

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITE de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



## **Mémoire de Master Professionnel**

En génie des procédés

Spécialité : Pharmacie industrielle

THEME

**Contribution à la formulation d'une  
suspension anti-reflux à base d'alginate de  
sodium et de chitosane.**

Présenté par :

HERAOUI Fares

BOUZIANI Sabiha

Encadré par :

Dr. HADJSADOK Abdelkader

Mme. BELHADJI Lynda

Année universitaire 2016/2017

## RESUME :

Ce travail est une contribution à la mise au point d'une suspension anti-reflux à base d'alginate de sodium et de bicarbonate de sodium et dépourvue des parabènes et du carbonate de calcium. Le but est de substituer ces deux excipients, à effet notoire, par une seule substance qui offre à la fois une source de contre-ions pour complexer l'alginate de sodium et qui, en parallèle, a des propriétés antimicrobiennes. Il s'agit du chitosane. Les plans d'expériences ont été utilisés pour planifier les essais de formulation en vue d'un objectif d'optimisation. Au terme de ce travail, il a été trouvé que le système alginate-chitosane-bicarbonate forme des suspensions administrables par voie orale qui gélifient in situ en produisant un radeau flottant. Ce dernier constitue une barrière mécanique aux problèmes de reflux gastro-œsophagien.

## ABSTRACT

This work is a contribution to the development of an anti-reflux suspension based on sodium alginate and sodium bicarbonate. The aim is to substitute parabens and calcium carbonate by a single substance which offers a cationic source, for the reticulation of sodium alginate, and which has, in same time, antimicrobial properties. This is chitosan. The experimental designs were used for planning formulation tests and for optimization. At the end of this work, it was found that "alginate-chitosan-bicarbonate" system forms orally administrable suspensions which are able to form gel in situ and produce a floating raft. This raft provides a mechanical barrier to gastroesophageal reflux disease.

## ملخص

هذا العمل هو مساهمة في تطوير تعليق المضادة الجزر المعدي المريئي على أساس الجينات الصوديوم وبيكربونات الصوديوم. والهدف من ذلك هو استبدال البارابين وكربونات الكالسيوم عن طريق مادة واحدة تقدم مصدرا موجبا، لإعادة شبكية الجينات الصوديوم، والتي لها، في نفس الوقت، خصائص مضادة للميكروبات. هذا هو الشيتوزان. وقد استخدمت التصاميم التجريبية لتخطيط صياغة التجارب وتحسينها. في نهاية هذا العمل، وجد أن "ألجينات-الشيتوزان-بيكربونات" نظام أشكال تعليق عن طريق الفم التي هي قادرة على الهلام في الموقع وإنتاج طوف العائمة. هذا الطوف يوفر حاجزا ميكانيكيا لمرض الجزر المعدي المريئي.

## REMERCIEMENTS

*Le travail que nous présentons dans ce mémoire à été effectué au sein de l'université de Blida1 « Saad Dahleb ».*

*D'abord on remercie « ALLAH » le tout puissant de nous avoir donné la force et le courage pour accomplir ce travail.*

*Nos vifs remerciements s'adressent tout d'abord à monsieur A.HADJSADOK, qui a accepté d'encadrer ce projet et pour l'aide qu'il a pu apporter à travers ses conseils avisés, et la confiance qu'il nous a témoignée au cours de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances à Mme L.BELHADJI, nous la remercions tout particulièrement pour sa disponibilité et son aide précieuse sans laquelle ce travail n'aurait pas pu être réalisé.*

*A tous les membres de jury,*

*Pour l'honneur que vous nous faites de siéger dans notre jury.*

*Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre sincère gratitude pour les critiques que vous allez nous formuler.*

*Enfin nous ne finissons pas sans l'extrême gratitude et le remerciement les plus sincères à nos parents, qui nous ont soutenus durant toute la période de nos études.*

## **INTRODUCTION**

### **CHAPITRE I : REFLUX GASTRO-OESOPHAGIEN ET LES BIOPOLYMERES DANS LES SYSTEMES ANTIREFLUX**

1.1. PHYSIOLOGIE ET ANATOMIE DE L'ESTOMAC .....	1
1.2. DIGESTION DANS L'ESTOMAC .....	2
1.3. FONCTION DE L'ACIDITE DANS L'ESTOMAC .....	2
1.4. LE REFLUX GASTRO-OESOPHAGIEN(RGO) .....	2
1.5. TRAITEMENT MEDICAMENTEUX .....	3
1.5.1. Antiacides .....	3
1.5.2. Principaux antiacides utilisés .....	4
1.5.2.1. Les sels d'aluminium .....	4
1.5.2.2. Sels de magnésium .....	4
1.5.2.3. Carbonate de calcium .....	4
1.5.2.4. Le bicarbonate de sodium .....	4
1.6. LES BIOPOLYMERES DANS LES SYSTEMES ANTI-REFLUX .....	5
1.6.1. Définition des biopolymères .....	5
1.6.2. Gomme Gellan.....	5
1.6.3. La pectine .....	6
1.6.4. Xyloglucan .....	7
1.6.5. L'alginat de sodium .....	8
1.6.5.1. Propriétés physico-chimiques d'alginat de sodium .....	9
1.6.6. Le chitosane .....	12
1.6.6.1. Propriétés physico-chimique du chitosane .....	12
1.6.6.2. Comportement du chitosane dans un milieu acide .....	13
1.6.6.3. Propriété biologique du chitosane .....	14
1.6.7. Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes .....	14
1.6.8. Gomme xanthane .....	15

### **CHAPITRE 2 : CARACTERISATION EN AMONT ET EN AVAL DES SYSTEMES ANTI-REFLUX**

2.1. LES DIFFERENTS MECANISMES D'APPROCHES DES SYSTEMES ANTI- REFLUX .....	16
2.1.1. Systems a haute densités.....	16

2.1.2. Systèmes gonflables et extensibles .....	17
2.1.3. Systèmes mucoadhesifs et bio-adhésives .....	17
2.1.4. Les systems flottants .....	18
2.1.5. Classification des systems flottants .....	18
2.1.5.1. Systèmes non effervescents .....	19
2.1.5.2. Systèmes effervescent ou systèmes de production de gaz .....	19
2.2. SYSTEME DE FORMATION DE RADEAU .....	19
2.2.1. La conception du système de formation de radeaux .....	20
2.2.2. Avantage de système de formation de radeau .....	20
2.2.3. Les avantages des systèmes anti-reflux .....	21

### **CHAPITRE 3: Matériel et méthodes**

3.1. MATERIEL .....	22
3.1.1. Appareillages .....	22
3.1.2. Réactifs et matières premières .....	23
3.2. METHODES .....	25
3.2.1. Caractérisation du produit de référence .....	25
3.2.2. Description du produit de référence .....	25
3.3. EXTRACTION DE LA CHITINE ET TRANSFORMATION EN CHITOSANE ....	26
3.3.1. Produits utilisés pour l'obtention du chitosane .....	26
3.3.2. Les étapes d'extraction de la chitine .....	27
3.3.2.1. Déminéralisation .....	27
3.3.2.2. Déprotéinisation .....	27
3.3.2.3. Blanchiment .....	27
3.3.2.4. Transformation en chitosane .....	28
3.4. CARACTERISATION DES PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES DU CHITOSANE .....	28
3.4.1. Teneur en eau .....	28
3.4.2. Teneur en cendres .....	28
3.4.3. Teneur en lipides .....	29
3.4.4. Test de solubilité .....	29
3.4.5. Caractérisation granulométrique du chitosane .....	29
3.4.6. Mesure du degré d'acétylation et détermination du pKa du chitosane .....	30
3.4.7. Mesure de la viscosité et détermination du poids moléculaire .....	31

3.5. FORMULATION .....	32
3.5.1. Méthode des plans d'expériences .....	32
3.5.1.1. Planification expérimentale .....	32
3.5.2. Matrice d'expériences .....	34
3.5.3. Préparation des suspensions de chitosane et d'alginate de sodium .....	34
3.5.4. Caractérisation des suspensions .....	35
3.5.4.1. Contrôle du pH .....	35
3.5.4.2. Mesure de la densité .....	35
3.6. CARACTERISATION DE L'ACTIVITE ANTI-REFLUX ET FORMATION DU RADEAU .....	35
3.7. CARACTERISATION DE L'ACTIVITE ANTI-ACIDE .....	36
3.8. CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE .....	36
3.9. CARACTERISATION RHEOLOGIQUE .....	36

#### **CHAPITRE4 : RESULTATS ET DISCUSSION**

4.1. PREPARATION DE LA CHITINE .....	39
4.2. PREPARATION DU CHITOSANE « DESACETYLATION » .....	39
4.3. CARACTERISATION PHYSICO CHIMIQUE DE CHITOSANE .....	39
4.3.1. Détermination de la teneur en eau, cendres et lipides .....	39
4.3.2. Test de solubilité .....	40
4.3.3. Caractérisation granulométrique de chitosane .....	40
4.3.4. Mesure du degré d'acétylation .....	43
4.3.5. Détermination du pKa par dosage pH métrique .....	43
4.3.6. Mesure de la viscosité et détermination du poids moléculaire .....	44
4.4. CARACTERISATION DU PRODUIT DE REFERENCE Gaviscon®.....	45
4.4.1. Caractérisation physico-chimique.....	45
4.4.2. Caractérisation de l'activité anti-reflux .....	45
4.4.3. Caractérisation de l'activité antiacide .....	46
4.4.4. Caractérisation morphologique de la référence .....	47
4.4.5. Caractérisation rhéologique .....	47
4.4.5.1. Courbes d'écoulement de la suspension de référence .....	47
4.4.5.2. Test de viscoélasticité du radeau formé.....	50
4.5. CARACTERISATION DES SUSPENSIONS FORMULEES .....	51
4.5.1. Caractérisation physico-chimique.....	51

4.5.2. Caractérisation de l'activité anti-reflux .....	52
4.5.3. Caractérisation de l'activité antiacide .....	53
4.5.4. Caractérisation morphologique d'une des formulations .....	54
4.5.5. Caractérisation rhéologique .....	54
4.5.5.1. Test d'écoulement sur les suspensions formulées et modélisation .....	54
4.6. MODELISATION EN SURFACE DE REPONSES ET ETUDE D'EFFET .....	56
4.6.1. Matrice d'expériences .....	56
4.6.2. Matrice de corrélation réponse- réponse .....	57
4.6.3. Analyse statistique des modèles par RSM .....	58
4.6.4. Etude des effets des concentrations sur les réponses .....	59
4.6.4.1. Effet de l'alginate de sodium .....	59
4.6.4.2. Effet du chitosane .....	62
4.6.5. Optimisation de la formulation (Approche numérique) .....	65
4.6.6. Optimisation de la formulation par rapport au produit de référence .....	66

## **CONCLUSION GENERALE**

## **APPENDICES**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## LISTE DES FIGURES

### CHAPITRE 1 : REFLUX GASTRO-ŒSOPHAGIEN ET LES BIOPOLYMERES DANS LES SYSTEMES ANTI-REFLUX

<b>Figure 1.1</b> : Image d'une partie du tube digestif.....	5
<b>Figure 1.2</b> : Structure de la gomme gellan.....	6
<b>Figure 1.3</b> : Structure de la pectine.....	7
<b>Figure 1.4</b> : Structure unitaire des oligosaccharides à partir du tamarin-xyloglucan montrant, (a) l'heptasaccharide(b) et (c) l'octasaccharide, et (d) le nonasaccharide.....	7
<b>Figure 1.5</b> : Monomères de la chaîne alginate.....	8
<b>Figure 1.6</b> : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.....	8
<b>Figure 1.7</b> : Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "egg-box".....	9
<b>Figure 1.8</b> : Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate.....	10
<b>Figure 1.9</b> : Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box" boîte à œuf.....	10
<b>Figure 1.10</b> : structure chimique de la chitosane.....	12
<b>Figure 1.11</b> : Structures du chitosane en milieu acide (A) et en milieu neutre (B).....	14
<b>Figure 1.12</b> : Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane.....	15

## CHAPITRE 2 : CARACTERISATION EN AMANT ET EN AVALE DES SYSTEMES ANTI-REFLUX

<b>Figure 2.1</b> : les différents systèmes anti-reflux.....	16
<b>Figure 2.2</b> : Mécanisme de la libération du médicament dans l'estomac avec des systèmes de libération extensible.....	17
<b>Figure 2.3</b> : Mécanisme de la libération du médicament dans l'estomac du contenu par bio/mucoadhesive systèmes.....	18
<b>Figure 2.4</b> : Mécanisme de la libération du médicament dans l'estomac du contenu avec des systèmes flottants.....	18
<b>Figure 2.5</b> : Illustration schématique de la barrière formée par un système de formation de radeaux.....	20

## CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODE

<b>Figure 3.1</b> : Photo du radeau récupéré.....	38
---	----

## CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

<b>Figure 4.1</b> : Distribution granulométrique du chitosane obtenu par diffraction laser.....	41
<b>Figure 4.2</b> : Distribution granulométrique obtenue par tamisage.....	41
<b>Figure 4.3</b> : illustration graphique par la boîte à Moustaches (Box Whisker Plot), des trois caractéristiques granulométriques de la poudre de chitosane : $D_{moy}, D_{moy} \pm SD$ , et $D_{moy} \pm 1,96 \cdot SD$ .....	42
<b>Figure 4.4</b> : Dosage pH métrique du chitosane.....	44
<b>Figure 4.5</b> : Variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration de chitosane à 20°C, selon Huggins et Kraemer.....	44
<b>Figure 4.6</b> : Profil de neutralisation du produit de référence Gaviscon®.....	46

<b>Figure 4.7 :</b> Image illustrant l'observation microscopique (1000x) de la suspension de référence Gaviscon®.....	47
<b>Figure 4.8 :</b> Courbes d'écoulement du produit de Gaviscon®.....	48
<b>Figure 4.9 :</b> Comportement viscoélastique de la suspension de référence Gaviscon®.....	50
<b>Figure 4.10 :</b> Profils typiques de neutralisation, lors de la formation du radeau dans le milieu gastrique, T=37°C.....	53
<b>Figure 4.11 :</b> Image microscopique, X100, typique d'une suspension à base de chitosane et d'alginate de sodium.....	54
<b>Figure 4.12 :</b> Courbe d'écoulement typique d'une des suspensions.....	54
<b>Figure 4.13-A, B, C, D, E et F :</b> Courbes d'effet de l'alginate de sodium et de son interaction avec le chitosane, sur $\eta_0$ (A), $\eta_{inf}$ (B), $\dot{\gamma}_c$ (C), $n$ (D), $G'$ (E) et $\tau_{seuil}$ (F). La concentration du bicarbonate de sodium est prise à sa valeur moyenne.....	60
<b>Figure 4.14-A,B :</b> Courbes d'effet de l'alginate de sodium et de son interaction avec le bicarbonate de sodium sur $G'$ (A) et $\tau_{seuil}$ (B). La concentration du chitosane est prise à sa valeur moyenne.....	61
<b>Figure 4.15-A,B :</b> Courbes d'effet du Chitosane et de son interaction avec l'alginate de sodium sur $G'$ (A) et sur $\tau_{seuil}$ (B). La concentration du bicarbonate de sodium est prise à sa valeur moyenne.....	62
<b>Figure 4.16-A,B :</b> Courbes d'effet du Chitosane et de son interaction avec le bicarbonate de sodium sur $G'$ (A) et sur $\tau_{seuil}$ (B). La concentration de l'alginate de sodium est prise à sa valeur moyenne.....	63
<b>Figure 4.17-A et B :</b> Courbes d'effet du bicarbonate de sodium et de son interaction avec l'alginate de sodium sur $G'$ (A) et sur $\tau_{seuil}$ (B). La concentration du chitosane est prise à sa valeur moyenne.....	64
<b>Figure 4.18-A,B :</b> Courbes d'effet du bicarbonate de sodium et de son interaction avec le chitosane sur $G'$ (A) et sur $\tau_{seuil}$ (B). La concentration de l'alginate de sodium est prise à sa valeur moyenne.....	64

## LISTE DES ABREVIATIONS

**SSO** : Sphincter supérieur œsophagien.

**SIO** : sphincter inférieur œsophagien.

**RGO** : Reflux gastro-œsophagien.

**pH** : Potentiel hydrogène.

**Sol** : solide.

**MM** : Masse molaire.

**ADEME** : Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie.

**MG** : Mannuronique, guluronique.

**DDA** : Le degré de désacétylation.

**pKa** : Indice de la constante d'acidité.

**GIT** : tractus gastro-intestinal.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone.

**R<sub>m</sub>** : rendement massique.

**m<sub>i</sub>** : Masse initiale.

**m<sub>f</sub>** : Masse finale.

**RSM** : Modélisation en surface de réponse.

## LISTE DES TABLEAUX

### CHAPITRE 1 : REFLUX GASTRO-CESOPHAGIEN ET LES BIOPOLYMERES DANS LES SYSTEMES ANTI-REFLUX

<b>Tableau 1.1:</b> Facteurs déterminant l'incidence du RGO.....	3
--	---

### CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODE

<b>Tableau 3.1 :</b> Description du produit de référence « Gaviscon, Nobac ».....	25
---	----

<b>Tableau 3.2 :</b> Matrice d'expériences.....	34
---	----

### CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

<b>Tableau 4.1 :</b> Résultat des caractéristiques de chitosane.....	39
--	----

<b>Tableau 4.2 :</b> Résultat de test de solubilité du chitosane extrait et commerciale.....	40
--	----

<b>Tableau 4.3 :</b> Propriétés physico-chimiques des suspensions de référence.....	45
---	----

<b>Tableau 4.4 :</b> propriétés du radeau formé.....	45
--	----

<b>Tableau 4.5 :</b> Paramètres rhéologiques des deux modèles des produits de référence Gaviscon®.....	45
--	----

<b>Tableau 4.6 :</b> Paramètres rhéologiques viscoélastique du radeau de gaviscon®.....	51
---	----

<b>Tableau 4.7 :</b> Caractérisation physico-chimique des formulations.....	51
---	----

<b>Tableau 4.8 :</b> Paramètres de l'activité anti reflux des formulations.....	52
---	----

<b>Tableau 4.9 :</b> Paramètres rhéologiques du modèle de Carreau.....	55
--	----

<b>Tableau 4.10 :</b> Paramètres rhéologiques du modèle de cross.....	56
---	----

<b>Tableau 4.11</b> : Matrice d'expériences regroupant les essais de formulation des suspensions.....	57
<b>Tableau 4.12</b> : Matrice de corrélation entre les réponses.....	58
<b>Tableau 4.13</b> : Valeurs des coefficients de détermination et de prédiction des modèles RSM.....	58
<b>Tableau 4.14</b> : Valeurs des coefficients des modèles de surface de réponses, RSM.....	59
<b>Tableau 4.15</b> : Facteurs justifiant les conditions d'optimisation de la formulation de la suspension.....	65
<b>Tableau 4.16</b> : Ensemble des conditions et valeur cible des réponses à atteindre pour l'optimisation.....	65
<b>Tableau 4.17</b> : Ensemble des conditions et valeur cible des réponses à atteindre pour l'optimisation de la formulation par rapport au produit de référence Gaviscon®.....	67

## LISTE DES SYMBOLES

Symboles	Désignations	Unité
$\eta$	Viscosité	[Pa.s]
K ; a	K et a : les coefficients de Mark– Houwink	
M <sub>v</sub>	la masse molaire moyenne viscosimétrique du polymère	[g/mole]
n	Indice de loi de puissance.	
$\eta_0$	Viscosité a un taux de cisaillement nul	[Pa.s]
$\eta_\infty$	Viscosité a un taux de cisaillement infini	[Pa.s]
$\dot{\gamma}$	Vitesse de cisaillement	[s <sup>-1</sup> ]
$\eta_a$	Viscosité apparente	[Pa.s]
G'	Module de conservation	[Pa]
G''	Module de perte ou de dissipation	[Pa]
$\tau_{\text{seuil}}$	Contrainte de seuil	[Pa]
R <sup>2</sup>	Coefficient de détermination	
Q <sup>2</sup>	Coefficient de prédiction	

## INTRODUCTION GENERALE

Le reflux gastro-œsophagien est un phénomène intermittent et silencieux qui se produit chez tous les sujets, en particulier après les repas. Il s'agit d'un trouble causé par le reflux du contenu gastrique dans la lumière œsophagienne dont le revêtement intérieur n'étant pas conçu pour résister à l'assaut des sucs gastriques, l'inflammation s'installe, suivie de brûlures et d'autres symptômes d'irritation de l'œsophage. Avec le temps, il peut en résulter des complications parfois sévères.

De nos jours, les personnes souffrant régulièrement de reflux peuvent obtenir un traitement simple et efficace pour soulager leurs symptômes, en utilisant les antiacides, anti-reflux qui sont offerts en vente libre et sont habituellement suffisants pour le traitement, conjointement à certains conseils de prévention. Dans cette gamme apparaît les suspensions composées d'alginate de sodium et de bicarbonate de sodium qui diminuent les symptômes en neutralisant en partie l'acidité gastrique par les bicarbonates, et en isolant mécaniquement la zone inflammatoire par l'alginate de sodium par formation d'un radeau.

Les médicaments anti-reflux commercialisés, de par le monde, se base sur la complexation de l'alginate qui forme un gel, par la présence d'une source de cation divalent ou trivalent, particulièrement des ions de calcium qui sont libérés dans le milieu gastrique par les molécules du carbonate de calcium. Cependant, lors de la vidange gastrique, l'organisme va se retrouver avec un surdosage de ces ions, suite à leur passage dans les intestins au pH 6.8 qui provoque la cassure du gel. Un autre problème, concernant ces médicaments, est lié à la présence de grandes quantités de parabène pour assurer la stabilité microbiologique. Or il est connu que les parabènes sont des substances nocives à la santé et on suspecte même leur effet cancérigène.

Aussi, l'objectif de ce travail est de tenter de substituer les parabènes et le carbonate de calcium par une seule substance qui offre à la fois une source de contre-ions complexer l'alginate de sodium et qui a en parallèle des propriétés antimicrobiennes. Il s'agit du chitosane. Pour l'organisation des essais de formulation et l'optimisation, on s'appuiera sur la méthodologie des plans d'expériences.

Ce manuscrit est fractionné en quatre chapitres. Dans le premier chapitre nous nous sommes intéressés à présenter des généralités sur les reflux gastro-œsophagien et les biopolymères qui sont impliqués dans la formation des systèmes flottant sous forme de radeau anti-reflux. Le deuxième chapitre est dédié aux différentes caractéristiques des anti-reflux en amont et en aval. Dans le troisième chapitre, nous avons résumé tous le matériel et méthodes qui ont été utilisés pour réaliser les différentes phases du travail expérimental, notamment l'extraction du chitosane et sa caractérisation ainsi que la formulation des suspensions et leur analyse.

Le dernier chapitre de l'étude expérimentale a été consacré à la présentation de tous les résultats de cette étude et les interprétations.

Enfin, en conclusion nous récapitulons les points les plus importants qui ressortent au terme de cette étude, puis nous donnons les perspectives de ce travail.

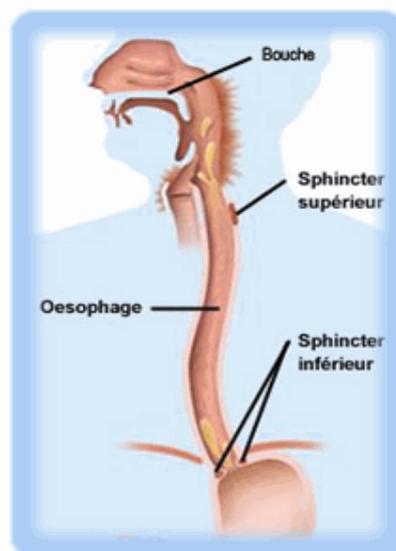
## CHAPITRE I :

### REFLUX GASTRO-OESOPHAGIEN ET LES BIOPOLYMERES DANS LES SYSTEMES ANTIREFLUX

#### 1.1. PHYSIOLOGIE ET ANATOMIE DE L'ESTOMAC :

L'œsophage a pour principale fonction d'acheminer vers l'estomac les aliments solides ou liquides déglutis, grâce à la contraction séquentielle dite « péristaltique » du corps œsophagien et au relâchement bien synchronisé des sphincters œsophagiens supérieur et inférieur. De plus, l'œsophage repousse dans l'estomac tout reflux du contenu gastrique et intervient dans des activités réflexes comme les vomissements et les éructations [1].

L'œsophage est un conduit musculaire de longueur de 25 à 30cm et de largeur de 2 à 3 cm. Il fait suite au pharynx et s'abouche à l'estomac par le cardia, situé à 40cm des arcades dentaires. L'œsophage débute et se termine par des épaissements musculaires ; les sphincters, il s'agit du sphincter supérieur de l'œsophage (SSO) de type strié, qui mesure 3cm et du sphincter inférieur (SIO) de type lisse et qui mesure 4cm [2].



**Figure 1.1 : Image d'une partie du tube digestif.**

## **1.2. DIGESTION DANS L'ESTOMAC :**

Les aliments entrent par la bouche, subissent quelques transformations sous l'effet de la salive et passent dans l'œsophage. Le bol alimentaire se retrouve rapidement dans l'estomac. Là, il est mélangé au suc gastrique par brassage et péristaltisme. Mais l'estomac ne fait pas que broyer les aliments; il a aussi un rôle chimique. Une des couches de tissus de la paroi stomacale, le chorion, est tapissée de glandes gastriques. Celles-ci comprennent plusieurs types de cellules:

- les cellules à mucus du collet qui abondent autour des cryptes gastriques ;
- les cellules pariétales ou bordantes qui produisent l'acide chlorhydrique (HCl) ;
- les cellules principales qui secrètent le pepsinogène.

Ces trois types de sécrétions digestives, le mucus, l'acide chlorhydrique et le pepsinogène ont tous un rôle particulier à jouer dans la digestion des aliments. L'ensemble de ces sécrétions gastriques constitue le suc gastrique [3].

## **1.3. FONCTION DE L'ACIDITE DANS L'ESTOMAC :**

La forte acidité du suc gastrique (pH 1 à 2) est donnée par l'acide chlorhydrique. Son principal rôle est d'intervenir dans la conversion du pepsinogène en pepsine, enzyme active et efficace dans un milieu très acide (pH 1 à 2). Elle sert à la digestion des protéines. L'acide chlorhydrique agit sur les glucides en commençant la dégradation du saccharose, qui est dédoublé en glucose et fructose. Cet acide a aussi un rôle antiseptique ; il détruit la majorité des bactéries qui pourraient pénétrer dans le tube digestif [4].

## **1.4. LE REFLUX GASTRO-OESOPHAGIEN(RGO) :**

Le reflux gastro-œsophagien désigne la remontée d'une partie du contenu de l'estomac dans l'œsophage. L'estomac produit des sucs gastriques, Or, la paroi de l'œsophage n'est pas conçue pour résister à l'acidité du contenu de l'estomac. Le reflux entraîne donc une inflammation de l'œsophage qui se traduit par des sensations de brûlure et d'irritation. Avec le temps, il peut s'ensuivre des lésions à l'œsophage. A noter qu'un faible niveau de reflux est normal et sans conséquence, et l'on parle alors de reflux physiologique (normal) [5].

De nombreux facteurs sont déterminants dans la survenue du RGO : les principaux d'entre eux sont retrouvés dans le tableau ci-dessous. Sa survenue peut être secondaire au dérèglement d'un ou plusieurs mécanismes de défense et de façon générale, son développement est d'origine multifactorielle [5].

**Tableau 1.1: Facteurs déterminant l'incidence du RGO [5]**

<b>Facteurs protecteurs</b>	<b>Mécanisme de défense</b>	<b>Facteurs provoquants</b>
Normale	Clairance œsophagienne = vidange œsophage	Retardée
Bonne	Résistance mucoale	Diminuée
Normale	Pression du SIO	Diminuée
Long	Œsophage abdominal	Court
Normale	Position du SIO	Malposition
Aigu	Angle de His	Obtus
Petit	Volume gastrique	Grand
Normale	Vidange gastrique	Retardée
Faible	Sécrétion d'acide gastrique	Importante
Basse	Pression intra-abdominale	Elevée

## **1.5. TRAITEMENT MEDICAMENTEUX :**

Parmi les traitements médicamenteux disponibles actuellement sur le marché et recommandés pour le RGO, seul subsistent les topiques gastro-intestinaux et les antisécrétoires gastriques. Les prokinétiques, longtemps utilisés, n'ont aujourd'hui plus leur place dans la prise en charge de cette affection [6].

### **1.5.1. Antiacides :**

Pour contrecarrer la surproduction d'acide chlorhydrique, on ingère souvent des médicaments appelés antiacides. Ceux-ci ont pour rôle de neutraliser le surplus d'acide produit. Ils sont donc formés de substances basiques [6].

Il est important que l'effet des antiacides se manifeste seulement sur le sur plus d'acidité dans l'estomac. Le suc gastrique doit toujours se maintenir à un pH très bas (pH 1 à 2). Ils doivent être légèrement basiques pour empêcher la neutralisation totale du contenu gastrique [6].

## **1.5.2. Principaux antiacides utilisés :**

### **1.5.2.1. Les sels d'aluminium :**

Retrouvés dans la majorité des antiacides, ces sels retardent la vidange gastrique en créant des constipations, voire des occlusions intestinales à forte dose [6].

### **1.5.2.2. Sels de magnésium :**

Ces sels sont également retrouvés dans la plupart des spécialités antiacides. A l'inverse de l'aluminium, le magnésium accélère la vidange gastrique et peut provoquer des diarrhées banales. L'hydroxyde de magnésium entraîne une augmentation du pH gastrique supérieure à celle obtenue avec l'hydroxyde d'aluminiums [6].

### **1.5.2.3. Carbonate de calcium :**

Le carbonate de calcium est un excellent antiacide, à effet rapide et prolongé. Il a une haute capacité de neutralisation. S'il ne possède pas d'effet systémique, il est le seul antiacide connu pour provoquer un effet rebond. Les sels de calcium ont une plus grande tendance à précipiter dans le tractus intestinal que les sels de magnésium, de telle sorte qu'ils ne provoquent pas d'effet laxatif mais sont plutôt constipants, ce qui explique que les antiacides au magnésium et au calcium sont souvent alternés dans la thérapeutique antiacide [6].

### **1.5.2.4. Le bicarbonate de sodium :**

Le bicarbonate de sodium a été largement utilisé comme antiacide à effet systémique. En raison de sa solubilité, il agit immédiatement dans l'estomac, neutralisant rapidement l'acide chlorhydrique [6].

*Plus récemment, diverses préparations ont été proposées pour contrecarrer le reflux gastro-œsophagien « comme les système anti-reflux ». Ces systèmes sont le fruit de la conjugaison de substances antiacides et de certains biopolymères qui ont été identifiés pour leurs caractéristiques de gélification in situ (dans le milieu gastrique). Parmi la panoplie des biopolymères, nous allons porter notre intérêt sur les polysaccharides :*

## **1.6. LES BIOPOLYMERES DANS LES SYSTEMES ANTI-REFLUX :**

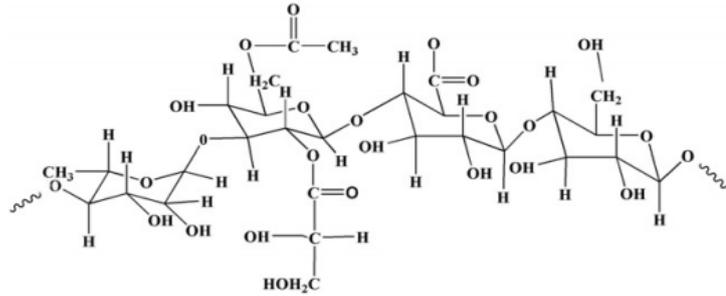
### **1.6.1. Définition des biopolymères :**

Les biopolymères se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux [7].

Divers polymères naturels sont utilisés dans la formulation des systèmes anti-reflux. Polymères naturels tels que l'acide alginique, l'aginate de sodium, la gomme Gellane, le xyloglucan, la pectine, le chitosane,...sont autant de possibilité de choix pour contrôler le système de délivrance des médicaments [8].

### **1.6.2. Gomme Gellan:**

La gomme Gellan est un polysaccharide exocellulaire désacétylé anioniques avec une unité de base tétrasaccharidiques, une  $\alpha$ -L-rhamnose, une  $\beta$ -D-glucuronique et deux  $\beta$ -D-glucuronique résidus. Ces derniers sont liés ensemble pour donner une unité de répétition tétrasaccharide [9]. La formulation est composée de la solution de gomme Gellan avec, du chlorure de calcium et du citrate de sodium. Lorsque celle-ci est administrée par voie orale, les ions de calcium sont libérées dans l'environnement acide de l'estomac ce qui conduit à la gélification de la gomme Gellan « complexations » formant ainsi un gel in situ [10].



**Figure 1.2 : Structure de la gomme gellan.**

### 1.6.3. La pectine :

La pectine est un polysaccharide anionique d'origine végétale extraite de la paroi cellulaire de la plupart des plantes. Les pectines sont des polymères linéaires composés principalement d' $\alpha$ -(1-4)-D-galacturonique liées interrompue par les résidus d'acide 1, 2-L-rhamnose liés les résidus. Ils ont un poids moléculaire moyen d'environ 50 000 à environ 180 000 [11]. (Figure 1.3). Il forme rapidement des gels dans une solution aqueuse en présence d'ions divalents tels que les ions calcium, qui réticulent les chaînes d'acide galacturonique de la manière décrite par le modèle de « egg box ». En général, l'ion calcium est nécessaire pour produire les gels qui sont convenables comme véhicules pour l'administration de médicaments. Le principal avantage de l'utilisation de la pectine pour ces formulations, c'est qu'il est soluble dans l'eau, de sorte que les solvants organiques ne sont pas nécessaires dans la formulation.

Les ions calcium, dans le complexe, peuvent être inclus dans la formulation pour l'induction de la gélification de la pectine [12]. Par ce moyen, la formulation peut être maintenue dans un état liquide (sol), jusqu'à la désagrégation du complexe dans l'environnement acide de l'estomac, où la libération d'ions en calcium provoque la gélification.

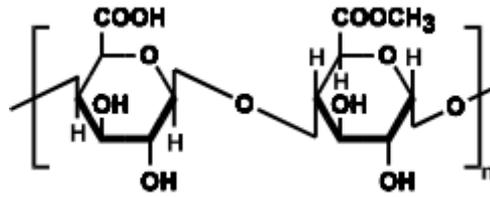


Figure 1.3 : Structure de la pectine.

#### 1.6.4. Xyloglucan :

Le Xyloglucan est un polysaccharide à base de plantes obtenues à partir des graines de tamarin. Il est composé de (1-4)- $\beta$ -D-glucan chaîne dorsale, qui a (1-6)  $\alpha$ -D-xylose branches. Ces dernières sont partiellement remplacées par (1-2)- $\beta$ -D-galactoxylose. Le Xyloglucan est composé d'heptasaccharide, de nonasaccharide, d'octasaccharide et d'oligomères qui diffèrent par le nombre de chaînes latérales du galactose (Figure 1.4). Bien que xyloglucan, lui-même, ne forme pas un gel, sa présence, dans des solutions diluées, et sa dégradation partielle par la galactosidase, peut générer une transition sol-gel thermoréversible [11].

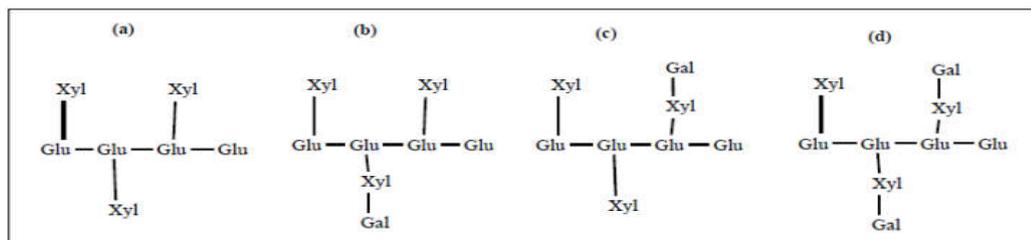
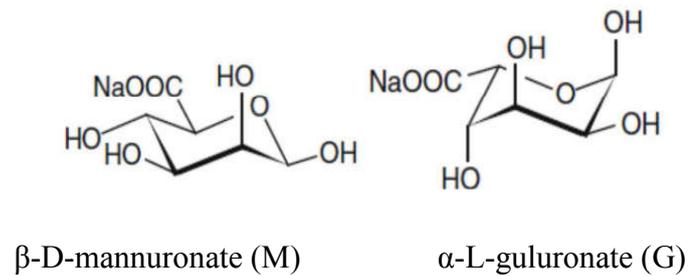


Figure 1.4 : La structure de l'unité d'oligosaccharides de tamarin xyloglucan montrant (a) heptasaccharide, (b) et (c) et (d, octasaccharide) nonasaccharide [13].

### 1.6.5. L'alginate de sodium :

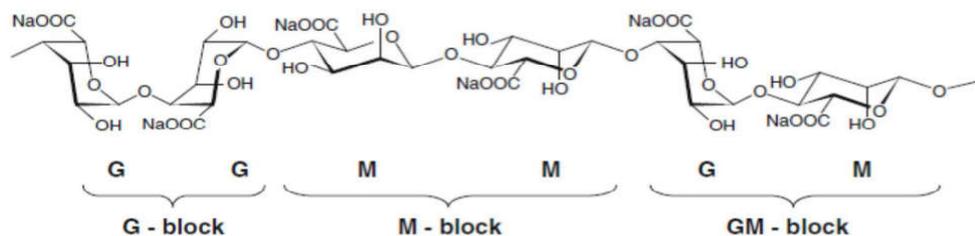
L'alginate de sodium est un polysaccharide de structure linéaire, biopolymère anionique, extrait des algues brunes, et il peut être produit par voie bactérienne [14].

L'alginate de sodium est constitués de deux monomères saccharidiques de base : acide  $\alpha$  - L - guluronique (G) et acide  $\beta$  - D - mannuronique (M), dont la séquence varie (Figure 1.5).



**Figure 1.5 : Monomères de la chaîne alginate**

Les alginates de sodium possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles (figure 1.6) : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM) [15].

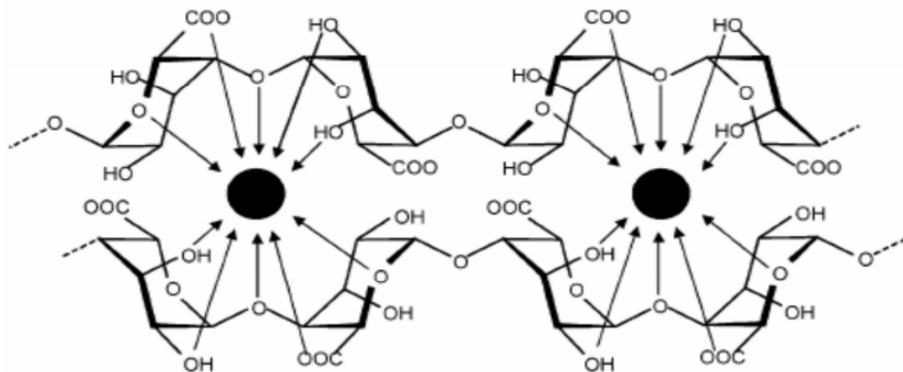


**Figure 1.6 : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.**

### **1.6.5.1. Propriétés physico-chimiques d'alginate de sodium :**

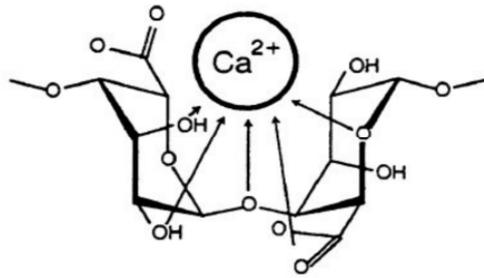
#### **1.6.5.1.1. Gélification :**

Les propriétés physiques de l'alginate sont décrites pour la première fois dans les années 1970. La principale caractéristique de l'alginate est sa capacité à gélifier en présence de cations multivalents. Cette transition sol/gel n'est pas influencée par la température. Les sels d'alginate sont solubles dans l'eau et sont capables de gélifier en présence de cations multivalents tels que les ions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ou encore  $\text{Al}^{3+}$  grâce à la formation d'une jonction impliquant plusieurs chaînes polysaccharidiques. Cette interaction est décrite par le modèle « egg-box » ou «boite à œuf » dans lequel chaque ion divalent peut interagir avec deux résidus G adjacents ou appartenant à deux chaînes opposées (figure 1.7) [15].



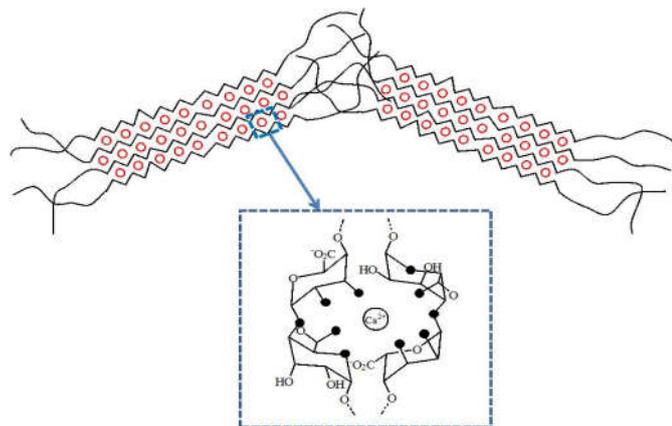
**Figure 1.7: Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "egg-box" [15].**

Le sel de cation divalent généralement utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium en raison de sa bonne solubilité en milieu aqueux et de la forte disponibilité en ions calcium qu'il apporte. Il a été montré que 90% des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium peuvent être facilement déplacés par les ions calciques [16].



**Figure 1.8 : Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate [17].**

Cet enchaînement régulier de type « egg box » ou « boîte à œuf » (figure 1.9) se reproduit périodiquement : il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou poly-(M-G).



**Figure 1.9 : Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box" boîte à œuf**

L'augmentation de la concentration de l'alginate, surtout s'il est de masse moléculaire élevée, induit une plus grande rigidité du gel.

La formulation reste sous forme liquide jusqu'à ce qu'il atteigne l'estomac, où la gélification est instantanée [18].

il existe une relation entre la température et la rapidité de la gélification : une température basse est responsable d'une diminution de la diffusion du calcium d'où une gélification plus lente, une structure plus ordonnée et donc une plus grande cohésion [18].

#### **1.6.5.1.2. Rhéologie des alginates :**

Les alginates ont, en général, un comportement quasi-Newtonien, même si des déviations peuvent être observées suivant plusieurs facteurs, notamment le type d'alginate, la concentration de la solution, la composition chimique de l'alginate, sa masse moléculaire moyenne. Les solutions aqueuses d'alginate sont très visqueuses. En effet, l'alginate est un polyélectrolyte qui contient des fragments poly ( $\alpha$ -L-gulonate) rigides. Les alginates de sodium se dissolvent dans l'eau, en formant des solutions colloïdales visqueuses à comportement pseudoélastique et ce pour de faibles concentrations [17].

#### **1.6.5.1.3. Solubilité :**

Les alginates sont solubles à froid et permettent ainsi d'obtenir facilement des solutions visqueuses. Grâce à sa solubilité dans l'eau, c'est l'alginate de sodium qui est le plus utilisé bien qu'insoluble dans l'éthanol et les solvants organiques. Cependant, la solubilité est inversement proportionnelle à la longueur des chaînes.

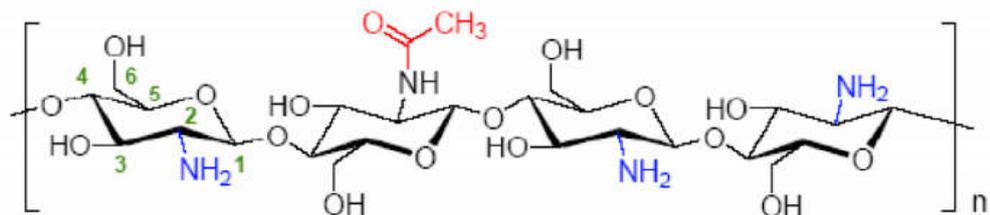
Trois paramètres essentiels déterminent et limitent la solubilité des alginates dans l'eau:

- Le pH du solvant: Une chute brutale du pH va entraîner la précipitation des molécules d'acide alginique, alors qu'un ajout progressif de protons va permettre de former un gel faible d'acide alginique.
- La force ionique du milieu: tout changement de la force ionique d'une solution d'alginate a un effet sur le comportement du polymère, Pour des forces ioniques très importantes, la solubilité va également être affectée.
- La présence ou non d'ions favorisant la gélification: En dessous d'une certaine teneur en ions calcium, seuls 1 à 3% des alginates vont être retrouvés en solution [19].

### 1.6.6. Le chitosane :

Le chitosane est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy- $\beta$ -D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucopyranose liés en  $\beta$  (1-4) (figure 2). C'est un polysaccharide qui a de fortes similarités avec la cellulose. Cette macromolécule est obtenue par désacétylation de la chitine, extraite des carapaces de crustacés tels que les crabes et les crevettes. Le degré de désacétylation (DDA) va alors définir la proportion de groupements amines devant les groupements acétyles qui constituent les chaînes du chitosane. On pourra utiliser le terme de chitosane lorsque le DDA aura dépassé 50 %. En-dessous, on parle toujours de la chitine. Le chitosane est donc presque toujours un copolymère à moins que le DDA ne soit de 100 %.

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels, un groupement amine et deux groupements hydroxyles en positions C2, C3 et C6 respectivement (Figure 1.10). Grâce à ses groupements amines libres, ce composé possède des propriétés très intéressantes. Le chitosane, soluble dans les acides faibles, possède une charge positive alors que la plupart des polysaccharides sont chargés négativement [17].



**Figure 1.10 : structure chimique de la chitosane [20].**

#### 1.6.6.1. Propriétés physico-chimique du chitosane :

Le polymère a un caractère cationique, de masse molaire (MM) très élevée : de l'ordre de «38-500 kDa. La détermination de la MM peut se faire par des mesures viscosimétriques.

Le chitosane est insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées, par contre, soluble dans la plupart des solutions organiques acides. L'acide le plus couramment utilisé pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué. En générale, le chitosane est parfaitement soluble à pH 3 et 4, les groupes aminés du chitosane

sont protonés et le polymère chargé positivement devient soluble. En revanche il est relativement stable en milieu acide concentré, même s'il se dégrade après une longue exposition [20].

En général, la solubilité du chitosane dépend de la valeur de DDA, de la force ionique, du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire. En général, un chitosane avec un DDA supérieur à 70 % est utilisé.

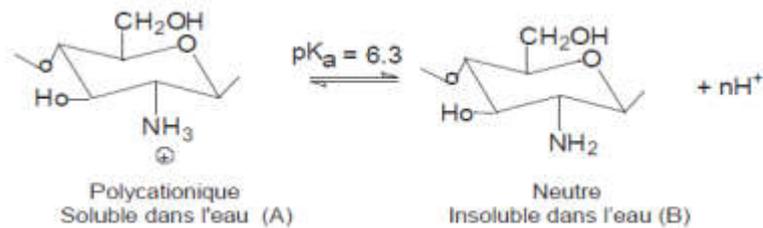
La viscosité est une caractéristique importante du chitosane concernant son comportement en solution. Cette caractéristique est liée à la conformation des chaînes macromoléculaires en solution. La viscosité dépend, non seulement du DDA, du MM, mais aussi du pH car ces deux paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne de polymère. Plus le pH est bas, plus la viscosité est forte. La viscosité augmente également avec le DDA car plus le polymère est désacétylé, plus la proportion des groupements amine libres est importante et plus il est soluble. La viscosité augmente également avec la concentration et elle est en fonction de la MM des chaînes macromoléculaires. Comme pour les autres polysaccharides, la viscosité chute lorsque la température augmente [7, 21].

#### **1.6.6.2. Comportement du chitosane dans un milieu acide :**

Le chitosane est soluble dans des solutions aqueuses acides et insoluble à un pH neutre ou alcalin. Dans un milieu acide, les groupes amines ( $-NH_2$ ), présents à la position C-2 de l'unité répétitive de glucosamine, sont protonnés ( $-NH_3^+$ ). Ainsi, à un pH acide, le chitosane devient soluble, présentant une densité de charge positive qui est en fonction du DDA.



Le pKa du chitosane est approximativement 6,3. Ainsi, lorsque le DDA est peu élevé c'est-à-dire lorsque les groupements amine sont en petite quantité, le chitosane est peu soluble. En général, on utilise du chitosane avec un DDA supérieur à 70 % pour avoir une grande partie soluble [7].



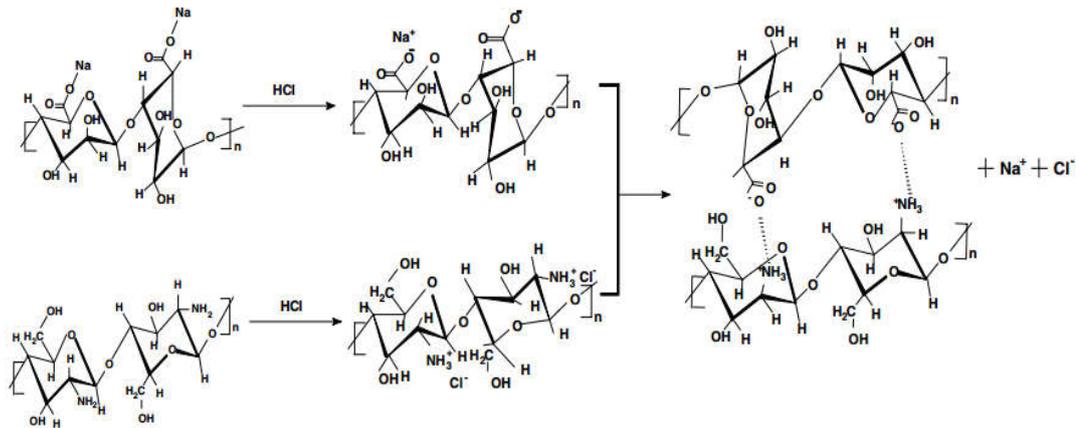
**Figure 1.11 : Structures du chitosane en milieu acide (A) et en milieu neutre (B).**

### **1.6.6.3. Propriété biologique du chitosane :**

Le chitosane est biodégradable et biocompatible. Il ne présente aucun comportement antigénique, mais possède un caractère antithrombogène et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. Le chitosane a également des propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et infections. Il a de plus des propriétés immunologiques, antitumorales, antibactériennes et antifongiques [21].

### **1.6.7. Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes :**

La formation de complexes à base de biopolymères pour le développement de biomatériaux tridimensionnels est très décrite dans la littérature. Ce succès est particulièrement dû à la simplicité des interactions qui les composent. Effectivement, la formation du réseau de complexe Alginate/Chitosane (figure 1.12) s'effectue au travers des réticulations ioniques entre les fonctions carboxylates déprotonées (chargées négativement) de l'alginate de sodium et les fonctions amines primaires protonées du chitosane (chargés positivement) aboutissant à la formation d'une structure tridimensionnelle dont la porosité est liée à la densité d'enchevêtrement des chaînes macromoléculaires des deux biopolymères [17].



**Figure 1.12: Représentation de la réticulation ionique entre l’alginate de sodium et le chitosane [22].**

#### 1.6.8. Gomme xanthane :

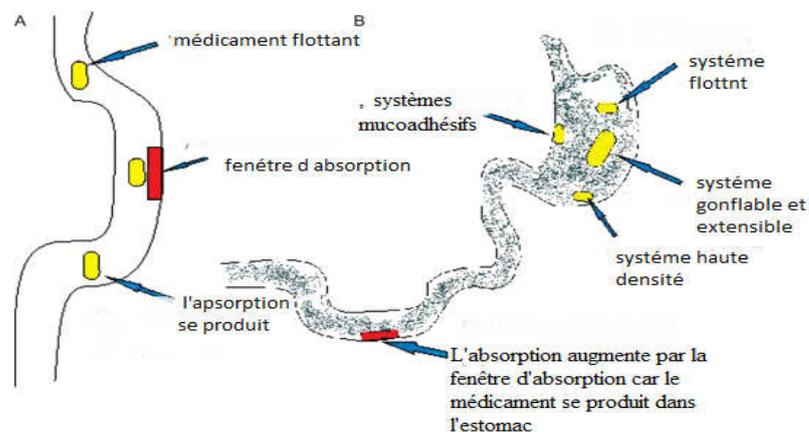
La gomme xanthane (E 415) est un polysaccharide extracellulaire d’origine microbienne, son extraction intervient par fermentation au moyen de *Xanthomonas Campestris* suivie d’une précipitation à l’alcool du filtrat de culture. Le polymère a un caractère anionique, souvent neutralisé dans les produits alimentaires par la présence de cations. La gomme xanthane est caractérisée par sa forte viscosité, elle est utilisée dans les formulations pharmaceutiques comme agent viscosifiant et suspensif [23].

## CHAPITRE 2 : CARACTERISATION EN AMONT ET EN AVANT DES SYSTEMES ANTI-REFLUX

Dans ce chapitre nous allons aborder les différents systèmes anti-reflux et nous allons détailler le mécanisme du système qui fait l'objet de cette étude, à savoir, le système flottant par formation du radeau.

### 2.1. LES DIFFERENTS MECANISMES D'APPROCHES DES SYSTEMES ANTI-REFLUX :

Au cours des dernières décennies, plusieurs approches des systèmes anti-reflux étant conçu et développé, c'est différentes systèmes anti-reflux sont cité dans la figure suivantes :



**Figure 2.1: les différents systèmes anti-reflux**

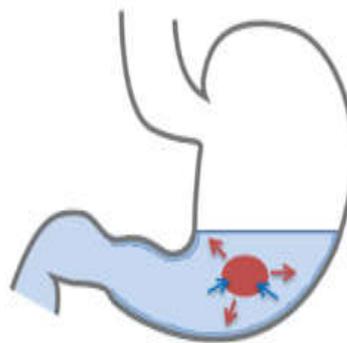
#### 2.1.1. Systems a haute densités:

Les systèmes denses utilisent la densité comme une stratégie visant à produire un mécanisme de rétention. La densité de ces systèmes est plus élevée que celle des fluides gastriques qui est de  $1,004 \text{ g/cm}^3$ , Ce qui leur permet de s'installer au bas de l'estomac [25]. Les matériaux plus denses ont montré un ralentissement du temps de transit à travers

le tractus gastro-intestinal. Depuis, plusieurs études ont été menées afin de comprendre cette relation et de déterminer les valeurs de densité la plus appropriée pour ces systèmes. D'ailleurs, il a été montré que les valeurs de densité critique, nécessaire à l'augmentation de temps de résidence dans l'estomac, varient de 2,4 à 2,8 g/cm<sup>3</sup> [26].

### **2.1.2. Systèmes gonflables et extensibles:**

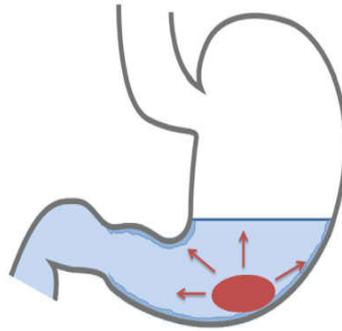
Ces systèmes sont généralement basé sur trois configurations: une petite configuration (collapsée) qui permet une prise orale pratique, Une forme élargie qui est obtenue dans l'estomac et empêche ainsi le passage à travers le sphincter pylorique, Et enfin une autre petite forme qui est obtenue dans l'estomac lorsque la rétention n'est plus nécessaire c'est-à-dire après que le médicament a libéré son principe actif, permettant ainsi l'évacuation [27].



**Figure 2.2 : Mécanisme de la libération du médicament dans l'estomac avec des systèmes de libération extensible.**

### **2.1.3. Systèmes mucoadhésifs et bio-adhésives :**

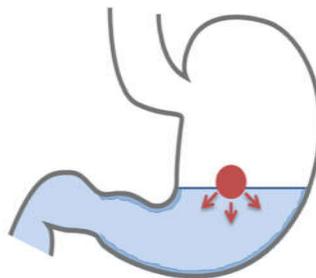
Des agents bio / mucoadhésifs utilisés pour permettre à l'appareil d'adhérer aux murs gastro-intestinaux (résistant à la vidange gastrique). Cependant, le mucus sur les murs de l'estomac est en constante évolution, entraînant une adhérence imprévisible. Cette approche implique l'utilisation de polymères bioadhésifs qui peuvent adhérer à la surface épithéliale dans l'estomac. Certains des excipients les plus prometteurs qui ont été utilisés couramment dans ces systèmes comprennent les polycarbophiles, carbopol, lectines, Chitosane [28].



**Figure 2.3 : Mécanisme de la libération du médicament dans l'estomac du contenu par bio/mucoadhésive systèmes.**

#### **2.1.4. Les systèmes flottants :**

Ces systèmes sont caractérisés par la capacité de se former et de flotter dans et sur le contenu de l'estomac, en raison de leur faible densité qui doit être inférieure à  $1.004\text{g/cm}^3$ , Sans affecter la vitesse de vidange gastrique Figure (2.3). Cette caractéristique permet aux systèmes de rester soutenu dans l'estomac pendant une période prolongée alors que le médicament est libéré au taux désiré du système pendant son temps de séjour gastrique. Le système résiduel de l'estomac se vide en fonction du contenu gastrique [28].



**Figure 2.4 : Mécanisme de la libération du médicament dans l'estomac du contenu avec des systèmes flottants.**

#### **2.1.5. Classification des systèmes flottants :**

Les anti-reflux flottants peuvent être classés comme des systèmes effervescents et non effervescents [28].

### **2.1.5.1.Systèmes non effervescents :**

Les médicaments flottants non effervescents sont basés sur le mécanisme de gonflement du polymère ou de la bioadhésion à la couche muqueuse dans le tractus. Les formes posologiques flottantes non effervescentes s'appuient sur la formation de gel, ou des hydrocolloïdes gonflables. Les méthodes de formulation de ces formes de dosage impliquent le mélange du médicament avec un polymère qui gonfle, en contact avec le fluide gastrique après administration orale [28].

### **2.1.5.2.Systèmes effervescent ou systèmes de production de gaz :**

Les systèmes flottants effervescents ont une faible densité que celle du fluide gastrique. Ils sont préparés à l'aide des polymères gonflables tels que la méthylcellulose, le chitosane, l'alginate de sodium, le xanthane,... et divers composés effervescents, par exemple le bicarbonate de sodium, l'acide tartrique et l'acide citrique. Les flottants effervescents sont formulés de telle sorte qu'en cas de contact avec le contenu gastrique acide, du ( $CO_2$ ) se produit, suite d'une réaction effervescente entre les acides organiques et les sels carbonate-bicarbonate. Une fois le ( $CO_2$ ) est libéré, il est piégé dans la matrice des hydrocolloïdes gonflés, ce qui génère leur flottabilité. La figure (2.4) illustre le principe de fonctionnement d'un système de livraison de médicaments flottants effervescents [28].

## **2.2. SYSTEME DE FORMATION DE RADEAU:**

Les systèmes de formation de radeau (raft forming) sont à base d'alginate de sodium. Le mécanisme implique la formation d'un gel cohésif visqueux en contact avec des fluides gazeux dans lequel chaque partie de liquide gonfle formant une couche continue appelée radeau. Le radeau flotte sur les fluides gastriques en raison de la faible densité apparente qui est inférieure à celle du fluide gastrique créée par la formation de dioxyde de carbone ( $CO_2$ ). Il contient un agent formant un gel et des bicarbonates ou des carbonates alcalins responsables de la production du ( $CO_2$ ) pour rendre le système moins dense. Le radeau, une fois formé, flotte sur les fluides gastriques et empêche le reflux du contenu gastrique (c'est-à-dire l'acide gastrique) dans l'œsophage, en agissant comme une barrière entre l'estomac et l'œsophage [24].



**Figure 2.5 : Illustration schématique de la barrière formée par un système de formation de radeaux**

### **2.2.1. La conception du système de formation de radeaux:**

La formulation du système de formation du radeau dépend des propriétés physico-chimiques de la molécule du médicament, des conditions pathologiques Pour lesquelles un traitement est nécessaire.

- Les facteurs physico-chimiques comprennent le poids, et la charge moléculaire.
- Les facteurs de formulation comprennent le pH, la température de gélification, la viscosité,...
- La forme posologique doit maintenir une densité inférieure au contenu gastrique (1,004-1,01 g / cm<sup>3</sup>).
- Facile à administrer au patient.
- Après la libération du médicament, le dispositif doit être facilement évacué de l'estomac [24].

### **2.2.2. Avantage de système de formation de radeau :**

- Le système de formation d'un radeau forme une couche visqueuse à faible densité sur le tube gastrique. Cela conduit une meilleure biodisponibilité.
- Améliorer la conformité du patient en effectuant une thérapie une fois par jour.  
Facile à administrer
- Ne pas interférer avec la fonction du sphincter pylorique [24].

### **2.2.3. Les avantages des systèmes anti-reflux:**

Parmi les avantages des systèmes anti-reflux est l'amélioration de la biodisponibilité et de l'efficacité thérapeutique des médicaments, grâce au maintien des niveaux thérapeutiques constants sur une période prolongée et donc réduction de la fluctuation des niveaux thérapeutiques [24].

## CHAPITRE 3

### Matériel et méthodes

Dans ce chapitre nous présentons, en premier lieu, les différentes étapes utilisées d'extraction du chitosane ainsi que les méthodes de caractérisation physicochimiques du biopolymère.

En second lieu, nous décrivons le procédé de formulation adopté et les matières premières utilisées pour la préparation des suspensions, ayant comme principales propriétés, la gélification in situ et une flottabilité par différence de densité. Les différentes méthodes d'analyse effectuées sur les suspensions formulées seront décrites. Et enfin, nous exposerons, par ordre chronologique, les essais préliminaires qui ont été réalisés et qui ont servi comme plateforme, pour mener à bien la méthodologie expérimentale de la formulation.

#### 3.1. MATERIEL :

##### 3.1.1. Appareillages :

Le matériel utilisé dans le cadre de ce travail est dédié spécifiquement à l'extraction du chitosane et à la préparation des suspensions et de formation des radeaux. Egalement ce matériel a été utilisé pour les différentes étapes de caractérisation. Il est constitué de :

- Un agitateur magnétique muni d'un thermocouple (START SCT1) pour la désacétylation de la chitine et pour le mélangeage des suspensions.
- Une balance électronique (OHAUS-AR124CN) pour la pesée des matières premières.
- Un pH mètre (MARTINI INSTRUMENTS M : 151, pH/ORP) pour le contrôle du pH au niveau des phases d'extraction de la chitine et du chitosane ainsi que pour le contrôle des pHs des suspensions et du milieu acide dans lequel se forme le radeau.
- Une étuve (MEMMERT) pour le séchage de la carapace et pour la déprotéinisation de la chitine.

- Un homogénéisateur (IKAT1.BASIC\_ulta turraxrotor/stator) pour l'homogénéisation et la dispersion du chitosane dans la suspension.
- Un Bain-marie (BUBER MINISTAT 240) pour contrôler la température lors des essais de formation du radeau.
- Un Densimètre (METTLER TOLEDO DENSITO 30PX) pour le contrôle de la densité des différents essais réalisés.
- Un Rhéomètre (ANTON PAAR Modular compact rheometer MCR 302) pour la caractérisation rhéologique des suspensions « courbe d'écoulement » et des radeaux formé « viscoélasticité ».
- Un Granulomètre par diffraction laser (MALVERN INSTRUMENTS-MASTERSIZER 2000) pour la détermination de la taille moyenne et du grade du chitosane obtenue après broyage.
- Tamiseur pour la détermination de la distribution granulométrique par fractionnement de la poudre du chitosane
- Un Microscope optique (OPTIKA DM-25) pour la caractérisation morphologique de la suspension à l'échelle structurale.
- Une Centrifugeuse (SIGMA 3-30K) pour la stabilité accélérée des suspensions
- Un Viscosimètre capillaire pour la détermination du poids moléculaire du chitosane

### **3.1.2. Réactifs et matières premières :**

Les réactifs sont essentiellement utilisés lors des phases d'extraction du chitosane ainsi que pour l'ajustement du pH des suspensions et du milieu dans lequel se forme le radeau :

- Solution de HCl : 1,5M, 0,1M, utilisée pour la déminéralisation de la carapace de crevette et pour constituer le milieu dans lequel est observé la formation du radeau.
- Solution de NaOH : 1,25M, 50% utilisée pour la déprotéinisation de la carapace de crevette ainsi que pour la désacétylation de la chitine pour l'extraction du chitosane.
- Solution acide acétique utilisée pour la caractérisation physicochimique du chitosane
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilisé principalement dans le blanchiment de la chitine.

- Acétone : utilisé pour l'élimination des résidus lipidiques.

Pour ce qui est des matières premières, celles-ci est exclusive aux constituants de la suspension, à savoir l'alginate de sodium, le chitosane, le xanthane, le bicarbonate de sodium et l'eau pure. Les caractéristiques de ces matières premières ainsi que leur rôle dans la formulation sont décrites comme suit :

- L'alginate de sodium, se présente sous forme de poudre blanche crème inodore, de structure chimique brute  $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$ , caractériser par un rapport des groupements G/M= 1,5, lentement soluble dans l'eau et insoluble dans la majorité des solvants organiques. Cet excipient est utilisé, dans la formulation, comme agent gélifiant in situ (dans le milieu gastrique, simulé par une solution acide de pH 1.2) [29].
- Le chitosane, se présente sous forme de poudre de couleur blanche ou blanc-crème, de structure chimique brute  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5$ , insoluble dans l'eau et dans les solvants organique. Il est soluble dans des milieux acides faibles. Le chitosane est utilisé dans la formulation comme agent complexant, suite à son ionisation cationique dans le milieu gastrique [29].
- Le xanthane, se présente sous forme de poudre fine, inodore de couleur crème, de structure chimique brute  $(\text{C}_{35}\text{H}_{49}\text{O}_{29})_n$ , soluble dans l'eau. Il est employé dans la formulation en tantqu'agent suspendant des particules insolubles de chitosane, par effet de viscosité [29].
- Le bicarbonate de sodium, se présente sous forme de poudre de couleur blanche cristalline inodore, très soluble dans l'eau. Il est utilisé dans la formulation comme agent de libération du( $\text{CO}_2$ ) dans le milieu gastrique [29].

### 3.2. METHODES :

#### 3.2.1. Caractérisation du produit de référence :

La caractérisation du produit de référence a pour but de faire ressortir les propriétés qui constitueront les réponses (output) du plan d'expériences, Leurs valeurs feront l'objet de cibles à atteindre, lors de l'étape de formulation.

#### 3.2.2. Description du produit de référence :

Sur les étales des officines, en Algérie, il existe deux produits anti-reflux de référence :

Le princeps : Gaviscon® : 500mg/260mg.

Le générique : Nobac® : 500mg/260mg.

**Tableau 3.1: Description du produit de référence« Gaviscon®, Nobac®» [30].**

Noms commerciales	Gaviscon®	Nobac®
DCI	Alginate de sodium/Bicarbonate de sodium	Alginate de sodium/Bicarbonate de sodium
Dosage	500mg/260mg	500mg/260mg
Excipients	Carbonate de calcium, carbomère (947 P), saccharinate de sodium, arôme anis fenouille, hydroxyde de sodium, eau purifiée, conservateurs (parahydroxybenzoate de méthyle et parahydroxybenzoate de propyle)	Carbonate de calcium, carbomère (947 P), saccharinate de sodium, arôme anis fenouille, hydroxyde de sodium, eau purifiée, conservateurs (parahydroxybenzoate de méthyle et parahydroxybenzoate de propyle)
Présentation	Flacon de 250ml	Flacon de 250ml
Forme	Suspension buvable	Suspension buvable

Les deux produits de référence se présentent sous forme d'une suspension pharmaceutique buvable. Le principe de formation du radeau est basé sur la complexation des macromolécules anioniques de l'alginate par les contre-ions ( $Ca^{++}$ ) libérés par le carbonate de calcium. Entre temps, à l'intérieur du gel d'alginate se trouvent piégées des bulles de ( $CO_2$ ) qui ont été libérée par le bicarbonate de sodium et du carbonate de calcium. Une barrière sur le haut du contenu de l'estomac se forme en empêchant l'acide de monter dans l'œsophage.

Le méthyle parabène et propyle parabène jouent le rôle de conservateur dans la formulation du Gaviscons® et de Nobac®. Sauf que ces deux excipients sont connus pour leurs problèmes de toxicité et sont même soupçonnés comme des substances potentiellement cancérigènes.

Egalement l'emploi dans la formule de Gaviscon®, le carbonate de calcium peut causer des effets néfastes à la santé, notamment : L'augmentation du pH sanguin (alcalose), l'hypercalcémie. Aussi, lors de la vidange gastrique, le radeau, une fois passée au niveau des intestins, au pH 6.8, se détruit facilement en libérant toute la quantité du calcium qui peut générer un problème de surdosage [31].

Pour remédier à cette problématique on se propose de substituer, dans le cadre de ce travail, le carbonate de calcium et les parabènes, par un seul excipient qui fera office d'un agent complexant et antimicrobien. Il s'agit du chitosane qui est un biopolymère ne possédant aucun effet indésirable, il n'est pas toxique et est biocompatible.

### **3.3. EXTRACTION DE LA CHITINE ET TRANSFORMATION EN CHITOSANE :**

#### **3.3.1. Produits utilisés pour l'obtention du chitosane :**

Le chitosane est extrait à partir de la crevette de la Méditerranée de la cote Algérienne. Cette dernière est de classe des crustacés, famille aristeidae et du genre : *Aristeus antennatus* et *aristaeomorpha foliacea*, qui est nommée la crevette rouge.

### **3.3.2. Les étapes d'extraction de la chitine :**

La matière première utilisée pour cette étude est l'exosquelette de crevettes rouge *Aristeus antennatus* et *aristaeomorpha foliacea*, qui nous ont été fournies fraîches. Elles sont décortiquées à température ambiante, puis les carapaces sont lavées puis séchées à l'air libre. Les fragments obtenus sont séchés à 100°C pendant 24h puis broyés [7,17]. L'extraction chimique consiste en une déminéralisation acide et une déprotéinisation basique.

#### **3.3.2.1. Déminéralisation :**

La déminéralisation s'effectue en dispersant la matière première obtenue dans une solution d'acide chlorhydrique 1,5M (1 :10) (m : v) sous agitation constante pendant 1h à température ambiante. La réaction produit un dégagement violent du gaz carbonique qui doit être maîtrisé en ajoutant graduellement de la matière première et en s'assurant que l'ensemble du système doit être ouvert. Théoriquement, la réaction se termine lorsqu'il n'y a plus de dégagement gazeux. Le contenu est ensuite filtré sur papier filtre et rincé abondamment à l'eau distillée [7,17].

#### **3.3.2.2. Déprotéinisation :**

Le retentât est introduit dans un flacon, dans lequel est ajouté (1 :10) (m : v) de NaOH (1,25M) à une température de 90 °C pendant 18 heures. Le contenu du flacon est à nouveau filtré et rincé abondamment à l'eau distillée [7,17].

#### **3.3.2.3. Blanchiment :**

Quand l'eau de rinçage n'est plus colorée, l'eau distillée est remplacée par un volume de 20 ml de peroxyde d'hydrogène, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pour blanchir le produit. Un ultime rinçage à l'acétone permet d'entraîner les impuretés lipidiques résiduelles. Le contenu du flacon est à nouveau rincé abondamment à l'eau distillée et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage atteigne la neutralité. Le filtrat est alors transféré dans une coupelle préalablement pesée qui sera par la suite placée en étuve à 30°C pendant 20 heures et en suite à 90°C pendant 12heures. Le nouveau poids de la coupelle, contenant le produit sec, permet de déduire le rendement massique d'après la formule suivante [7] :

$$Rm = \frac{m_f}{m_i} \times 100$$

#### **3.3.2.4. Transformation en chitosane :**

Le chitosane est obtenu par désacétylation de la chitine extraite par une solution de soude selon le mode opératoire suivant : La chitine est traitée avec une solution de soude à 50%, dont la proportion (m:v) (1 :10), la solution est agitée pendant 24 heure à 100°C. Au terme de la réaction, la solution est filtrée, le chitosane retenu est lavé en continu, afin d'éliminer la soude résiduelle, et ce jusqu'à ce que le pH de l'eau de lavage atteigne la neutralité. Le chitosane est rincé avec de l'eau distillée puis séché à l'étuve à 80°C [7].

### **3.4. CARACTERISATION DES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES DU CHITOSANE :**

#### **3.4.1. Teneur en eau :**

Pour estimer la part d'eau dans le produit, 1 à 2 g d'échantillon sont prélevés et pesés dans une coupelle de poids connu. Cette dernière est placée pendant 24 h dans une étuve à 105 °C. Puis pesée après 30 min de refroidissement, l'expérience est réalisée en triplicata. La teneur en eau est évaluée selon la formule suivante [7] :

$$\% \text{Humidité} = \frac{\text{poids de l'échantillon humide (g)} - \text{poids de l'échantillon sec (g)}}{\text{poids de l'échantillon humide (g)}} \times 100$$

#### **3.4.2. Teneur en cendres :**

Le principe de la détermination de la teneur en minéraux repose sur leur résistance à la chaleur. Environ 1 g d'échantillon est pesé dans une feuille de papier en aluminium de poids connu, elle est repliée et placée au moins 5 h à température égale 500°C. Après refroidissement, elle est de nouveau pesée, chaque mesure est répétée trois fois. La teneur en cendres est évaluée selon la formule suivante [7] :

$$\% \text{ Cendre} = \frac{\text{poids du résidu calciné(g)}}{\text{poids de l'échantillon sec (g)}} \times 100$$

### **3.4.3. Teneur en lipides :**

La teneur en lipides totales est déterminée par la méthode de folch en duplicata. Environ 5 g d'échantillon est ajoutés à 100 ml d'une solution de chloroforme : méthanol (2:1). L'ensemble est introduit dans un erlenmayer à 1 : 20 (substrat solide/volume en ml) et laissé sous agitation pendant une nuit à la température de la pièce. Suite à quoi, il est filtré sur papier whatman et lavé, puis avec le mélange (chloroforme : méthanol), le filtrat est mélangé à 22 ml d'une solution contenant 0,9 % (w/v) de NaCl dans une ampoule à décanter et laissé reposer jusqu'à l'obtention d'un système biphasique net (durant du moins 6 heures). L'ampoule est dégazée plusieurs fois, la phase organique est prélevée, filtrée sur sulfate de sodium anhydre et évaporée sous vide à 35°C.

L'huile recueillie est pesée sur une balance et la teneur en lipides est déterminée avec la formule suivante [7] :

$$\% \text{ Lipides} = \frac{\text{poids des lipides (g)}}{\text{poids de l'échantillon (g)}} \times 100$$

### **3.4.4. Test de solubilité :**

Le chitosane obtenu est testé pour sa solubilité dans les milieux acide, basique et neutre. Selon Ngah et Fatinthan[7], le test de solubilité est réalisé dans 5 % (v / v) de l'acide acétique, 0.5 de NaOH et de l'eau distillée. On pèse environ 0,05 g du produit, on y ajoute 50ml de ses trois solutions séparément, et on les laisse sous agitation pendant 24 heures [7].

### **3.4.5. Caractérisation granulométrique du chitosane :**

La détermination de la granulométrie du chitosane extrait est parmi les points les plus importants pour la formulation de la suspension. Le chitosane doit rester en suspension, car il est insoluble dans le milieu aqueux au pH neutre. Pour cela, la taille des particules doit avoir un grade qui correspond à une taille inférieure à 100%µm, leur

permettant de se maintenir en suspension. On procède alors au broyage au moyen d'un broyeur à hélice plusieurs fois afin réduire au maximum la taille.

L'analyse granulométrique est réalisée par un granulomètre à diffraction laser de marque « MALVERN MASTERSIZER 2000 », cette technique d'analyse est la plus adaptée et pour la détermination des tailles des poudres à l'échelle du micromètre.

Ainsi, L'analyse granulométrique a révélé que la taille est supérieure au grade souhaitée. Aussi, on procède de nouveau au broyage de chitosane afin de diminuer son grade et on réalise cette fois-ci l'analyse par fractionnement de la poudre au moyen d'un tamiseur à plusieurs tamis, pour ne garder que les retenus qui permettent d'optimiser la distribution granulométrique en une distribution monomodale de type gaussienne dont le mode est aux alentours de 100 $\mu$ m.

#### **3.4.6. Mesure du degré d'acétylation et détermination du pKa du chitosane :**

Le degré d'acétylation de la chitine correspond à la fraction molaire moyenne des unités de N acétyl D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités, de nombreuses méthodes ont été développées pour déterminer le DDA. Parmi ces méthodes on a exploité la méthode du pH-métrie.

Il s'agit du titrage acido-basique comme décrit par Tolimate [32]. La méthode consiste à dissoudre 0.2 g de chitosane dans 20 ml d'HCl (0.1M) et 25 ml d'eau distillée sous agitation pendant 30 min, puis, d'ajouter encore 25 ml d'eau distillée et sous agitation pendant 30 min jusqu'à dissolution totale du chitosane. On Titre avec une solution NaOH (0.1M) tout en introduisant la sonde du pH mètre dans la solution pour tracer la courbe  $\text{pH} = f(V \text{ NaOH})$  [32].

Le pKa est déterminé à partir de la courbe de dosage qui est égal au pH associé au point de demi-neutralisation.

On détermine le DD du chitosane par la méthode de titrage Ph métrie, qui a été calculé à partir de la formule Czechowska – Biskup [32]:

$$\text{DDA}\% = 2,03 \times \frac{V_2 - V_1}{m + 0,0042(V_2 - V_1)} \times 100$$

Avec :

m : masse du chitosane (g).

V<sub>1</sub> et V<sub>2</sub> : volume de NaOH ajouté correspondants aux deux points d'inflexion (ml).

2.03 : Coefficients résultats du poids moléculaire de l'unité de monomère de chitosane.

0.0042 : Coefficient résultats de la différence entre le poids moléculaire du monomère acétylé et la masse moléculaire désacétylé [32].

### **3.4.7. Mesure de la viscosité et détermination du poids moléculaire :**

La mesure de la viscosité a été réalisée par utilisation d'un viscosimètre de type « ANDA VIBRO VISCOMETER SV -10 » avec une capacité allant de 0.3 à 10.000 mPas.

Selon la méthode de Mark-Houwink-Sakurada:

On prépare 50 ml d'un mélange de solution de chlorure de sodium NaCl (0.2 M) et d'acide acétique CH<sub>3</sub>COOH (0.1M) (50 :50) (v ; v) puis on ajoute 0.4g de chitosane. L'ensemble est mis sous agitation pendant 4 h. Cette solution a une concentration de 0.08g/ml qui est utilisée pour préparer des dilutions de [5.10<sup>-4</sup> ; 5.10<sup>-3</sup>] g/ml.

On met la solution 0.08g/ml dans la cuve du viscosimètre puis on lit la valeur de la viscosité directement. On effectue les mêmes étapes pour l'ensemble des dilutions préparées. Finalement, on trace la courbe viscosité = f (concentrations du chitosane)

Le poids moléculaire viscosimétrique est calculé par l'équation de Mark-Houwink –Sakurada :

$$[\eta] = KM^a$$

Avec :

M<sub>v</sub> : masse moléculaire moyenne viscosimétrique du polymère (g/mol)

K et a : sont les coefficients de Mark–Houwink dont les valeurs sont respectivement  $1,81 \times 10^{-3} \text{ ml/g}$  et 0,93 pour des solutions de chitosane préparées dans l'acide acétique 0.1M et NaCl 0.2M à la température ambiante (20°C) [33].

### 3.5. FORMULATION :

Lors de cette étude, nous avons eu recours à une planification expérimentale des essais en utilisant un logiciel Modde6, qui répond à nos objectifs qui sont :

- Minimiser les essais pour pouvoir avoir du gain de temps et de cout.
- Arriver rapidement aux meilleurs résultats possibles.
- Interprétation des résultats expérimentaux.
- Eviter de réaliser les expériences intitules.
- Découvrir la solution optimale.

#### 3.5.1. Méthode des plans d'expériences :

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais de formulation. La méthode des plans d'expériences utilise une terminologie bien adaptée dont les éléments les plus courants sont:

- Les facteurs qui sont les causes supposées ou certaines qui provoquent le phénomène. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non contrôlable.
- Les réponses sont des caractéristiques mesurables d'un produit ou d'un processus, et dont la variation est analysée en fonction des variations des facteurs. Dans notre cas, les réponses représentent les caractéristiques physicochimiques et rhéologiques du produit de référence.
- Les interactions : Lorsque l'effet d'un facteur dépend de la valeur prise par un autre facteur, cela se traduit par une interaction entre les deux facteurs.

##### 3.5.1.1. Planification expérimentale:

Dans notre cas, le but est d'optimiser la formulation d'une suspension médicamenteuse antireflux ayant comme mécanisme la formation d'un radeau flottant.

On s'intéressera aux effets de la variation des concentrations des excipients principaux de la formulation ainsi que de leur interaction sur les caractéristiques rhéologiques des suspensions et des gels formés in-situ.

La stratégie qui répond à cet objectif est de s'appuyer sur une Modélisation en Surface de Réponses, RSM. La matrice d'expériences qui répond à l'objectif du RSM est un plan de mélange de type Box Benhken. Cette matrice générée par un algorithme du logiciel MODDE 6.0 qui contient 15 essais, dont 3 représentant le centre de gravité du plan, afin de vérifier la reproductibilité.

Le modèle polynomial de type RSM est du second degré contenant des interactions d'ordre 1 :

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3$$

$Y_i$ : représente la  $i$ ème réponse.

$a_i$  : représentent les coefficients du modèle.

$X_1, X_2, X_3$  : sont des facteurs centrés réduits compris entre -1 et +1 :

$X_1$  : est associé à la concentration en alginate de sodium.

$X_2$  : est associée à la concentration en chitosane.

$X_3$  : est associée à la concentration en bicarbonate de sodium.

### 3.5.2. Matrice d'expériences :

La matrice d'expériences proposée est donnée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3.2: Matrice d'expériences.**

N° Essai	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

### 3.5.3. Préparation des suspensions de chitosane et d'alginate de sodium :

Au cours de la préparation des suspensions, nous avons procédé selon le protocole suivant :

On remplit un bêcher avec la quantité appropriée d'eau purifiée, puis on incorpore le bicarbonate de sodium sous agitation jusqu'à dissolution. Après, l'Alginate de Sodium est incorporée progressivement dans l'eau, sous agitation avec une vitesse adéquate pour

former un vortex, l'agitation est maintenue jusqu'à l'obtention d'une dispersion totale, auquel l'aspect devient crémeux à état mielleux. Ensuite, on incorpore toute la quantité du xanthane, sous forte agitation jusqu'à dissolution totale. Le Chitosane est ensuite ajouté, en dernier, graduellement pour éviter la formation des grumeaux.

#### **3.5.4. Caractérisation des suspensions :**

##### **3.5.4.1. Contrôle du pH :**

La mesure du pH des suspensions a été effectuée durant chaque étape de la préparation ainsi que pour chaque ingrédient incorporé et aussi à la fin de la préparation afin d'assurer que le pH des suspensions varie selon la norme et d'avoir un pH équivalent au pH des produits de référence.

##### **3.5.4.2. Mesure de la densité:**

Le contrôle de la densité a été effectué par un densimètre (METTLER TOLEDO DENSITO 30PX) qui affiche directement la valeur de la densité, une fois la suspension mise dans le densimètre. La mesure a été effectuée sur chaque suspension formulée.

#### **3.6. CARACTERISATION DE L'ACTIVITE ANTI-REFLUX ET FORMATION DU RADEAU :**

La propriété anti-reflux d'un médicament se traduit par sa capacité de formation d'un radeau sous forme d'un gel visqueux qui surnage au niveau du contenu gastrique et protège la muqueuse œsophagienne lors des épisodes de reflux.

En vue de déterminer la capacité de formation du radeau de la suspension, on introduit 150 ml d'acide chlorhydrique (HCl) d'une concentration de 0,1M dans un bécher de 250 ml ayant un diamètre interne de 60mm à 70mm, maintenu à une température de 36,5°C à 37,5°C dans un bain-marie, en prenant la précaution d'ajuster le volume d'eau du bain au même niveau que celui de l'acide dans le bécher. En utilisant une seringue sans aiguille, une quantité équivalente à 20 ml de la suspension précédemment agitée est prélevée et introduite rapidement au centre du bécher l'épaisseur du radeau formé, et sa capacité à flotter sont analysés et notés après 30 min [34].

### **3.7. CARACTERISATION DE L'ACTIVITE ANTI-ACIDE :**

L'activité anti-acide est assurée par la neutralisation de l'acidité gastrique. Pour cela, on a effectué une étude du profil de neutralisation du produit de référence. Le test antiacide in vitro simule l'effet de neutralisation de la suspension au niveau de l'estomac en présence de la sécrétion gastrique. Il est réalisé en introduisant 10 ml de la suspension dans un bécher maintenu à 37°C, contenant 30ml d'acide chlorhydrique (HCl ; 0,1M) et 70ml d'eau purifiée, avec une agitation continue. L'acide chlorhydrique (HCl ; 0,1 M) est pompé continuellement au bécher avec un débit de 4ml/mn. Le contrôle du pH est effectué en fonction du temps [35].

Le but de ce test est de comparer et d'étudier l'impact du bicarbonate de sodium sur le profil de neutralisation, pour cela cette étude a été réalisée seulement pour :

- Le produit de référence (2.67% du bicarbonate de sodium).
- L'essai N°15(2% du bicarbonate de sodium).
- L'essai N°14(3% du bicarbonate de sodium).
- L'essai N°13 (4% du bicarbonate de sodium).

### **3.8. CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE :**

Le but de cette caractérisation est l'évaluation de la dispersion des particules dans la phase continue. L'observation de l'état morphologique a été effectuée avec un microscope optique de type (OPTIKA DM-25) sous un agrandissement de (10x100).

### **3.9. CARACTERISATION RHEOLOGIQUE :**

La caractérisation rhéologique des suspensions a pour objectif, d'étudier l'influence de variation des concentrations sur leur comportement rhéologique. Du fait que la résistance à l'écoulement des suspensions est liée à la rigidité du réseau de particules formées au sein du liquide ; la rhéologie permet donc une mesure macroscopique de la force nécessaire pour vaincre les résistances à l'écoulement, ainsi d'évaluer la stabilité et la facilité de prise au moment de l'emploi. Alors, tous les éléments obtenus lors de cette étude permettent de cerner le domaine de variation, auquel les suspensions présentent un comportement rhéologique intéressant.

Cette caractérisation inclut l'étude du comportement rhéologique des suspensions préparées ainsi que les gels formés in-situ pour permettre d'observer leur rigidité.

La détermination de la courbe d'écoulement permet de faire ressortir des paramètres caractéristiques qui sont susceptibles de refléter l'état mécanique des suspensions et des gels.

Le protocole opératoire adopté pour les suspensions consiste à travailler en régime continu sous cisaillement variable. On met 3ml de la suspension sur le système de mesure, un plan plan de 25 mm de diamètre avec un entrefer de 1mm. On applique alors une rampe croissante en vitesse de cisaillement de  $0,0001s^{-1}$  à  $1000s^{-1}$ . Le temps de mesure entre deux points successifs varie en rampe décroissante logarithmique de 60s à 5s. Les courbes d'écoulements pour les suspensions sont données en termes de viscosité de cisaillement apparente (Pa.s) en fonction de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}(s^{-1})$ . Les courbes seront systématiquement ajustées par un modèle rhéologique le plus adéquat pour faire ressortir des paramètres caractéristiques intrinsèques.

Le Protocole opératoire adopté pour le gel consiste à travailler en mode d'oscillation, avec une fréquence de 1Hz. Ce mode imite le mouvement péristaltique de contraction de l'estomac. Une quantité du radeau précédemment formé dans l'étape de la caractérisation anti reflux est récupérée et séparée de l'acide chlorhydrique. Cette quantité est entreposée dans le système de mesure (plan-plan) de 25 mm de diamètre avec un entrefer de 1mm. On impose alors une rampe croissante de déformation et on mesure les deux modules de conservation,  $G'$  et de perte  $G''$ . Également, on identifie le point de gel qui représente le point d'intersection des deux courbes  $G'(\gamma)$  et  $G''(\gamma)$ . Ce point correspond à la fin du régime viscoélastique linéaire et le début du comportement plastique irréversible. La valeur de la contrainte, en ce point, représente alors la contrainte seuil. La température est maintenue à  $37^{\circ}C$  afin de garder les mêmes conditions de température dans l'estomac.



**Figure 3.1 : Photo du radeau récupéré.**

## CHAPITRE4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 4.1. PREPARATION DE LA CHITINE :

Suite à l'extraction chimique de la chitine, après la réalisation des trois étapes principales qui étaient la déminéralisation, la déprotéinisation, et le blanchiment, le rendement massique a été trouvé égal à 18,13%.

### 4.2. PREPARATION DU CHITOSANE « DESACETYLATION » :

Le chitosane a été obtenu suite à la désacétylation de la chitine, par une solution basique (50%). La substance se présente sous forme d'une poudre de couleur légèrement gris claire, et le rendement massique après la désacétylation a été trouvé égal à 60,68%.

### 4.3. CARACTERISATION PHYSICO CHIMIQUE DE CHITOSANE :

#### 4.3.1. Détermination de la teneur en eau, cendres et lipides :

Après l'étape de l'extraction, le chitosane a été soumis à des analyses physico-chimiques, à savoir, la teneur en eau, la teneur en minéraux (cendres) et la teneur en lipides. Les résultats de la caractérisation sont regroupés dans le (tableau 4.1).

**Tableau 4.1 : Résultat des caractéristiques du chitosane.**

Caractéristiques	Chitosane extrait
Teneur en eau (%)	6
Teneur en cendre (%)	3
Teneur en lipide (%)	2

La carapace est caractérisée par une faible humidité liée à sa structure rigide. Ces variations constatées dans les taux des cendres peuvent être dues aux différences : de la période saisonnière, de leur habitat de reproduction et de

l'environnement extérieur dans lequel le crustacé est exposé. Une faible coloration peut être traduite par la présence de 2% de lipides et de pigments.

#### **4.3.2. Test de solubilité :**

L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la substance afin de prendre connaissance de ces domaines d'application. Le (tableau 4.2) regroupe les valeurs de la solubilité du chitosane commercial et du chitosane préparé au laboratoire.

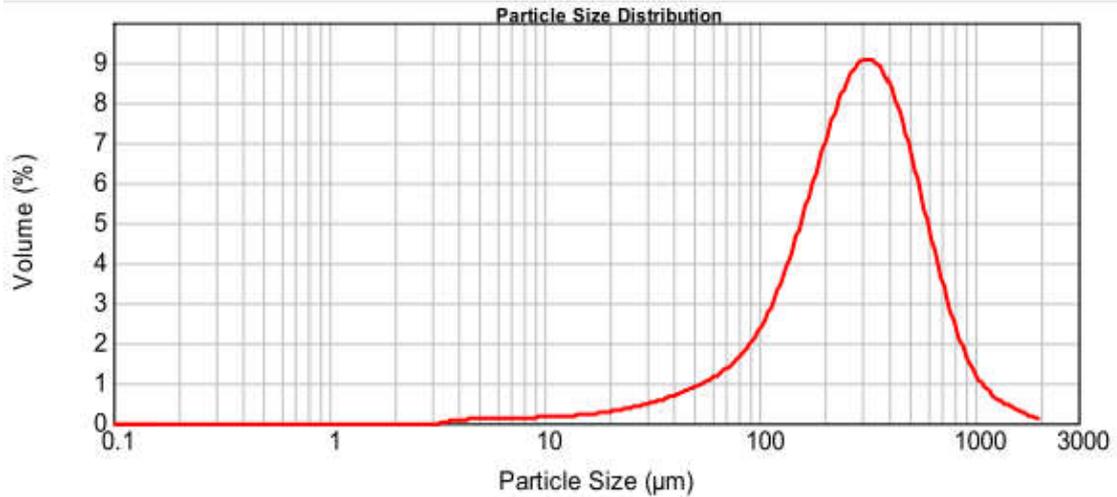
**Tableau 4.2 : Résultat de test de solubilité du chitosane extrait et commerciale.**

Solution	Chitosane extrait	Chitosane commercial
Acide acétique	Soluble	Soluble
Eau	Insoluble	Insoluble
NaOH	Insoluble	Insoluble

Le chitosane est insoluble dans l'eau et dans les solvants alcalins. Cette insolubilité s'explique par la grande masse moléculaire de chacune des chaînes du polymère et aussi par la formation de liaisons hydrogènes entre les différents groupes fonctionnels portés par chacune des unités. Par contre, il est soluble en milieu aqueux acide, grâce à la protonation de ses fonctions amine, son meilleur solvant est l'acide acétique.

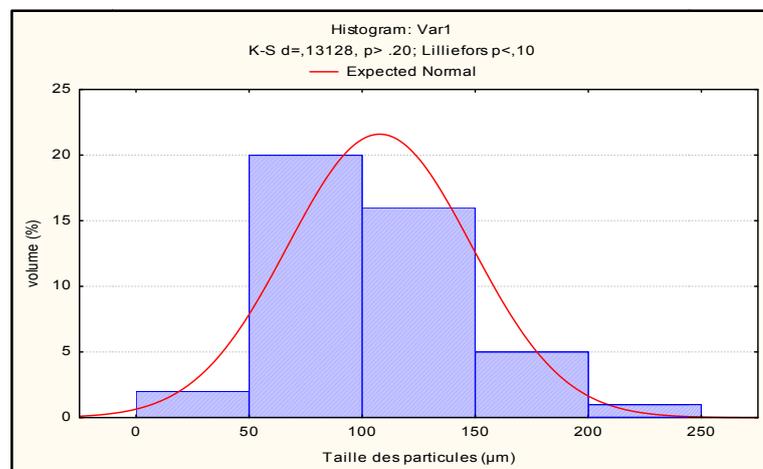
#### **4.3.3. Caractérisation granulométrique de chitosane :**

La figure 4.1 illustre la distribution granulométrique du chitosane, suite à l'analyse de sa poudre par granulométrie à diffraction laser.



**Figure 4.1: Distribution granulométrique du chitosane obtenu par diffraction laser**

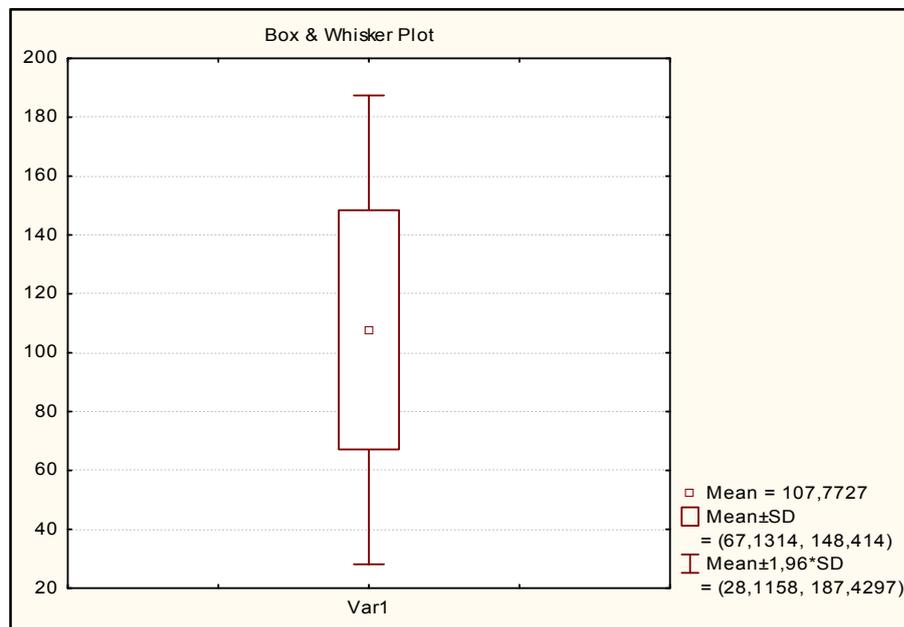
La distribution est monomodale ce qui montre que la poudre est monodisperse, avec une valeur du mode proche de 300 µm. Cette valeur est relativement grande et ne peut être adoptée pour formuler des suspensions qui nécessitent une valeur nettement plus petite, aux alentours de 100µm. Aussi, le fractionnement de cette poudre par tamisage, a permis de séparer les différents retenus de la poudre et de contrôler, ainsi, la distribution granulométrique. La nouvelle distribution, représentée dans la (figure 4.2) paraît clairement monomodale, caractérisée par un mode aux alentours de 100µm. A noter que le traitement des résultats des fractions différentielles, sous forme d'histogramme, a été réalisé par le logiciel STATISTICA, par son module « Descriptive Statistics » qui offre la possibilité de traiter les résultats par la loi normale de distribution, encore appelée « la loi de Gauss ».



**Figure 4.2 : Distribution granulométrique obtenue par tamisage.**

Les résultats du diamètre moyen, de son écart type (Standard Déviation, SD) et de sa déviation exceptionnelle (des valeurs extrêmes rares qui représentent les plus grosses et les plus fines de la poudre) sont illustrés par la boîte à moustaches (Box WhiskerPlot) représentée sur la (figure 4.3).

Le point central révèle la valeur du diamètre médian qui est égal à  $107,77 \mu\text{m}$ . Les limites supérieure et inférieure du rectangle sont associées aux valeurs de l'écart type ( $\pm SD$ ), ( $\sim \pm 40 \mu\text{m}$ ). Les deux barres, situées au-dessus et au-dessous du rectangle, représentent les deux intervalles de la taille touchant les populations minoritaires qui sont les plus grosses et les plus fines. Ces deux populations sont définies par :  $D_{moy} \pm 1,96 \cdot SD$  et varient dans les deux domaines  $[28\mu\text{m} - 67\mu\text{m}]$  et  $[148\mu\text{m} - 187\mu\text{m}]$  respectivement: Au vu de ces résultats, il apparait clairement que la distribution granulométrique de la poudre du chitosane est satisfaisante et peut être utilisée sous forme de particules insolubles dans une suspension.



**Figure 4.3 : illustration graphique par la boîte à Moustaches (Box Whisker Plot), des trois caractéristiques granulométriques de la poudre de chitosane :**

$$D_{moy}, D_{moy} \pm SD, \text{ et } D_{moy} \pm 1,96 \cdot SD.$$

#### 4.3.4. Mesure du degré d'acétylation :

le DDA du chitosane a été déterminé par la méthode de titrage pH métrique qui a été calculé à partir de la formule Czechowska – Biskup:

$$DDA\% = 2,03 \times \frac{V_2 - V_1}{m + 0,0042(V_2 - V_1)} \times 100$$

V1: 3.2ml

V2: 10.1 ml

m : 0,2 g

$$DDA \% = 2,03 \frac{V_2 - V_1}{m + 0.0042(V_2 - V_1)} \quad DDA\% = 60.93 \%$$

Cette valeur explique que la quantité du chitosane prend la part de 61% et le restant, de la chitine à 39%. Globalement ce résultat ne semble pas être de bonne qualité, sachant qu'il existe des DDA qui peuvent atteindre les 95%.

#### 4.3.5. Détermination du pKa par dosage pH métrique :

La détermination du pKa par dosage pH-métrique a été appliquée selon la méthode décrite par Broussignac (1968) et muzzarelli (1977) [36]. Les résultats de cette analyse se traduisent par une courbe qui exprime la sensibilité du pH de la solution à la variation du volume du titrant NaOH, figure (4.4). Ainsi on peut repérer deux zones distinctes sur la courbe. La première partie correspond au dosage de l'excès d'acide chlorhydrique. La seconde correspond au dosage des fonctions amines ( $-\text{NH}_3^+$ ) qui se déprotonent au fur et à mesure de l'ajout du titrant (NaOH).

Le pKa est égal au pH qui correspond au point de demi neutralisation où la concentration des groupements ( $-\text{NH}_3^+$ ) est égale à la concentration des groupements ( $\text{NH}_2$ ) du chitosane. Ceci permet de déterminer graphiquement le pKa à partir du premier point d'inflexion (situé entre V1 et V2). Dans notre cas la valeur du pKa est égale à 6,2 qui est très proche des valeurs théoriques du pKa du chitosane situées entre 6,3 et 6,7.

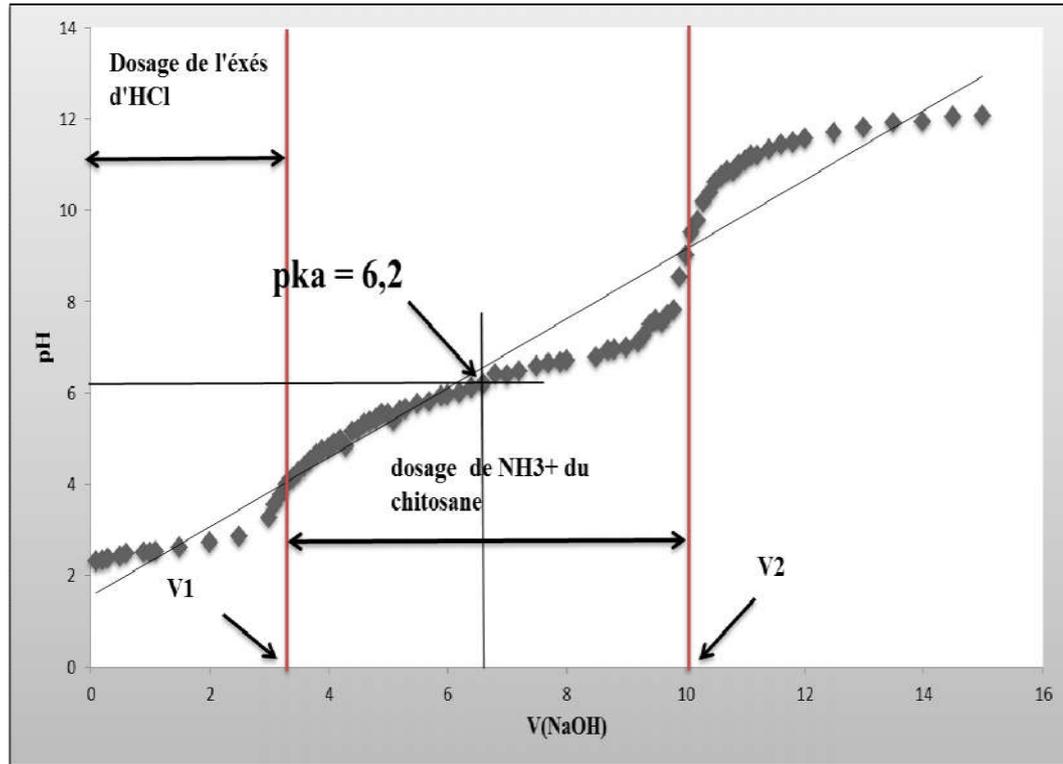


Figure 4.4 : dosage pH métrique du chitosane.

#### 4.3.6. Mesure de la viscosité et détermination du poids moléculaire :

Sur la (figure 4.5) est représentée les deux courbes exprimant la variation de la viscosité réduite,  $\eta_{red}$ , en fonction de la concentration du chitosane, selon Huggins et Kraemer.

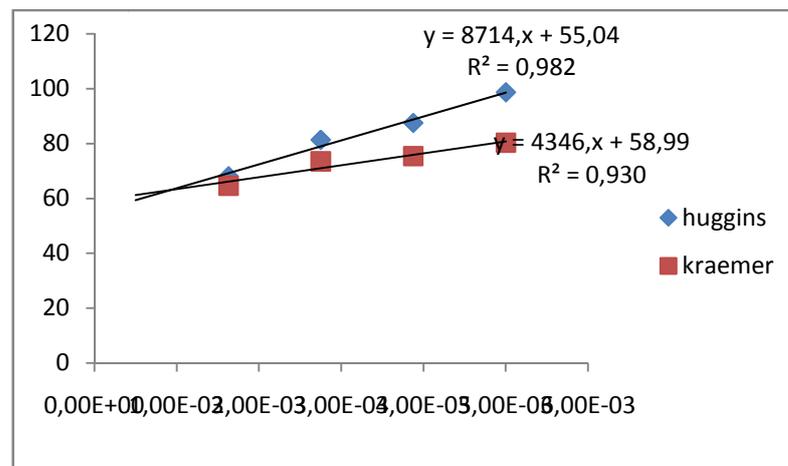


Figure 4.5 : Variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration de chitosane à 20°C, selon Huggins et Kraemer.

L'extrapolation à concentration nulle de la variation de  $\eta_{red}$  en fonction de C permet d'accéder à la valeur de la viscosité intrinsèque  $[\eta]$ , trouvée égale à 55,044 ml/g. À partir de cette valeur et de l'équation de Mark-Houwink, on peut calculer la masse molaire du chitosane :  $[\eta] = k M_v^a$

Dans cette relation,  $M_v$  représente la masse molaire moyenne viscosimétrique du polymère, k et a sont les coefficients de Mark-Houwink dont les valeurs sont respectivement  $1,81.10^{-3}$  ml/g et 0,93 pour des solutions de chitosane préparées dans l'acide acétique 0,1M / NaCl 0,2M à 20°C. Après calcul, la masse molaire de l'échantillon est de 66KDa.

#### 4.4. CARACTERISATION DU PRODUIT DE REFERENCE Gaviscon®

##### 4.4.1. Caractérisation physico-chimique

Le tableau ci-dessous présente les propriétés physico-chimiques du produit de référence :

**Tableau 4.3 : Propriétés physico-chimiques des suspensions de référence.**

Produit de référence	pH	Densité (g/cm <sup>3</sup> )
Gaviscon	8.11	1.06

D'après les résultats du (tableau 4.3), on remarque que le pH de la suspension de référence est alcalin et la densité est proche de 1. A noter que les normes physico-chimiques de la suspension sont incluses entre 7,0 à 9,5 pour le pH et 1,03 et 1,07 pour la densité relative.

##### 4.4.2. Caractérisation de l'activité anti-reflux :

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques de l'activité anti-reflux du produit de référence :

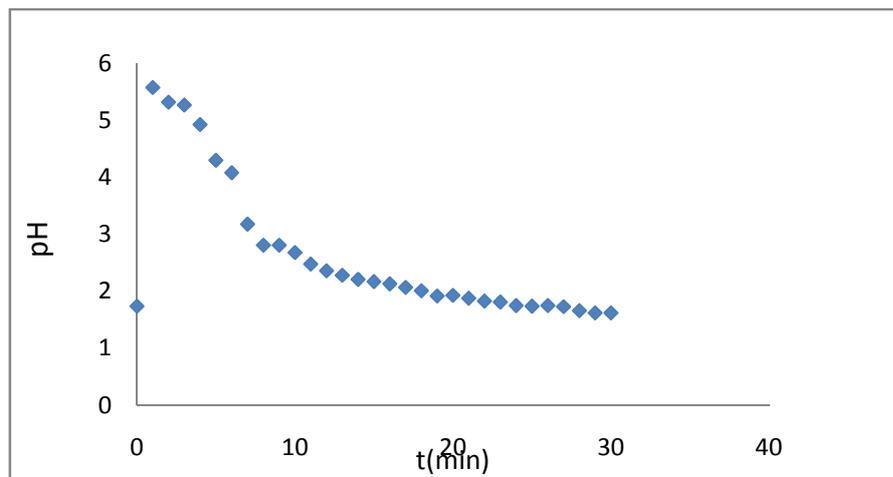
**Tableau 4.4 : propriétés du radeau formé.**

Produits de référence	Formation du radeau	Vitesse de formation	Flottabilité	Rigidité	Epaisseur (cm)
Gaviscon®	présence	immédiate	complète	Rigide	2.5

Dès l'introduction de la suspension dans le contenu acide du bécher, le radeau commence à se former et au bout de 30mn la formation du radeau flottant à la surface du contenu acide est complète.

#### 4.4.3. Caractérisation de l'activité antiacide :

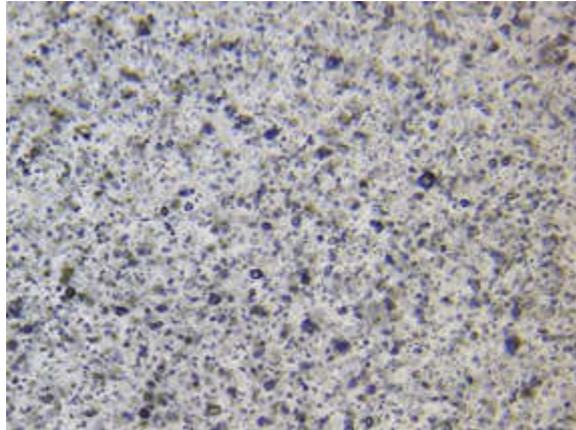
Le profil de neutralisation de la suspension de référence est présenté sur la (figure 4.6) suivante :



**Figure 4.6 : Profil de neutralisation du produit de référence Gaviscon®.**

D'après ce profil, nous constatons que la suspension de référence présente rapidement un pic, au pH égal à 5,58 qui correspond à la première région de neutralisation qui est très rapide dans ce cas, ce qui est intéressant du point de vue thérapeutique. Par la suite le pH commence à chuter progressivement.

#### 4.4.4. Caractérisation morphologique de la référence :



**Figure 4.7 : Image illustrant l'observation microscopique (1000x) de la suspension de référence Gaviscon®.**

D'après la (figure 4.7), une bonne dispersion des particules ayant une taille homogène est remarquée au sein de la phase continue, ce qui traduit la bonne structuration de la suspension.

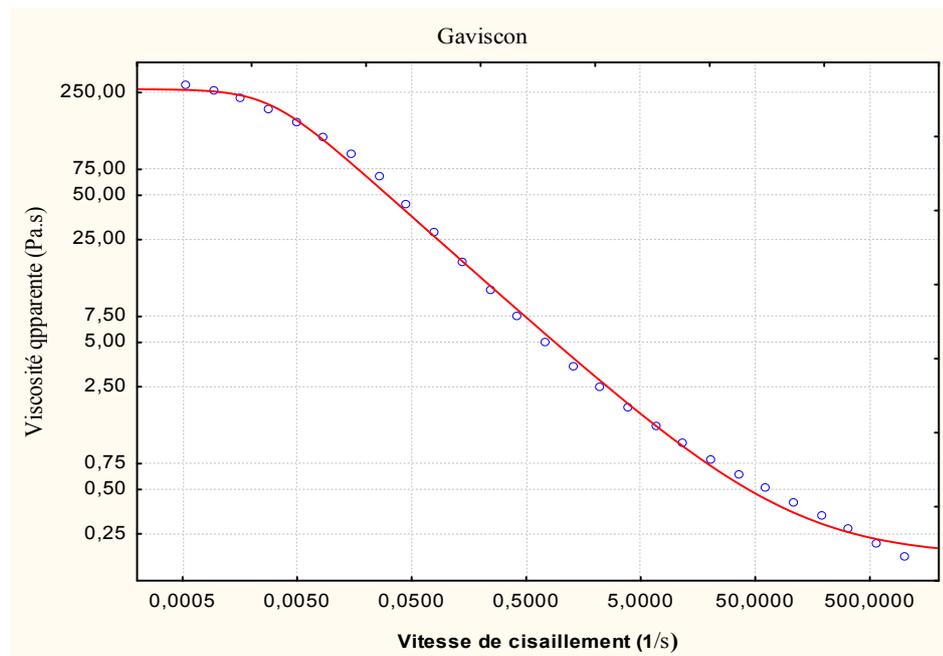
#### 4.4.5. Caractérisation rhéologique :

##### 4.4.5.1. Courbes d'écoulement de la suspension de référence :

La (figure 4.8) montre comment varie la viscosité apparente de la suspension de référence en fonction de la vitesse de cisaillement. On peut remarquer la présence de trois zones :

- Aux très faibles cisaillements, la viscosité enregistre un plateau qui suggère un comportement liquide newtonien. La viscosité de ce palier est dite viscosité au taux de cisaillement nul (zeroshear viscosity),  $\eta_0$ .
- Au-delà d'une certaine valeur de cisaillement critique, on remarque que la viscosité commence à chuter progressivement, ce qui correspond à au comportement d'un fluide rhéofluidifiant. Le paramètre caractéristique de cette zone est la vitesse de cisaillement critique, dénoté  $\dot{\gamma}_c$ .

- Au très fort cisaillement, la viscosité cesse de chuter et enregistre de nouveau un palier constant qui peut être caractérisé par une viscosité newtonienne, symbolisée :  $\eta_{\infty}$ .
- On peut également définir un quatrième paramètre qui représente le degré de chute de la viscosité depuis de la première région newtonienne à la deuxième région newtonienne.



**Figure 4.8 : Courbes d'écoulement du produit de Gaviscon®.**

La modélisation rhéologique de la courbe d'écoulement expérimentale par le modèle de Cross et le modèle de Carreau permet de faire ressortir des paramètres caractéristiques représentatifs du comportement de la suspension de référence.

L'équation du modèle de Cross est sous la forme :

$$\eta - \eta_{\infty} = \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + (K\dot{\gamma}_c)^n}$$

L'équation du modèle de Carreau est sous la forme :

$$\eta - \eta_{\infty} = \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{(1 + (K\dot{\gamma}_c)^2)^n}$$

Où :

$K$  : Est le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiant de la suspension. Nous préférons substituer ce paramètre par son inverse, qui a la dimension d'une vitesse de cisaillement, défini comme étant la vitesse de cisaillement critique,  $\dot{\gamma}_c$  critique nécessaire pour avoir un début de déstructuration de la dispersion.

$\eta_0$ : La viscosité du palier newtonien à faible taux de cisaillement.

$\eta_\infty$ : La viscosité du deuxième plateau newtonien à taux de cisaillement élevé.

$n$  : Indice de loi de puissance.

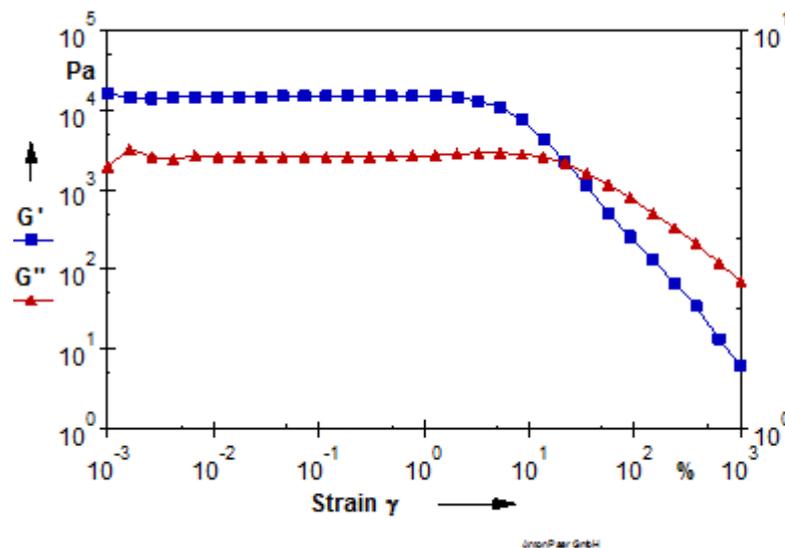
Le (tableau 4.5) résume les résultats des tous les paramètres rhéologiques des modèles utilisés ainsi que la qualité de l'ajustement qui est donnée par la valeur du coefficient de corrélation  $R$ .

**Tableau 4.5 : Paramètres rhéologiques des deux modèles de produit de référence Gaviscon®.**

	Modèle de Carreau					Modèle de Cross				
	$\eta_0$ Pa.s	$\eta_\infty$ Pa.s	$\dot{\gamma}_c$ $s^{-1}$	N	$R^2$	$\eta_0$ Pa.s	$\eta_\infty$ Pa.s	$\dot{\gamma}_c$ $s^{-1}$	n	$R^2$
Gaviscon®	263.17	0.176	0.003	0.35	0.997	427,10	0,18	0.0019	0,72	0,99

#### 4.4.5.2. Test de viscoélasticité du radeau formé:

L'évolution des deux modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$  en fonction de la déformation de cisaillement est illustrée dans la (figure 4.9). Aux faibles déformations, on remarque bien que les deux modules sont constants, ce qui correspond au domaine de la viscoélasticité linéaire, appelé, LinearVisco-Elastic Range, LVE range. Dans ce domaine, le comportement du gel est viscoélastique et les déformations enregistrées sont récupérables. Si on refait la même expérience, on obtient les mêmes valeurs de  $G'$  et de  $G''$ . Lorsque la déformation dépasse une certaine valeur, on remarque que  $G'$  diminue et intercepte  $G''$  au point de gel. A ce stade le comportement s'inverse et devient celui d'un liquide plastique, auquel cas, les déformations ne sont plus réversibles, autrement dit : si on réalise l'expérience de nouveau on n'obtient pas les mêmes valeurs. Pour ce point de gel est associée une valeur de la contrainte seuil,  $\tau_0$ , en deçà de laquelle le comportement est élastique et au-delà de laquelle le comportement est plastique.



**Figure 4.9 : Comportement viscoélastique de la suspension de référence Gaviscon®.**

Les valeurs des paramètres rhéologiques dans le domaine linéaire et au point gel sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau 4.6 : Paramètres rhéologiques viscoélastique du radeau de gaviscon®.**

$G''$ (KPa)	$G'$ (KPa)	Contrainte seuil, $\tau_0$ Pa
2	20	600

**4.5. CARACTERISATION DES SUSPENSIONS FORMULEES :****4.5.1. Caractérisation physico-chimique :**

Le tableau ci-dessous résume les résultats de la densité et du pH obtenu de chaque essai

**Tableau 4.7 : Caractérisation physico-chimique des formulations.**

Les essais	Densité	pH
essai 1	1,063	8,37
essai 2	1,033	8,75
essai 3	1,045	8,19
essai 4	1,042	8,66
essai 5	1,051	8,2
essai 6	1,042	7,87
essai 7	1,055	8,5
essai 8	1,046	8,41
essai 9	1,051	8,5
essai 10	1,045	8,24
essai 11	1,033	8,71
essai 12	1,046	8,44
essai 13	1,055	8,5
essai 14	1,047	8,26
essai 15	1,038	8,82

Au regard de ses résultats, on remarque que les valeurs du pH et de la densité obtenues sont proches de celles de la suspension de référence et la variation du pH est probablement due à la variation du bicarbonate de sodium.

#### 4.5.2. Caractérisation de l'activité anti-reflux :

**Tableau 4.8 : Paramètres de l'activité anti reflux des formulations.**

Essai N°	Formation Du radeau	Vitesse de formation	flottabilité	Epaisseur (cm)	rigidité
1	Présence	Immédiate	complète	2,5	rigide
2	Présence	Immédiate	complète	2,5	moyennement rigide
3	Présence	Moyenne	complète	2	Rigide
4	Présence	Moyenne	complète	2	rigide
5	Présence	Lente	complète	2,5	rigide
6	Présence	Immédiate	complète	1	non rigide
7	Présence	Lente	complète	1,5	moyennement rigide
8	Présence	Immédiate	complète	2	moyennement rigide
9	Présence	très lente	complète	2	rigide
10	Présence	Immédiate	complète	2	peu rigide
11	Présence	Immédiate	complète	2	peu rigide
12	Présence	Lente	complète	2	rigide
13	Présence	Immédiate	complète	1	non rigide
14	Présence	Immédiate	complète	2	rigide
15	Présence	Immédiate	complète	2	moyennement rigide

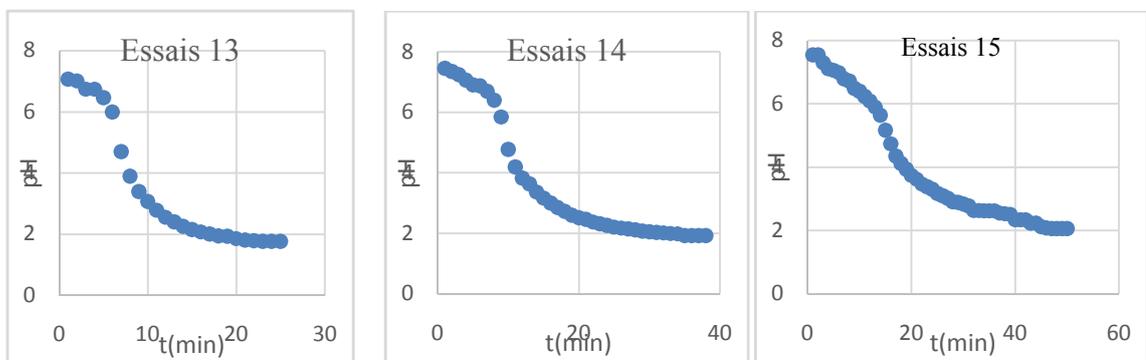
A la lumière des résultats obtenus, nous remarquons qu'après 30mn, la formation des radeaux a été complète et cela pour toutes les suspensions formulées. Ces radeaux présentent non seulement une flottabilité complète mais aussi des épaisseurs égales ou inférieures à celle de la suspension de référence Gaviscon®.

Le phénomène de formation du radeau, dans ce cas, peut être justifié par le fait que les contre-ions du chitosane, ont non seulement complexé les groupements anioniques de l'alginate de sodium mais aussi le xanthane qui est de caractère anionique, par des interactions électrostatiques. Par effet de différence de densité, le radeau formé flotte à la surface suite à l'emprisonnement du  $CO_2$  dans le gel qui a été libéré dans le milieu gastrique.

Les photos du radeau formé de tous les essais sont illustrées dans l'appendice B.

#### 4.5.3. Caractérisation de l'activité antiacide :

Les formulations choisies donnent les profils typiques de neutralisation suivants, (figure 4.10) :

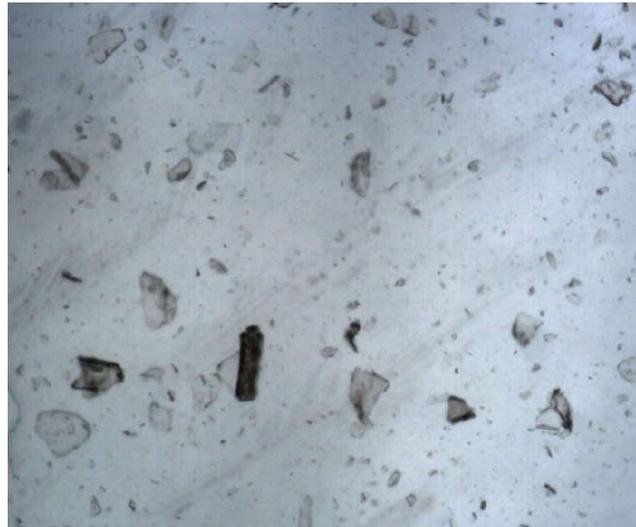


**Figure 4.10 : profils typiques de neutralisation, lors de la formation du radeau dans le milieu gastrique, T=37°C.**

Ces profils de neutralisation sont quasiment similaires à celui du produit de référence, avec une bonne vitesse de neutralisation et un pH max proche de celui de la suspension de référence.

#### 4.5.4. Caractérisation morphologique d'une des formulations :

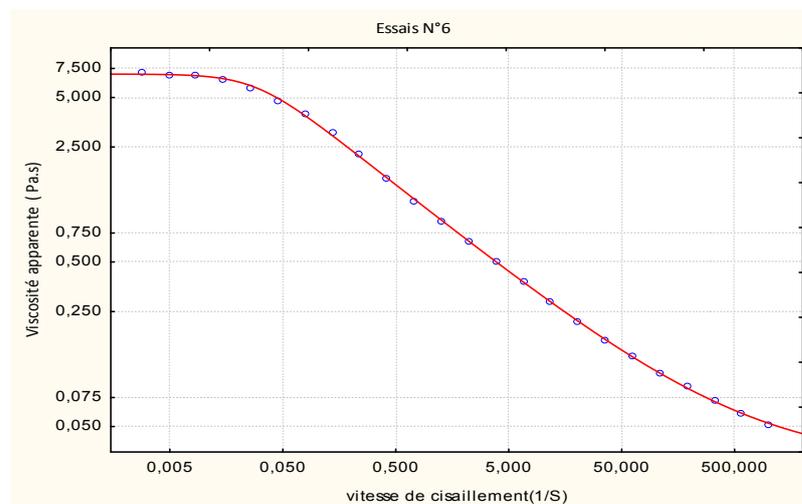
La photo microscopique d'une des suspensions formulée, représentée dans la (figure 4.11), montre clairement la bonne dispersion des particules défloculées du chitosane. On peut observer également, que les fines sont très nombreuses par rapport aux grosses, ce qui permet d'entrevoir une solubilité aisée du chitosane dans le milieu acide et la formation rapide du radeau.



**Figure 4.11 : Image microscopique, X100, typique d'une suspension à base de chitosane et d'alginate de sodium.**

#### 4.5.5. Caractérisation rhéologique :

##### 4.5.5.1. Test d'écoulement sur les suspensions formulées et modélisation :



**Figure 4.12 : Courbe d'écoulement typique d'une des suspensions.**

(La figure 4.12) représente une courbe d'écoulement typique d'un des essais de formulation de la matrice d'expériences. Les autres courbes d'écoulements des différents essais se trouvent en l'appendice D. Clairement, l'allure de la courbe est similaire à celles du produit de référence. Les paramètres de la modélisation rhéologique des différents essais par le modèle de Carreau et de Cross sont présentés dans le (tableau 4.9) et le (tableau 4.10) respectivement.

**Tableau 4.9 : Paramètres rhéologiques du modèle de Carreau.**

Modèle de Carreau					
N° essai	$\mu_{\infty}$	$\mu_0$	$\dot{\gamma}_C$	n	R <sup>2</sup>
Essai 1	0.07	23.87	0.028	0.28	0.989
Essai 2	0,05	22,374	$2.69 \cdot 10^{-5}$	0.18	0.998
Essai 3	0,042	3,12	0.033	0,21	0.999
Essai 4	0,03	16,38	0.008	0,27	0.992
Essai 5	0,006	1,86	0.147	0,15	0.999
Essai 6	0,03	6,91	0.029	0,27	0.999
Essai 7	0,027	271,60	$1.15 \cdot 10^{-6}$	0,20	0.988
Essai 8	0,036	3	0.033	0,20	0.999
Essai 9	0,09	84,07	$3.08 \cdot 10^6$	0,18	0.995
Essai 10	0,04	2,77	$1.69 \cdot 10^{-4}$	0,08	0.998
Essai 11	0,02	4,20	0.035	0,25	0.994
Essai 12	0,03	8,17	0.037	0,30	0.999
Essai 13	0,04	6,38	0.03	0,25	0.999
Essai 14	0,04	3,30	0.035	0,20	0.998
Essai 15	0,01	1,49	0.052	0,15	0.999

**Tableau 4.10 : paramètres rhéologiques du modèle de cross.**

Modèle de Cross					
N° essai	$\mu_0$	$\mu_\infty$	$\dot{\gamma}_c$	n	R <sup>2</sup>
Essai 1	28,96579	0,078001	0,026	0,582795	0,99248
Essai 2	305,1509	0,056478	5,26	0,384155	0,98190
Essai 3	3,953904	0,044342	0,02	0,427233	0,99796
Essai 4	22,85522	0,034134	0,0052	0,555268	0,99520
Essai 5	2,664008	0,013169	0,04949	0,307013	0,99906
Essai 6	7,778103	0,034213	0,030	0,576141	0,99876
Essai 7	464,4632	0,012426	0,000000153	0,385236	0,99908
Essai 8	3,648156	0,040036	0,024	0,413836	0,99876
Essai 9	48,67052	0,016071	0,000000575	0,280488	0,99946
Essai 10	1,208269	0,039728	0,060	0,302460	0,99582
Essai 11	6,745570	0,037930	0,030	0,598475	0,99192
Essai 12	10,85109	0,038766	0,047	0,679964	0,99485
Essai 13	10,29186	0,059280	0,026	0,563445	0,99409
Essai 14	8,48737	0,050686	0,00708	0,443855	0,99350
Essai 15	3,2047	0,031071	0,018	0,372611	0,99837

Les coefficients de détermination, R<sup>2</sup>, des deux modèles sont très proches de 1. Aussi, nous avons opté pour un des deux modèles, en l'occurrence celui de Carreau.

#### **4.6. MODELISATION EN SURFACE DE REPONSES ET ETUDE D'EFFET :**

##### **4.6.1. Matrice d'expériences :**

Au terme de l'étude de la caractérisation expérimentale, on se propose de regrouper les réponses retenues dans le (tableau 4.11) de la matrice d'expériences.

**Tableau 4.11 : Matrice d'expériences regroupant les essais de formulation des suspensions.**

N° Essai	$\eta_0$ (Pa.s)	$\eta_\infty$ (Pa.s)	$\dot{\gamma}_c$ (s <sup>-1</sup> )	G' (Pa)	$\tau_{seuil}$ (Pa)	n
1	6,91	0,03	0,03	6840	437	0,27
2	1,20	0,08	0,17	6540	83,6	0,15
3	1,40	0,02	0,38	10900	672	0,24
4	2,29	0,005	0,28	5150	344	0,15
5	4,20	0,02	0,03	7570	97,1	0,25
6	3,12	0,08	0,05	2630	33,7	0,20
7	8,17	0,03	0,03	12000	154	0,30
8	5,23	0,013	0,02	2230	154	0,17
9	3,06	0,05	0,01	2630	185	0,18
10	1,49	0,01	0,05	7600	97,3	0,15
11	6,38	0,04	0,03	7590	97,1	0,25
12	4,35	0,02	0,01	12700	554	0,20
13	3,12	0,04	0,03	13400	372	0,21
14	3	0,03	0,03	13200	374	0,20
15	3,30	0,04	0,03	13400	373	0,20

#### 4.6.2. Matrice de corrélation réponse- réponse :

Avant de passer à l'analyse des résultats, il est nécessaire d'étudier l'existence, ou pas de corrélation entre les réponses. En effet, s'il existe deux réponses corrélées il n'est pas utiles de les considérer toutes les deux, mais au contraire, il faut en éliminer une des deux et garder que les réponses indépendantes. La matrice de corrélation est présentée par le (tableau 4.12). On peut remarquer que deux réponses seulement sont corrélées, il s'agit des deux modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$ . Aussi, on se propose de retenir une seule de ces deux réponses, on choisira  $G'$  pour des considérations d'interprétation physique.

**Tableau 4.12 : Matrice de corrélation entre les réponses.**

	$\eta_0$	$\eta_\infty$	$\dot{\gamma}_c$	Log G'	Log G''	$\tau_0$	n
$\eta_0$	1	-0,17	-0,51	0,03	0,08	-0,01	0,65
$\eta_\infty$	-0,17	1	-0,11	-0,19	-0,26	-0,46	-0,36
$\dot{\gamma}_c$	-0,51	-0,11	1	0,06	0,13	0,27	-0,09
Log G'	0,04	-0,19	0,07	1	<b>0,97</b>	0,54	0,54
Log G''	0,08	-0,26	0,13	<b>0,97</b>	1	0,52	0,60
$\tau_0$	-0,01	-0,46	0,27	0,54	0,51	1	0,42
N	0,65	-0,36	-0,09	0,54	0,60	0,42	1

**4.6.3. Analyse statistique des modèles par RSM :**

La qualité statistique des résultats est donnée par le paramètre d'explication de la variance (détermination)  $R^2$  et le Paramètre de prédiction  $Q^2$ .

$R^2$  : Permet d'évaluer le degré, en pourcentage, d'explication du modèle mathématique établi (réponse prédite) par rapport aux réponses mesurées. Un bon modèle doit avoir un  $R^2$  proche de l'unité.

$Q^2$  : le coefficient  $Q^2$  est très similaire au coefficient  $R^2$  ; il est parfois appelé  $R^2$  prédictif, il peut être négatif pour les très mauvais modèles, il doit être supérieur à 50 % pour avoir un bon modèle.

Les qualités descriptives ( $R^2$ ) et prédictives ( $Q^2$ ) de chaque modèle sont fournies dans le (tableau 4.13).

**Tableau 4.13 : Valeurs des coefficients de détermination et de prédiction des modèles****RSM**

Réponse	coefficient	$R^2$	$Q^2$
$\eta_0$		0,996	0,925
$\eta_\infty$		0,914	0,380
$\dot{\gamma}_c$		0,852	0,206
Log G'		0,831	0,264
$\tau_0$		0,962	0,585
N		0,940	0,366

Les valeurs des coefficients  $a_i$ , des modèles en surface de réponses, ont été déterminées par la méthode PLS (Partial Least Square). Ces valeurs sont regroupées dans le (tableau 4.14).

**Tableau 4.14 : Valeurs des coefficients des modèles de surface de réponses, RSM.**

Réponses Coefficients	$\eta_0$	$\eta_\infty$	$\dot{\gamma}_c$	n	Log G'	$\tau_0$
$a_0$	3,19	0,039	0,038	0,204	4,11	2,55
$a_1$	-0,83	0,007	0,004	-0,037	-0,15	-0,14
$a_2$	-0,74	-0,013	0,045	-0,01	0,07	0,12
$a_3$	1,16	-0,005	-0,006	0,013	0,08	0,13
$a_{11}$	0,35	0,000	0,056	0,01	-0,12	-0,11
$a_{22}$	-0,49	-0,003	0,047	-0,011	-0,03	0,07
$a_{33}$	0,82	-0,002	-0,056	0,005	-0,13	-0,23
$a_{12}$	0,94	-0,01	-0,033	0,004	-0,05	0,06
$a_{13}$	-0,26	-0,011	-0,004	-0,011	-0,04	0,06
$a_{23}$	-0,06	0,003	-0,011	-0,003	-0,03	0,15

#### 4.6.4. Etude des effets des concentrations sur les réponses :

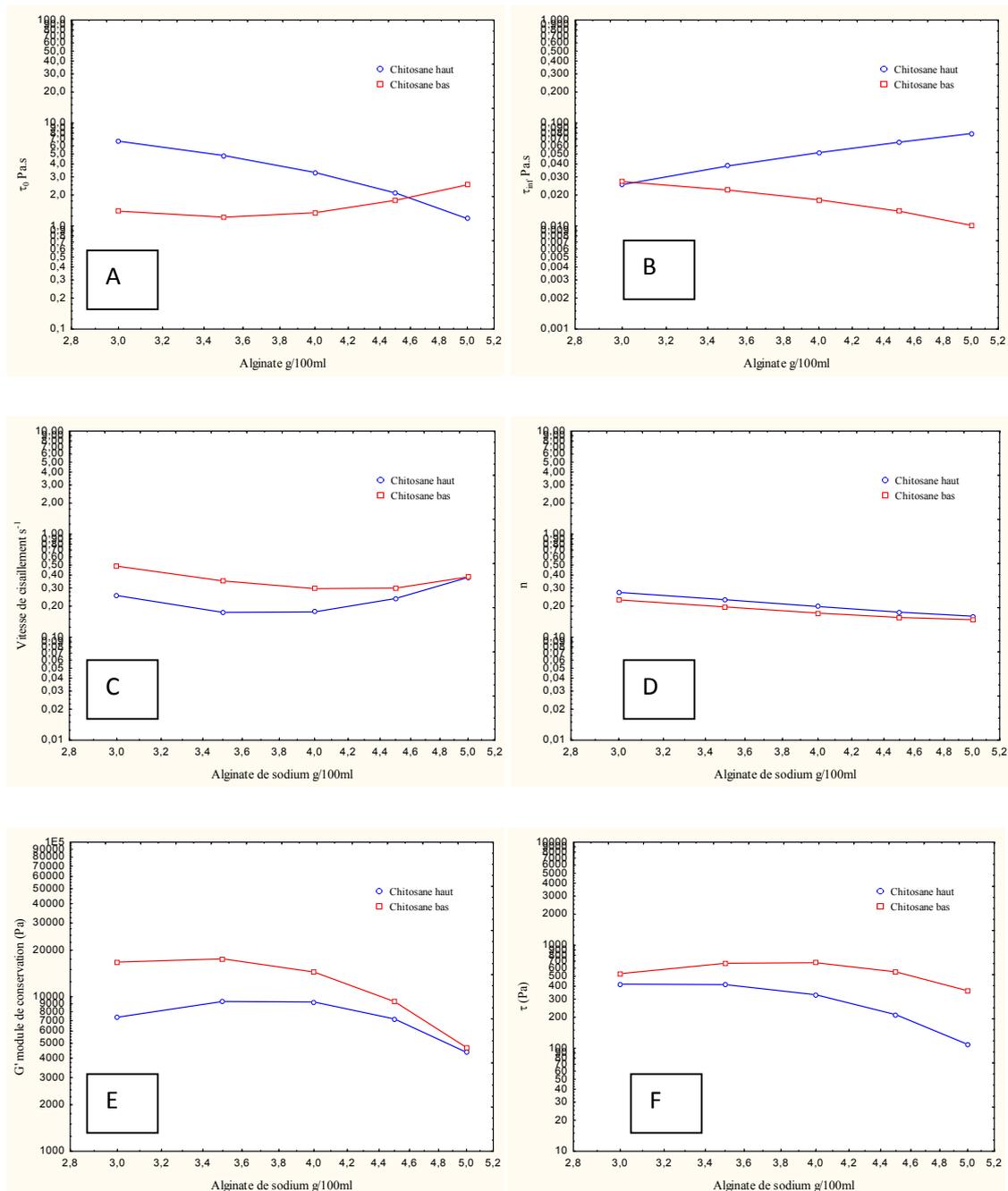
Une fois les valeurs des coefficients des modèles RSM déterminées, on peut exploiter ces modèles à des fins de prédiction, pour quantifier l'impact de la variation des trois concentrations sur les propriétés de la suspension et du radeau.

##### 4.6.4.1. Effet de l'alginate de sodium :

A la lumière de la (figure 4.13) regroupant les courbes d'effet de l'alginate de sodium sur les différentes réponses, on peut faire ressortir les observations suivantes :

- Le domaine de variation des quatre réponses associées aux caractéristiques de la suspensions, à savoir,  $\eta_0$  (A), (B),  $\dot{\gamma}_c$  (C) et  $n$  (D), est limité dans une seule décade, au sens logarithmique :  $\eta_0$  de la suspension varie à l'intérieur de la décade des unités,  $\eta_{inf}$  varie à l'intérieur de la décade des centièmes,  $\dot{\gamma}_c$  varie à l'intérieur de la décade des dixièmes et  $n$  est quasiment constante. Ce constat conduit à supposer que même si ces grandeurs ont une certaine tendance par rapport à la variation de la concentration d'alginate de sodium, cette tendance est figée dans la même décade et donc pas d'effet significatif de l'alginate de sodium sur les caractéristiques rhéologiques de la suspension. Ce résultat est prévisible, du fait que dans la suspension, nous avons mis

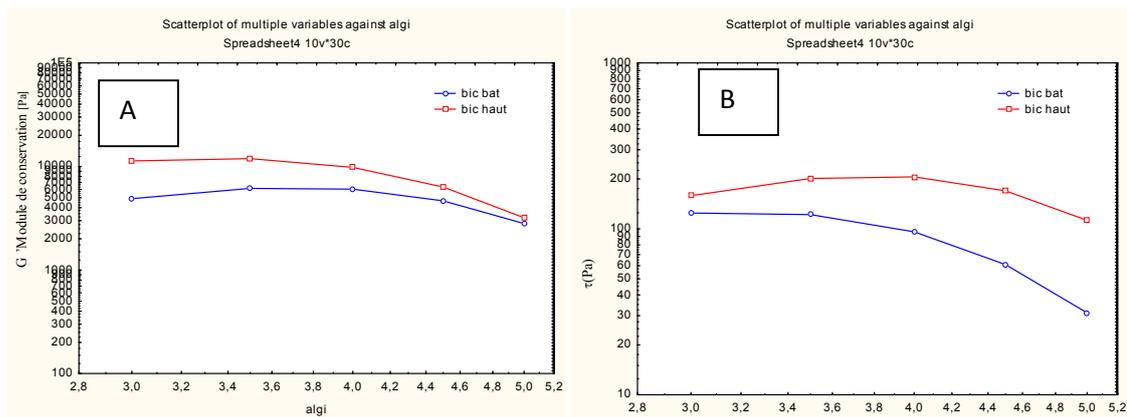
0.2g/100 ml de xanthane dont le rôle était de stabiliser les particules du chitosane. Comme cet ingrédient a été pris avec une concentration constante et comme il est connu pour ses propriétés viscosifiantes, alors c'est cet excipient qui conditionne la rhéologie de la suspension.



**Figure 4.13-A, B, C, D, E et F : Courbes d'effet de l'alginate de sodium et de son interaction avec le chitosane, sur :  $\eta_0$  (A),  $\eta_{inf}$  (B),  $\dot{\gamma}_c$  (C),  $n$  (D),  $G'$  (E) et  $\tau_{seuil}$  (F). La concentration du bicarbonate de sodium est prise à sa valeur moyenne.**

- A l'inverse, la variation du module de conservation,  $G'$ , (figure 4.13 – E) touche pratiquement deux décades, ce qui prouve que l'alginate de sodium a son impact sur la rigidité du radeau formé. D'ailleurs, l'effet est plus significatif lorsque le chitosane est pris à son niveau bas et les valeurs de  $G'$ , dans cette situation, sont plus grandes. Ceci nous amène à supposer que dans le domaine d'étude, l'alginate de sodium et le chitosane ont une interaction négative, dans le sens où pour avoir un gel plus rigide, il faut mettre une quantité minimale de chitosane pour que le mécanisme de complexation des deux biopolymères soit le plus effectifs.
- Cette tendance est aussi observée dans le cas de la réponse « contrainte seuil » en régime dynamique du radeau,  $\tau_{seuil}$ , (figure 4.13-F). Néanmoins, la variation de la valeur de cette grandeur est délimitée dans une seule décade, des centaines, et sa tendance doit être prise avec précaution.

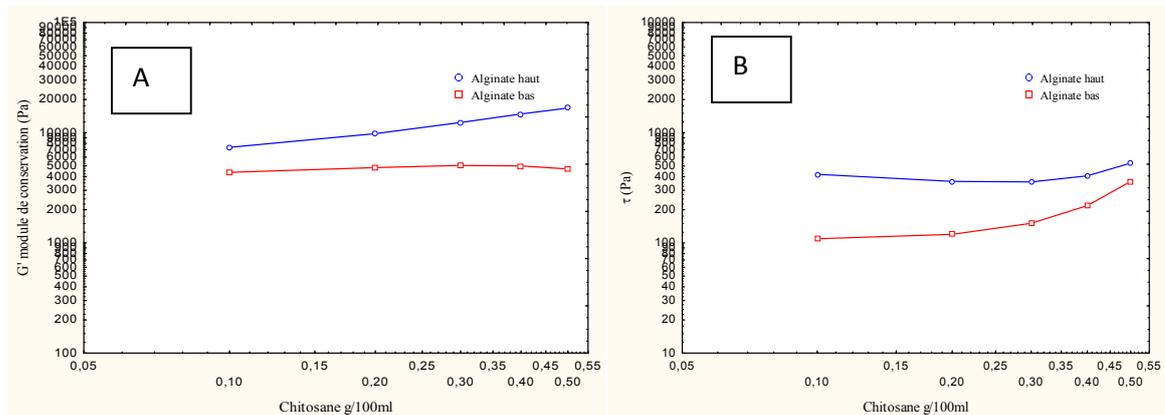
Il est donc vain d'étudier l'effet des trois concentrations sur les propriétés des suspensions, du fait que ces caractéristiques sont finalement conditionnées par le xanthane qui a été rajouté à la formulation, dans le but de donner plus de stabilité physique à la suspension. Dans ce qui suit, on ne représentera que les courbes d'effet des facteurs sur les propriétés rhéologiques du radeau. Les autres courbes d'effet, sur la suspension sont archivées en appendice pour justifier, à juste titre, que les trois ingrédients non pas d'effet.



**Figure 4.14-A et B : Courbes d'effet de l'alginate de sodium et de son interaction avec le bicarbonate de sodium sur  $G'$  (A) et  $\tau_{seuil}$  (B). La concentration du chitosane est prise à sa valeur moyenne.**

La (figure 4.14) regroupe les courbes d'effet de l'alginate de sodium et de son interaction avec la bicarbonate de sodium sur les deux réponses,  $G'$ , (figure 4.14-A) et  $\tau_{seuil}$ , (figure 4.14- B). Vraisemblablement, l'alginate de sodium ne semble pas avoir un effet significatif sur  $G'$  par contre  $\tau_{seuil}$  paraît diminuer avec son augmentation, lorsque le bicarbonate de sodium est pris à son niveau bas. Toutefois, globalement, on remarque que les valeurs des deux grandeurs  $G'$  et  $\tau_{seuil}$  sont plus importantes lorsque la quantité du bicarbonate est à sa valeur maximale qui sont de l'ordre de 10KPa pour  $G'$  et de 200 Pa pour  $\tau_{seuil}$ . Ces deux ordres de grandeurs sont quasiment insensibles à la variation de l'alginate de sodium, à cause probablement de la quantité constante du chitosane qui a été prise à sa valeur moyenne.

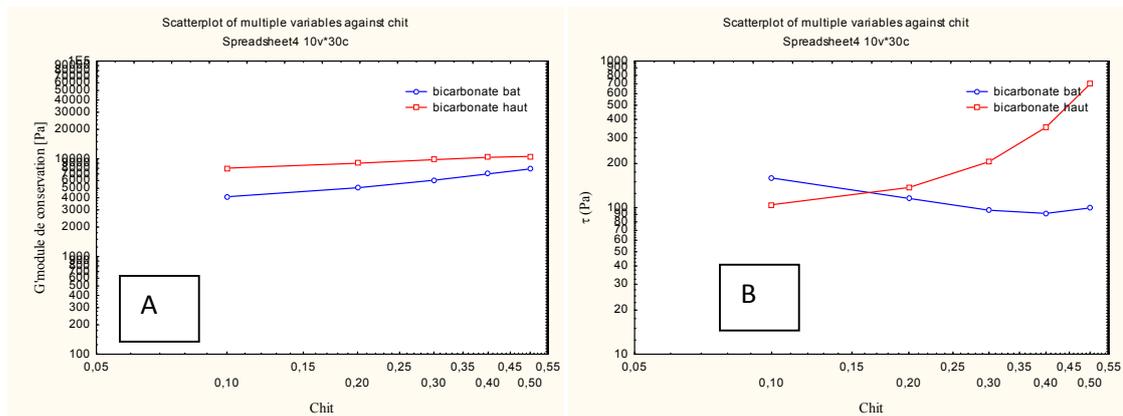
#### 4.6.4.2. Effet du chitosane :



**Figure 4.15-A,B : Courbes d'effet du Chitosane et de son interaction avec l'alginate de sodium sur  $G'$  (A) et sur  $\tau_{seuil}$  (B). La concentration du bicarbonate de sodium est prise à sa valeur moyenne.**

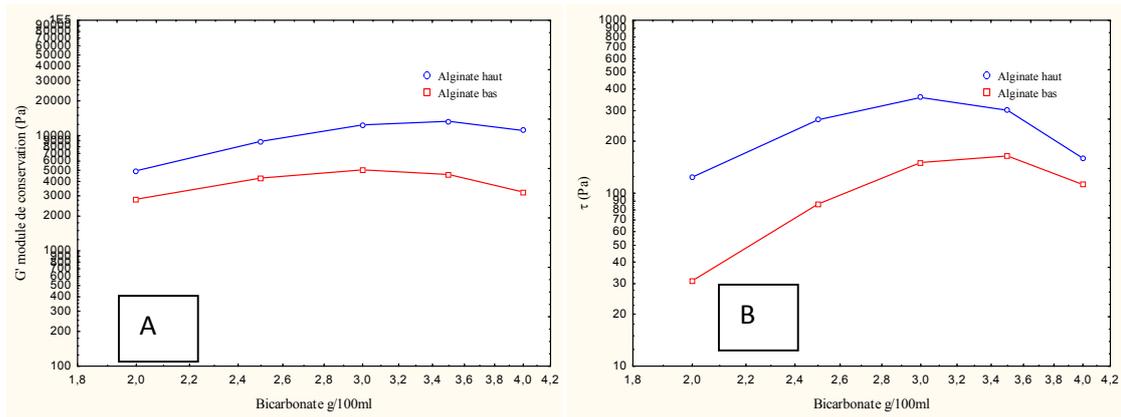
Sur la (figure 4.15-A et B) sont représentées les courbes d'effet du chitosane sur  $G'$  et  $\tau_{seuil}$ , en considérant la position de l'alginate à ses niveaux bas et haut. Nonobstant le fait de la présence des tendances haussières de  $G'$  et  $\tau_{seuil}$  avec l'accroissement du chitosane, ces tendances n'ont pas basculé vers d'autres décades, ce qui laisse supposer que, grosso modo, le chitosane a peu ou pas d'effet palpable. Il est important de souligner que les valeurs les plus grandes de  $G'$  et de  $\tau_{seuil}$  qui sont de l'ordre de 10KPa et de 500Pa, respectivement, ont été obtenues lorsque la concentration de l'alginate a été prise à son niveau haut avec une concentration médiane du bicarbonate de sodium.

(La figure 4.16) illustre les courbes d'influence du chitosane et de son interaction avec la bicarbonate de sodium sur les deux réponses,  $G'$ , figure (4.16 -A) et  $\tau_{seuil}$ , (figure 4.16 - B). Le module de conservation  $G'$  semble être insensible à la variation du chitosane, par contre la contrainte seuil dynamique  $\tau_{seuil}$  paraît plus sensible se comportant différemment avec la position du niveau du bicarbonate. En effet, à niveau bas, l'effet du chitosane est positif et rehausse la valeur de  $\tau_{seuil}$  de 100 Pa à 700 Pa. A l'inverse, au niveau haut du bicarbonate, l'effet du chitosane devient négatif et rabaisse la valeur de  $\tau_{seuil}$  de 200Pa à 100Pa (cette tendance négative peut être considérée comme négligeable, faisant parti de la même décade). En résumé, les valeurs les plus intéressantes des deux caractéristiques,  $G'$  et  $\tau_{seuil}$  sont obtenues lorsque la niveau du bicarbonate est pris à sa valeur maximale. Leurs valeurs sont aux alentours de 100 KPa pour  $G'$  et de 600Pa pour  $\tau_{seuil}$ .



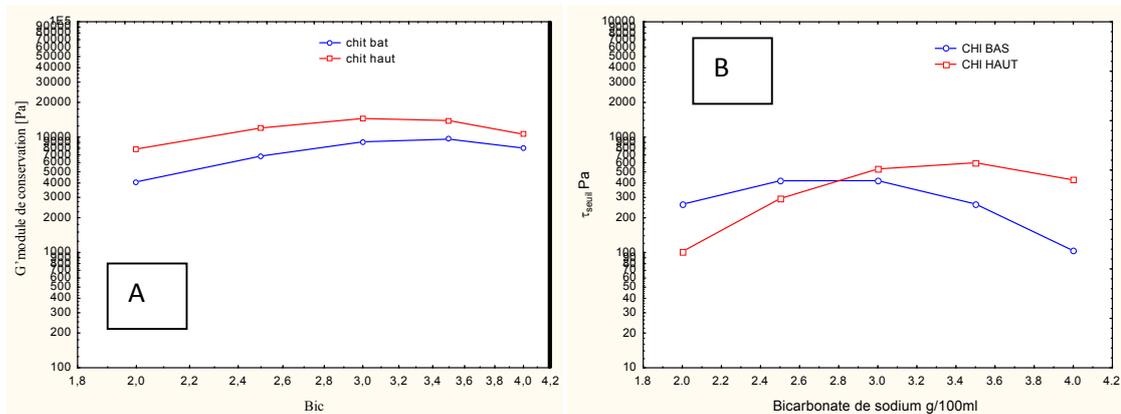
**Figure 4.16-A,B : Courbes d'effet du Chitosane et de son interaction avec le bicarbonate de sodium sur  $G'$  (A) et sur  $\tau_{seuil}$  (B). La concentration de l'alginate de sodium est prise à sa valeur moyenne.**

Sur la (figure 4.17-A et B) sont rassemblées les courbes d'effet du bicarbonate de sodium sur  $G'$  et  $\tau_{seuil}$ , en tenant compte du niveau bas et haut de l'alginate de sodium. Clairement, le bicarbonate de sodium n'a pas d'effet sur le module de conservation  $G'$ , par contre a un effet positif sur  $\tau_{seuil}$  qui est plus prononcé au niveau bas de l'alginate de sodium : la contrainte seuil passe de 30 Pa à 100 Pa. Les valeurs les plus importantes de  $G'$  et de  $\tau_{seuil}$  sont de l'ordre de 10KPa et de 300Pa, respectivement, ont été obtenues lorsque la concentration de l'alginate a été prise à son niveau haut avec une concentration médiane du chitosane.



**Figure 4.17-A,B : Courbes d'effet du bicarbonate de sodium et de son interaction avec l'alginate de sodium sur  $G'$  (A) et sur  $\tau_{seuil}$  (B). La concentration du chitosane est prise à sa valeur moyenne.**

La (figure 4.18) montre l'effet du bicarbonate de sodium et de son interaction avec le chitosane sur les deux réponses,  $G'$ , (figure 4.18 -A) et  $\tau_{seuil}$ , (figure 4.18 - B). Ce qui ressort de ces courbes est que le bicarbonate n'a pas d'effet notable, à cause probablement de la concentration figée à sa valeur moyenne de l'alginate de sodium. Globalement, les valeurs des deux caractéristiques,  $G'$  et  $\tau_{seuil}$  sont aux alentours de 100 KPa pour  $G'$  et de 400Pa pour  $\tau_{seuil}$ .



**Figure 4.18-A,B : Courbes d'effet du bicarbonate de sodium et de son interaction avec le chitosane sur  $G'$  (A) et sur  $\tau_{seuil}$  (B). La concentration de l'alginate de sodium est prise à sa valeur moyenne.**

#### 4.6.5. Optimisation de la formulation (Approche numérique) :

Pour approcher la formule optimale de la suspension à base de la triade : alginate de sodium, bicarbonate de sodium et chitosane, les modèles en surface de réponses sont sollicités avec comme objectif de chercher la ou les solution (s) qui satisfait (aient) aux conditions ou critères suivants qui sont résumés dans le (tableau 4.15) :

**Tableau 4.15 : facteurs justifiant les conditions d'optimisation de la formulation de la suspension**

Réponse	Condition numérique	Justificatifs
$\eta_0$	maximale	Pour assurer une bonne stabilité de la suspension contre la sédimentation. Toutefois, le xanthane est quasiment le facteur principal qui conditionne la valeur de $\eta_0$ .
$\eta_\infty$	minimale	Pour assurer un écoulement aisé de la suspension in process et lors de son administration par voie orale. Egalement, le xanthane est quasiment le facteur principal qui conditionne la valeur de $\eta_\infty$ .
$\dot{\gamma}_c$	indifférente	Ses valeurs sont de l'ordre de $10^{-2} \text{ s}^{-1}$ pour tous les essais
N	indifférente	Sa valeur fluctue aux alentours de 0.2
$G'$		Pour avoir un radeau le plus consistant qui résiste aux mieux aux remontées gastriques sans subir de déstructuration par érosion.
$\tau_{seuil}$	maximale	Pour préserver le caractère solide et élastique du radeau lors de sa sollicitation mécanique par le flux ascendant gastrique. Si le flux gastrique produit une contrainte supérieure à la contrainte seuil, le radeau se transformera en liquide et perdra son caractère gel.

En introduisant ces conditions d'optimisation au niveau du logiciel Modde 6.0 dans son module « prediction, optimizer », on obtient les valeurs cibles, des six réponses, résumées dans le (tableau 4.16).

**Tableau 4.16 : Ensemble des conditions et valeur cible des réponses à atteindre pour l'optimisation**

Response (réponse)	Criteria (crite)	Weight (poids)	min	Target (cible)	max
$\eta_0$	Maximize (à maximiser)	1	7.95	8.66	
$\eta_\infty$	Minimize (à minimiser)	1		0.0067	0.013
$\dot{\gamma}_c$	Exclude (indifférent)				
N	Exclude (indifférent)				
$G'$	Maximize (à maximiser)	1	16060	17455	
$\tau_{seuil}$	Maximize (à maximiser)	1	668	736	

L'exécution du logiciel par son module « *runoptimizer* » pour avoir la solution optimale, a donné le résultat suivant :

La concentration d'alginate de sodium = 4g/100ml  
 La concentration du chitosane = 0.5 g/100ml  
 La concentration du bicarbonate de sodium = 4g/100ml

Pour les valeurs cette triade de facteur on obtient des valeurs des réponses :

$\eta_0 = 4.292 \text{ Pa.s}$ ,       $\eta_\infty = 0.0126 \text{ Pa.s}$ ,       $\dot{\gamma}_C = 0.0463 \text{ s}^{-1}$   
 $n = 0.1916$  ,       $G' = 9201.75 \text{ Pa}$ ,  $\tau_{seuil} = 673.882 \text{ Pa}$

#### **4.6.6. Optimisation de la formulation par rapport au produit de référence :**

On envisage dans cette partie d'approcher les propriétés rhéologiques de la suspension de référence gaviscon® et de son radeau. Les valeurs cibles de ce médicament ont été résumées dans les (tableaux 4.5 et 4.6) et qui sont :

$\eta_0 = 260 \text{ Pa.s}$ ,       $\eta_\infty = 0.17 \text{ Pa.s}$ ,       $\dot{\gamma}_C = 0.003 \text{ s}^{-1}$   
 $n = 0.35$  ,       $G' = 20 \text{ KPa}$ ,       $\tau_{seuil} = 2 \text{ KPa}$

L'exécution du logiciel modde6.0 par son module « *runoptimizer* », sous condition des paramètres consignés dans (tableau 4.15), n'a donné aucune solution, du fait que toutes les valeurs cibles (du Gaviscon®) sont supérieures aux valeurs maximales fournies par les modèles en surface de réponses, RSM.

**Tableau 4.17 : Ensemble des conditions et valeur cible des réponses à atteindre pour l'optimisation de la formulation par rapport au produit de référence Gaviscon®.**

<b>Response (réponse)</b>	<b>Criteria (crière)</b>	<b>Weight (poids)</b>	<b>min</b>	<b>Target (cible)</b>	<b>max</b>
$\eta_0$	Target	1		260	
$\eta_\infty$	Target	1		0.17	
$\dot{\gamma}_c$	Target	1		0.003	
<b>n</b>	Target	1		0.35	
<b>G'</b>	Target	1		20000	
$\tau_{seuil}$	Target	1		2000	

Aussi, le choix des domaines de variation de la triade des excipients ne permet pas d'atteindre des propriétés rhéologiques de la suspension et du radeau équivalentes à celles du Gaviscon®. Ce problème peut être résolu par rehaussement de la concentration de la gomme xanthane qui a été figée à 0.2g/100ml. En effet, malgré la différence entre la formule optimale conditionnée par ses valeurs résumées dans le (tableau 4.16) et celles du Gaviscon® du (tableau 4.17), on peut la qualifier d'un bon produit, vue la formation instantanée du radeau formé et de la stabilité physique de quelques suspensions de la matrice d'expériences.

## CONCLUSION GENERALE

Dans ce modeste travail nous nous sommes intéressés à la formulation d'une suspension pharmaceutique pour une administration orale présentant des propriétés anti-reflux.

La démarche était d'éliminer les parabènes et le carbonate de calcium présents dans toutes les formules des suspensions et comprimés antireflux du commerce, à l'image de la suspension Gaviscon®. Les raisons de cette démarche sont inhérentes à la toxicité et à la nocivité des parabènes qui sont suspectées pour leur effet cancérigène, et également pour un risque de surdosage du calcium qui peut subvenir, lors de la vidange gastrique dans les intestins au pH 6.8 qui provoque la destruction du gel et la libération en un coup de  $Ca^{++}$ . Notre challenge était de substituer ces deux substances problématiques par un seul ingrédient qui offre d'une part une source de contre-ions, in situ, pour complexer l'alginate de sodium et former le gel, et qui joue, d'autre part, le rôle d'agent de conservation antimicrobien, pouvant stabiliser la suspension sur le plan microbiologique. La substance qui nous a semblée remplir ces deux fonctions est le chitosane, connue pour sa non toxicité et sa biocompatibilité.

Pour mener à bien ce travail, nous nous sommes basés sur trois ingrédients principaux, constituant les facteurs de contrôle du plan d'expériences :

- l'alginate de sodium qui constitue la matrice ou l'ossature du radeau formé in situ,
- le chitosane qui constitue l'élément réticulant de l'alginate de sodium in situ considéré comme l'agent structurant de la matrice d'alginate,
- et le bicarbonate de sodium, source de libération, in situ, du gaz du dioxyde de Carbone,  $CO_2$  qui est responsable de l'abaissement de la densité du gel lui permettant de flotter pour constituer la barrière anti-reflux œsogastrique.

Nous avons rajouté à ces facteur de la gomme xanthane, figée à 0.2g/100ml dans le but de donner de la consistance à la suspension et de stabiliser les particules du chitosane contre la sédimentation.

L'organisation des essais de formulation et d'optimisation a été basée sur la méthodologie des plans d'expériences par utilisation de la matrice de Box Benhken à 15 essais.

La caractérisation rhéologique, physicochimiques, anti-reflux et morphologique du produit de référence a permis de tirer certaines réponses cibles dans l'étape de formulation qui a permis de définir les réponses constituant le output pour l'évaluation de la qualité des suspensions formulées.

Les points qu'on peut retenir, au terme de cette étude se résument comme suit :

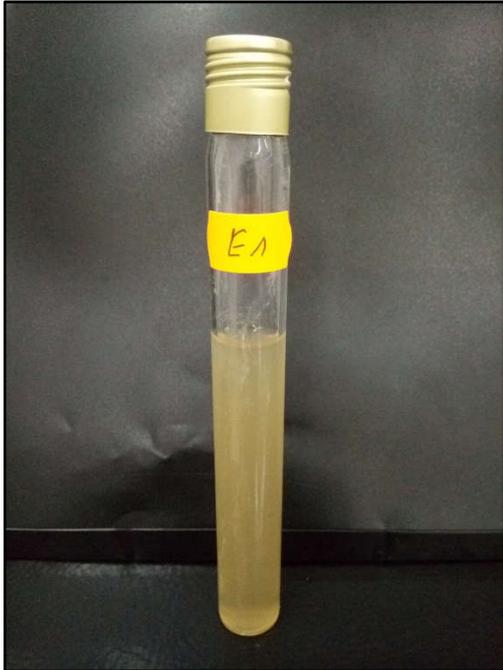
- ✓ Le radeau a pu être formé in-situ avec ce système ce qui permet de confirmer que le chitosane peut substituer effectivement et en mieux le carbonate de calcium.
- ✓ L'élimination des parabènes de la suspension, a permis de ne pas avoir de contrainte sur choix du pH, vue l'élimination de tous les problèmes de recristallisation des parabènes aux pH bas ( $pKa = 8.4$ ) ainsi qu'aux problèmes liés aux basses températures de conservation (le Gaviscon® ne peut être conservé au réfrigérateur à cause de la recristallisation des parabènes).
- ✓ La nouvelle suspension proposée est dépourvue de substances nocives à la santé.

Cependant, comme tout travail réalisé, nous nous sommes heurtés à des difficultés d'ordre expérimental, notamment lors de l'entreprise des analyses de stabilité microbiologique qui n'étaient pas concluantes à cause des problèmes de contamination par manque de conditions d'hygiène notamment de stérilisation, lors des préparations des suspensions.

Un autre point négatif est lié au fait de ne pas avoir obtenu des résultats des analyses rhéologiques proches à ceux du produit de référence Gaviscon®. La différence est due aux choix initial de la concentration du xanthane à 0.2g/100 ml qui semble être insuffisante.

En dépit des résultats obtenus, ces déficiences constatées qui donnent le sentiment d'un travail inachevé, constituent les perspectives de ce travail, auquel le formulateur doit les considérer formellement, surtout, pour répondre à la question du rôle important du chitosane en tant qu'agent antimicrobien dans cette nouvelle approche. Ainsi, il est plus que souhaitable de compléter ce travail par une étude de stabilité détaillée de la microbiologique, afin de confirmer la faisabilité de cette approche de formulation d'une suspension anti-reflux sans parabènes et sans carbonate de calcium.

**APPENDICE A**



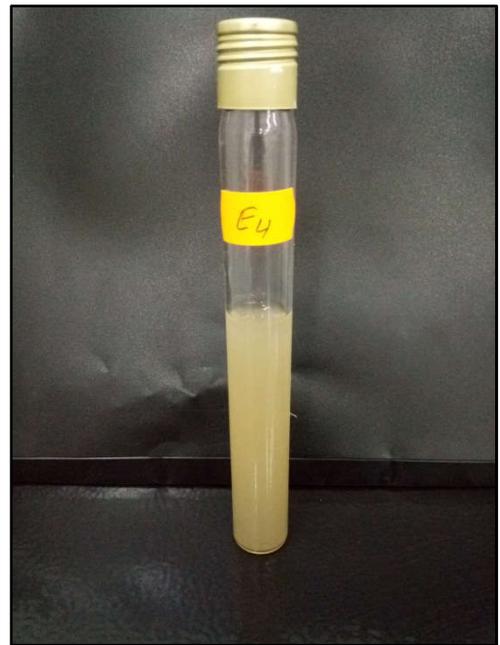
**Suspension N°1**



**Suspension N°2**



**Suspension N°3**



**Suspension N°4**



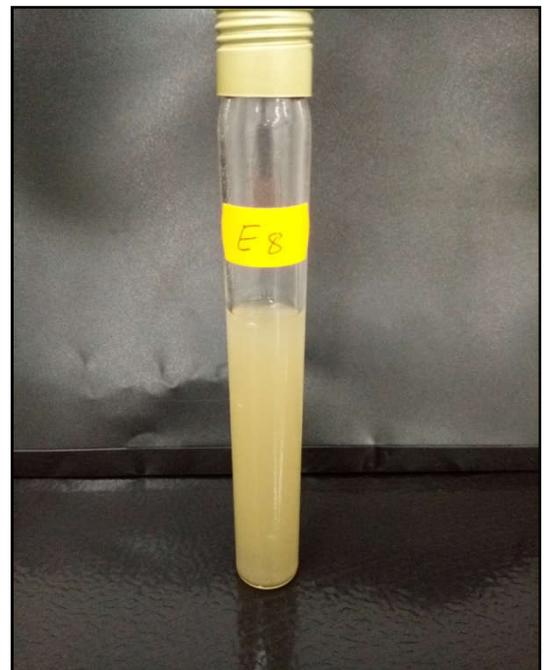
**Suspension N°5**



**Suspension N°6**



**Suspension N°7**



**Suspension N°8**



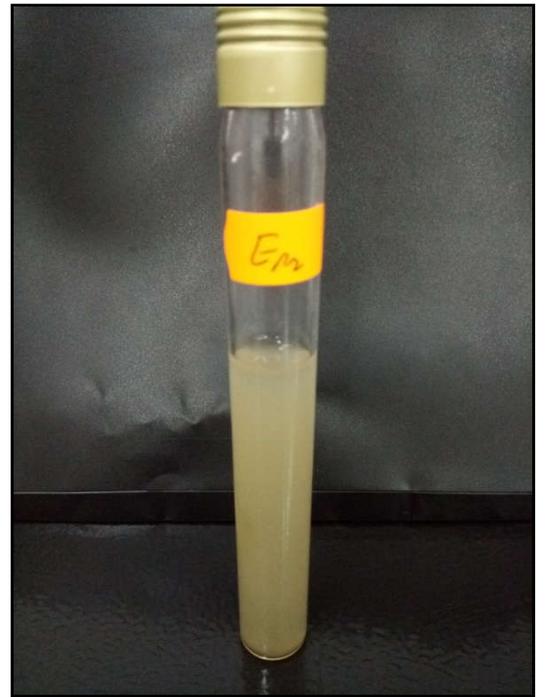
**Suspension N°9**



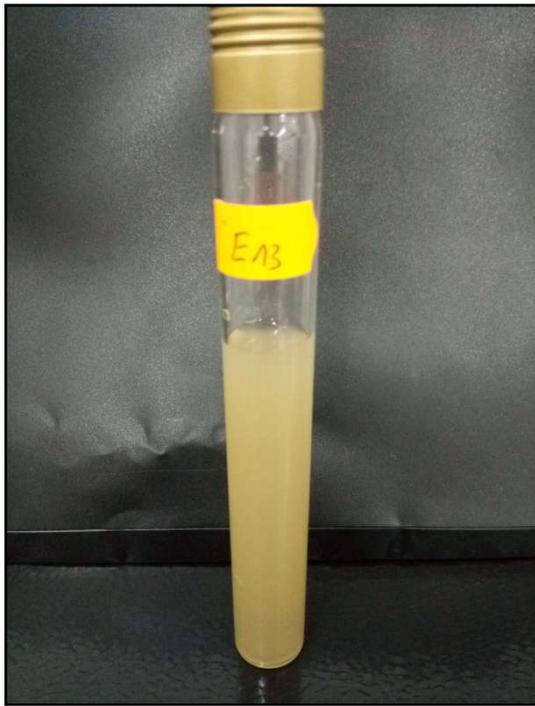
**Suspension N°10**



**Suspension N°11**



**Suspension N°12**



**Suspension N°13**



**Suspension N°14**



**Suspension N°15**

**APPENDICE B**



**Radeau gaviscon**



**Radeau 1**



**Radeau 2**



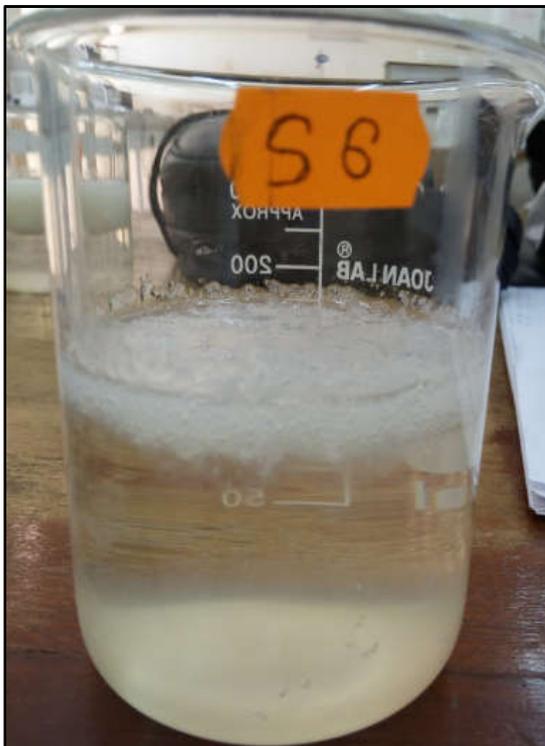
**Radeau 3**



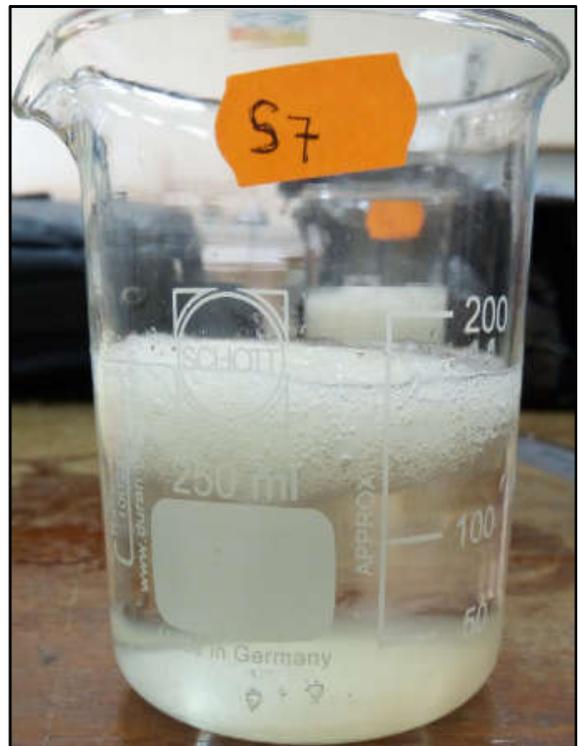
**Radeau 4**



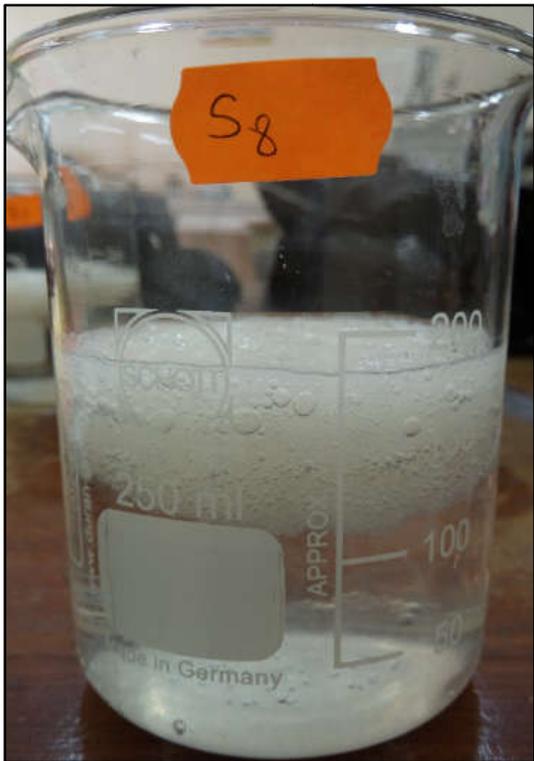
**Radeau 5**



**Radeau 6**



**Radeau 7**



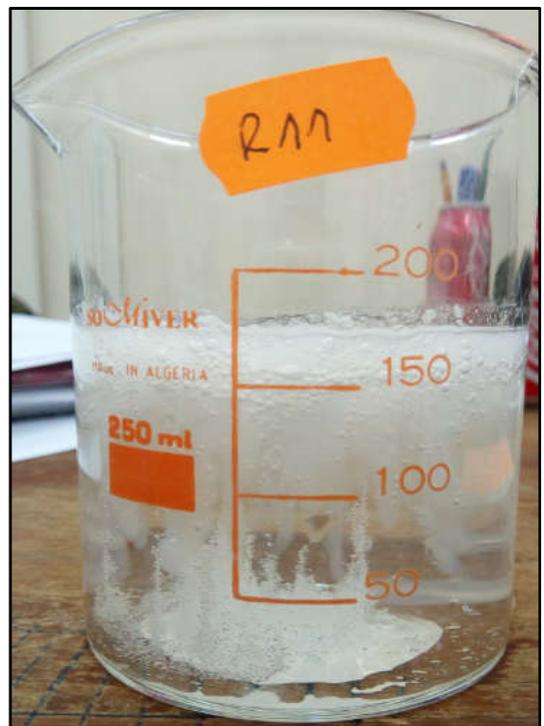
**Radeau 8**



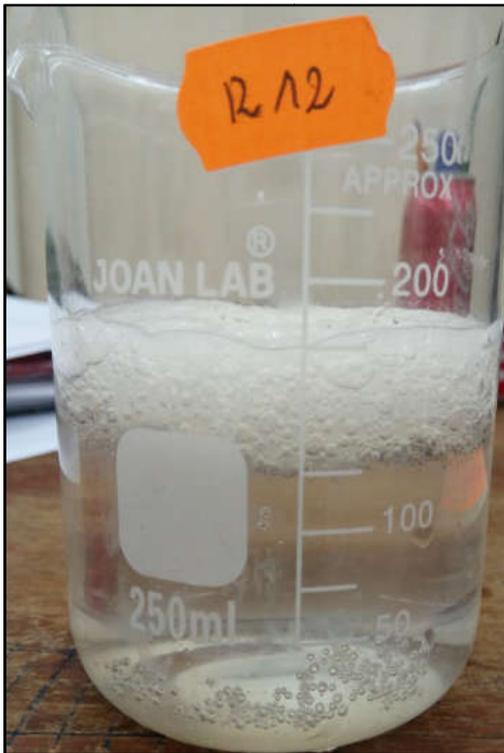
**Radeau 9**



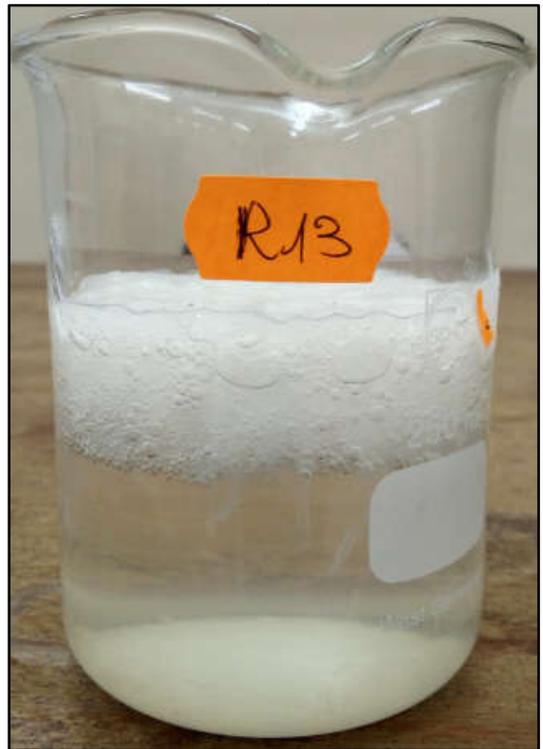
**Radeau 10**



**Radeau 11**



**Radeau 12**



**Radeau 13**

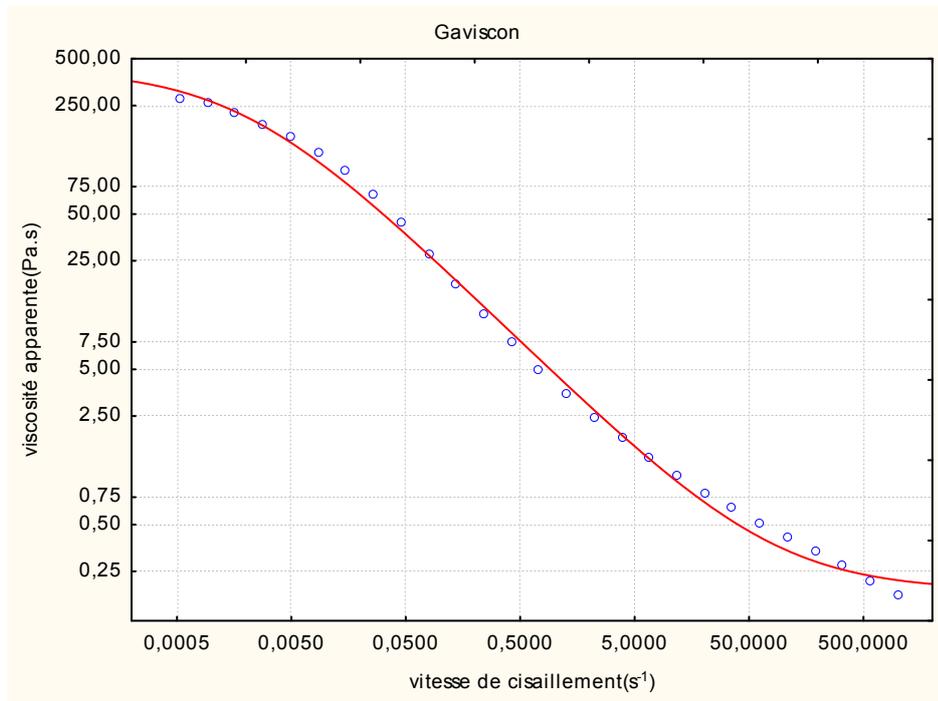


**Radeau 14**

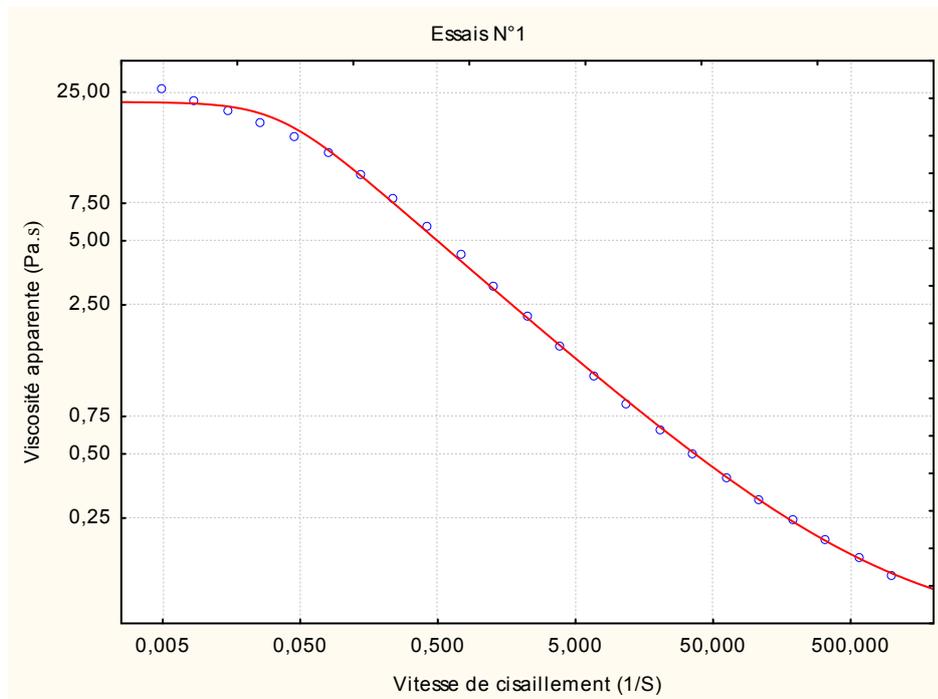


**Radeau 15**

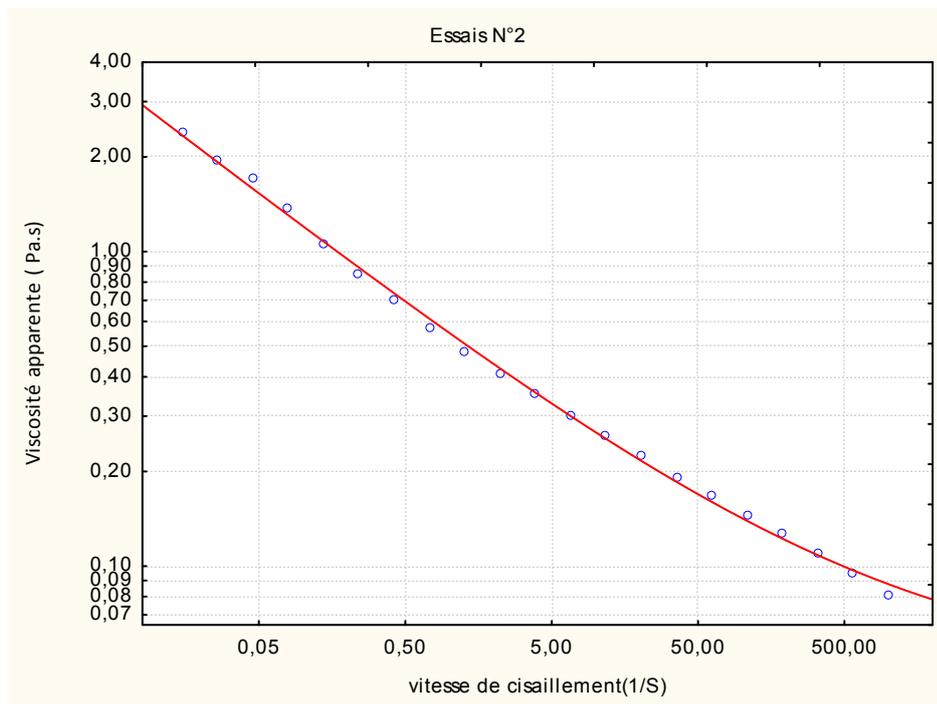
## APPENDICE C



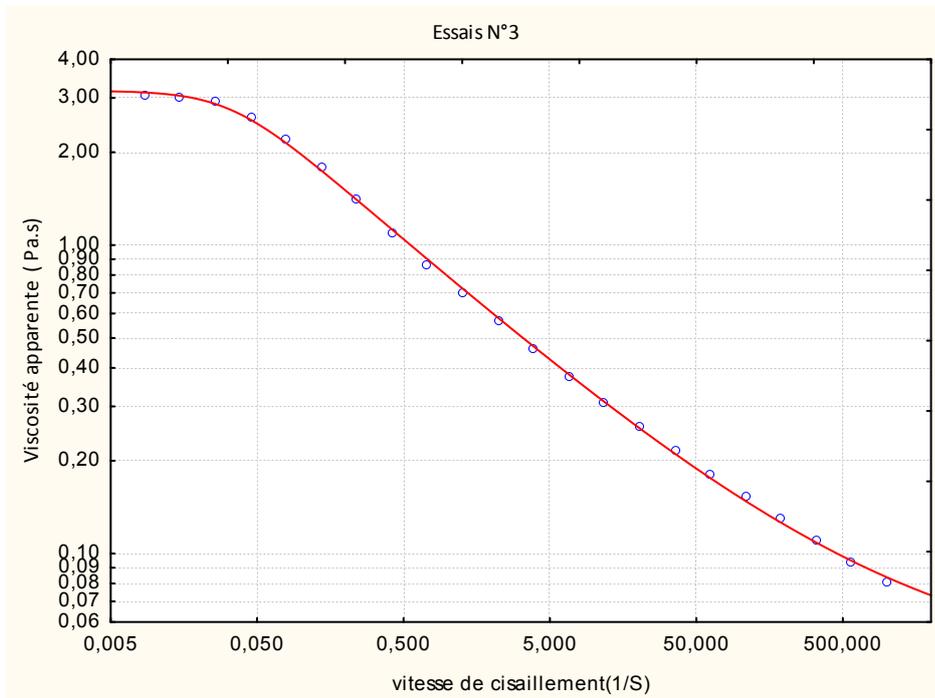
Courbe d'écoulement de Gaviscon



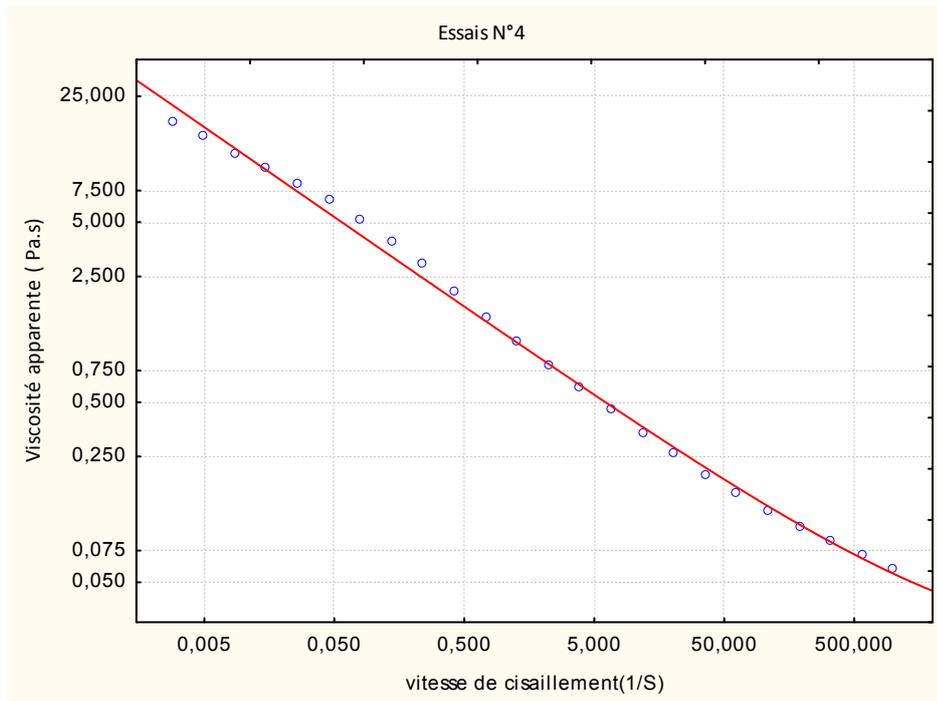
Courbe d'écoulement de l'essai N°1



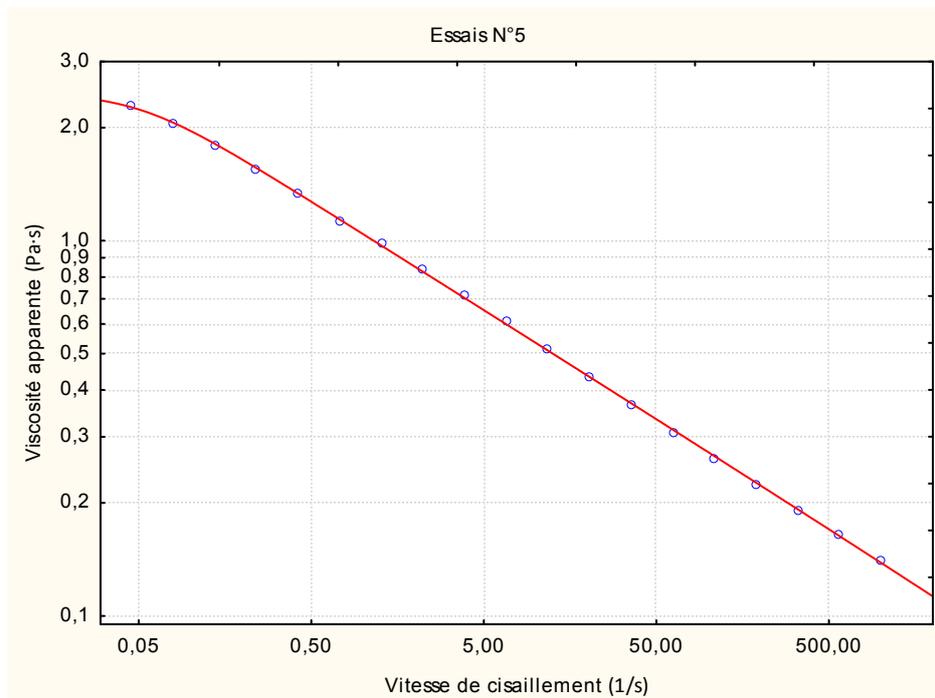
Courbe d'écoulement de l'essai N°2



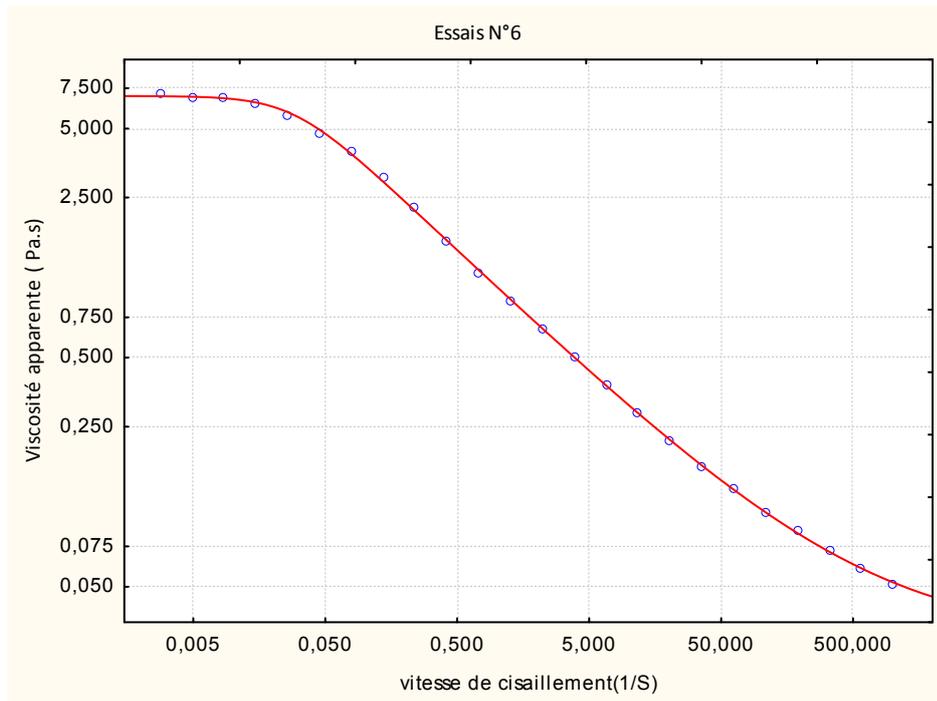
Courbe d'écoulement de l'essai N°3



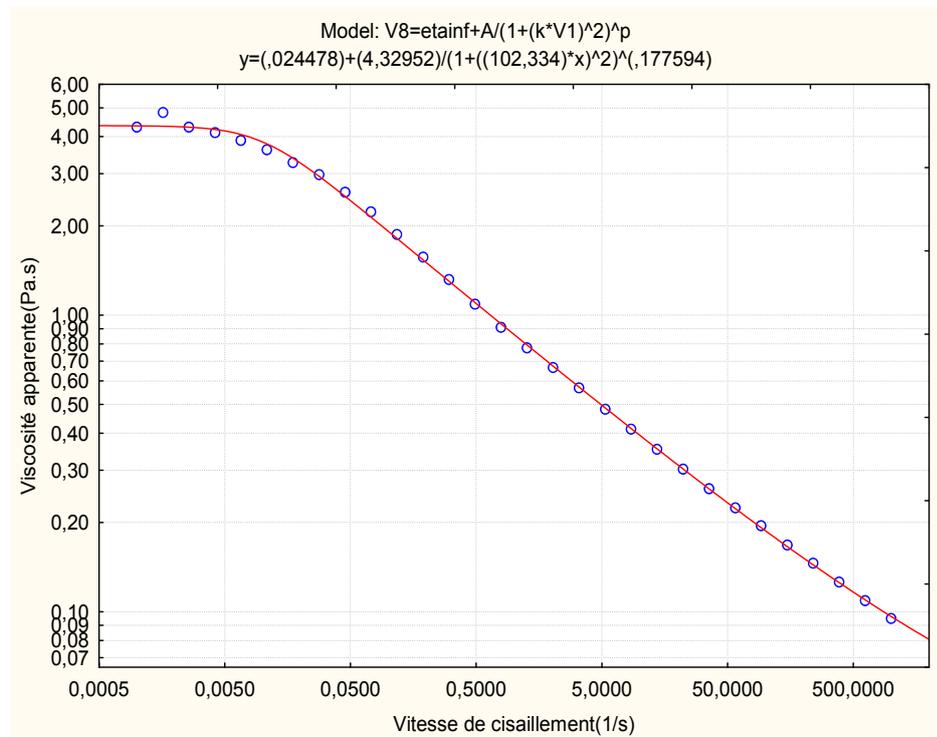
Courbe d'écoulement de l'essai N°4



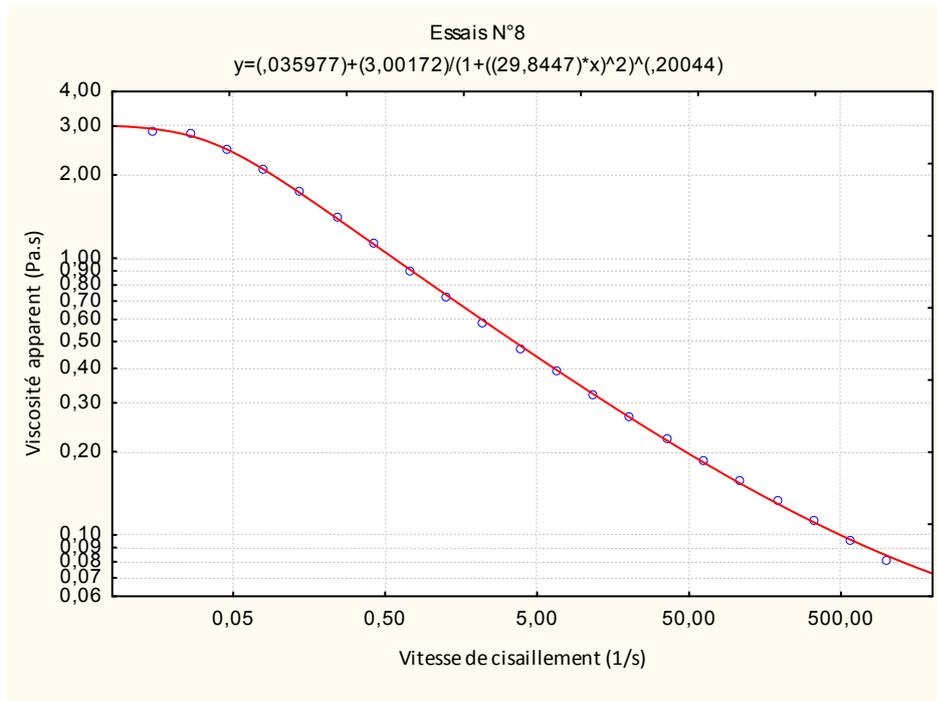
Courbe d'écoulement de l'essai N°5



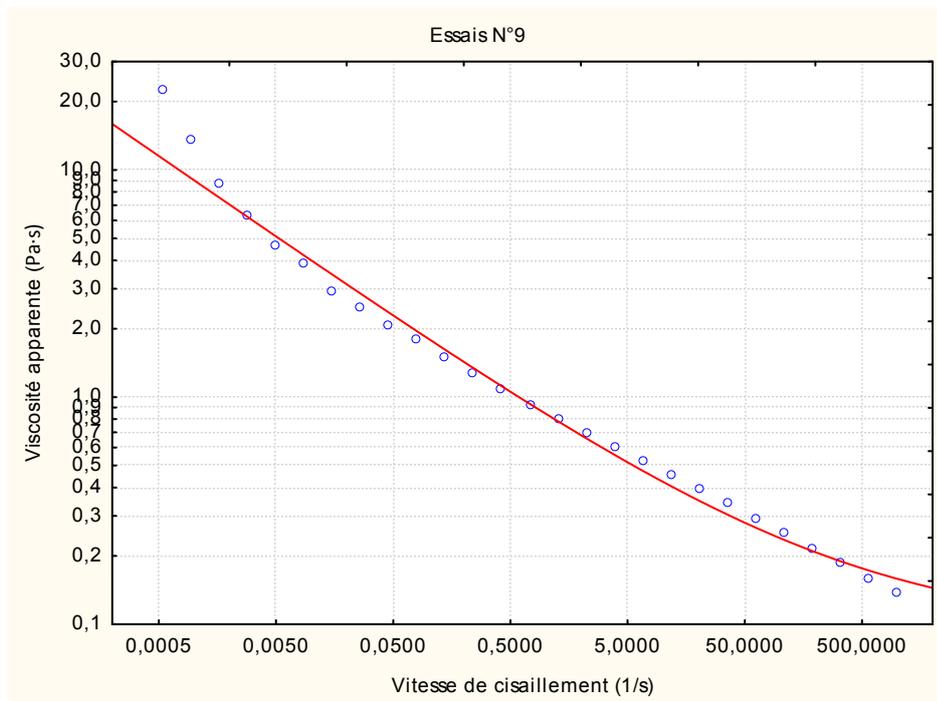
Courbe d'écoulement de l'essai N°6



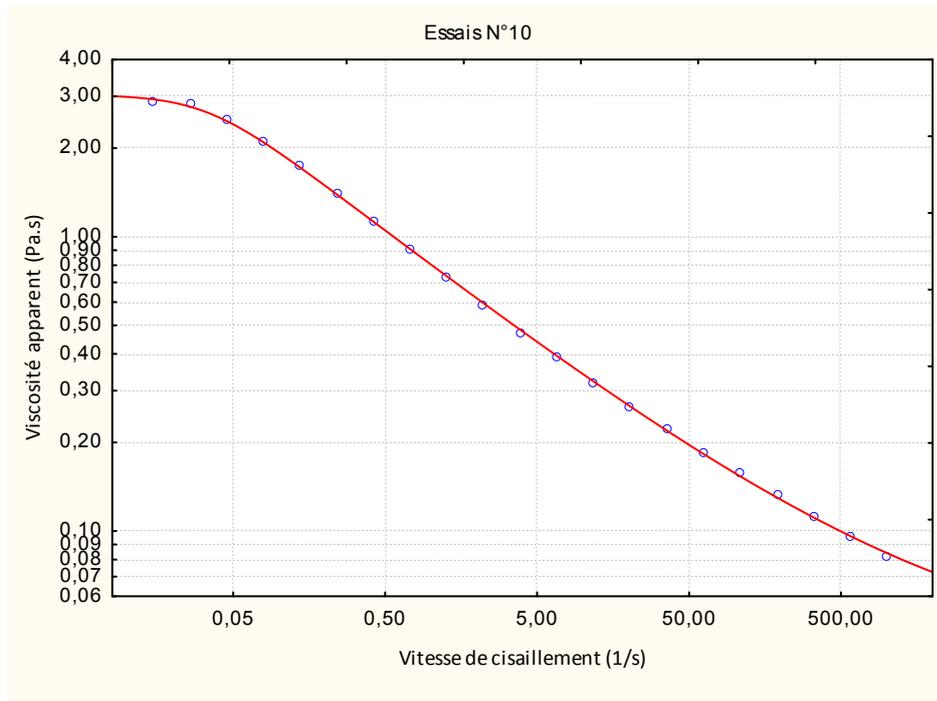
Courbe d'écoulement de l'essai N°7



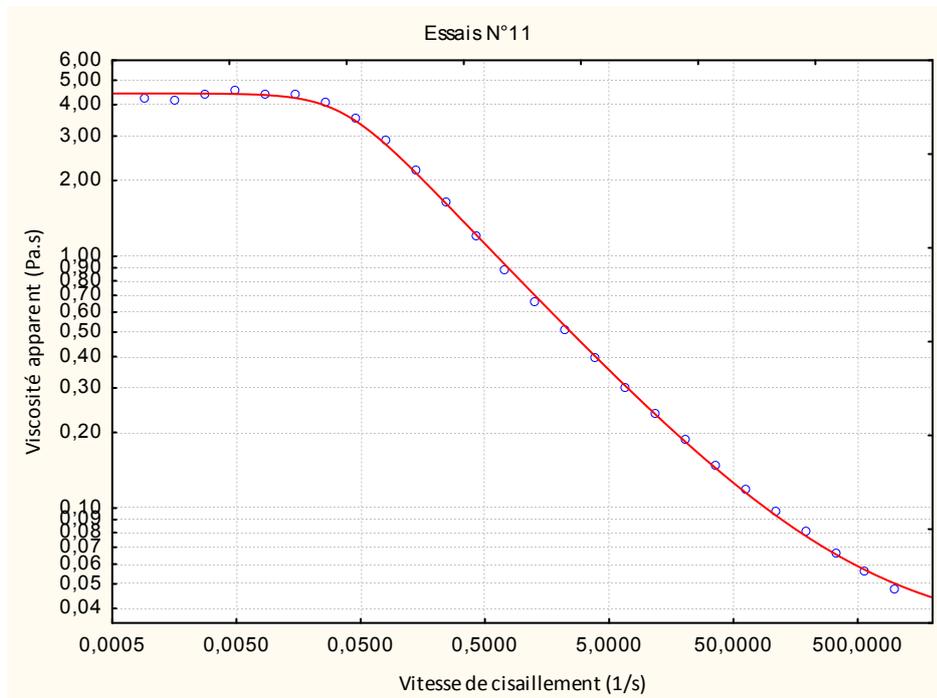
Courbe d'écoulement de l'essai N°8



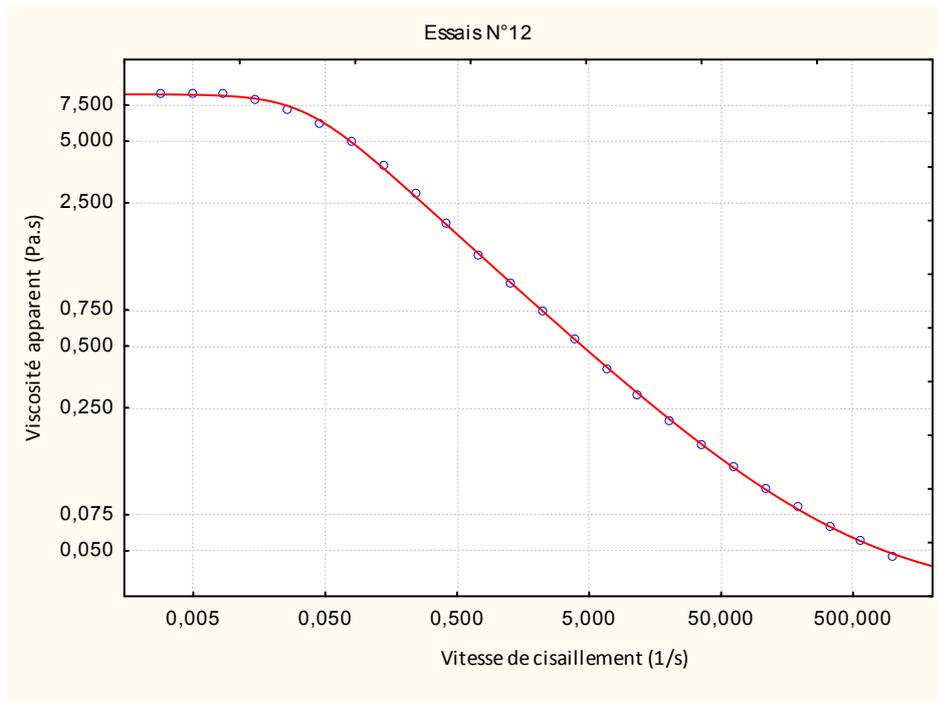
Courbe d'écoulement de l'essai N°9



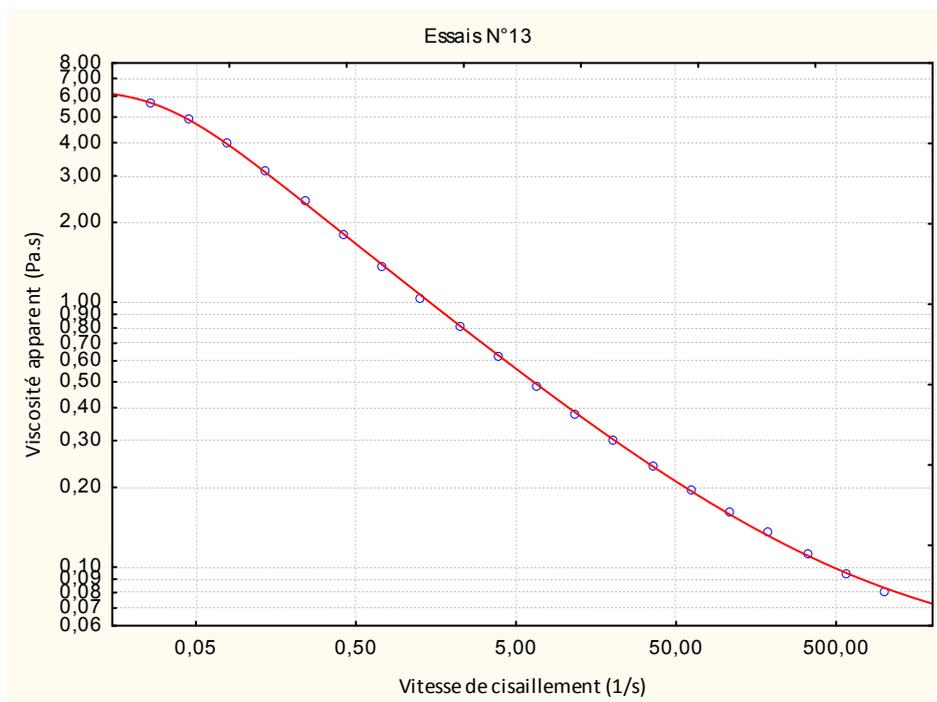
Courbe d'écoulement de l'essai N°10



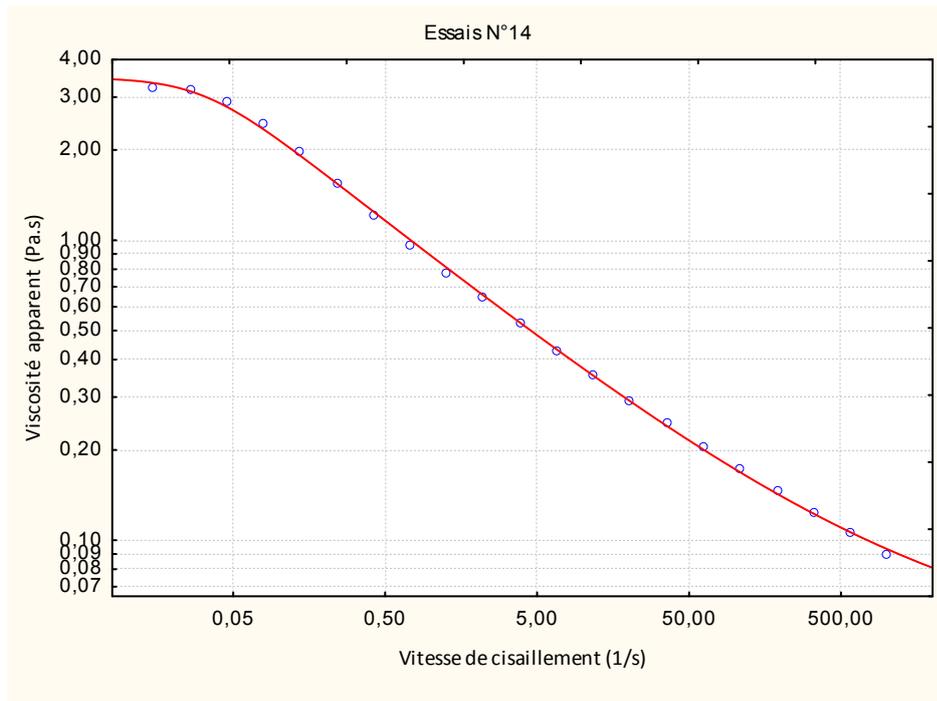
Courbe d'écoulement de l'essai N°11



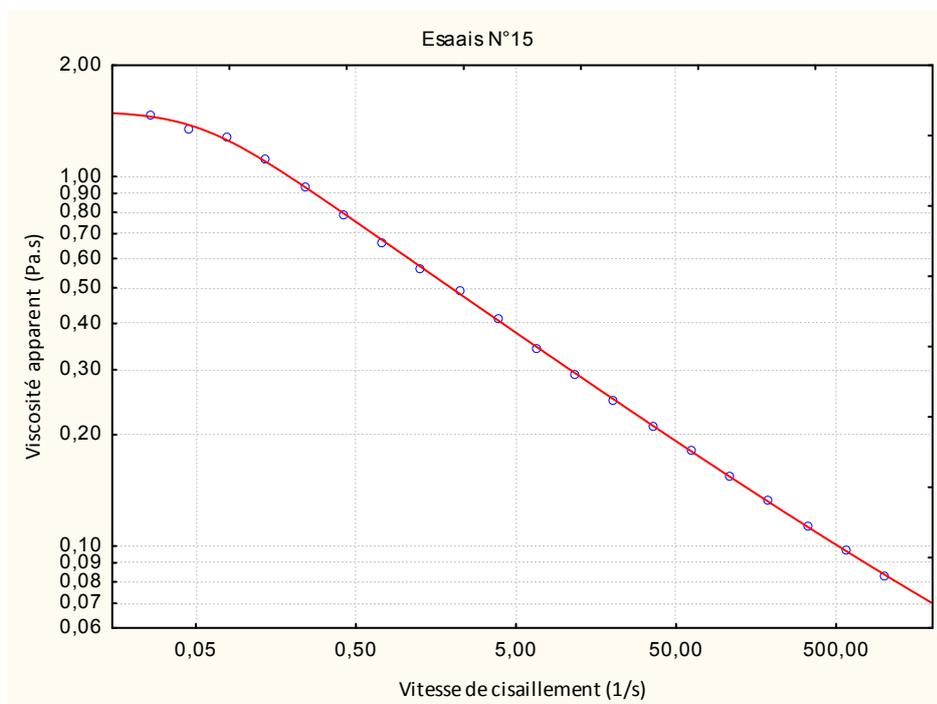
Courbe d'écoulement de l'essai N°12



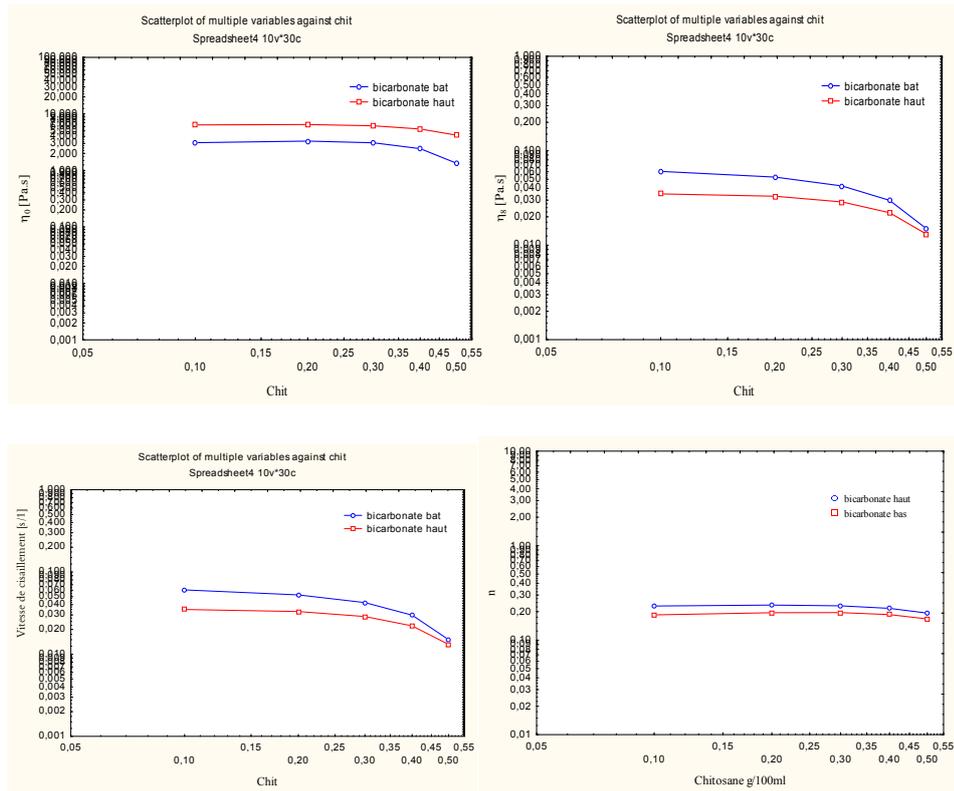
Courbe d'écoulement de l'essai N°13



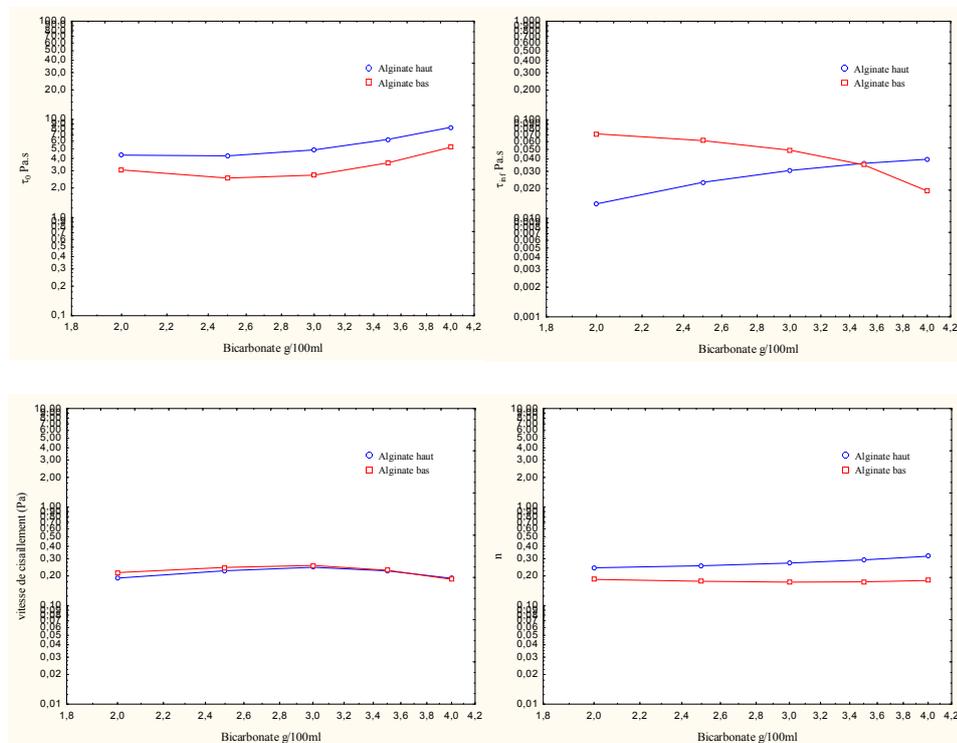
Courbe d'écoulement de l'essai N°14



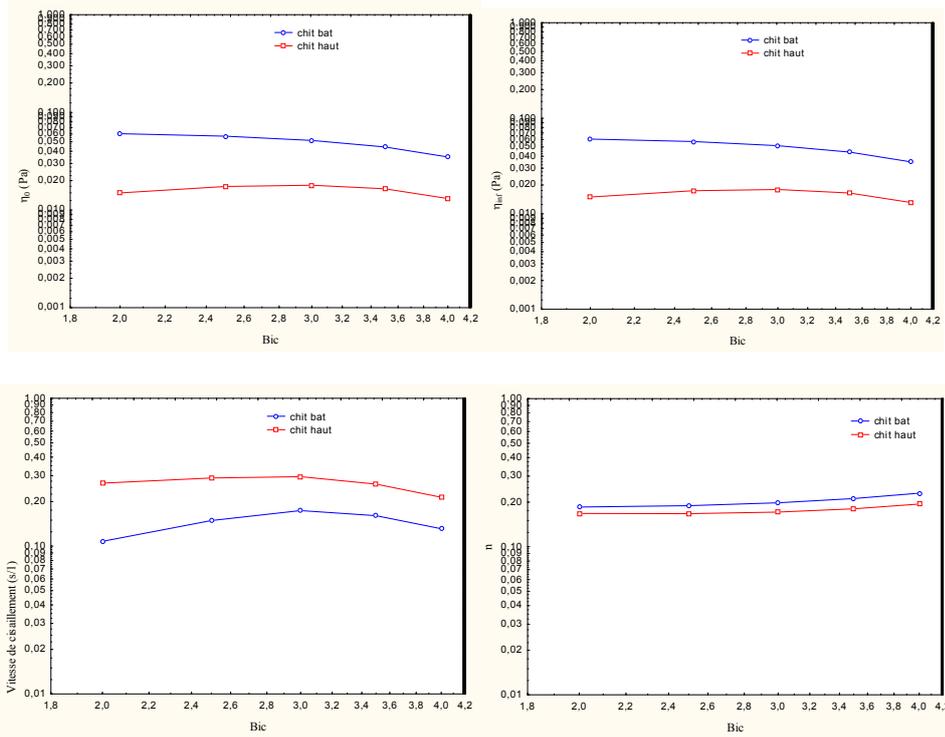
Courbe d'écoulement de l'essai N°15



Courbes d'effet du chitosane et de son interaction avec le bicarbonate de sodium, sur :  $\eta_0$ ,  $\eta_{inf}$ ,  $\dot{\gamma}_c$ , et  $n$ , La concentration de l'alginate de sodium est prise à sa valeur moyenne.

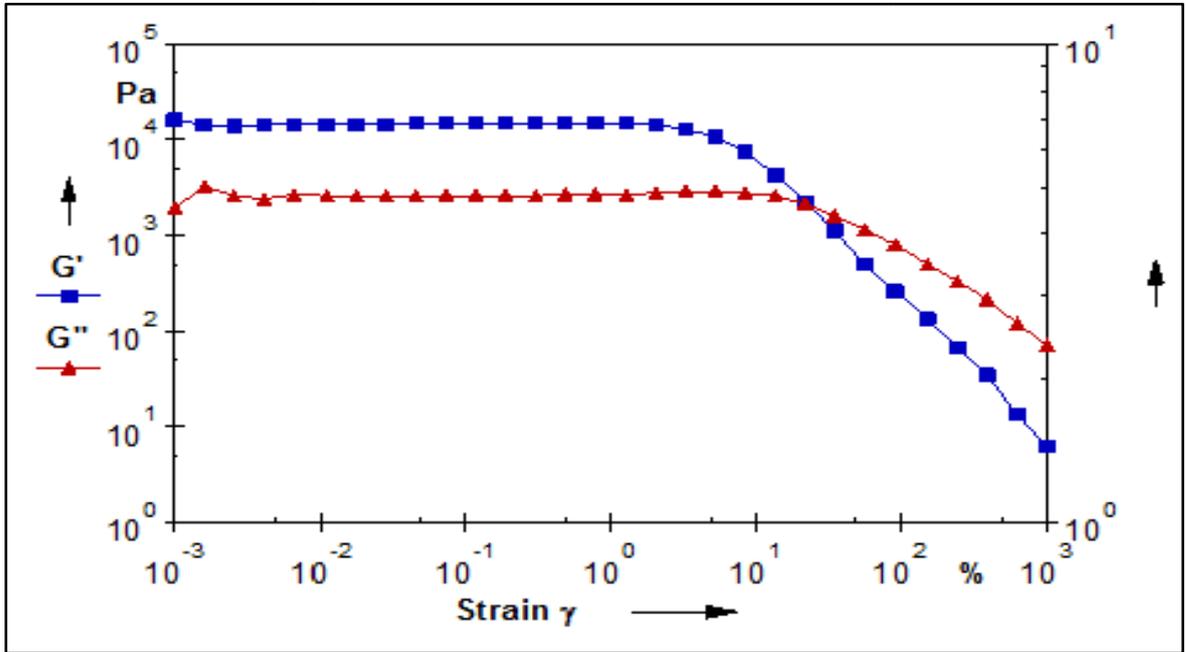


Courbes d'effet de bicarbonate de sodium et de son interaction avec l'alginate de sodium, sur :  $\eta_0$ ,  $\eta_{inf}$ ,  $\dot{\gamma}_c$  et  $n$ , La concentration de chitosane est prise à sa valeur moyenne.

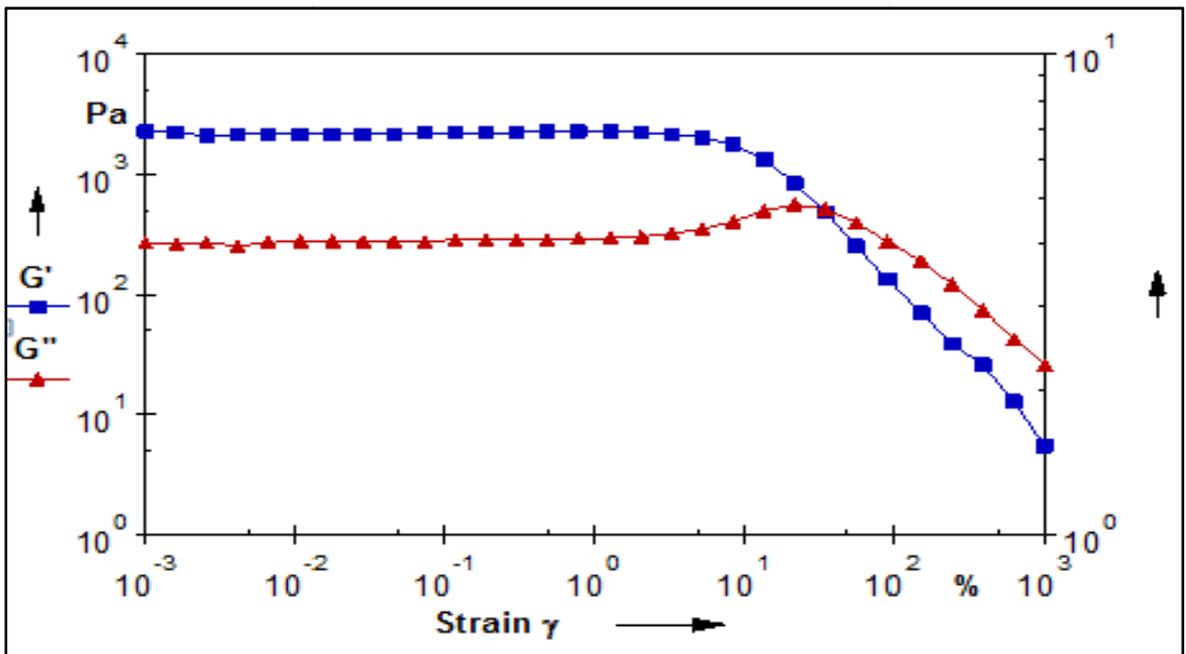


Courbes d'effet de bicarbonate de sodium et de son interaction avec le chitosane , sur :  $\eta_0$  ,  $\eta_{inf}$  ,  $\dot{\gamma}_c$  , et  $\eta$  ,. La concentration de l'alginate de sodium est prise à sa valeur moyenne.

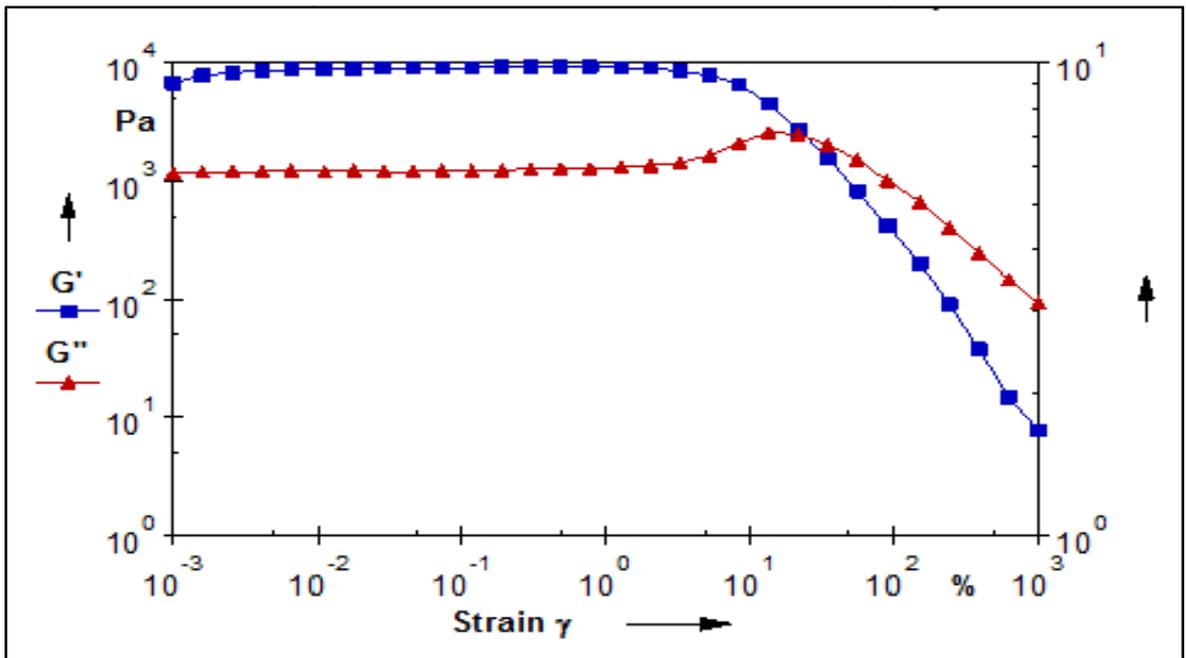
## APPENDICE D



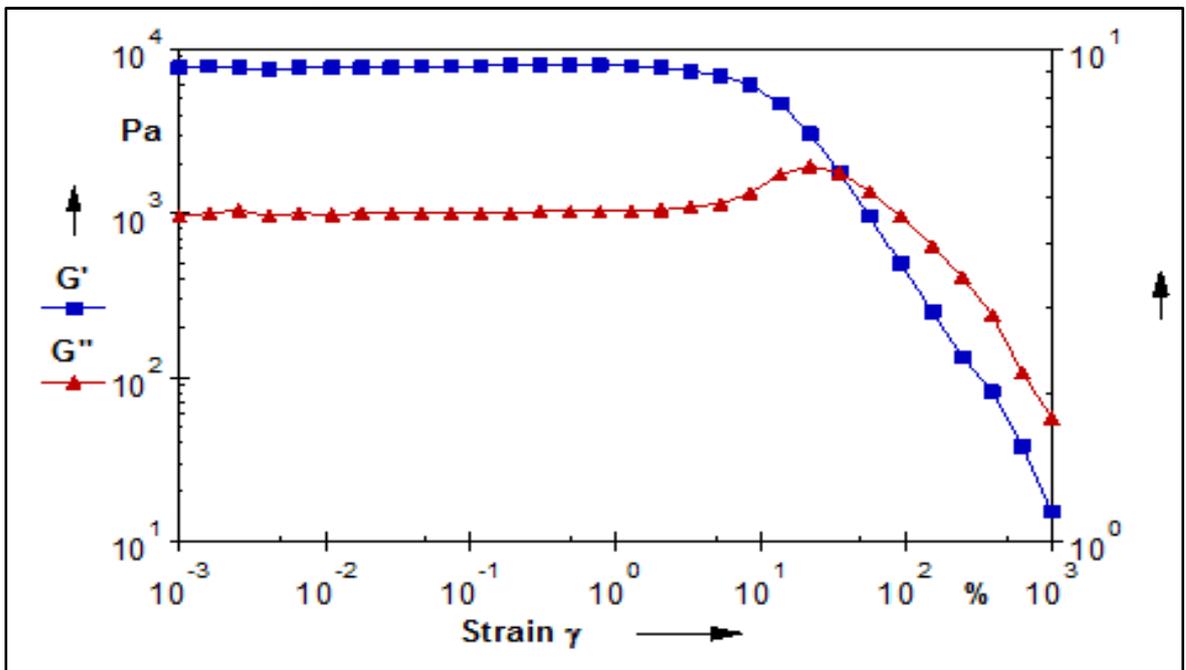
Comportement viscoélastique de Gaviscon



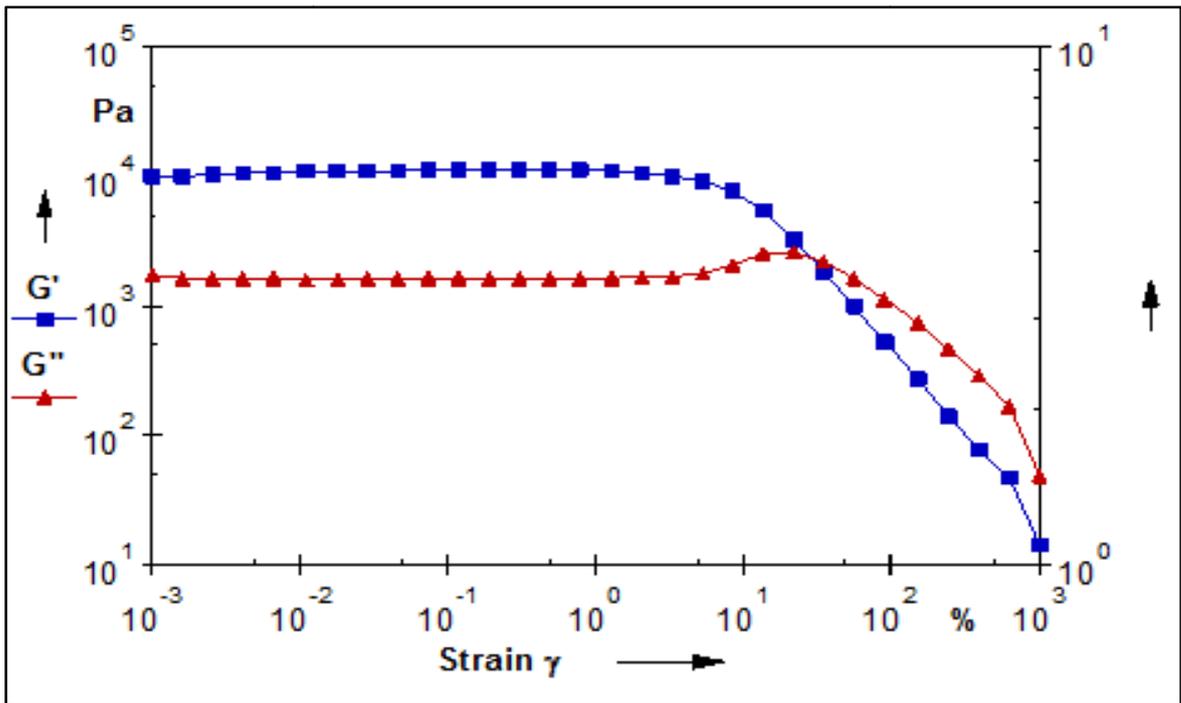
Comportement viscoélastique de l'essai N°1



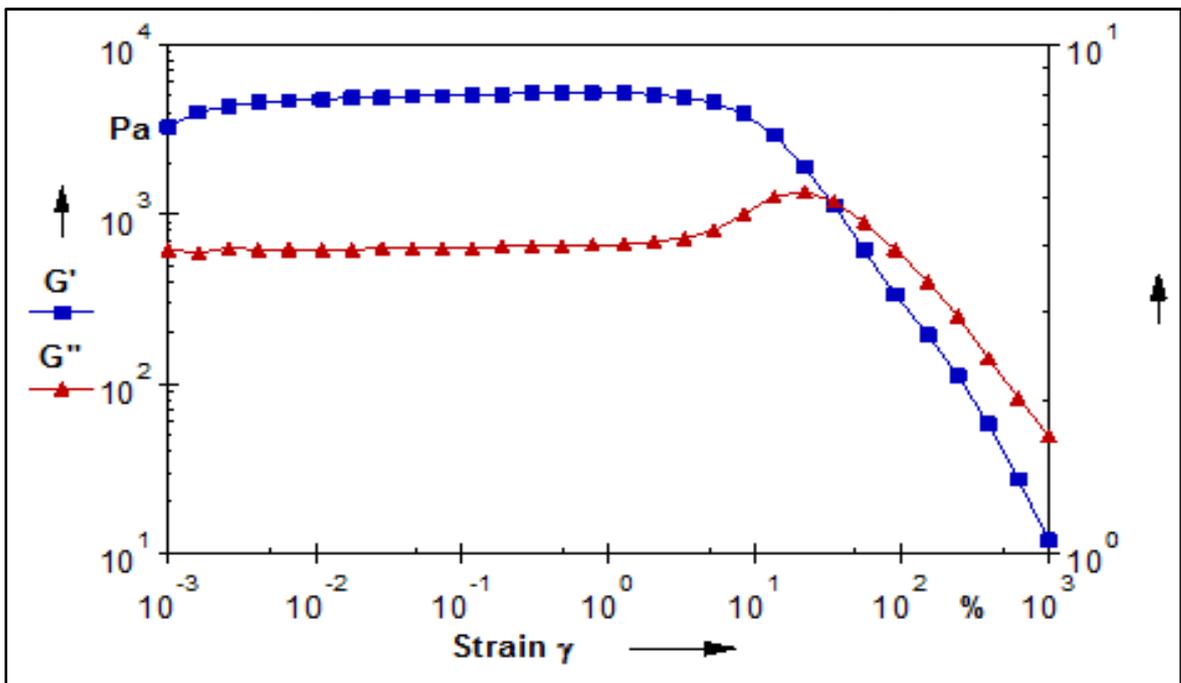
Comportement viscoélastique de l'essai N°2



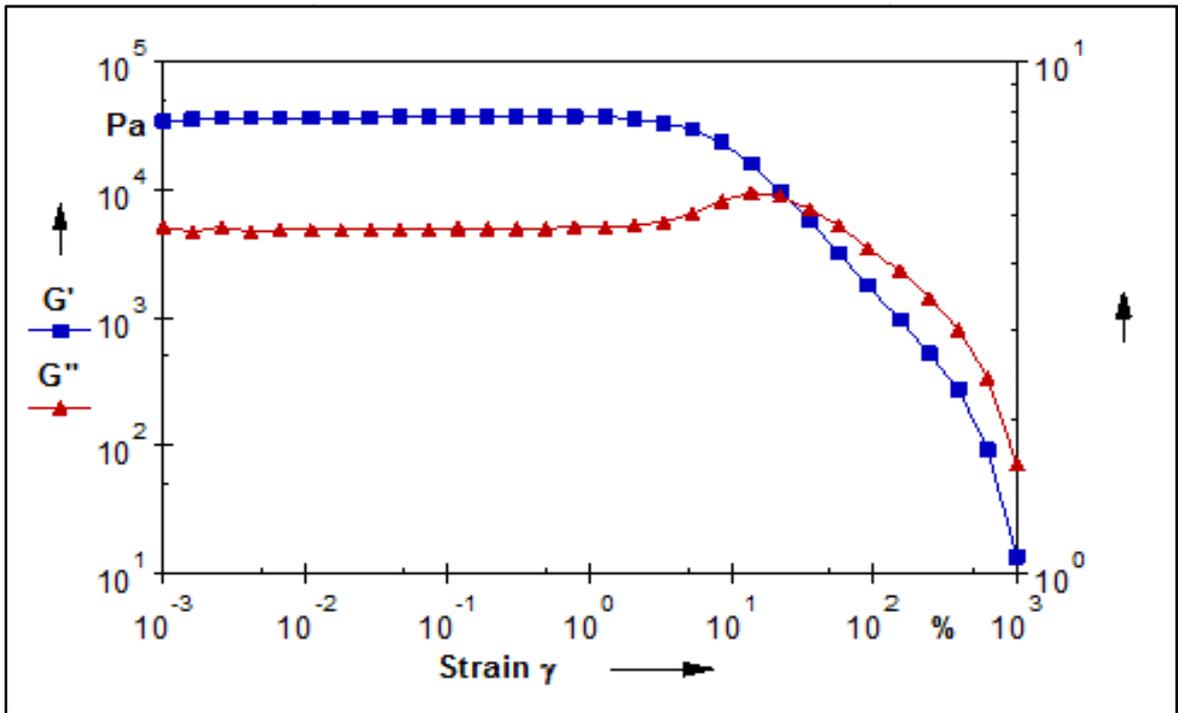
Comportement viscoélastique de l'essai N°3



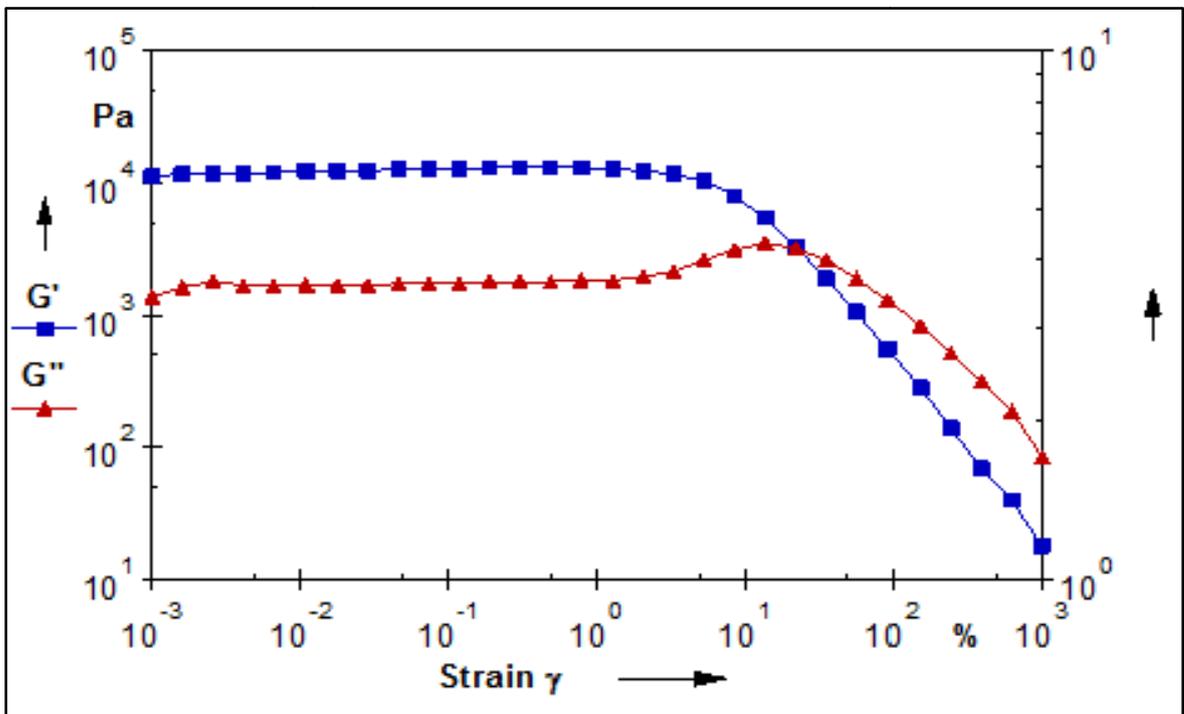
Comportement viscoélastique de l'essai N°4



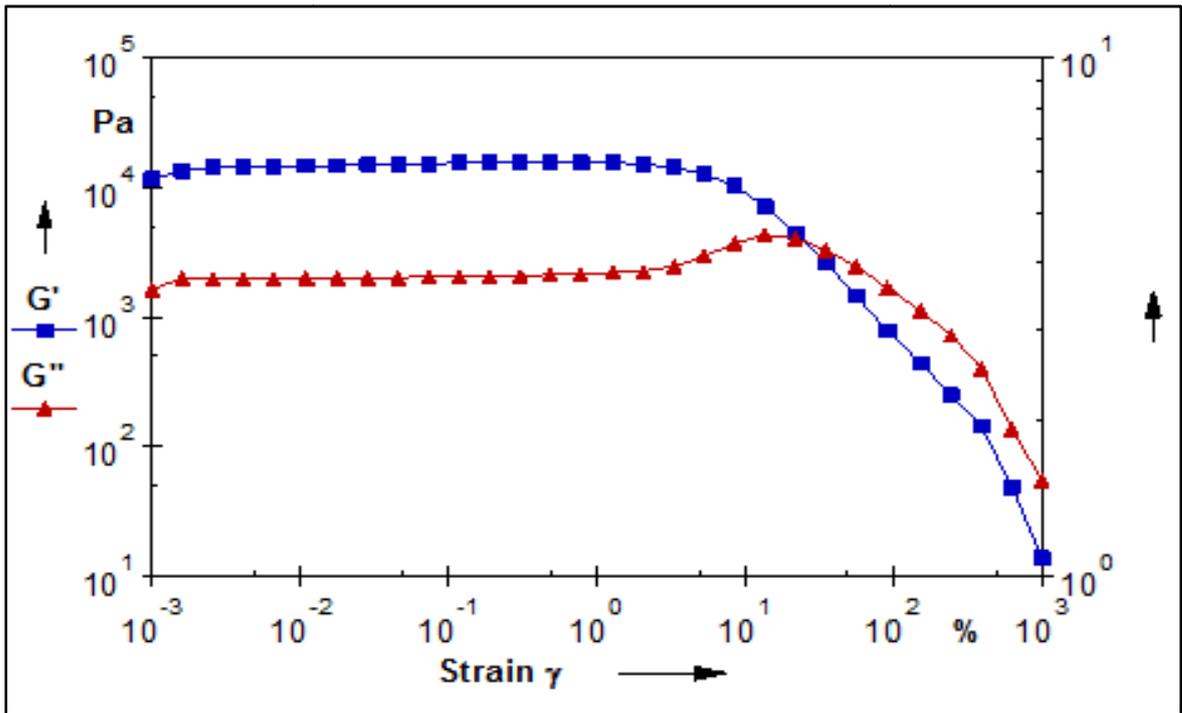
Comportement viscoélastique de l'essai N°5



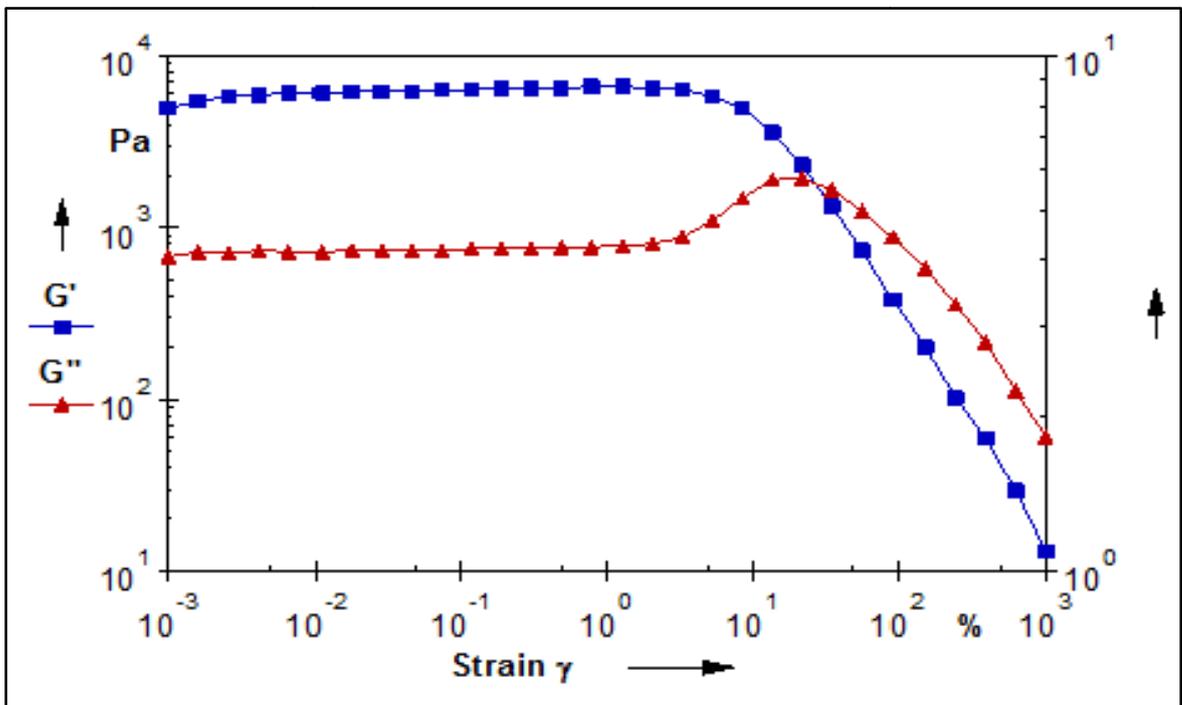
Comportement viscoélastique de l'essai N°6



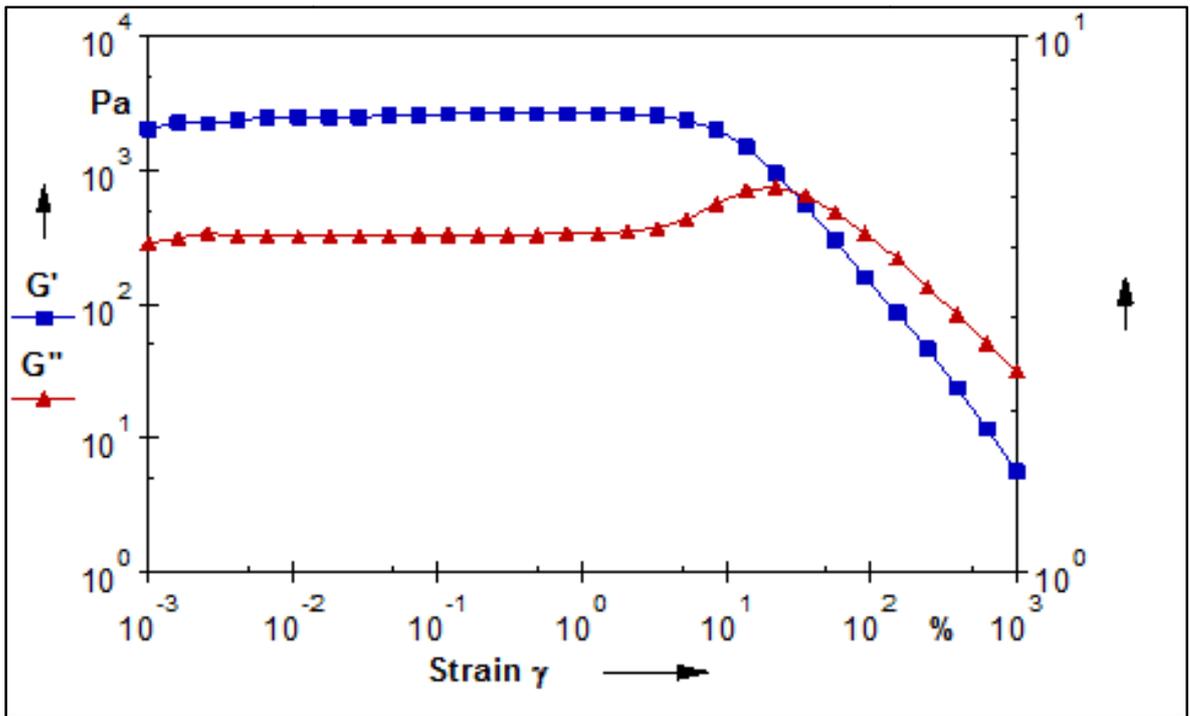
Comportement viscoélastique de l'essai N°7



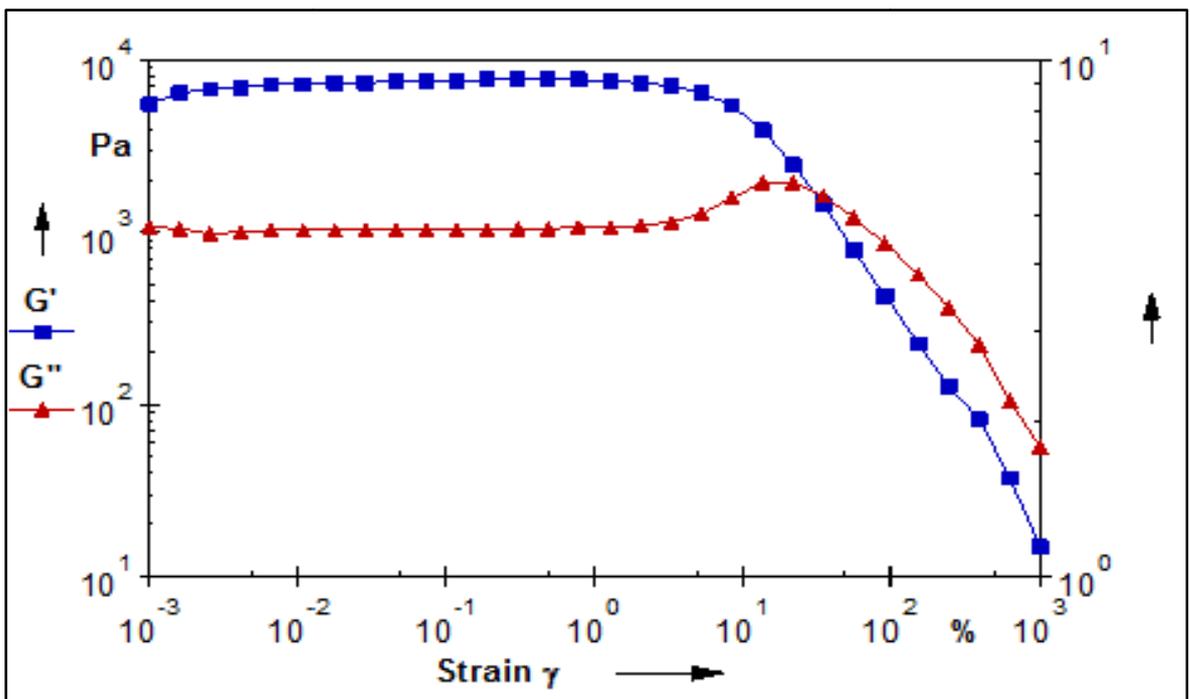
Comportement viscoélastique de l'essai N°8



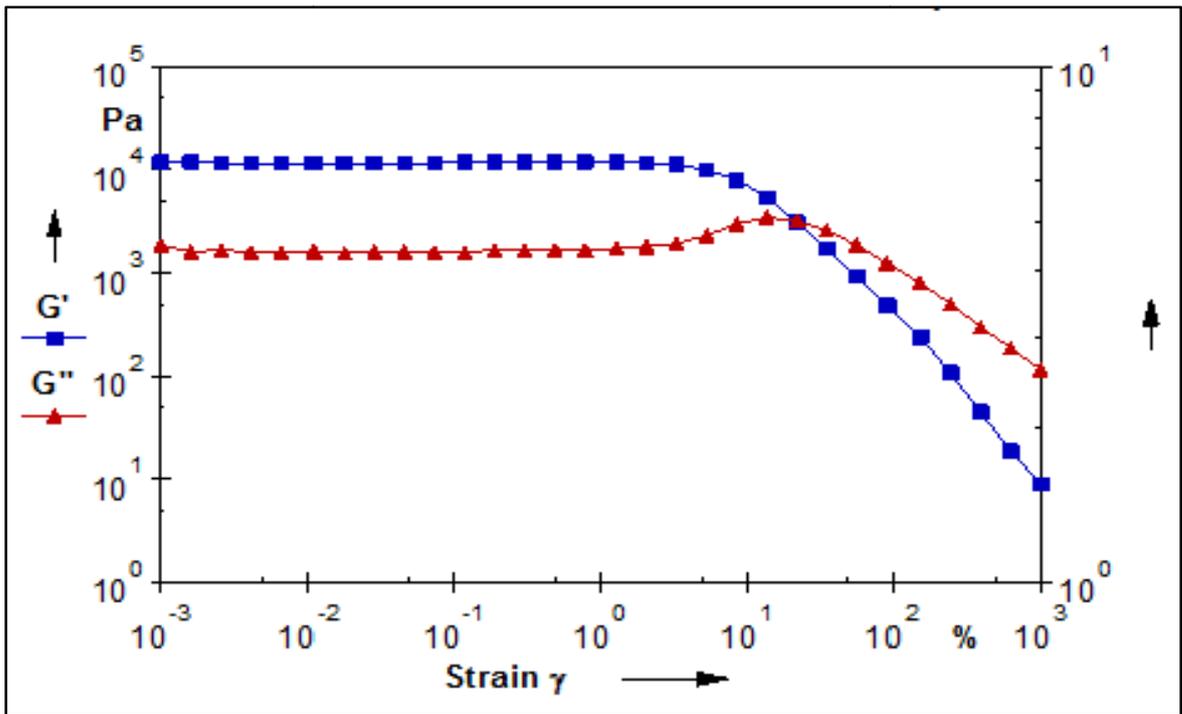
Comportement viscoélastique de l'essai N°9



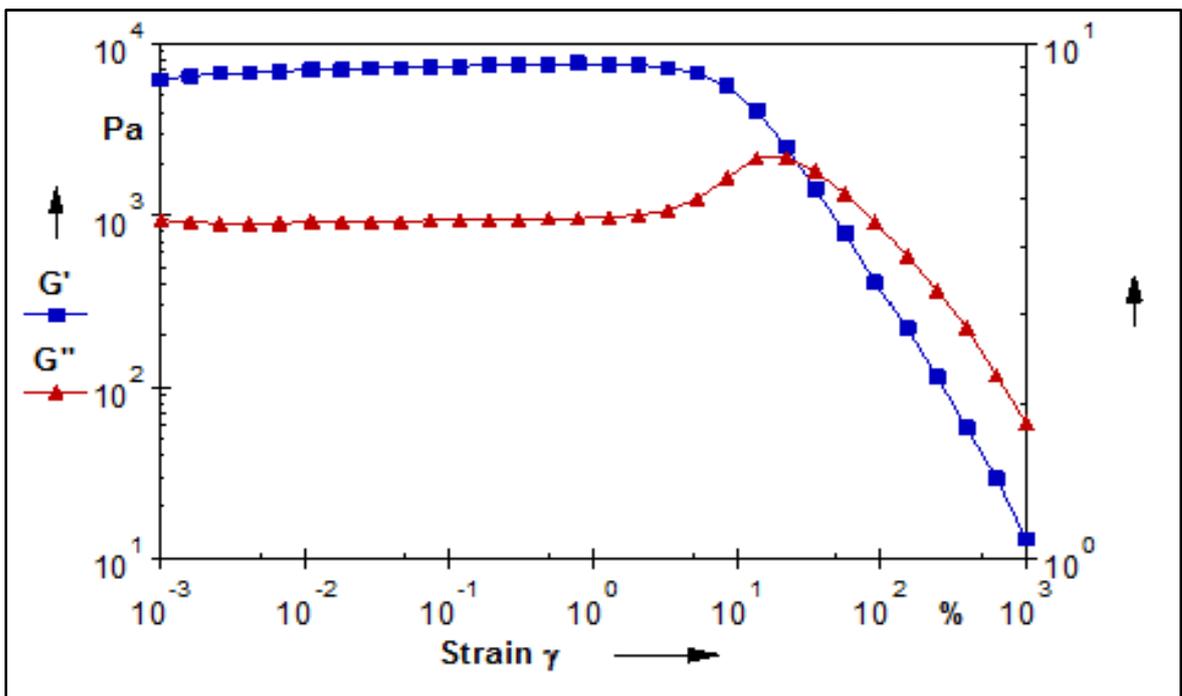
Comportement viscoélastique de l'essai N°10



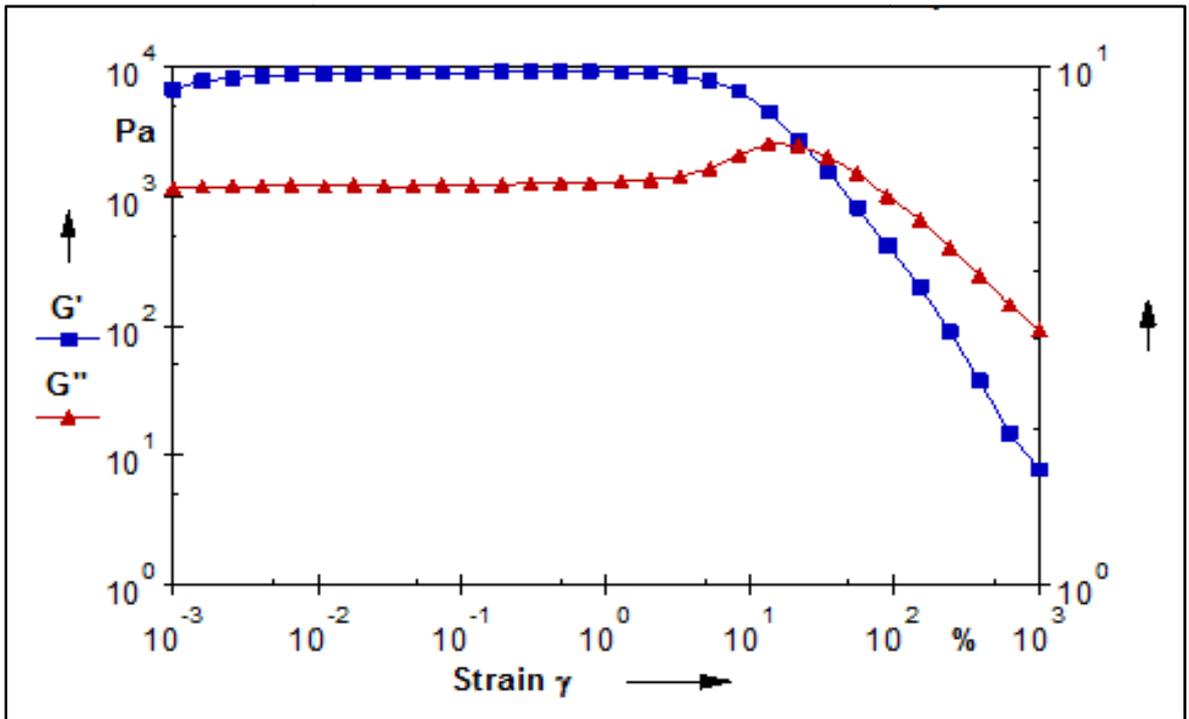
Comportement viscoélastique de l'essai N°11



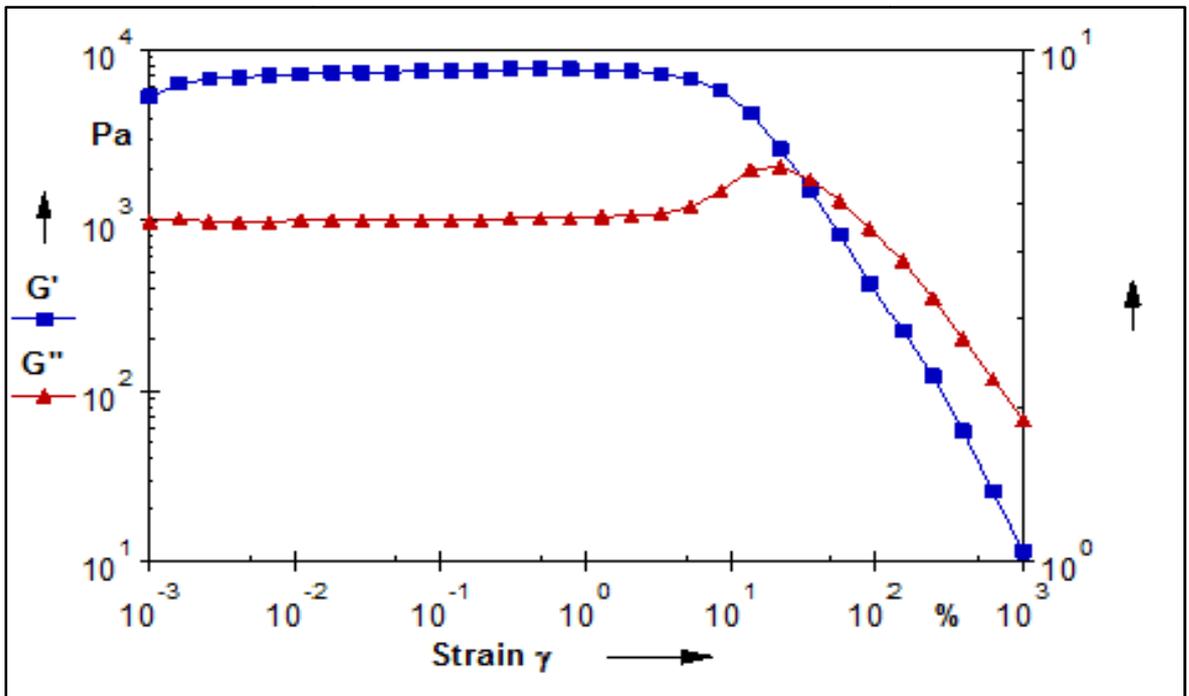
Comportement viscoélastique de l'essai N°12



Comportement viscoélastique de l'essai N°13



Comportement viscoélastique de l'essai N°14



Comportement viscoélastique de l'essai N°15

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] : Principes fondamentaux de la gastro-entérologie « Etats pathologiques et démarches thérapeutiques », Astra Zeneca Canada, (2000).

[2] :S.CHAUSSADE. « Reflux gastro-oesophagien chez l'adulte. Hernie hiatale ».

[3] : N.ANAGNOSTAKOS, et G J. TORTURA. « Principes d'anatomie et de physiologie, Anjou, CEC », (1988).

[4] : MAZOUZI FAHIMA. « Thème étude paramétrique et contribution à la formulation d'une suspension pharmaceutique anti-reflux & antiacide », Mémoire de magister. Option : Génie des procédés pharmaceutiques.18-34.

[5] : COLLEGIALE DES UNIVERSITAIRES EN HEPATO GASTRO ENTEROLOGIE « Reflux gastro-œsophagien chez le nourrisson, chez l'enfant et chez l'adulte », Université Médicale Virtuelle Francophone, (2009).

<http://umvf.univ-nantes.fr/hepato-gastro-enterologie/enseignement/item280/site/html/cours.pdf>

[6] : MARIE MESLIER « place du conseil officinal dans la prise en charge du reflux gastro-œsophagien », thèse de doctorat facultes des sciences pharmaceutiques – semiologietoulouse (Le 14 Novembre 2014), 11-72

[7] : GRERIFA SOUFYANE ET BOURKAIB CAMILA «Formulation d'une suspension médicamenteuse à libération prolongée »master en génie des procédés, Spécialité Génie Chimique, université de Blida 1, année (2015/2016)

[8] : K. WATARU, K. YASUHIRO, S. MIYAZAKI, D. ATTWOOD, «In situ gellingpectin formulationsfor oral sustaineddelivery of paracetamol, Drug Dev ». Ind. Pharm. 30 (2004)593–599.

[9] : S. MIYAZAKI, A. HIROTATSU, N. KAWASAKI, K. WATARU, D. ATTWOOD, « In situ gellingellanformulations as vehicles for oral drugdelivery », J. Control. Release 60 (1999)287-295.

[10] : R.C. NAGARWAL, A. SRINATHA, J.K. PANDIT, « In situ forming formulation: development,evaluation and optimizationusing 33factorial design », AAPS PharmSciTech 10 (3)(2007) 977-984

[11] : SWAPNALIR.SHINDE\* 1, PREETI SABLE 1, BABITA B. LODHI 1 , SARFRAZ KHAN 2 « A novelapproach of gastroretentivedrugdelivery : in situ gel ». SwapnaliShinde et al, JIPBS, Vol 1 (1), 39-59, (2014) <http://www.jipbs.com/>

- [12] : M. MADAN ,A. BAJAJ , S. LEWIS,N. UDUPA,AND J. A. BAIG « In Situ Forming Polymeric Drug Delivery Systems », Indian J Pharm Sci. (2009 May-Jun); 71(3): 242-251.
- [13] : NAGARWAL, R. C., PANDIT, J.K., « Phase transition systems: Novel oral in-situ gel », Current drug delivery 5. (2008). 282-289.
- [14] : MJAHED, H.« Caractérisation physico-chimique des films multicouches de polyélectrolytes à base de polysaccharides en vue d'applications dans le domaine des biomatériaux », thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg. (2009) pp. 22-29.
- [15] : JORGENSEN, T. E., M. SLETMOEN, K. I. DRAGET AND B. T. STOKKE. « Influence of oligogulonates on alginate gelation, kinetics, and polymer organization », Biomacromolecules 8(8): (2007). 2388-2397.
- [16] : SEELY, G. R. AND R. L. HART. « The binding of alkaline earth metal ions to alginate. Macromolecules », 7(5). (1974): 706-710.
- [17] : MR. MOKRANI NADIR. « preparation et etude du comportement de membranes biopolymères alginate de sodium/chitosane », magister en: Génie des Polymères, Chimie physique des polymères. (2012/2013).
- [18] : EMILIE VINCENT « les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie application à la construction d'un biomatériau », thèse de doctorat en pharmacie. le (02 juillet 2010) 15-46.
- [19] : ISABELLE GOUJON « Les Alginates : excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique Application à la synthèse d'un gel chimique », thèse de doctorat en pharmacie. (21 Juin 2004) 71-92.
- [20] : FERHAT MORAD « co-adsorption des métaux lourds sur la bentonite modifiée en présence de flocculants minéral et biologique », mémoire de magister, spécialité chimie, chimie de l'environnement. (17 Avril 2012).
- [21] : FARIDE ZEMOUL « Etudes des propriétés physico mécanique et thermiques d'un blend chitosane/PVA vieilli par rayon UV », Mémoire de magistère. Génie des polymères. boumerdes (2009).
- [22] : B. SMITHA, S. SRIDHAR, A.A. KHAN « Chitosan–sodium alginate polyion complexes as fuel cell membranes ».European Polymer Journal 41 (2005) 1859–1866.
- [23] : JL.SIMON, « gomme xanthane : agent viscosifiant et stabilisant », (2001).
- [24] : RAMDAS T. DOLAS, DR. AVINASH HOSMANI AND SACHIN B. SOMWANSHI« Raft Technology for Gastro Retentive Drug Delivery», Human Journals <http://www.ijpr.humanjournals.com>.(April 2015) Vol.:3, Issue: 1

- [25]: BARDONNET, P.L., FAIVRE, V., PUGH, W.J., PIFFARETTI, J.C., FALSON, F., Gastroretentive dosage forms «overview and special case of Helicobacter pylori», J. Control. Release 111, (2006). 1–18.
- [26]: CLARKE, G.M., NEWTON, J.M., SHORT, M.B. «Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density», Int. J. Pharm. (1995). 114, 1–11.
- [27]: GRÖNING, R., CLOER, C., GEORGARAKIS, M., MÜLLER, R.S., « Compressed collagensponges as gastroretentive dosage forms: in vitro and in vivo studies », Eur. J.Pharm. Sci. (2007). 30, 1–6.
- [28]: CARLAM.LOPESA, CATARINABETTENCOURTA, ALESSANDRAROSSIB, FRANCESCABUTTINIB,C,PEDROBARATAA,« Overviewongastroretentivedrugdeliver ysystems for improving drug bioavailability »,International Journal of Pharmaceutics 510 (2016) 144–158 ,(2016) Elsevier.
- [29]: RAYMOND C ROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIAN E QUINN.« Handbook of Pharmaceutical Excipients sixth edition », (2009).
- [30]: VIDAL « GAVISCON susp buv en sachet ». [www.vidal.fr/Medicament/gaviscon-7363.htm](http://www.vidal.fr/Medicament/gaviscon-7363.htm)
- [31]: NOTICE : INFORMATION DE L'UTILISATEUR GAVISCON SUSPENSION BUVABLE, GOUT MENTHE 500 mg alginate de sodium et 267 mg bicarbonate de sodium
- [32]: RENATA CZECHOWSKA-BISKUP, DIANA JAROSINSKA, BOZENA ROKITA, PIOTR ULANSKI1, JANUSZ M. ROSIAK « determination of degree of deacetylation of chitosan - comparison of methods », Institute of Applied Radiation Chemistry, Faculty of Chemistry, Lodz University of Technology, ul. Wróblewskiego 15, 93-590 Łódź, Poland, Vol XVII, (2012).
- [33]: LINDA PAYET « Visco'elasticité et structure de gels `a base de chitosane - Relations avec les proprietes diffusionnelles de macromolecules dans ces biogels », these de doctorat de l'universite paris 7, specialite : physique macroscopique. (17 juin 2005).
- [34]: F.C. HAMPSON, A. FARNDALE, V. STRUGALA,J. SYKES, I.G. JOLLIFFE, P.W. DETTMAR« Alginate rafts and their characterisation », International Journal of Pharmaceutics 294 Elsevier (2005) 137–147
- [35]: N. WASHINGTON C.G. WILSON 2 AND S.S. DAVIS « Evaluation of raft-forming antacid neutralizing capacity : in vitro and in vivo correlations », International Journal of Pharmaceutics, 27(1985) 279-286 Elsevier

**[36]** : JOLLES AND R.A.A. MUZZARELLI «Chitin and Chitinases», Deutsche Bibliothek Cataloging-in-Publication Data, Basel ; Boston; Berlin: Birkhäuser, (1999) (EXS; 87)

