h du test environ 70.2% du principe actif a été libéré à pH 7, alors que seulement 31 % et 11% de la matière active a été libéré au pH 1.2 et pH 4 respectivement.

La libération in vitro de la metformine à partir des microcapsules d'alginate chargées a été évaluée en mesurant le pourcentage de libération cumulée. Les résultats ont montré qu'à pH 1.2 et 4, presque toutes les billes étaient conservées intactes avec de très faibles quantités libérées de PA. Ce comportement dépend de la nature du polymère. En effet, en milieu acide l'alginate de sodium ne se solubilise pas. Le passage de la metformine dans le milieu est uniquement gouverné par un phénomène de diffusion à travers le système matriciel polymérique. Ces conclusions s'accordent à celles retrouvées dans la littérature. En effet, dans leur étude, S. Shukla et al [61] ont procédé à l'encapsulation du furoate de diloxanide dans des microsphères d'alginate. Lors de l'étude de libération du médicament in vitro de toutes les microsphères dans un milieu gastro-intestinal (GI) simulé à des pH différents, le pourcentage cumulé du taux de médicament libéré à partir des microsphères dans SGF (milieu gastrique simulé) et SIF (milieu intestinal simulé) après 4h variait $5,62 \pm 0,66\%$ à $14,41 \pm 1,35\%$. L'étude a également démontré que les billes d'alginate maintiennent leur intégrité dans l'estomac et l'intestin grêle [61]. De leur part, M.M.

Ahmed et al [62] ont préparé des microparticules de diclofénac sodique/alginate de sodium, Les microparticules d'alginate chargées ont été évaluée en mesurant le pourcentage de libération cumulé. Les résultats ont montré aussi qu'à pH acide toutes les microparticules étaient conservées intactes presque sans gonflement (même cas que nous), ce qui a ralenti la vitesse de libération du médicament (pas plus de 16% du médicament chargé a été libéré) qui est également peu soluble dans ce milieu.

Au contraire, lors du passage des microparticules du milieu gastrique simulée vers le milieu intestinal simulée, une amélioration prononcée a été détectée quant à la fraction dissoute du médicament en raison du gonflement des microparticules et de l'augmentation de la vitesse de libération [61].

En effet, les résultats ont montré que la libération in vitro du médicament à partir des microparticules est pH-dépendante. Dans les régions acides, nous observons un taux de dissolution maximum de 31.25% pour le pH1.2 et 11.72% pour le pH4 après 7h mais qui restent inférieur à 50%. Ces faibles taux de dissolution en milieu acide sont dus essentiellement à la faible solubilité de l'alginate de sodium en milieu acide, ce qui permet à l'alginate de rester sous forme réticulé d'où son intérêt dans la production de formes galéniques gastro-résistantes. Mais aussi à la structure interne qui pourrait laisser échapper le PA tout en conservant intacte le réseau polymérique ; donc ces deux milieux ne présentent pas une cinétique de libération prolongée puisque la libération du PA est devenue constante après 6h et 3h pour les milieux pH1.2 et pH4 respectivement ; c'est une libération immédiate.

Par la suite, lors du passage des microparticules du milieu acide vers la région alcaline, une amélioration prononcée a été détectée dans le taux de libération du médicament, en raison de l'augmentation de la solubilité du biopolymère. En effet, seul le tampon phosphate pH7 a montré un taux de dissolution remarquable indiquant alors une efficacité d'encapsulation optimale. La valeur maximale du taux de dissolution de 70.2% a été observés. Après 7 heures d'essai on peut dire que ce milieu montre une libération prolongée ; les billes libèrent de manière progressive leur contenu médicamenteux à une plus grande vitesse dans le tampon phosphate.

Cependant, pour expliquer ces résultats et comprendre les phénomènes incriminés dans ce processus biopharmaceutique (libération et dissolution), nous proposons de faire une étude paramétrique et comparative en jouons sur les variables de formulation, à savoir la concentration en alginate de sodium, concentration des agents réticulant, et aussi à la vitesse d'agitation. Afin de décortiquer et analyser l'influence de chaque paramètre sur le taux de dissolution de ces formulations et leur efficacité d'encapsulation respectives.

Conclusion générale

Conclusion générale

La libération prolongée du point de vue industriel est une innovation, elle permet la synthèse et la commercialisation de nouveaux principes actifs, aussi elle permet l'amélioration d'une molécule existante par l'optimisation de sa forme galénique

L'objectif du travail qui nous fut confiés dans le cadre de ce mémoire est d'étudier l'effet d'un biopolymère sur la libération prolongée, donc la mise au point :

- D'un hydrogel avec l'utilisation d'une combinaison pectine/caséine comme biopolymère.
- Des billes polymériques idéales à base d'alginate tout en évaluant l'impact des paramètres de Composition et opératoires impliqués dans leur mise au point

Nous avons réalisé une encapsulation de la metformine par un procédé d'extrusion. Ceci afin d'aboutir à une forme galénique avec une libération prolongée dans le temps grâce à un système matriciel à base d'un biopolymère extrait d'algues brunes qui est l'alginate de sodium.

L'essai de dissolution reste un essai incontournable dans l'évaluation de la qualité des médicaments car il fournit une idée sur le comportement du produit in vivo à savoir la libération du principe actif à partir de sa forme galénique.

Les résultats de la dissolution de l'hydrogel montrent que cette forme présente une libération immédiate, car ce dernier à libérer 76.92% de la matière active dans les premières 40minutes.

Par ailleurs, les résultats de la dissolution in vitro des microparticules préparées montrent que la libération de la metformine est pH-dépendante ; les billes sont restées dans leur état dans les milieux gastriques par contre ils ont montré une libération prolongée jusqu'à 07 heures pour le milieu intestinale pH7, ce qui concorde avec le séjour du médicament dans l'intestin.

Comme perspectives pour ce travail et afin de l'enrichir et d'apporter plus de détails sur les résultats obtenus, il serait souhaitable de :

- Poursuivre les formulations afin de bien cerner l'impact de la vitesse d'agitation sur la taille des particules et le taux de dissolution.

- De faire la caractérisation par la microscopie électronique à balayage qui permet également de décrire les détails de la structure de ces microparticules polymériques.
- Faire une analyse (HPLC)
- Envisager des études in vivo.
- Une bonne corrélation entre les tests in vivo et in vitro va nous permettre une meilleure approche en ce qui concerne la bioéquivalence des spécialités étudiées

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- [1] A. Le Hir. Pharmacie galénique. Bonne pratique de fabrication des médicaments .7ème édition. paris : Masson, (1997).
- [2] BOUDENDOUNA Abdel Hakim, « Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée », thèse doctorat en Science Génie Matériaux, Université de Toulouse, (2010).
- [3] A. Le Hir. Pharmacie galénique. Bonne pratique de fabrication des médicaments .8ème édition. paris : Masson, (2006).
- [4] RI. Pharmacie des HUG, information sur les médicaments-Recommandations d'utilisation, (2005).
- [5] M. Chudel et R Ringgenberg Flavors and fragrance delivery systms.Chimia 55,421-428, (2001).
- [6] Boudendouna, Abdel Hakim. Son étude réalisée en 2010 a pour but de développer une méthodologie de formulation de comprimés à libération prolongée de type « matrices hydrophiles ».
- [7] KHABER AZI (Mouna). Développement pharmaceutique de formes à libération prolongée de Tramadol à base de matrice hydrophile : Hydroxypropylméthylcellulose et gomme guar. Université FERHAT ABBAS – Sétif. Faculté de Technologie. Département de Génie des Procédés 2011.
- [8] Boudendouna, Abdel Hakim. Son étude réalisée en 2010 a pour but de développer une méthodologie de formulation de comprimés à libération prolongée de type « matrices hydrophiles ».
- [9] Suppl. Vol., Virginia Commonwealth University. pp. 164–186.
- [10] Mayer, P. R., 1997.Control. Drug Delivery, 589.
- [11] Iskandar Moussa., 1998. Diffusion dans les Matrices Hydrophiles à Base d'Amylose Réticulé: Caractérisation et Application à la Libération Contrôlée de Médicaments. Thèse de doctorat, Université de Montréal.
- [12] Amsden and M. F. A. Goosen B. G., 1995.AICHE J. 41, 1972
- [13] Iskandar Moussa., 1998. Diffusion dans les Matrices Hydrophiles à Base d'Amylose Réticulé: Caractérisation et Application à la Libération Contrôlée de Médicaments. Thèse de doctorat, Université de Montréal.

- [14] Raphael M. Ottenbrite.,2005.“Controlled-release Technology” in EPSE 2nd ed.
- [15]: V. Ranade. Drug dilevery systems. 4. Implants in drug delivery. Journal of Clinical Pharmacology 30: 871-889, (1990).
- [16]: A. K. Bajpai, S. K. Shukla, S. Bhanu, S. Kankane. Responsive polymers in controlled drug delivery. Progress in Polymer Science 33 1088-1118, (2008).
- [17]: L. Brannon-Preppas. Biomaterials: Polymers in controlled drug delivery. Medical Plastics and Biomaterials Magazine (1997).
- [18].Rondeau-Mouro, C., Buléon, A., Lahaye, M., « Caractérisation par RMN des biopolymères d’origine végétale, de la molécule à l’organisation supramoléculaire », 2008, 370–371.
- [19] : S. CHAOUI. (2012). « Elaboration et caractérisation de nanocomposite à matrice polymère : Approche expérimentale » Thèse de doctorat, Université de Sétif.
- [20] Flory P.J. and Rehner J. Jr., Statistical mechanics of cross-linked polymer networks, fl.Swelling, J. Chem. Phys., 521-526.
- [21] Wade A. and Weller P.J, 1994. Handbook of Pharmaceuticd Excipients, Second Edition,The Pharmaceutical Press, London
- [22] Te Wierik G.H.P., Bergsma J., Arends-Scolte A.W., Boersma T., Eissens AC. and Lerk C.F., 1996. A new generation starch products as excipient in pharmaceutical tablets. starch products, Int. J. Pharm., 27-36.
- [23] Park K., Shalaby S.W. and Park H., 1993. Biodegradable hydrogel for dmg delivery, Technomic publication, Pennsylvania, 1- 140.
- [24] Hunt, B.J. and James, M.I., 1993. Polymer Characterisation, Glasgow, London: Blackie Academic and Professional.
- [25] Palangio, M. et al., 2002. Extended-release hydromorphone formulation in the treatment of chronic malignant or non-malignant pain, J. Pain Symptom Manage., 23(5), 355.
- [26] Graessley. w.w., « Polymer chain dimensions and the dependence of viscoelastic properties on concentration, molecular weight and solvent power Polymer». Polymer, 21 (03), p,258-262. (1980)
- [27] Glicksman. M., « Gum technology in the food industry ». New your :

Academic Press (1969) p.555.

[28] Xiong. G., Cheng. W., Ye. L., Du. X., Zhou. M., Lin. R., Geng. S., Chen. M., Corke.H., Cai. Y.-Z, « Effectes of konjacglucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass crap (Ctenopharyngodonidella) ». Food Chemistry, 116 (02), p.413-418, (2009).

[29] Cancela. M.A., Alvarez. E., Maceiras. R, « Effects of temperature and concentration on carboxymethylcellulose with sucrose rheology ». Journal of Food Engineering, 71(04), p.419-424. (2005).

[30] Kulicke. W.M., Arendt. O., Berger. M, « Characterization of hydroxypropylmethylcellulose-stabilized». emulsions Colloid and Polymer Science,

[31] Thèse de doctorat, Marie- Carole-Kouassi « Polysaccharides fonctionnalisés par des composés d'origine naturelle aux pro- propriétés antioxydants etantibactériennes ». Normandie Université, 2017.

[32] Shelke, N.B, James, R, Laurencin, C.T.Kumbar, S. G. Polysaccharide Biomaterials for Drug Delivery and Regenerative Engineering. Polym, Adv. Technol. 2014, 448-460.

[33] Sebastien Gillet, Aurore Richel. « La relation extraction-structure propriétés des polysaccharides» Belgique (2014) p 73–90

[34] g.o.phillips, et p.a. williams,hand books of hydrocolloids, crc press,boca raton,p450,04,2000.

[35] Voragen AG.J., Pilnik W., Thibault J.-F., Axelos M.A.V. et Renard C.M.G.C., *Pectins, in : Food Polysaccharides and Their Applications*, New-York, Marcel Dekker, 1995, 287-339 p.

[36] MUNGURE T. E., ROOHINEJAD S., BEKHIT A. E.D., GREINER R and MALLIKARJUNAN, K. ,2018- Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. Current Opinion in Food Science, vol 19 : 72 76.

[37] MELIH , G and AKPINAR O. ,2019- Valorisation of fruit by-products: .. Production characterization of pectins from fruit peels, Food an Bioproducts Processing.

[38] Michel B., (2002). Conservation par les sucres : confitures, gelées, fruits

sur sucre. In :Technologies de transformation des fruits. Technique et documentation-Lavoisier (Ed).

[39] Lopes Da Silva J. A. & Rao M.A. (2006). Pectins: structure, functionality, and uses. In food polysaccharides and their applications, Second Edition. Taylor & Francis Group, LLC, pp

[40] Oosterveld, A., Beldman, G.B., Schols, H.A., Voragen, A.J. (1996). Arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides extracted from sugar beet pulp. Carbohydrate Research.

[41] Formulation des systèmes de libération des principes actifs à bases des biopolymères présentée par mazoun khadidja et djouat soumia.

[42] leroux h. et schubert e.(1983).actualités des industries alimentaires et agroalimentaires : les applications des pectines hm dans les industries agroalimentaires .revenues des i.a.a : 615- 618.

[43] Tilly G. 2010. « Pectines ». Techniques de l'ingénieur 1-11.

[44] Fishman M. L., Chau H. K., Hoagland P., et al. 1999. « Characterization of pectin, flashextracted from orange albedo by microwave heating, under pressure ». Carbohydrate research 323: 126–138.

[45] Munarin F., Tanzi M.C. et Petrini P. 2012. « Advances in Biomedical Applications of Pectin Gels ». International Journal of Biological Macromolecules 51 (4): 681-

[46] Wang W., Ma X., Xu Y., et al. 2015. « Ultrasound-Assisted Heating Extraction of Pectin from Grapefruit Peel: Optimization and Comparison with the Conventional Method ». Food Chemistry 178 : 106-114

[47] Munarin F., Tanzi M.C. et Petrini P. 2012. « Advances in Biomedical Applications of Pectin Gels ». International Journal of Biological Macromolecules 51 (4): 681-

[48] C. Otmane, « vitamine B12 chez les patents diabétiques traite par metformines », thèse de doctorat, université Sidi Mohammed Ben Abdallah, FES, (2015).

[49] Kirmichnikovd, Mc. Farlane S.I, Sowers J.B, « Metformin: an update. Ann Intern Med 137; 25-33p », (2002)

- [50] A-L. Borel, Mécanisme d'action d'une nouvelle molécule E008 sur les flux métaboliques hépatiques et l'oxydation phosphorylante mitochondriale, sciences du vivant (qbio), Français <tel-00423712 >, université Joseph-Fourier Grenoble 1, (2009).
- [51] Patel K. R, Patel M. R, Mehta T. J, Patel A. D, Patel N.M, « microencapsulation » review on novel approaches, Int J. pharm. technol;3(1),894-911, (2011).
- [52] E. Beck, A.j. Scheen, « La metformine : une molécule antidiabétique dotée de propriétés anticancéreuses », Rev Med 68 : 9 : 444-449, liege, (2010).
- [53] : 29 avril 2014 ,« substance active metformine « ,Le Hir
- [54] M. Bouchoucha, B. Uzzan, R. Cohen, « metformin and digestive disorders » diabetesand Metabolism 37 90-96, (2011).
- [55] Medicines and Medical Devices Safety Authority, Ministère de la santé, New Zealand, Rapport (mise à jour 2017).
- [56] M. Bouaziz, M. Amir, « Etude de la libération prolongée de chlorhydrate de metformine à travers une matrice de poly (acide lactique) », mémoire master, université de Bejaia, (2009).
- [57] Y. Idrissou, « Diffusion d'un principe actif metformine à travers une matrice poly (acide lactique) », mémoire master, université de Bejaia, (2008).
- [58]. Choix de la matrice d'encapsulation Microencapsulation de bactéries probiotiques Jennifer BURGAIN, Joël SCHER, Claire GAIANI 2016
- [59]. ROWE (Raymond C.), SHESKEY (Paul J.) and QUINN (Marian E.). Handbook of pharmaceutical excipients. 6^{ème} edition. London: Pharmaceutical press, 2009
- [60] Providence Mulonda Kakumbwa, « *Analyse physico-chimique et microbiologique du lait caillé produit dans le groupement de miti et commercialisé dans la ville de Bukavu* » [[archive](#)], sur *memoireonline.com*, 2016 (consulté le 2 novembre 2019).
- [61] Shukla, S., et al., Formulation and in vitro characterization of alginate microspheres loaded with diloxanide furoate for colon- specific drug delivery.

Asian Journal of Pharmaceutics, 2010. 4.

[62] Ahmed, M.M., et al., Emulsification/internal gelation as a method for preparation of diclofenac sodium-sodium alginate microparticles. Saudi Pharm J, 2013. 21(1): p. 61- 9.