

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCE

En Chimie industrielle

Spécialité : Chimie industrielle

Présenté par

LINDA BELHADJI

THEME

Etude et mise au point de suspensions buvables
médicamenteuses à libération prolongée

Par gélification in situ

Devant le jury composé de:

A.Hadj Ziane	Prof.,	USDB	Présidente
M. Krea	Prof.,	Université de Médéa	Examineur
K.Daoud	Prof.,	USTHB	Examineur
H.Laribi	M. C.A	USDB	Examinatrice
N.Moulai Mostefa	Prof.	Université de Médéa	Directeur de thèse
Mr A.Hadj Sadok	M.C.A	USDB	Co-directeur De thèse

Soutenu le 24 Juin 2018,Blida

REMERCIEMENTS

Au cours de la réalisation de ma thèse de doctorat, j'ai eu l'occasion de rencontrer des personnes qui, d'une façon ou d'une autre, ont contribué à mon apprentissage et ont rendu cette expérience plus fructueuse, à qui je tiens à rendre hommage.

Tout d'abord, Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon profond respect à mon Directeur de Thèse, Monsieur N. MOULAI-MOSTEFA, Professeur à l'Université de Médéa. Je le remercie infiniment de m'avoir encadré et guidé tout au long de ce travail ainsi que pour ses précieux conseils et encouragements qui m'ont été d'une grande utilité.

J'adresse mes vifs remerciements à mon Co-directeur de Thèse Monsieur A. HADJ SADOK, Maître de Conférences à l'université de Blida 1, qui m'a aidé tout le long de cette thèse et m'a fourni de précieux conseils dans les interprétations de mes résultats et la rédaction de cette thèse, malgré ses nombreuses occupations.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait Madame A. HADJ ZIANE, Professeur à l'Université de Blida 1, en acceptant de présider le jury.

Je remercie respectueusement Messieurs M. KREA (Professeur à l'Université de Médéa), Monsieur K. DAOUD (Professeur à l'USTHB) et Madame H. LARIBI (Maître de Conférences à l'Université de Blida1), d'avoir accepté de faire partie du jury.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur le Directeur du Laboratoire d'Analyses Fonctionnelles des Procédés Chimiques ainsi que tous les membres du laboratoire.

Je tiens à remercier tous mes Collègues Enseignants, Ingénieurs et Techniciens pour leur aide.

A la mémoire de mon père, un spécial remerciement à tous ceux qui me sont chers, pour leur soutien inestimable et leurs encouragements interminables!

RESUME

Le but de ce travail est de rechercher une alternative aux systèmes conventionnels classiques qui utilisent le calcium comme source de gélification in-situ, nonobstant ses effets indésirables et sa libération excessive dans l'intestin. Trois suspensions basées sur ce mécanisme de gélification in-situ ont fait l'objet de ce travail. Deux d'entre elles ont été dédiées pour une libération prolongée d'une substance active qui est de la Ranitidine (drug model) et la troisième a été développée pour former un système flottant, à l'image du médicament Gaviscon®. Nous avons sélectionné trois biopolymères, à savoir l'alginate de sodium, la gomme xanthane et le chitosane, pour répondre à ces objectifs. Ainsi, nous avons formulé deux suspensions orales à base des couples alginate de sodium-xanthane et alginate de sodium-chitosane en présence de la ranitidine. Les résultats ont montré que les profils pharmacocinétiques obtenus sont de type prolongé pour les deux suspensions. L'étude du comportement viscoélastique, en régime oscillatoire, a révélé que la gélification in-situ a eu lieu, mesurant des valeurs du module de rigidité de l'ordre de 200 kPa pour le système alginate-xanthane et de 50 kPa pour la suspension à base du couple alginate-chitosane. L'évaluation de la cinétique de libération de la ranitidine a été caractérisée et évaluée par le modèle de weibull à partir duquel nous avons pu quantifier ses caractéristiques. Les résultats obtenus de la caractérisation du système gastro-intestinal flottant anti-reflux à base d'alginate de sodium-chitosane, ne contenant ni parabènes et ni carbonate de calcium ont été très encourageants. Le radeau flottant avait une épaisseur de 3.5 cm et une rhéologie d'un gel qui prédit sa persistance dans le milieu gastrique.

Mots clés : Polysaccharides, Libération prolongée, Gélification in-situ, Rhéologie, Dissolution, Plans d'expériences.

ABSTRACT

The purpose of this work was to find an alternative to the classic conventional systems which use the calcium as source of gelification in-situ, in spite of their unwanted effects and excessive liberation in the bowel. Three suspensions based on this mechanism of gelification were retained for this investigation. Two of them were dedicated for a prolonged liberation of an active substance which is the Ranitidine (drug model) and the third was developed to train a floating system, like a commercial drug called Gaviscon ®. Three biopolymers were selected, alginate of sodium, xanthan gum and chitosan, to satisfy these objectives. Thus, we formulated two oral suspensions with the couples alginate-xanthan and alginate-chitosan in the presence of Ranitidine. The obtained results showed that the pharmacokinetic profiles are of extended type for both suspensions. The evaluation of the viscoelastic behavior, in oscillatory regime, revealed that the gelification in-situ took place, measuring stiffness modulus values of the order of 200 kPa for alginate-xanthan system and of 50 kPa for the suspension based on alginate-chitosan. The kinetics of release of Ranitidine was determined and evaluated by the Weibull model. The results obtained from the characterization of the floating anti-reflux gastrointestinal system based on alginate-chitosan, without parabens or carbonate of calcium were very encouraging. The floating raft had a thickness of 3.5 cm and a rheology of a gel which predicts its persistence in the gastric media.

Keywords: Polysaccharides, Sustained release, in-situ gelling, Rheology, Dissolution, Experimental design.

ملخص

الهدف هو البحث عن بديل لهذه الانظمة التقليدية التي تستخدم الكالسيوم كمصدر للتبلور بغض النظر عن اثاره السلبية او غير المرغوب فيها و الافراج المفرط على مستوى الامعاء.

المطول , اثنان منهم كانا مكر للافراج ثلاثة تعاليق على اساس الة التبلور التي كانت محور هذا العمل . عن المادة النشطة المتمثلة في الرانيتدين و الثالثة تم تطويرها لتشكيل نظام عائم مثل فافسكون لذلك قمنا . الكزنتان و الكيتوزان لتلبية هذه الاهداف , اخترنا بوليمرات حيوية هي الجينات الصوديوم الجينات الصوديوم و الكيتوزان في , بصياغة اثنين من التعاليق عن طريق الفم على اساس الكزنتان حضور الرانيتدين.

اظهرت النتائج ان البيانات الدوائية التي تم الحصول عليها هي من النوع طويلة المدة بالنسبة للتعليقين كشفت دراسة السلوك اللزج في نظام التذبذب ان التبلور الموضوعي قد حدث مع قياس قيم معامل -كليسكال بالنسبة للنظام الجينات 50 الكزنتان و -كليسكال بالنسبة للنظام الجينات 200 بالصلابة الكيتوزان.

تم تقييم حركية الافراج عن الرانيتدين من قبل نموذج ويبول الذي من خلاله تمكنا من تحديد و بذلك فان النتائج التي تم الحصول عليها من توصيف المضاد للارجاع العائم في الجهاز , خصائصه التي لا تحتوي على البارابين و لا كربونات , الكيتوزان-الهضمي على اساس الجينات الصوديوم سم و ريولوجيا لمادة هلامية تنبأ 3.5 كانالطوف العائم سمك قدره . الصوديوم كانت مشجعة جدا استمراره في المعدة.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

RESUME

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION	11
CHAPITRE 1 :SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	14
1.1. Estomac et médicament	14
1.2. Traitements des troubles dyspeptiques	17
1.3. L'utilisation des polymères dans le traitement anti reflux et dans la libération prolongée des médicaments	20
1.4. Mécanisme de gélification in situ de l'alginate de sodium au niveau de l'estomac	23
1.5. Xanthane	25
1.6. Chitine et chitosane	28
1.7. Exemples de systèmes thérapeutiques à base de biopolymères	33
CHAPITRE 2 :MATERIELS ET METHODES	36
2.1. Matériels	36
2.2. Méthodes	38
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS	52
3.1. Elaboration d'une suspension buvable à libération prolongée de type 1.	52
3.2. Conception et caractérisation d'une suspension buvable à libération prolongée de type 2.	65
3.3. Formulation d'une suspension anti-reflux à base d'alginate de sodium et de chitosane, générique de la suspension Orale GAVISCON®.	79

CONCLUSION GENERALE

95

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE A

ANNEXE B

ANNEXE C

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Anatomie de l'estomac	14
Figure 1.2	Les deux types de hernies	17
Figure 1.3	Structure de l'alginate	22
Figure 1.4	Monomères de la chaîne d'alginate	22
Figure 1.5	Gélification de l'alginate par des ions calcium, selon de modèle "boite à œufs".	24
Figure 1.6	Structure de la gomme xanthane	26
Figure 1.7	Structure chimique du chitosane	29
Figure 1.8	Structure chimique du chitosane (a) et le chitosane protoné (b)	30
Figure 2.1	Structure de la Ranitidine	36
Figure 2.2	Représentation schématique d'une mesure rhéométrique en mode oscillatoire.	48
Figure 3.1	Image illustrant l'observation microscopique des particules de carbonate de calcium dans la phase continue de la suspension(Grx100)	53
Figure 3.2	Photo du gel d'alginate/xanthane.	54
Figure 3.3	Courbe d'écoulement typique de l'essai E 01 ajustée par le modèle de Cross. T=20°C	55
Figure 3.4	Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' de l'essai E01 du plan d'expériences en fonction de la déformation (%), T=37°C.	56
Figure 3.5	Profil de dissolution typique de l'essai E01 par le modèle de Weibull avec $Q_{\infty} = 100\%$, T=37°C.	57

Figure 3.6	Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des cinq modèles RSM.	59
Figure 3.7	Représentation globale de la contribution de chaque terme des modèles de surface de réponse pour chaque réponse.	60
Figure 3.8	Contours iso- G' en fonction de la variation simultanée des deux biopolymères, $T=37^{\circ}\text{C}$.	62
Figure 3.9	Contours iso- G' en fonction de la variation simultanée du xanthane et du carbonate de calcium. $T=37^{\circ}\text{C}$.	63
Figure 3.10	Contours iso- a en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du carbonate de calcium. $T=37^{\circ}\text{C}$.	64
Figure 3.11	Image illustrant l'observation microscopique des particules de chitosane dans la phase continue de la suspension (Grx100).	66
Figure 3.12	Photo du gel formé à base d'alginate de sodium et de chitosane à 37°C dans un milieu gastrique au pH 1.2.	67
Figure 3.13	Courbe d'écoulement typique de l'essai E01 ajustée par le modèle de Carreau. $T=20^{\circ}\text{C}$	68
Figure 3.14	Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$	69
Figure 3.15	Profil de dissolution typique d'un des essais ajusté par le modèle de Weibull avec $Q_{\infty} = 100\%$, $T=37^{\circ}\text{C}$.	69
Figure 3.16	Influence des deux paramètres caractéristiques α et β sur l'allure du profil de dissolution, selon le modèle de Weibull, $Q_{\infty} = 100\%$.	70
Figure 3.17	Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des trois modèles RSM.	73
Figure 3.18	Contours iso- η_0 de la suspension en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. $T = 20^{\circ}\text{C}$	75
Figure 3.19	Contours iso-réponse du module de conservation G' (Pa) du gel en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. $T = 37^{\circ}\text{C}$	76
Figure 3.20	Contours iso-réponse du paramètre de la dissolution α en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. $T=37^{\circ}\text{C}$	78

Figure 3.21	Image illustrant l'observation microscopique (Grx100) de la suspension de référence Gaviscon®.	81
Figure 3.22	Image illustrant l'observation microscopique (Grx100) de l'essai E01 du plan d'expériences	81
Figure 3.23	Profil de neutralisation du produit de référence Gaviscon® de l'essai E01 du plan d'expériences T=37°C	83
Figure 3.24	Courbes d'écoulement typique de l'essai E05 et de la suspension GAVISCON® ajustées par le modèle de Carreau. T=20°C	85
Figure 3.25	Courbes d'écoulement des suspensions du plan d'expériences et celle du témoin (xanthane à 0,5g/100ml), T=20°C.	86
Figure 3.26	Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' de l'essai E01 du plan d'expérience en fonction de la variation de la fréquence, T=20°C	87
Figure 3.27	Variation des deux modules de conservation $G'(\gamma)$ et de perte $G''(\gamma)$ des radeaux générés par la suspension GAVISCON® et par une suspension du plan d'expériences. T=37°C	88
Figure 3.28	Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des trois modèles RSM	90
Figure 3.29	Contours iso η_0 et iso G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. Niveau bas en Bicarbonate	91
Figure 3.30	Contours iso η_0 et iso G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. Niveau haut en Bicarbonate	92
Tableau 2.1	Description du produit de référence	37
Tableau 2.2	Matrice d'expériences du plan CCF appliqués dans le cas des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine basées sur le système : Alginate de sodium-Xanthane-CaCO ₃	41
Tableau 2.3	Matrice d'expériences du plan CCF pour le cas des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine basées sur le système : Alginate de sodium - Chitosane	42
Tableau 2.4	Matrice d'expériences du plan Box Benhken appliquée dans le cas des suspensions à « raft forming » à base d'Alginate de sodium et du Chitosane:	43
Tableau 3.1	Caractérisation physico-chimique des formulations	53

Tableau 3.2	Valeurs de toutes les réponses en fonction du numéro de l'essai dans le cas du système Alginate de sodium – xanthane –carbonate de calcium.	58
Tableau 3.3	Coefficients des termes des différents modèles de surface de réponses	60
Tableau 3.4	Caractérisation physico-chimique des formulations	66
Tableau 3.5	Matrice d'expériences du plan CCF contenant différents niveaux des facteurs et les valeurs de toutes réponses en fonction du numéro de l'essai.	72
Tableau 3.6	Analyse de la variance pour les réponses RSM.	74
Tableau 3.7	Valeurs de pH et de densité des essais de formulation et du GAVISCON®	80
Tableau 3.8	Résultats des caractéristiques de l'activité anti reflux des formulations.	82
Tableau 3.9	Matrice de corrélation réponse-réponse, évaluée à partir des valeurs des réponses de la matrice d'expériences.	89
Tableau 3.10	Matrice d'expériences du plan Box Benhken contenant différents niveaux des facteurs et les valeurs de toutes réponses en fonction du numéro de l'essai.	89

INTRODUCTION

La majorité des médicaments à administration orale, dont l'activité nécessite une libération prolongée, notamment les antalgiques, les antipyrétiques, les anti-inflammatoires, les bronchodilatateurs, les neuroleptiques et anti-sécrétoires gastriques, se présentent généralement sous forme de comprimés ou de gélules et sont dédiés particulièrement aux adultes. Dans le domaine de la pédiatrie et de la gériatrie, ce genre de traitement ne peut être indiqué, en raison des difficultés d'administration orale.

Afin de répondre à cette problématique, la recherche en matière d'innovation technologique pharmaceutique s'est orientée vers le développement de suspensions médicamenteuses à libération prolongée ou contrôlée dédiées à cette frange de population, avec les avantages qu'elles offrent en termes de sécurité et d'efficacité. Ainsi la voie orale d'administration de médicament est considérée comme la voie la plus pratique. Elle est généralement la moins chère et offre plus de sécurité que les autres voies.

Les formes posologiques orales conventionnelles comprennent des solutions, des émulsions, des suspensions, des comprimés, des pastilles et des capsules. Cependant, de nombreux composés sont absorbés de manière incomplète ou inefficace après administration orale (problème de biodisponibilité). De plus, la fréquence de dosage requise peut être trop courte pour permettre une administration une ou deux fois par jour (problème de demi-vie pharmaceutique).

Les systèmes matriciels consistent généralement en un principe actif dissous ou dispersé dans une matrice polymérique gonflant ou s'érodant lentement. La libération du principe actif à partir de ces systèmes est régie par la pénétration de l'eau dans la matrice, suivie de la diffusion du médicament dans le milieu environnant, de l'érosion de la matrice ou de la combinaison des deux.

La littérature montre que ces systèmes reposent sur plusieurs mécanismes thérapeutiques, en l'occurrence, les systèmes à raft-forming [1-4], les bio-adhésifs [5-7] et les systèmes gonflants [8-9]. Ces deux derniers systèmes offrent une libération prolongée du principe actif [10-12]. Dans le cas des systèmes gonflants, la plupart des auteurs l'ayant étudié obtiennent le gel dans un milieu gastrique en associant un polysaccharide anionique et une source de cations divalents qui est généralement du calcium [13-15].

Ces polysaccharides sont généralement caractérisés par des propriétés de gonflement, ils se situent dans la catégorie des hydrogels. Les polymères comme la cellulose, la gomme

xanthane, la chitine et le chitosane, les cyclodextrines et les dextrans, les alginates et les amidons sont les polysaccharides les plus intéressants pour des applications biomédicales [16].

L'objectif de notre étude est l'élaboration de systèmes à base de polysaccharides en vue d'un traitement prolongé associant à la fois une action anti-reflux et un principe actif anti-sécrétoire. A cet effet deux suspensions orales à libération prolongée à base de ranitidine et une formulation anti-reflux à base de chitosane ont été formulées et étudiées.

Pour ce faire, trois polysaccharides ont été sélectionnés pour leur mise au point, il s'agit de l'alginate de sodium, du chitosane et de la gomme xanthane. Ces derniers permettent l'obtention de la libération du principe actif par le mécanisme de gélification in-situ. Le choix de tels polymères est justifié par leurs biocompatibilités et biodégradabilités [17].

Les deux formulations visent à contrôler la libération du principe actif dans l'estomac, laquelle va dépendre de la force du gel formé in-situ. L'avantage de tels systèmes est de pourvoir à ces formes pharmaceutiques une double action : une action mécanique par effet radeau pour combattre les remontées acides dans l'œsophage et une action chimique par la libération prolongée de la Ranitidine. Cette dernière formulation constitue une innovation pharmaceutique, puisque seule la forme comprimé à libération conventionnelle et injectable est disponible sur le marché du médicament.

Dans la première partie de notre travail, nous formulons un système matriciel constitué du couple alginate-xanthane en présence du carbonate de calcium et des parabènes. La complexation s'effectue entre les macromolécules de l'alginate de sodium et des cations divalents du calcium, libérés par solubilisation dans le milieu acide de l'estomac, pour former un réseau tridimensionnel entre l'alginate et les contre-ions du calcium de type Egg-box en présence du principe actif qui va être emprisonné dans le gel [18].

Le deuxième volet de ce travail est consacré à la réalisation d'une matrice alginate-chitosane, auquel cas, une complexation non-ionique sera envisagée qui consiste en une formation d'une liaison hydrogène entre les macromolécules de l'acide alginique et celles du chitosane ainsi que des liaisons hydrophobes entre les unités résiduelles acétylées du chitosane [19]. Dans le milieu acide de l'estomac, ces polysaccharides forment un réseau tridimensionnel piégeant le principe actif (Ranitidine) qui va enregistrer une libération prolongée au cours du temps.

La troisième partie expérimentale de ce travail consiste à développer un système flottant-in situ contenant de l'alginate de sodium et du chitosane où nous introduisons du bicarbonate de sodium qui contribue par interaction avec les protons du milieu acide de l'estomac, au

dégagement de l'acide carbonique responsable de la flottaison du système et la formation du radeau.

Pour les trois systèmes complexes à formuler, nous envisageons de s'appuyer sur une méthodologie expérimentale rationnelle et planifiée basée sur la méthode des plans d'expériences. Cette méthode permet de répondre à nos préoccupations tout en minimisant le nombre d'essais et en assurant une qualité certaine des résultats sur le plan prédictif.

Les systèmes formulés feront l'objet de diverses techniques de caractérisation sur le plan biopharmaceutique et rhéologique à savoir les tests de dissolution, les courbes d'écoulement, la viscoélasticité ainsi que le test de stabilité basé sur le balayage en fréquence.

Dans le détail, ce manuscrit a été structuré comme suit :

Un premier chapitre qui présente un aperçu général sur les polysaccharides utilisés lors de notre travail de recherche. L'accent a été mis sur l'alginate de sodium, la gomme xanthane et le chitosane. Ainsi un recensement des travaux antérieurs réalisés sur ces derniers a été effectué.

Le deuxième chapitre décrit la préparation des échantillons ainsi que les protocoles expérimentaux ainsi que les différentes techniques utilisées pour la caractérisation rhéologique et biopharmaceutique des formulations préparées.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats et discussions des systèmes suivant :

1. Elaboration d'une suspension buvable à libération prolongée de type 1.
2. Conception et caractérisation d'une suspension buvable à libération prolongée de type 2.
3. Formulation d'une suspension anti-reflux à base d'alginate de sodium et de chitosane, générique de la suspension orale GAVISCON®.

Cette thèse est achevée par une conclusion générale, dans laquelle on exposera les différents résultats qui se sont dégagés à l'issue de ce travail ainsi que les perspectives pour mettre en avant les points qui méritent d'être approfondis et poursuivis.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Estomac et médicaments

1.1.1 L'estomac

Un véritable réservoir alimentaire, l'estomac est une poche en forme de J, divisée en une portion verticale, le fundus et une portion horizontale, l'antré. La partie supérieure du fundus communique avec l'œsophage par le cardia et forme la grosse tubérosité. L'antré est séparé du duodénum par le pylore, doté d'un sphincter puissant ouvrant et fermant l'issue vers l'intestin. L'estomac est richement vascularisé par les trois branches du tronc cœliaque.

Laparoidel'estomac comporte quatre couches : séreuse (péritoine) ; musculaire (formée de fibres longitudinales, circulaires et obliques et assurant le brassage et l'évacuation des aliments) ; sous-muqueuse, formée d'un tissu conjonctif lâche ; muqueuse, formée d'un épithélium prismatique avec cellules à pôles muqueux fermés et responsable de la sécrétion du suc gastrique (Figure 1.1).

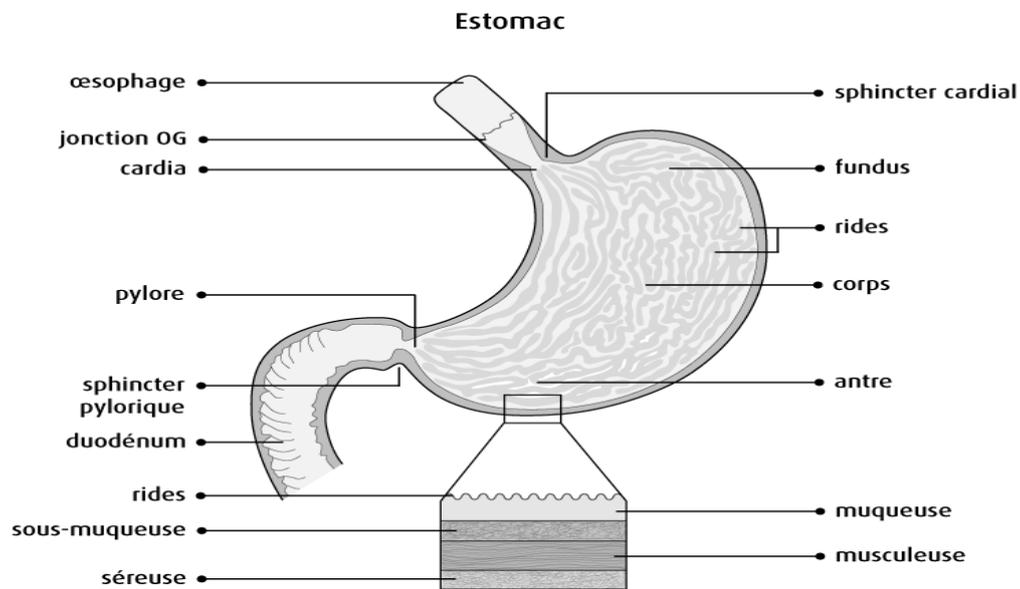


Figure 1.1 : Anatomie de l'estomac

L'estomac assure deux fonctions principales, une mécanique qui permet de malaxer les aliments qui sont régulièrement mélangés à la sécrétion gastrique et une fonction chimique qui correspond à la sécrétion gastrique. Cette sécrétion gastrique est réalisée par les multiples glandes gastriques dont l'activité est stimulée lors des repas. La sécrétion gastrique est principalement composée d'eau, d'acide chlorhydrique et d'enzymes protéolytiques. La forte acidité du suc gastrique (pH 1 à 2) est donnée par l'acide chlorhydrique ($H^+_{(aq)} + Cl^-_{(aq)}$)[20].

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 [21].

1.1.2 Divers troubles gastriques

De nombreux problèmes touchent le système gastrique causant des troubles digestifs souvent bénins mais cependant ils ne doivent pas être négligés car ils sont parfois l'expression d'une maladie plus grave (ulcère,...)[21].

1.1.2.1 Dyspepsie

La dyspepsie regroupe les différentes sensations de digestion difficile non reliées à une atteinte organique de l'estomac ou de la vésicule biliaire. Les symptômes variés sont : pesanteur épigastrique (épigastre ; partie supérieure de l'estomac) après les repas, nausées ou vomissements et aérophagies.

L'ensemble des troubles peut être dû à un véritable dysfonctionnement de l'estomac. Certains facteurs peuvent conduire à l'apparition de la « dyspepsie » : repas trop copieux ou trop rapide, stress, abus de tabac [22].

1.1.2.2 Reflux gastro-œsophagien

Le reflux gastro-œsophagien (RGO) correspond au passage à travers le cardia, jonction entre l'estomac et l'œsophage, d'une partie du contenu gastrique dans l'œsophage. Le reflux RGO est physiologique lorsqu'il apparaît de façon épisodique après les repas aussi un faible niveau de reflux est normal [23]. Il devient pathologique lorsqu'il est responsable

de symptômes répétés et prolongés affectant la qualité de vie. 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 (œsophagite). Avec le temps, il peut s'ensuivre des lésions à l'œsophage. Parfois s'il est trop important, le RGO peut se manifester par des symptômes touchant toute la sphère ORL (nez, gorge, oreilles) et/ ou pulmonaires.

1.1.2.3 Ulcère gastrique et ulcère gastro-duodéal

Généralement, on qualifie l'ulcère comme toute perte de substance se manifestant par une plaie ouverte et touchant la peau et les muqueuses. L'ulcère gastrique se définit comme une perte de substance de la paroi gastrique atteignant en profondeur la musculature. Il se différencie des érosions qui sont des lésions limitées à la muqueuse et des ulcérations qui atteignent la sous-muqueuse sans la dépasser. L'ulcère gastroduodéal est une plaie ou une lésion trouvée dans n'importe quelle partie du tube digestif qui contient des sucs gastriques concentrés.

1.1.2.4 Gastrite

La gastrite est un trouble de la digestion qui se manifeste par l'inflammation de la muqueuse de l'estomac. La muqueuse agit comme barrière protectrice de la paroi de l'estomac en absorbant les sécrétions acides produites par la digestion des aliments. Sans cette protection, la paroi de l'estomac, plus sensible, serait vite attaquée par ces acides ou par d'autres substances irritantes qui provoqueraient des ulcères. C'est ce qui se produit dans le cas de l'ulcère gastroduodéal. Mais il arrive aussi que la muqueuse elle-même soit irritée, sans que la paroi soit touchée. On parle alors de gastrite. La gastrite peut être soit aiguë et se manifester soudainement, ou chronique et évoluer lentement sur plusieurs années.

1.1.2.5 Hernie hiatale

C'est l'ascension permanente ou intermittente, d'une partie de l'estomac dans le thorax à travers le diaphragme. Ce déplacement anormal résulte d'un glissement ou d'un roulement formant une poche intrathoracique par la grosse tubérosité de l'estomac, sauf que pour le roulement sans déplacement du cardia. Dans ce cas il n'y a aucune conséquence sur la survenue de RGO [23]. Aussi de nombreux porteurs de hernie hiatale par glissement n'ont aucun RGO de la même façon que beaucoup de sujets souffrant de

RGO n'ont pas de hernie hiatale [23]. Néanmoins, ces deux troubles ne sont pas totalement dissociés. En effet, la malposition cardiaque provoque une rétention du matériel de reflux. Ceci allonge la durée des remontées gastriques et altère la clairance œsophagienne en aggravant un RGO déjà présent par des lésions d'œsophagites (Figure 1.2).

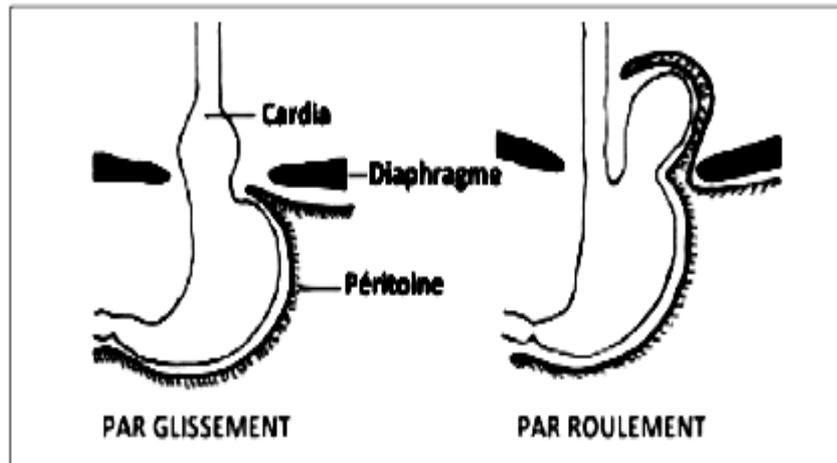


Figure 1.2 : Schémas de deux types de hernies

1.2 Traitements des troubles dyspeptiques

Les traitements des troubles dyspeptiques sont nombreux et divers en fonction de l'origine de la pathologie ; on citera :

1.2.1 Traitements anti-reflux

Le mécanisme d'action des médicaments anti-reflux repose sur une action mécanique issue de la formation du radeau à la surface de l'estomac, un exemple de produit commercialisé pour ce traitement est Gaviscon®[15,24]. Ce radeau se forme par la complexation des macromolécules de l'alginate de sodium par une source de cations divalents (calcium Ca^{++}), ce gel possède les propriétés suivantes :

- Une légèreté lui permettant de flotter au-dessus du contenu gastrique au niveau de la jonction gastro-œsophagienne.
- Une viscosité et une cohérence formant une barrière physique qui s'oppose au reflux (diminution du nombre de reflux). En cas de reflux sévère, le gel régurgite en

premier dans l'œsophage et s'interpose entre la paroi œsophagienne et le liquide gastrique irritant.

- Un pH alcalin qui se substitue au pH acide du liquide de reflux.

1.2.2 Chirurgie anti-reflux

Le but de la chirurgie anti reflux est de corriger le reflux en appliquant des principes simples : positionnement du sphincter inférieur œsophagien (SIO) en position intra abdominale avec, si nécessaire, réduction des anomalies anatomiques (hernie hiatale, fermeture du hiatus œsophagien en arrière de l'œsophage en rapprochant les piliers du diaphragme et réalisation d'un montage anti-reflux).

En ce qui concerne le traitement de l'hernie hiatale volumineuse, le traitement chirurgical va associer la reposition de l'estomac et du cardia dans l'abdomen à un système anti-reflux par reconstruction d'un angle de His avec un bas œsophage intra-abdominal et constitution d'une valve anti-reflux.

La chirurgie anti-reflux entraînerait un contrôle satisfaisant des symptômes du RGO sur 5 à 20 ans, dans 80 à 90 % des cas [25]. Son objectif est de reconstituer une barrière anti reflux.

1.2.3 Traitements antiacides

L'action des médicaments antiacides repose sur une action chimique. Ils neutralisent chimiquement l'acide chlorhydrique (HCl) présent dans la lumière gastrique, après sa sécrétion, ce qui permet d'élever le pH luminal à un niveau raisonnable. La réaction avec HCl entraîne la production de chlorures, d'eau et de dioxyde de carbone [15,21]. Un antiacide permet une élévation du pH gastrique à un minimum de 3.0-4.0. Ces antiacides et pansements gastriques servent à tamponner les sécrétions acides et protéger la muqueuse. Les antiacides (Maalox®, Geloxy®, Phosphalugel® etc) et surtout les alginates (Gaviscon®) sont utilisés pour leur pouvoir neutralisant des sécrétions acides et de protection de la muqueuse. En cas de RGO (reflux gastro-œsophagien) sans œsophagite,

1.2.4 Principaux antiacides utilisés

❖ Sels d'aluminium

L'hydroxyde d'aluminium aboutit à la formation intra gastrique de chlorure d'aluminium, il a théoriquement un grand pouvoir de neutralisation.

❖ Sels de magnésium

L'hydroxyde de magnésium entraîne une augmentation du pH gastrique supérieure à celle obtenue avec l'hydroxyde d'aluminiums (respectivement 9,0 et 4,0). L'effet antiacide de l'hydroxyde de magnésium est aussi prolongé, mais ne dure pas aussi longtemps que celui des sels d'aluminium. Ces sels sont également retrouvés dans la plupart des spécialités antiacides.

❖ Sels de calcium

Le carbonate de calcium est un excellent antiacide, à effet rapide et prolongé. Il a une haute capacité de neutralisation, les réactions de ce sel aboutissent à la formation de gaz carbonique responsable de constipation, en plus une exposition au long cours à de fortes doses ou chez des insuffisants rénaux peut provoquer une hypercalcémie.

❖ Sels 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.

1.2.5 Anti-sécrétoires

Les anti-sécrétoires sont des inhibiteurs de la sécrétion gastrique acide. Les malades atteints de RGO présentent rarement une hypersécrétion gastrique acide mais l'acidité normale de l'estomac est suffisante pour provoquer une œsophagite peptique. Le but d'un traitement anti-sécrétoire au cours du RGO est donc de diminuer l'acidité du contenu gastrique par l'activation de la pepsine et de réduire le volume du liquide refluant vers l'œsophage. Ceci est particulièrement important au cours de la nuit, lorsque l'acidité gastrique n'est pas tamponnée par les aliments et que le malade est allongé. La longue durée d'action des différents anti-sécrétoires actuellement disponibles permet cette inhibition nocturne de la sécrétion gastrique.

Parmi ces anti-sécrétoires, on citera la ranitidine qui est un antagoniste des récepteurs H_2 à l'histamine et inhibe la sécrétion d'acide gastrique provoquée non seulement par l'histamine, mais également par la pentagastrine, l'insuline, la caféine ou par les aliments. Elle n'altère pas la production de mucus, n'affecte pas la sécrétion pancréatique et semble sans effet sur le sphincter inférieur de l'œsophage [15,21].

Un autre exemple des anti-sécrétoires est l'Omeprazole qui est un inhibiteur de la pompe à protons (IPP). L'oméprazole est un mélange racémique de deux énantiomères réduisant la sécrétion acide gastrique par un mécanisme d'action spécifiquement ciblé. C'est un inhibiteur spécifique de la pompe à protons dans la cellule pariétale. Il agit rapidement et entraîne un contrôle de la sécrétion acide gastrique par une inhibition réversible, avec une prise journalière. L'oméprazole est une base faible. Il est concentré et converti en forme active dans l'environnement hautement acide des canalicules intracellulaires des cellules pariétales, où il inhibe l'enzyme $H^+ K^+ ATPase$ (la pompe à proton).

1.2.6 Les prokinétiques

Les prokinétiques sont des restaurateurs de la fonctionnalité du SOI (sphincter œsophagien inférieur) pour lui rendre sa compétence. Les médicaments les plus utilisés sont les "prokinétiques de type métoclopramide et dompéridone. Ils peuvent être utilisés en deuxième intention lorsque les symptômes restent fréquents. Ces médicaments sont des modificateurs de la pression du sphincter inférieur de l'œsophage. Ils vont être utilisés en cas de symptômes persistants ou manifestations extra-digestives, ils le sont cependant peu prescrits pour le traitement du RGO.

Plus récemment, diverses préparations ont été proposées pour supprimer le reflux gastro-œsophagien en combinant les substances antiacides à certains biopolymères dans le but de former un gel surnageant ou bien une barrière physique qui protège la muqueuse œsophagienne du liquide gastrique montant.

1.3 Utilisation des polymères dans le traitement anti reflux et dans la libération prolongée des médicaments

1.3.1 Généralités sur les Polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères constitués de plusieurs oses liés entre eux par des liaisons osidiques. Le principal d'entre eux est le glucose, molécule intervenant dans le métabolisme des êtres vivants. C'est l'association d'un grand nombre d'oses qui est à l'origine de la formation des polysaccharides.

De nombreuses sources de polysaccharides sont connues aujourd'hui, elles peuvent être d'origine végétale, comme par exemple l'Alginate de sodium extrait d'algues brunes ou d'origine animale comme le chitosane qui est extrait de la chitine et les polysaccharides provenant de source animale, sont, en général, d'origine bactérienne. Les microorganismes

synthétisent, dans ce cas, des polysaccharides exocellulaires ou exopolysaccharides par sécrétion d'enzyme dans le milieu de fermentation. Parmi ces polymères, figure le xanthane qui est un polysaccharide rigide [26].

1.3.2 Alginate de sodium

L'alginate de sodium est un polysaccharide produit par des algues brunes et des bactéries. L'acide alginique a été d'abord découvert, extrait et breveté par Stanford [27-29]. Ce polysaccharide a été reconnu comme un composant structurel des algues brunes marines (*Phaeophyceae*), celui-ci est composée de chaînes linéaires de l'acide α -L-gulonique (G) et l'acide β -D-mannuronique (M) qui sont disposés dans la chaîne de polymère en blocs, où il constitue jusqu'à 40% de la matière sèche et existe principalement dans le mucilage intercellulaire et de la paroi cellulaire algale comme un mélange insoluble de calcium, de magnésium, de potassium et des sels de sodium. La présence d'alginate fournit la force mécanique et la flexibilité de l'algue et, de plus, agit comme un réservoir d'eau empêchant la déshydratation de la partie de l'algue qui a été exposée à l'air.

Plusieurs bactéries, comme *Azotobacter vinelandii* et de nombreuses espèces de *Pseudomonas*, produisent une matière polymérique exocellulaire qui ressemble à l'alginate. En réalité, l'alginate est une partie essentielle du kyste protecteur et dormant des espèces *Azotobacter* et *Pseudomonas*, où il protège la bactérie du système immunitaire de l'hôte. La *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste qui colonise les poumons des patients affectés par la fibrose kystique, il peut sécréter une couche visqueuse contenant des quantités notables d'alginate. La sécrétion d'alginate par *Pseudomonas syringae* a été rapportée pour être associée à l'infection de la plante et à la colonisation [30].

1.3.3 Composition et structure chimique de l'alginate

L'acide alginique est un copolymère linéaire homopolymérique blocs de β -d-mannuronate (M) à liaison (1-4) et son épimère C-5 résidus d' α -l-glucuronate (G), respectivement, de manières covalentes reliées entre eux dans différentes séquences ou blocs. Les différentes formes d'acide alginique sont représentées sur la Figure 1.3. Ces deux macromolécules d'acide alginique ont été mises en évidence [31]. Les alginates sont constitués de deux monomères associés en 1 \rightarrow 4 [32], selon un enchaînement irrégulier de blocs de trois types :

- un bloc homopolymère de résidus mannuronates –M-M-M-,
- un bloc homopolymère de résidus guluronates –G-G-G-,
- un bloc de résidus mannuronates et guluronates alternés –M-G-M-.

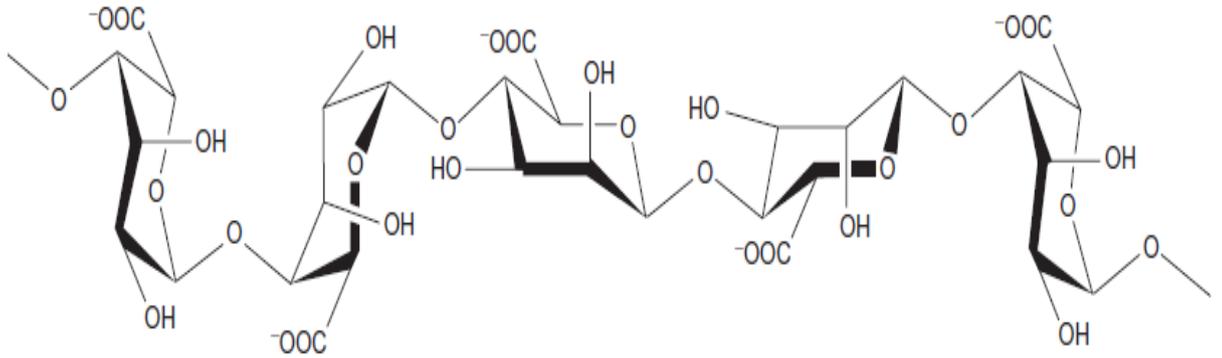


Figure 1.3 :Structure de l'alginate.

Les monomères peuvent apparaître dans des blocs homopolymères de résidus G consécutifs (blocs G), de résidus M consécutifs (blocs M) ou de résidus M et G alternés (blocs MG).

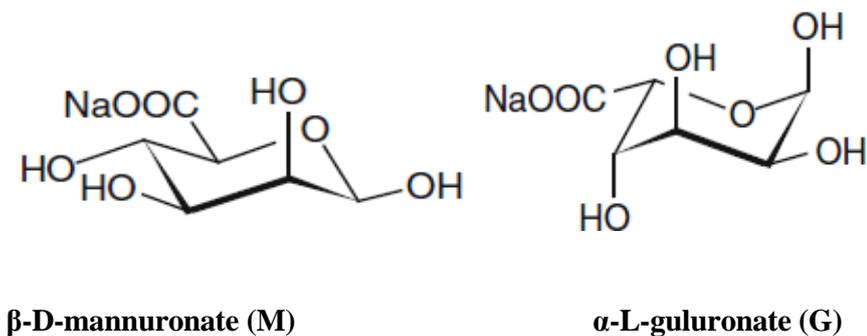


Figure 1.4 : Monomères de la chaîne alginate

La structure des alginates dépend du rapport du nombre de monomères mannuronates sur le nombre de monomères guluronates. Celui-ci varie selon l'origine de l'alginate et les traitements effectués sur celui-ci. Il se situe dans la majorité des cas entre 0,25 et 2,25. On

le détermine, de la même façon que les fractions de dimères, par la spectroscopie RMN ou par chromatographie liquide échangeuse d'ions [33].

L'acide alginique peut alors être transformé en un sel dont l'alginate de sodium est la forme majoritaire actuellement utilisée.

Il est non toxique, biocompatible et biodégradable [17]. De plus, les dérivés de l'alginate peuvent également agir comme agents antibactériens, antiviraux et antifongiques.

1.4 Mécanisme de gélification in-situ de l'alginate de sodium au niveau de l'estomac

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour l'interprétation du phénomène de gélification in-situ. Ceux-ci comprennent la réticulation ionique, le changement de pH et la modulation de la température. Ces facteurs physiologiques rendent la solution polymérique liquide, après son administration, sous forme de gel.

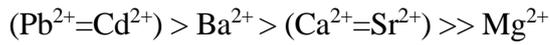
Il est à noter qu'au fur et à mesure que la concentration du polymère augmente par rapport aux autres ingrédients de la formulation, la force du gel augmentera en raison de l'accroissement de l'interaction chaîne-chaîne. Néanmoins, l'abaissement de la concentration du polymère entraînera un gel plus mou qui pourrait être incapable de retarder la libération du médicament et entraîner ainsi une libération immédiate. Par conséquent, l'augmentation de la concentration de polymère ainsi que l'utilisation de différentes combinaisons de polymères peut favoriser une force du gel par effet de synergie. Cependant, il y a une limite de la concentration de polymère car un équilibre doit être maintenu entre l'obtention d'une force de gel satisfaisante et une viscosité acceptable de la formulation pour faciliter la déglutition [34].

Un autre facteur pouvant affecter la gélification orale in-situ, c'est la température qui est particulièrement importante dans le cas d'hydrogels thermosensibles, qui subissent une transformation sol-gel en raison de la variation de température.

De nombreuses études ont été menées sur le mécanisme de gélification des alginate [35-37]. La principale caractéristique de l'alginate est sa gélification avec des cations bivalents. De plus, sa transition sol-gel n'est pas influencée par un changement de température.

Les propriétés des gels d'alginate dépendent de la nature de l'ion divalent, du rapport M/G, de la masse moléculaire de l'alginate et de sa concentration [38].

Les affinités que possèdent les alginate envers les ions de natures diverses sont variables et se classent selon la séquence préférentielle suivante [39]:



Deux blocs G de deux chaînes de polymères adjacentes peuvent être réticulés par un cation bivalent (par exemple Ca^{2+} ou Ba^{2+}), par une interaction électrostatique entre les deux groupes carboxyliques COO^- du polysaccharide. Cette complexation non covalente donne lieu à la formation d'un réseau à trois dimensions, et donc d'un hydrogel physique.

Lorsque deux brins de polymère sont face à face, la conformation des blocs G conduit à la formation de cavités dans lesquelles viennent se loger les ions Ca^{2+} . Cette dimérisation des blocs G est communément appelée structure type "boîte d'œufs". Un schéma représentatif de la gélification des chaînes d'alginate est représenté dans la Figure 1.5. Ainsi donc, la rigidité du gel obtenu dépend du ratio entre les blocs G et les blocs M contenus dans le polymère (ratio G/M). Les alginates ayant une teneur élevée en blocs d'acide guluronique donnent des gels de résistance considérablement plus élevée que les alginates riches en mannuronate, car les résidus G présentent une plus forte affinité pour les ions divalents que les résidus M. Par ailleurs, les gels obtenus à partir d'alginates riches en résidus guluroniques présentent, à la fois, des propriétés rhéologiques et les vitesses de diffusion de solutés les plus élevées [38].

Ceci s'explique par le fait que le taux important d'acide guluronique ayant de longs blocs poly-G et de courts segments élastiques est principalement responsable de la formation d'un réseau ouvert, rigide et statique. En revanche un réseau contenant un faible taux de résidus guluroniques, avec de longs segments élastiques est caractérisé par des enchevêtrements et une structure dynamique [40].

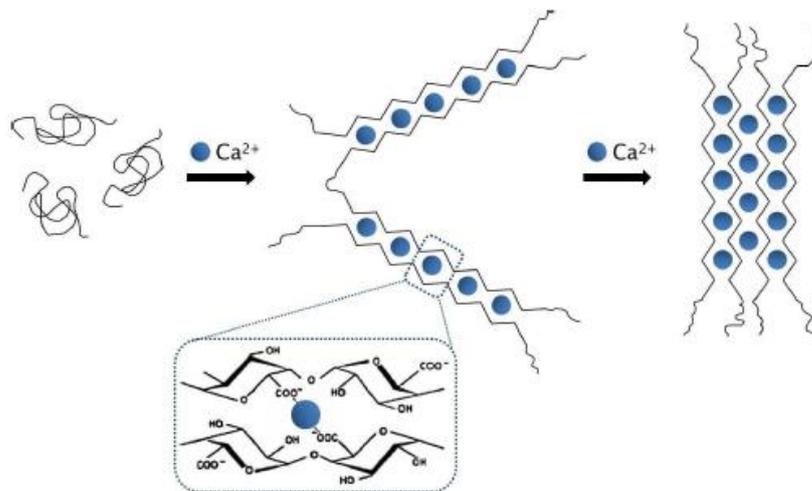


Figure 1.5 : Gélification de l'alginate par des ions calcium, selon de modèle "boîte d'œufs".

Les blocs G de deux chaînes sont d'abord dimérisés par une liaison électrostatique avec un cation Ca^{2+} , puis ensuite polymérisés afin de former un gel dur.

Ainsi lorsque les ions calcium sont ajoutés à une solution d'alginate de sodium, un tel alignement des blocs G se produit; et les ions calcium sont liés entre les deux chaînes comme les œufs dans une boîte d'œufs, comme le montre la Figure 1.5.

D'autres tentatives ont été faites pour étudier l'utilisation potentielle des techniques de gélification in-situ pour développer des formulations orales liquides à base d'alginate et d'autres polysaccharides à libération prolongée pour divers médicaments comme la cimétidine [41] ou la ranitidine [42]. Par ailleurs, un nouveau système de gel in-situ a été développé pour une administration prolongée de chlorhydrate de ranitidine, en utilisant la gomme gellan et la pectine qui forment un gel par réticulation de la chaîne de polymère avec du calcium [35,13], ou bien l'utilisation du xyloglucane [43]. D'autre part, le chitosane [44-46] et la pectine [47] sont eux aussi capables de former une matrice de gel in-situ.

D'autres auteurs ont travaillé sur des systèmes basés sur la gélification in-situ de l'alginate-chitosane sans source de calcium. Parmi eux, El Maghraby et al. [48-49] ont utilisé cette combinaison pour contrôler la libération prolongée de Dextrométhorphan et de Nateglinide ; fondamentalement, le système à pH neutre est sous la forme d'une suspension de faible viscosité qui a la capacité de former un gel au pH gastrique.

Plusieurs approches de caractérisation ont été entreprises pour explorer la qualité de la gélification in-situ, comme la viscoélasticité en régime oscillatoire qui permet de mettre en évidence les modules caractéristiques de stockage et de perte [50], le test de gonflement permettant d'évaluer la capacité d'absorption d'eau et sa cinétique [6,51] et le test de dissolution qui donne un aperçu sur la diffusion du médicament à travers la matrice de gel [49].

1.5 Gomme xanthane

La gomme xanthane fait partie d'une large famille de polysaccharides d'origine microbienne. C'est un polysaccharide anionique exocellulaire sécrété par la bactérie *Xanthomonas campestris*. C'est le sel de sodium, de potassium ou de calcium d'un polysaccharide de haut poids moléculaire contenant du d-glucose, d-mannose et acide d-glucuronique. Il contient également pas moins de 1,5% d'acide pyruvique. C'est une poudre

de couleur crème soluble dans l'eau [52]. Elle est synthétisée par, *Yunrhomonas curnpestris* et composé d'unités oligosaccharidiques répétitives.

1.5.1 Structure chimique

La structure de la gomme xanthane est constituée d'une combinaison de quatre composés : le glucose, le mannose, l'acide glucuronique et l'acide pyruvique (Figure 1.6). La structure primaire consiste en une chaîne linéaire de β -D-glucose, à laquelle sont ramifiées, tous les deux glucoses, une chaîne de trisaccharide formée par un α -D-mannose lié à la chaîne linéaire au niveau du carbone en position 3, un β -D-acide glucuronique, un β -D-mannose. Le D-mannose relié à la chaîne linéaire de glucose contient un groupement acétyle à la position 6. Le D-mannose à l'extrémité de la chaîne peut contenir un acide pyruvique relié aux positions 4 et 6. Le xanthane possède un caractère anionique du fait de la présence d'acide glucuronique et de l'acide pyruvique. Les acides glucuroniques et les acides pyruviques chargés sont ionisables, et donc responsables de la nature anionique du xanthane (charge négative jusqu'à pH 1) [53]. Le contenu des résidus pyruvate et acétate varie selon la souche de bactérie, le procédé de fermentation, les conditions après fermentation et les étapes de purification. La forme neutralisée peut être convertie en forme acide par échange d'ions ou par dialyse d'une solution acide [54].

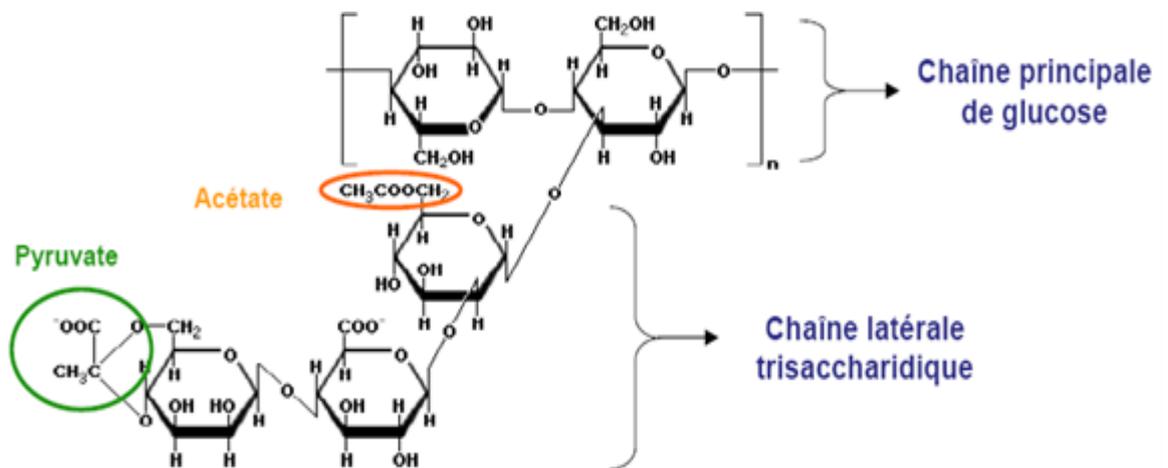


Figure 1.6 : Structure de la gomme xanthane

Trois fonctions apparaissent sur les cycles de la chaîne latérale du motif :

- un groupement acétate sur le cycle le plus proche du squelette principal
- un acide glucuronique sur le cycle intermédiaire
- un acide pyruvique sur le cycle terminal

1.5.2 Propriétés de la gomme xanthane

La gomme xanthane est un agent stabilisant, suspensif, viscosifiant, épaississant et émulsifiant. Elle est largement utilisée dans les industries pharmaceutiques comme excipient dans les formulations orales et topicales et également dans les industries alimentaires et cosmétiques [55].

Elle est fortement soluble dans l'eau froide ou chaude, son comportement est relié à la nature du polyélectrolyte de la molécule de xanthane. La gomme xanthane est compatible avec les autres épaississants et gélifiants industriels (amidons, pectine, gélatine, alginate, cellulose et dérivés) [56]. Elle est connue pour sa qualité de reproductibilité [57], contrairement à certains polysaccharides végétaux (guar et caroube), ses propriétés stables [58], sa résistance à la dégradabilité par les enzymes, sa facilité de préparation et sa longue conservation sous forme de poudre, expliquent l'ampleur de ses utilisations [59].

Les solutions de xanthane sont pseudoplastiques ou rhéoépaississantes, la viscosité diminue avec l'augmentation du cisaillement. La viscosité dépend aussi de la température de dissolution et de la mesure, de la concentration du biopolymère, de la quantité de sel et du pH [60].

1.5.3 Applications de la gomme xanthane

L'utilité de la gomme xanthane dans le domaine alimentaire fait qu'elle est employée comme additif pour les nourritures et des boissons (crème, fromage, nappages).

Elle est utilisée comme épaississant dans l'agroalimentaire sous la dénomination E415 (assaisonnements, sauces, crèmes, glaces). En cosmétique, elle est présente dans les dentifrices, les crèmes ou les gels. Elle sert d'excipient pour le relargage contrôlé de principes actifs pharmaceutiques est aussi utilisé pour la récupération du pétrole, dans l'industrie des cosmétiques, notamment dans les shampoings et les gels de douche, dans la formulation des peintures. Mais dans les industries alimentaires que les propriétés rhéologiques de la gomme xanthane trouvent leurs principales applications (assaisonnements, sauces, crèmes, glaces) [61].

Des formulations à base du xanthane ont été désignées pour prolonger le temps de rétention d'agents antimicrobiens facilement dégradés par l'action protéolytique des enzymes salivaires [62]. Elle a aussi été conçue comme agent stabilisant de certaines formulations thérapeutiques [63].

Récemment, Kumar et al. [64] ont utilisé la gomme xanthane dans l'application d'ingénierie tissulaire, y compris son origine, sa structure, ses propriétés, sa modification et son traitement pour la préparation des hydrogels et/ou des échafaudages, est examiné avec précision.

Son importance dans le domaine pharmaceutique n'a pas de limite, elle est employée intensivement comme excipient pour des formulations tels que comprimés, suspensions.

Les propriétés pseudoplastiques de cette gomme permettent aux pommades de conserver leur forme et de se propager facilement. Il s'agit d'un véhicule de suspension approprié pour délivrer des antispasmodiques localement le long de la longueur de l'oesophage chez les patients atteints de spa oesophagien.

1.6 Chitine et chitosane

1.6.1 Chitosane

La chitine a été découverte pour la première fois en 1811 par le Professeur Henri Braconnot, directeur du jardin botanique de Nancy [65]. Un peu plus tard en 1859 fut la découverte du chitosane par Rouget en traitant la chitine avec la potasse et en examinant les différentes formes désacétylées obtenues [65]. Le nom du chitosane a été proposé par Hoppe-Seyler en 1894 [65].

Le chitosane est peu présent dans la biomasse, on le retrouve à l'état naturel dans la paroi cellulaire de certains champignons, de bactéries, levures et algues [65].

Chez les crabes et les crevettes, la chitine joue le rôle de composants structuraux qui renforcent et protègent les organismes. Idéalement, la chitine est un polysaccharide linéaire constitué d'unités répétitives β - (1-4) -2-acétamido-2-déoxy-d-glucopyranose où l'amine les groupes sont entièrement acétylés [66].

1.6.2 Structure chimique

Le chitosane est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy- β -D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy- β -D-glucopyranose liés en β (1-4). Ce polysaccharide

est obtenu par N-déacétylation d'un des polymères naturels les plus abondants, la chitine, extraite des carapaces de crustacés tels que les crabes et les crevettes [67].

Le chitosane peut être transformé sous différentes formes dans des conditions beaucoup plus douces en raison de sa solubilité dans des solutions acides diluées, ce qui fait du chitosane un biopolymère plus attrayant pour diverses applications.

Le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs, un groupement amine en position C-2, deux groupements hydroxyles en positions C-3 et C-6 respectivement (Figure 1.7). 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 [68-69].

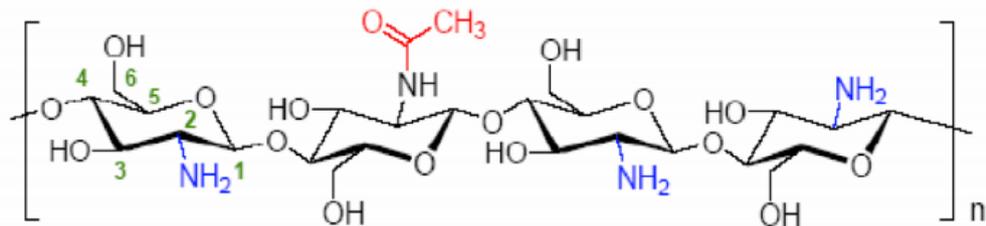


Figure 1.7 : Structure chimique du chitosane

1.6.3 Propriétés du chitosane

1.6.3.1 Degré de désacétylation

Le degré de désacétylation (DDA) est l'une des propriétés les plus importantes du chitosane. Au cours de ses dernières décennies, beaucoup de méthodes ont été développées pour la détermination du DDA, à savoir la spectroscopie infra rouge [70-71], la spectroscopie U-V [72], la résonance magnétique nucléaire [73], la titration colloïdale et la potentiométrie [74]. Cependant, la méthode la plus simple reste la spectroscopie IR proposé par Khan et al.[75].

1.6.3.2 Solubilité

En effet, le chitosane se dissout uniquement en milieu acide par protonation des groupes amine présents sur la macromolécule. L'équilibre suivant décrit l'état d'ionisation du polyélectrolyte en solution :



Le pKa du chitosane est approximativement égal à 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. Engénéral, on utilise du chitosane avec un DDA supérieur à 70 % pour avoir une grande partiesoluble. Un chitosane qui a un DDA égal à 85%, ses chaines sont flexibles pour des pH supérieurs à 3[76].

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 [77].

Le chitosane est facilement soluble dans les solutions acides diluées à pH <6 mais insoluble dans l'eau et les solvants organiques[78]. L'acide le plus couramment utilisé pour préparer une solution est l'acide acétique dilué. La valeur du pKa des groupes amine primaire du chitosane est approximativement 6.3; par conséquent, dans des conditions acides de pH inférieur 6, les groupes amine sont protonés (Figure 1.8), ce qui conduit à la répulsion entre les macromolécules chargés positivement des chaînes qui permettent aux molécules d'eau de diffuser et de se solvater le polymère [78] et le polymère chargé positivement devient soluble. Il est stable en milieu acide.

La valeur du degré de désacétylation DDA influence fortement sa solubilité. La distribution des groupes N-acétyl sur la chaîne polymérique peut contrôler aussi la solubilité des solutions données.

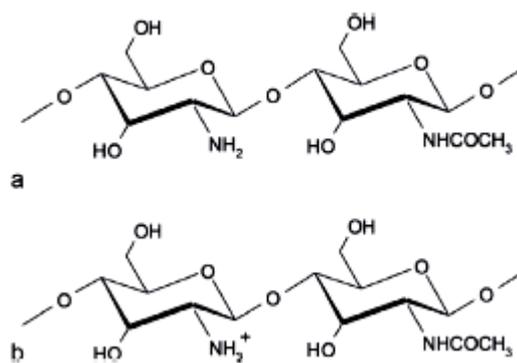


Figure1.8 : Structure chimique du chitosane (a) et le chitosaneprotoné

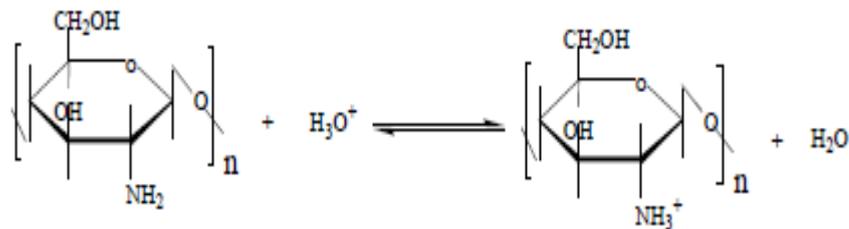
1.6.3.3 Cristallinité

Le chitosane est un biopolymère semi-cristallin résultant de fortes liaisons hydrogène inter et intramoléculaires. Il cristallise dans le système orthorhombique, deux types de structure sont connues : le chitosane I (sous forme de sel) celui-là correspond à un faible

degré de désacétylation DDA (60%). Il est plus désordonné que le chitosane II (forme amine libre) qui possède un fort DDA (90%).

1.6.3.4 Le chitosane en milieu acide

En milieu acide, le chitosane se comporte comme un polycation, à forte densité de Charge et dont l'état d'ionisation est décrit par l'équilibre suivant :



1.6.3.5 Viscosité

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines, le chitosane est donc plus soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante. Elle dépend de la concentration du polymère (elle augmente avec la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente) [79], du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) [80] et du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). Ce paramètre est déterminé à l'aide d'un viscosimètre.

1.6.3.6 Propriétés biologiques

Le chitosane est biodégradable et biocompatible ; il présente un caractère antithrombogène et homostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. Il a également des propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et infections, de plus il a des propriétés immunologiques, anti tumorales, antibactériennes et antifongiques [81].

C'est un agent épaississant grâce à la liaison glycosidique β -(1→4), qui est un polymère semi-rigide. En particulier, la possibilité de formation de ponts hydrogène inter-chaines augmente encore ses performances, allant jusqu'à un comportement de type gel physique faible [78].

Le chitosane et la chitine possèdent ainsi des propriétés de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complexation et d'adsorption de molécules ou de polymères.

1.6.4 Application du chitosane

Dans les années 1980, le chitosane a été évalué comme matrice pour une libération prolongée des granules et comprimés [82-83] pour l'administration de principes actifs en les encapsulant dans le biopolymère qui permet de favoriser leur libération progressive et contrôlée. On peut également combiner les propriétés de deux polymères comme les matrices composites chitosane/alginate [78].

En médecine, il permet l'accélération de la cicatrisation et de la guérison des blessures, le traitement des lésions épidermiques (chirurgie reconstructrice), la stimulation de la régénération des tissus (chirurgie plastique), il est utilisé en cancérologie comme matrice pour la régénération osseuse (substitut osseux, substitut de cartilage ou pour la reconstitution de la peau ou peau synthétique), de même il est utilisé en ingénierie tissulaire et en biologie cellulaire. Il est également employé pour la stimulation du système immunitaire, comme pansement, agent anticoagulant, agent hémostatique, agent anti-infectieux, antibactérien, anti-tumeur [84].

Le chitosane peut être utilisé dans l'administration transdermique de médicaments. C'est un polymère mucoadhésif agent de libération prolongée [85].

En outre le chitosane a été largement utilisé dans des applications biomédicales. En ophtalmologie, il a été étudié en tant que matériau pour la fabrication de lentilles de contact en raison de sa capacité à former des films, de sa clarté optique et de sa stabilité mécanique [78]. Dans la cicatrisation des plaies, une grande quantité de recherche a étudié l'utilisation de différentes formulations de chitosane pour la fermeture de plaies cutanées dans des modèles animaux [78].

Les coquilles de crustacés sont constituées de 30-40% de protéines, de 30-50% de carbonate de calcium et de 20-30% de chitine et contiennent également des pigments de nature lipidique tels que les caroténoïdes (astaxanthine, canthaxanthine, lutéine et β -carotène). Ces proportions varient selon les espèces et selon la saison. D'autre part, la chitine est associée à une teneur en protéines plus élevée mais à une concentration en carbonate plus faible. De plus, en raison de la nature cationique des molécules de chitosane et de l'abondance des groupes amine et hydroxyle fonctionnels sur la chaîne moléculaire, le

chitosane est un excellent biomatériau pour transporter des protéines et d'autres molécules actives par voie physique ou chimique [86].

1.7 Exemples de systèmes thérapeutiques à base de biopolymères

1.7.1 Systèmes thérapeutique issue de gélification in-situ dans l'estomac

1.7.1.1 Systèmes flottants

Parmi les différentes approches, le système de formation de radeaux est apparu comme un moyen efficace d'améliorer la biodisponibilité et de contrôler la délivrance de nombreux médicaments. Il fournit une libération de médicament spécifique de l'estomac pour une durée plus longue qui reste flottante sur la surface gastrique. Comme le système reste dans l'estomac pendant une plus longue durée, l'action locale du médicament est augmentée en raison du temps de contact prolongé avec la muqueuse gastrique. Cela conduit à des doses moins fréquentes et à une amélioration de l'efficacité du traitement. Le système de formation de radeau est non seulement utile pour l'administration prolongée de médicament mais également pratique pour les patients pédiatriques et gériatriques. Ce système est utile en tant que variante de la forme posologique solide orale avec les avantages de la forme posologique liquide. Une libération prolongée du médicament, de bonnes caractéristiques de stabilité et de biodisponibilité font du système de formation de radeau un candidat très approprié pour la rétention gastrique du médicament. Ainsi, le système de formation de radeau promet d'être l'approche potentielle pour le système de délivrance de médicament de rétention gastrique [87].

Diverses tentatives ont été faites pour conserver la forme posologique dans l'estomac afin d'augmenter le temps de rétention. Parmi les diverses tentatives, le système de formation de radeau est une révolution avancée dans la livraison de médicament contrôlée par voie orale. Les systèmes de formation de radeau ont reçu beaucoup d'attention pour la livraison du médicament pour les infections et les troubles gastro-intestinaux.

Howida Kamal Ibrahimet al. [88] ont trouvé que les gels formés in situ sont restés intacts pendant plus de 48 h pour faciliter la libération prolongée de médicaments.

La formation d'un gel cohésif visqueux en contact avec les fluides gastriques, chaque partie du liquide gonflant formant une couche continue appelée radeau [89-90].

La couche du gel flotte sur le liquide gastrique parce qu'elle a une densité apparente inférieure à celle du liquide gastrique, car la formation de CO₂ crée une faible densité.

Le système reste donc dynamique dans l'estomac sans affecter le taux de vidange gastrique pour une période de temps prolongée [91].

Selon Shah et al. [92], le gel formé à partir de la gélification in-situ est plus léger que le liquide gastrique, en raison de la présence d'une nature bio adhésive du polymère et empêche le reflux du contenu gastrique dans l'œsophage en faisant office de barrière entre l'estomac et l'œsophage ce qui conduit à une résidence gastrique entraînant une libération prolongée de médicament dans le tractus gastro-intestinal. Cependant, Howida Kamal Ibrahim [88] a trouvé que lorsque le système flotte sur le contenu gastrique, le médicament est libéré lentement à la vitesse désirée du système. Après la libération du médicament, le système résiduel est vidé de l'estomac. Cela se traduit par une augmentation du temps de rétention gastrique et un meilleur contrôle des fluctuations de la concentration plasmatique du médicament.

1.7.1.2 Systèmes thérapeutiques à libération prolongée

Des formes posologiques orales à libération prolongée ont été développées dans le but d'améliorer la qualité de vie des patients en réduisant l'inconvénient causé par l'administration fréquente de formes posologiques conventionnelles. La majorité des médicaments hydrophiles, s'ils ne sont pas formulés correctement, libèrent rapidement le médicament à un rythme rapide et sont susceptibles de produire des concentrations toxiques lorsqu'ils sont administrés par voie orale. Les formulations à libération prolongée peuvent maintenir les niveaux thérapeutiques constants plus longue période et réduire les fluctuations dans les concentrations de médicaments plasmatiques. Parmi les formes posologiques à libération prolongée, les formes posologiques unitaires multiples sont préférées aux systèmes unitaires simples en raison de leur meilleure prévisibilité, de leurs effets thérapeutiques reproductibles et de leurs effets secondaires moins fréquents [93].

L'avantage de la forme liquide par rapport à nano- ou systèmes de microparticules qui devraient être présents sous une forme solide, est le fait de son administration facile par voie orale. Cela peut être très avantageux, surtout en pédiatrie et en gériatrie ou pour les patients qui ont la difficulté à avaler. Les suspensions liquides sont plus flexibles pour l'ajustement de la dose [94].

Avec les formes posologiques à libération prolongée, la libération du médicament in vitro devrait de préférence être indépendante du pH du milieu de libération afin de minimiser la variabilité biopharmaceutique [95].

Plusieurs formulations à libération prolongée orale à base de paracétamol en présence des deux polymères xyloglucan/pectin ont été étudiées par Itoh [11]. D'autres médicaments comme la théophylline [43], l'ambroxol [13], l'indométhacine [96] et l'ibuprofène [97-98] ont été encapsulés avec de la gellan, le xyloglucane, le chitosane [34, 35, 44, 45,46]. Egalement, la clarithromycine et le métronidazole ont été associés à la pectine [13] pour le traitement des ulcères gastriques associés à *Helicobacter pylori* [99,100].

Des microsphères de Famotidine-Chitosane ont été développées pour l'administration des médicaments dans l'estomac pendant des périodes de temps prolongées [101].

Des capsules flottantes ont été préparées par une méthode de gélification ionotropique utilisant de l'alginate de sodium, du CaCl_2 et du chitosane [102]. Celles-ci présentaient un pourcentage flottant de 100% in vitro et elles pouvaient flotter sur le sommet du suc gastrique pendant 5 h.

Un système gastroretentif à base de xanthane a été utilisé comme excipient pour une libération prolongée de 24h [103], le chitosane a été utilisé avec le TPP [104] pour des applications de médicaments à base de poloxamère de gels thermoréversible.

Par ailleurs, la gélification ionotropique du chitosane peut améliorer la résistance et la mucoadhésion du gel poloxamère. En outre, cette gélification in-situ de chitosane peut générer des gels de poloxamère à une dissolution de médicaments à libération prolongée ainsi que des formulations ophtalmiques et nasales [105-107]; ces polymères sont tous capables de former une matrice de gel in-situ, dans des applications pharmaceutique pour la libération prolongée.

De nombreux systèmes de délivrance de médicaments basés sur l'association de l'alginate de sodium et du chitosane ont été rapportés dans la littérature, tels que des billes flottantes employées comme gastroretentifs [108], des systèmes nano-porteurs pour encapsuler les huiles essentielles et ainsi améliorer leur stabilité [109], hydrogels composites stratifiés utilisés comme supports de culture cellulaire et matrices pour la libération témoin [110], les microparticules à base d'alginate/chitosane [111], les billes mixtes alginate-chitosane ou les billes d'alginate enrobées de chitosane comme systèmes d'administration de médicaments à libération prolongée [112], membranes composites bi-couche pour améliorer la cicatrisation processus [113] et systèmes multicouches pour contrôler la libération de médicaments ophtalmiques [114].

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

2.1 Matériels

2.1.1 Principe actif

Le principe actif (PA) utilisé lors de la formulation de la suspension est la Ranitidine, cePA est un antihistaminique H₂ qui inhibe la production des acides gastriques. Il est couramment utilisé pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal et du reflux gastro oesophagien.

La structure de la Ranitidine est présentée sur la Figure 2.1 ; il a une nomenclature N-(2-[(5-[(diméthylamino) méthyl] furan-2-yl) méthylthio] éthyl)-N'-méthyl-2-nitroéthène-1,1-diamine, sa formule brute est C₁₃H₂₂N₄O₃S.HCl, une masse molaire de 314.404 g/mol, et se présente sous forme de poudre beige foncé. Elle est fournie gracieusement par Shasun Pharmaceuticals Limited. Ce principe actif qui a deux pKa, 8.2 et 2.7, est soluble dans l'eau au pH neutre et également soluble dans le milieu gastrique pH 1.2[115].

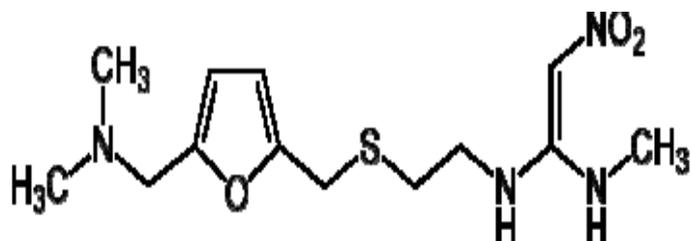


Figure 2.1 : Structure de la Ranitidine

2.1.2 Gaviscon

Le produit de référence est une suspension pharmaceutique commercialisée sous la marque GAVISCON[®]. Ses constituants et quelques-unes de ses caractéristiques sont résumés dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Description du produit de référence

Nom commercial	GAVISCON®
DCI	Alginate de sodium/Bicarbonate de sodium
Dosage	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)
Présentation	Flacon de 250ml
Forme	Suspension buvable

2.1.3 Alginate de sodium

L'alginate de sodium a été fourni par Snap Natural Alginate Product PVT. Limited. Ranipet. A 1% en solution, sa viscosité est de 5.5 ± 2 mPa.s, le rapport M/G (G: groupement guluronique, M: mannuronique) est de 0.66 et la source de son extraction est le *SargassumWightii*.

2.1.4 Gomme xanthane

La gomme xanthane est un biopolysaccharide anionique naturel. Elle est soluble dans l'eau mais pas dans les solvants organiques. Le produit a été fourni gracieusement par Rhodia (Orkila, Algérie).

2.1.5 Carbonate de sodium

Le carbonate de calcium est un excellent antiacide, à effet rapide et prolongé. Il a une haute capacité de neutralisation, c'est un agent opacifiant et complexant [85]. 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.

2.1.6. Bicarbonate de sodium

Le Bicarbonate de sodium, de formule brute NaHCO_3 , est une poudre inodore, blanche et cristalline. Soluble dans l'eau, il est utilisé comme agent tampon. Cette matière a été fournie gracieusement par Biopharm Industrie Algérie.

2.1.7. Parabènes

Deux types de parabènes ont été utilisés pour s'assurer de la bonne conservation antimicrobienne des suspensions [85]. Du méthyle parabène de formule $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ et du propyle parabène de formule $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$. Les deux se présentent sous forme de poudre cristalline blanche, presque inodore avec un goût caractéristique piquant.

2.1.8 Chitosane

Le Chitosane a été obtenu à partir de la chitine extraite de la carapace de la crevette des eaux de la côte Algérienne. Le procédé d'extraction et d'élaboration a été appliqué suivant la méthode développée par Kurita [116].

2.2. Méthodes

2.2.1 Extraction de la chitine et transformation en chitosane

La matière première utilisée pour cette étude est l'exosquelette de crevettes rouge *Aristeus antennatus* et *aristaeomorpha foliacea*, qui nous ont été fournies fraîches. Les carapaces sont décortiquées à température ambiante, lavées puis séchées à l'air libre. Les fragments obtenus sont séchés à 100°C pendant 24h puis broyés [116].

L'extraction chimique consiste en une déminéralisation acide et une déprotéinisation basique.

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 [116].

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 [116].

Quand l'eau de rinçage n'est plus colorée, l'eau distillée est remplacée par un volume de 20ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 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 dans une étuve à 30°C pendant 20 h et en suite à 90°C pendant 12 h.

Le nouveau poids de la coupelle, contenant le produit sec, permet de déduire le rendement massique d'après la formule suivante :

$$Rm = \frac{mf}{mi} * 100 \quad (2.1)$$

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 h 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 [116].

2.2.2 Méthodes de préparation des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine et du processus de gélification in-situ par le système Alginate de sodium-Xanthane

Une quantité appropriée d'alginate de sodium, variant de 3 à 8 g/100ml est dissoute dans de l'eau bi-distillée, contenant les deux conservateurs, à savoir, du méthylparabène de sodium à 0.4g/100ml et du propyl parabène de sodium 0.04g/100ml. Le pH de la solution a été fixé à 7. A cette dispersion colloïdale, est additionnée de la poudre de xanthane variant de 0.3 à 0.8g/100ml, sous homogénéisation. Une fois le xanthane est complètement dispersé à l'état macromoléculaire, du carbonate de calcium est incorporé, variant de 0.5 à 2g/100ml. A la fin, on rajoute 1g/100ml de Ranitidine que l'on disperse, sous homogénéisation.

Le processus de gélification in situ étant le même pour les trois systèmes étudiés, nous proposons alors de le décrire à part dans le paragraphe 2.2.5

2.2.3 Méthodes de préparation des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine par le système Alginate de sodium-Chitosane

Les suspensions sont préparées avec la même méthode que celle décrite précédemment, avec juste la substitution du xanthane par du chitosane variant dans domaine de 0.5 à 2g/100ml. Les conservateurs et le carbonate de calcium ont été éliminés de cette formulation.

2.2.4 Méthodes de préparation des suspensions à « raft forming » à base d'Alginate de sodium et du Chitosane

Du bicarbonate de sodium, variant de 2 à 4 g/100ml, est dissout dans de l'eau bi-distillée auquel on ajoute de la poudre d'alginate de sodium, variant de 3 à 5g/100ml sous homogénéisation. Pour maintenir les particules de chitosane en suspension, nous avons rajouté une quantité de xanthane fixée à 0.5g/100ml. Le Chitosane est ensuite incorporé, en dernier sous homogénéisation. Un ajustement du QSP (Quantité Suffisante Pour) a été effectué par addition de l'eau bi-distillée au volume de 100 ml.

2.2.5 Processus de gélification in-situ

Ce processus consiste à simuler le milieu gastrique in vitro afin d'évaluer l'intensité de la gélification in-situ de chaque suspension préparée. Le système est constitué d'un bécher de 250 ml dans lequel on met un volume d'une solution d'acide chlorhydrique HCl 0.1 N correspondant à 150 ml. Le bécher en question est thermostaté dans un bain marie à une température de 37 °C à l'aide d'une résistante. Une fois la température atteinte, une quantité de 20 ml de chaque suspension est incorporée au centre dans le milieu acide pour provoquer la gélification. Le gel obtenu est identifié par observation visuelle et par analyse rhéologique.

2.2.6 Planification expérimentale

La démarche adoptée pour ces trois formulations est basée sur la planification des expériences. Le recours à cette méthode permet d'obtenir des modèles prévisionnels des réponses étudiées, ainsi que les conditions optimales, et ce avec un minimum d'essais et un maximum de crédibilité.

La stratégie de planification expérimentale adéquate repose sur la modélisation en surface de réponses (RSM), qui s'appuie sur l'utilisation d'un modèle réponse d'ordre 2.

Ceci permet de tenir compte de toutes les interactions simples entre facteurs et leurs effets potentiellement non linéaire. La détermination des coefficients du modèle RSM est basée sur deux méthodes numériques de résolution : la méthode de régression multilinéaire (MLR) et la méthode partielle des moindres carrés: la PLS (Partial Square Least) [117].

2.2.6.1. Cas des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine basées sur le système :

Alginate de sodium-Xanthane-CaCO₃

Le plan d'expériences emprunté est un composite à faces centrées (CCF), contenant 17 essais, dont trois répétitions au centre du domaine de variation. Les trois facteurs de contrôle qui ont un effet potentiel sur les propriétés rhéologiques et biopharmaceutiques sont les concentrations de la gomme xanthane (C_{xanth}), de l'alginate de sodium (C_{AlgNa}) et la concentration de carbonate de calcium (C_{CaCO_3}). Les autres facteurs (PA, parabènes) sont maintenus constants.

Trois facteurs centrés réduits (sans dimension): X_1 , X_2 et X_3 qui sont compris entre -1 et +1, sont associés respectivement aux trois excipients de contrôle : C_{xanth} dans le domaine [3-8%], C_{AlgNa} dans le domaine [0.3 -0,8%] et C_{CaCO_3} dans le domaine [0.5 - 2%].

Le modèle polynomial quadratique avec interaction proposé, s'écrit comme suit :

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 \quad (2.2)$$

Où Y_i représente la $i^{\text{ème}}$ réponse et, a_i représente le $i^{\text{ème}}$ coefficient du modèle.

La matrice d'expériences CCF générée par le logiciel des plans d'expériences, Modde 6.0 (Umetrics), est présentée dans le Tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Matrice d'expériences du plan CCF appliqués dans le cas des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine basées sur le système :

Alginate de sodium-Xanthane-CaCO₃ :

N° Essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
X_1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	0	0	0	0	0	0	0
X_2	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	0	0	-1	1	0	0	0	0	0
X_3	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	0	0	0	0	-1	1	0	0	0

2.2.6.2. Cas des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine basées sur le système Alginate-Chitosane

Par la même démarche, le plan sélectionné dans ce cas et qui obéit aux critères d'optimalité est le plan composite à faces centrées (CCF), contenant 11 essais, dont trois au centre. Les facteurs de contrôle retenus pour ce plan sont les concentrations massiques de l'alginate de sodium, C_{AlgNa} , dans le domaine [3 - 8%] et de chitosane, C_{Chit} , dans le domaine [0.5 - 2%]. Les facteurs centrés réduits X_1 et X_2 sont associées respectivement à la concentration de ces deux excipients. Le principe actif est maintenu fixe à 1%.

Le modèle mathématique quadratique avec interactions proposé, s'écrit comme suit:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{12}X_1X_2 \quad (2.3)$$

Le Tableau 2.3 résume les essais expérimentaux à réaliser dans le cadre de cette étude.

Tableau 2.3 : Matrice d'expériences du plan CCF pour le cas des suspensions LP à base de 1g/100 ml de ranitidine basées sur le système : Alginate de sodium - Chitosane :

N° Essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
X_1	-1	1	-1	1	-1	1	0	0	0	0	0
X_2	-1	-1	1	1	0	0	-1	1	0	0	0

2.2.6.3 Cas des suspensions à « raft forming » à base d'Alginate de sodium et du Chitosane

La matrice d'expériences qui répond à l'objectif de cette étude de modélisation en surface de réponses est un plan orthogonal fractionnaire avec des points centraux de type Box Benhken. Ce plan, généré par le logiciel Modde 6.0 contient 15 essais (Tableau 2.4), dont 3 sont au centre de gravité, afin de vérifier la reproductibilité.

Le modèle RSM s'écrit comme suit :

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_1 + a_3X_1 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 \quad (2.4)$$

Où X_1 est associé à la concentration d'alginate de sodium, X_2 est associée à la concentration de chitosane et, X_3 est associée à la concentration du bicarbonate de sodium.

Tableau 2.4 : Matrice d'expériences du plan Box Benhken appliquée dans le cas des suspensions à « raft forming » à base d'Alginate de sodium et du Chitosane:

N° essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
X ₁	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1	0	0	0	0	0	0	0
X ₂	-1	-1	1	1	0	0	0	0	-1	1	-1	1	0	0	0
X ₃	0	0	0	0	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	0	0	0

2.2.7. Méthodes de caractérisation

2.2.7.1 Propriétés physicochimiques du chitosane

a) 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:

$$\% \text{Humidité} = \frac{\text{Poids de l'échant.humide(g)} - \text{Poids de l'échant.sec(g)}}{\text{Poids de l'échantillon humide (g)}} * 100(2.5)$$

b) 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:

$$\% \text{Cendre} = \frac{\text{Poids du residu calciné(g)}}{\text{Poids de l'échantillon sec(g)}} * 100(2.6)$$

c) Teneur en lipides

La teneur en lipides totales est déterminée par la méthode de Folch en duplicata. Environ 5 g d'échantillon sont 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 ambiante. 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 h). 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:

$$\% \text{ Lipides} = \frac{\text{Poids des lipides(g)}}{\text{Poids de l'échantillon (g)}} * 100(2.7)$$

d) Test de solubilité

Le chitosane obtenu est testé pour sa solubilité dans les milieux acide, basique et neutre. Le test de solubilité est réalisé dans 5 % (v/v) de l'acide acétique, 0.5 M de NaOH et de l'eau distillée. On pèse environ 0.05 g du produit, on y ajoute 50 ml de ses trois solutions séparément, et on les laisse sous agitation pendant 24 h [116].

e) Caractérisation granulométrique de la poudre de 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 et surtout pour assurer une solubilisation aisée dans le milieu gastrique. 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 pour la détermination des tailles des poudres à l'échelle du micromètre.

Ainsi, L'analyse granulométrique a révélé que la taille est loin du grade souhaité. Aussi, on procède de nouveau au broyage de chitosane afin de diminuer sa taille puis 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 inférieurs à 200µm présentant une distribution monomodale de type gaussienne dont le mode est aux alentours de 100µm.

f) 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 de pH-métrie. Il s'agit du titrage acido-basique comme décrit par Tolimate [118]. 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 $\text{pH} = f(V_{\text{NaOH}})$. 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 [118]:

$$\text{DDA}\% = 2,03 \frac{V_2 - V_1}{m + 0,0042(V_2 - V_1)} * 100 \quad (2.8)$$

Où m est la masse du chitosane (g), V1 et V2 sont respectivement les volumes de NaOH ajoutés correspondants aux deux points d'inflexion (ml), 2.03 est un coefficient résultant du poids moléculaire de l'unité de monomère de chitosane et, 0.0042 est un coefficient résultant de la différence entre le poids moléculaire du monomère acétylé et la masse moléculaire désacétylé.

g) 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 CH₃COOH (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 $[5 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-3}]$ 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 $\eta = f(C_{\text{chit}})$

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

$$[\eta] = KM^a \quad (2.9)$$

Où M_v est la 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) [119].

2.2.7.2 Caractérisation des suspensions

a) Analyse rhéologique des suspensions

Toutes les analyses rhéologiques ont été effectuées sur un rhéomètre à contrainte et déformation imposées de marque MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Germany). La géométrie utilisée est de type plan-plan avec $\phi = 5 \text{ mm}$ et $\epsilon = 1 \text{ mm}$. Les résultats expérimentaux sont traités par un logiciel Rheoplus US200.

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 des 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.

Dans le cas des suspensions, nous nous sommes limités à l'analyse des courbes d'écoulement des suspensions en régime continu. Ce type d'analyse permet de faire ressortir des paramètres caractéristiques qui sont susceptibles de refléter l'état mécanique des suspensions sous cisaillement variable et cela de l'état de repos auquel cas les suspensions sont dans un état optimal de structuration à l'état extrême de sollicitation auquel cas ces dispersions sont complètement déstructurées. Nous n'avons pas jugé utile de réaliser des tests de viscoélasticité en régime dynamique aux suspensions, du fait que sur le plan pharmaceutique et d'après la monographie, sont considérées comme des formes liquides.

Le protocole opératoire adopté est le suivant : on met 3ml de la suspension dans le système de mesure plan-plan du rhéomètre à 20°C, on impose alors une rampe croissante

en vitesse de cisaillement de $0,001s^{-1}$ à $1000s^{-1}$. Le temps de mesure entre deux points successifs varie en rampe décroissante logarithmique de 80s à 10s, pour tenir compte des cinétiques de déstructuration des éléments figurés dans la suspension. Ces cinétiques tendent vers des états d'équilibre dynamiques partiels, associés à des viscosités stationnaires. Les courbes d'écoulement pour les suspensions sont données en termes de viscosité de cisaillement apparente, η_{app} (Pa.s) en fonction de la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}(s^{-1})$.

Les courbes seront systématiquement ajustées par le modèle rhéologique le plus adéquat pour faire ressortir des paramètres caractéristiques intrinsèques.

b) Caractérisation morphologique de particules des suspensions

Un Microscope optique (Optika DM-25) est utilisé pour la caractérisation morphologique de toutes les suspensions à l'échelle structurale.

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 sous un agrandissement de (10 x100).

2.2.7.3 Méthodes de caractérisation des gels

a) Analyse rhéologique en régime oscillatoire

Ce type d'analyse permet de déterminer les propriétés viscoélastiques d'un matériau, à savoir, la rigidité par le module de conservation G' et sa partie dissipative, à cause de la viscosité, par le module de perte G'' . On impose, dans le cas d'un rhéomètre à déformation imposée, une déformation sinusoïdale $\gamma(t)$ et on mesure une contrainte sinusoïdale $\sigma(t)$ de la forme (Figure 2.2) :

$$\gamma(t) = \gamma_0 \sin(\omega t) \quad (2.10)$$

$$\sigma(t) = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (2.11)$$

Où ω est la pulsation des oscillations, δ représente le déphasage et est appelé angle de perte. δ est égal à 90° dans le cas d'un liquide purement visqueux ou à 0° pour un solide purement élastique. On peut réciproquement imposer, dans le cas d'un rhéomètre à contrainte imposée, une contrainte sinusoïdale et mesurer la déformation sinusoïdale résultante.

On définit les modules de conservation G' et de perte G'' , relatifs respectivement à l'élasticité et au caractère dissipatif de l'échantillon, comme étant :

$$G' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad (2.12)$$

$$G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad (2.13)$$

La tangente de perte est définie comme le rapport des dissipations sur le stockage d'énergie :

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (2.14)$$

Les polysaccharides en solution sont généralement viscoélastiques, ils ont un comportement intermédiaire entre le solide élastique et le liquide visqueux. Sous cisaillement, ils stockent une partie de l'énergie sous forme élastique, caractérisé par le module de conservation élastique G' , et en dissipent une partie sous forme visqueuse, caractérisé par le module de perte G'' . Lorsque le cisaillement s'arrête, seule la contribution élastique de l'énergie est restituée de sorte qu'une partie des déformations de la configuration macromoléculaire persiste en solution. Aussi, le test de la viscoélasticité des solutions en régime linéaire renseigne sur l'état structural de l'échantillon en évaluant notamment sa rigidité et le caractère de la solution.

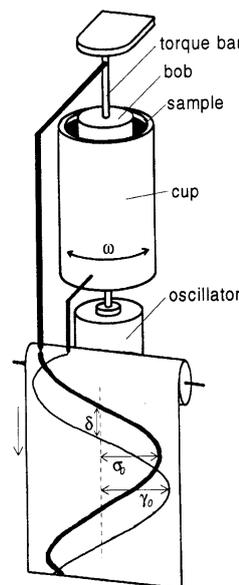


Figure 2.2: Représentation schématique d'une mesure rhéométrique en mode oscillatoire.

Le protocole opératoire adopté pour les gels qui ont été formés in-situ, consiste à travailler en mode d'oscillation, en régime dynamique, avec une fréquence de 1Hz. Ce mode imite le mouvement péristaltique de contraction de l'estomac. On impose alors une rampe croissante de déformation et on mesure les deux modules de conservation, G' et de perte G'' . Ainsi le point gel qui représente le point d'intersection des deux courbes G' et G'' peut être identifié. 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°C conditions de température dans l'estomac.

2.2.7.4 Caractérisation de l'activité 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 oesophagienne 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 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 [120].

2.2.7.5 Caractérisation de l'activité 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, 0.1M) est pompé continuellement au bécher avec un débit de 4 ml/mn. Le contrôle du pH est effectué en fonction du temps [121].

2.2.7.6 Méthode de dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-VIS

Afin de déterminer la longueur d'onde optimale de Ranitidine (PA) par spectrophotométrie UV-Vis dans le milieu gastrique (HCl 0.1N, pH=1.2). On prépare des solutions de principe actif à 10 mg/100 ml dans le milieu gastrique.

Des solutions préparées à base de dilution des suspensions avec et sans principe actif sont également préparées et dosées par UV afin de vérifier la spécificité de la méthode vis-à-vis du PA. Les suspensions sont analysées par spectrophotométrie à des longueurs d'onde allant de 200 à 800 nm pour déterminer le maximum d'absorption de Ranitidine et vérifier la spécificité de la longueur d'onde en présence des excipients des suspensions. Une courbe d'étalonnage est tracée pour le milieu de dissolution étudié.

La spécificité de la méthode vis-à-vis de Ranitidine est vérifiée en effectuant une lecture de suspension à base d'excipients sans PA dans les mêmes conditions que les suspensions standards. Aucune absorbance ne doit apparaître dans la longueur d'onde optimale.

2.2.7.7 Méthode d'analyse de la cinétique de libération du principe actif

Les connaissances acquises sur les phénomènes de mise à disposition des substances actives dans l'organisme après leurs absorptions, ont progressivement conduit la pharmacie galénique à reconsidérer sa mission et à afficher de nouvelles prétentions. La maîtrise de la libération du principe actif à partir des formes pharmaceutiques et celle de la durée d'action des médicaments est l'un des premiers défis lui ayant été proposés. Il est clair, pour que la molécule atteigne la circulation générale et qu'elle y développe son activité, il faut qu'elle franchisse deux étapes importantes correspondant à deux facteurs limitant : La libération puis la dissolution et l'absorption.

L'essai de dissolution trouve son importance dans le contrôle d'une formulation mais aussi pour expliquer son comportement. Il est destiné à déterminer l'aptitude d'une forme galénique à laisser passer en solution, dans un milieu déterminé, le ou les principes actifs qu'elle contient selon un profil et une cinétique maîtrisée. Il permet ainsi la validation des choix à faire aux différents stades de développement de la forme médicamenteuse.

L'analyse de la libération de la ranitidine dans le gel a été réalisée selon une méthode décrite par [122]. Le dissoluteur utilisé de marque Erweka est muni de 08 vases à palettes tournantes réglées à une vitesse de rotation de 75 tr/min. Le milieu de dissolution de 900 ml était constitué d'un fluide gastrique simulé sans enzymes (HCl, 0.1N, pH 1.2) et à une température de 37 ± 0.5 °C [123].

Le dosage du PA de chaque prélèvement est effectué par spectrophotométrie UV/Visible, de marque 1700 pharmaspec Shimadzu à $\lambda = 314 \text{ nm}$.

Les profils de dissolution de tous les essais ont été ajustés par le modèle de cinétique de dissolution de Weibull. Son équation exprime le pourcentage accumulé du principe actif en solution. Q , en fonction du temps. t , d'écriture :

$$Q(t) = Q_{\infty} * \left(1 - \exp^{-\frac{(t-T)^{\beta}}{\alpha}} \right) \quad (2.15)$$

Dans ce modèle, Q_{∞} représente le pourcentage maximal dissout du principe actif pour un temps théorique infini. Dans ce travail, ce paramètre a été pris à sa valeur théorique maximale de 100%. Le paramètre T représente le temps de latence avant le début du processus de dissolution. Pour des temps inférieurs à T , le pourcentage de libération du PA est nul, α est un paramètre caractéristique de l'échelle du temps du processus de libération du PA.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 Elaboration d'une suspension buvable à libération prolongée de type 1:

L'objectif est de mettre au point une suspension médicamenteuse à libération prolongée à 1g/100 ml de Ranitidine basée sur le système : Alginate de Sodium-Xanthane- CaCO_3 (type1) ; elle doit avoir le comportement rhéologique d'un liquide visqueux et donc peut être administrée aisément par voie orale, mais que se transforme, in vivo, en un gel hautement rigide permettant de contrôler la libération du principe actif (PA).

Pour ce faire, nous nous appuyons sur le mécanisme de gélification in-situ qui, par la présence dans l'estomac d'une source de contre-ions divalents de calcium, une complexation électrostatique de biopolymères contenant des groupements anioniques de type hydroxyle, OH^- ou carboxyle COO^- , aura lieu pour former un réseau tridimensionnel où la diffusion du PA sera systématiquement contrôlée par la force du gel.

Dans cette partie d'étude nous avons choisi deux biopolymères, à savoir l'alginate de sodium et la gomme xanthane, ainsi que carbonate de calcium comme source de Ca^{++} .

Les propriétés chimiques et physicochimiques de ces éléments ainsi que leur méthode de préparation ont été présentées et décrites dans les deux premiers chapitres.

3.1.1. Caractérisation physico-chimique des suspensions

Les valeurs du pH et de la densité des suspensions sont consignées dans le Tableau 3.1. Il apparaît clairement que le pH des suspensions finales est neutre voir légèrement alcalin. Sachant qu'en milieu acide, le carbonate de calcium a tendance à se solubiliser, c'est pourquoi il est important de contrôler le pH afin d'éviter une gélification prématurée suite à la libération des ions de calcium.

Pour la densité, toutes les suspensions formulées ont une valeur pratiquement proche de 1, ce qui dénote les éléments qui figurent dans la suspension n'ont aucun effet sur la variation de densité.

D'ailleurs, sur la Figure 3.1 est présentée une photo microscopique d'une des suspensions du plan d'expériences, à l'échelle structurale, et qui illustre clairement la bonne dispersion

des particules du carbonate de calcium en des particules primaire dans la phase continue et l'absence des agrégats.

Tableau 3.1: Caractérisation physico-chimique des formulations

Essais	Densité (g/cm ³)	pH
1	1.047	8.15
2	1.059	8.1
3	1.056	7.7
4	1.067	7.6
5	1.050	7.5
6	1.057	8.1
7	1.053	7.8
8	1.089	7.7
9	1.087	8.3
10	1.085	7.8
11	1.078	7.8
12	1.075	7.7
13	1.077	7.6
14	1.087	7.5
15	1.066	7.8
16	1.056	7,9
17	1.062	8.1

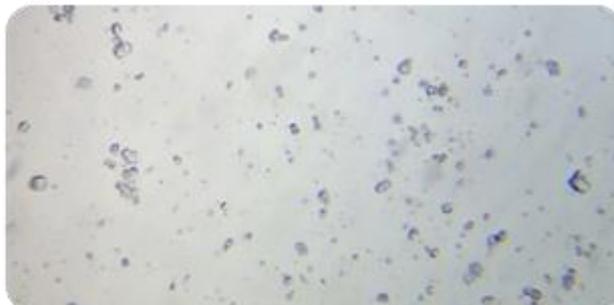


Figure 3.1 : Image illustrant l'observation microscopique des particules de carbonate de calcium dans la phase continue de la suspension (Grx100).

3.1.2 Test de Gélification

Les gels ont été obtenus suite à l'introduction de 20 ml de la suspension finale dans un bécher contenant 150 ml d'une solution d'acide HCl 0.1 N de pH 1.2 à 37 °C [13]. Pour tous les échantillons réalisés, il a été observé que le temps nécessaire pour que le processus de formation du gel a eu lieu est relativement rapide et qu'une période maximale de 05 min, est suffisante pour l'achèvement total de cette opération. Il convient de noter que l'hydrogel a été formé localement. Après 5 min, tous les échantillons de gel ont été soigneusement séparés de la solution, puis placés sur des compresses stériles pendant 30 minutes pour assurer un drainage efficace de la solution acide (Figure 3.2).



Figure 3.2 : Photo du gel d'alginate/xanthane.

La formation du gel résulte de la gélification de l'alginate de sodium induite par des ions divalents de Ca^{2+} libérés lors de la solubilisation du carbonate de calcium en milieu acide. Ces contre-ions permettent de complexer l'alginate de sodium ionisé négativement en alginate de calcium et un réseau tridimensionnel se forme.

3.1.3 Comportement visqueux des suspensions

La Figure 3.3 montre une courbe typique d'écoulement des suspensions réalisées, exprimée en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. Cette courbe semble présenter deux régions newtoniennes, la première, aux très faibles cisaillements et la deuxième aux cisaillements extrêmes. Aussi, son bon ajustement par le modèle de Cross, appuie la présence de ces deux plateaux newtoniens et du comportement intermédiaire rhéofluidifiant. Lorsque la viscosité apparente diminue avec l'augmentation de la vitesse de déformation de cisaillement, les macromolécules de l'alginate de sodium et du xanthane subissent une déstructuration partielle qui dépend de l'intensité du cisaillement et qui se manifeste par leur dispersion, leur déploiement et leur orientation suivant la

direction de l'écoulement, si bien que leur résistance à l'écoulement s'affaiblit. Ce comportement est utile dans le cas d'une suspension orale : cela peut garantir une stabilité potentielle, au repos, par effet hydrodynamique, associée à la première région newtonienne, auquel cas la viscosité est élevée, et une administration aisée au moment de l'emploi qui correspond au comportement de la suspension aux forts cisaillements. Les valeurs du coefficient de détermination (R^2) de tous les essais sont proches de 1. Ce même type de comportement, ajusté par le modèle de Cross a été trouvé par Yahoum et al. [124], dans le cas des solutions de xanthane variant de 0,75 à 1%.

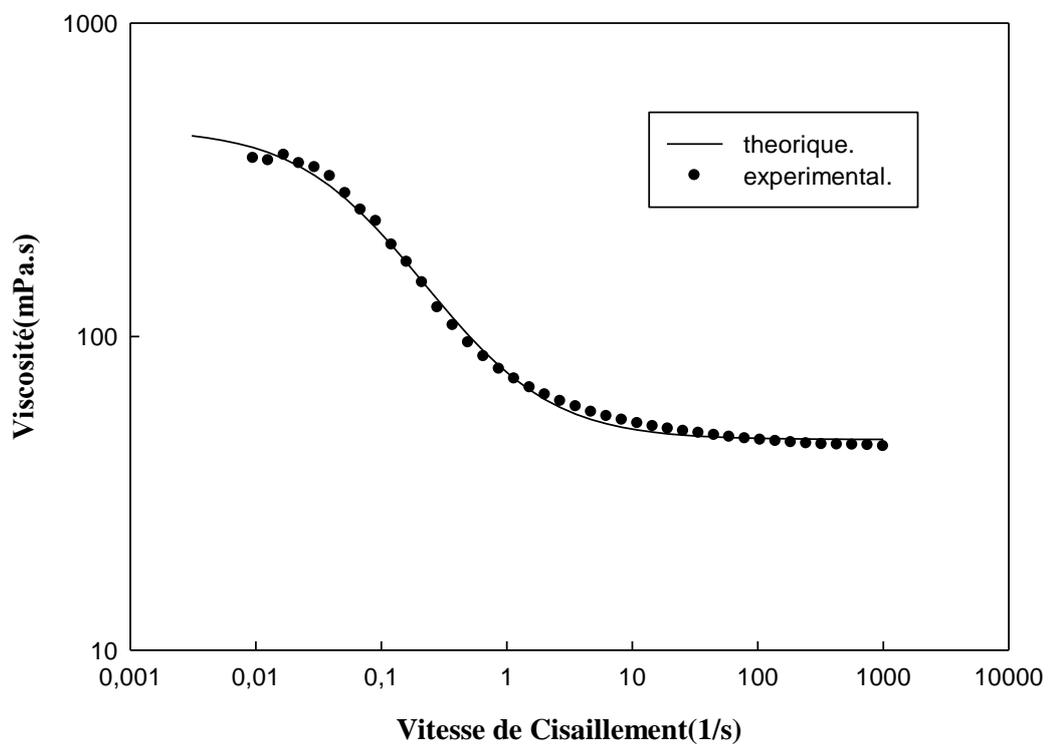


Figure 3.3 : Courbe d'écoulement typique de l'essai E 01 ajustée par le modèle de Cross ($T=20^{\circ}\text{C}$).

3.1.4 Comportement viscoélastique des gels

La Figure 3.4 illustre l'évolution des deux modules G' et G'' , en fonction de la déformation, d'un des gels typique du plan d'expériences. Dans le domaine où le gel se comporte comme un corps visco-élastique linéaire (LVE), auquel cas G' et G'' sont insensibles à la déformation (constants), on remarque que $G' > G''$. Donc, les gels exhibent le comportement d'un solide viscoélastique [125]. Hors domaine du LVE, G' commence à diminuer pour intercepter G'' au point gel ($G'=G''$). Au-delà de ce point, G'' devient

supérieur à G'' , ce qui a pour conséquence une inversion du comportement rhéologique d'un solide viscoélastique à un liquide viscoélastique non linéaire avec un caractère plastique. Dans ce cas de figure, les déformations importantes ne sont plus récupérables totalement.

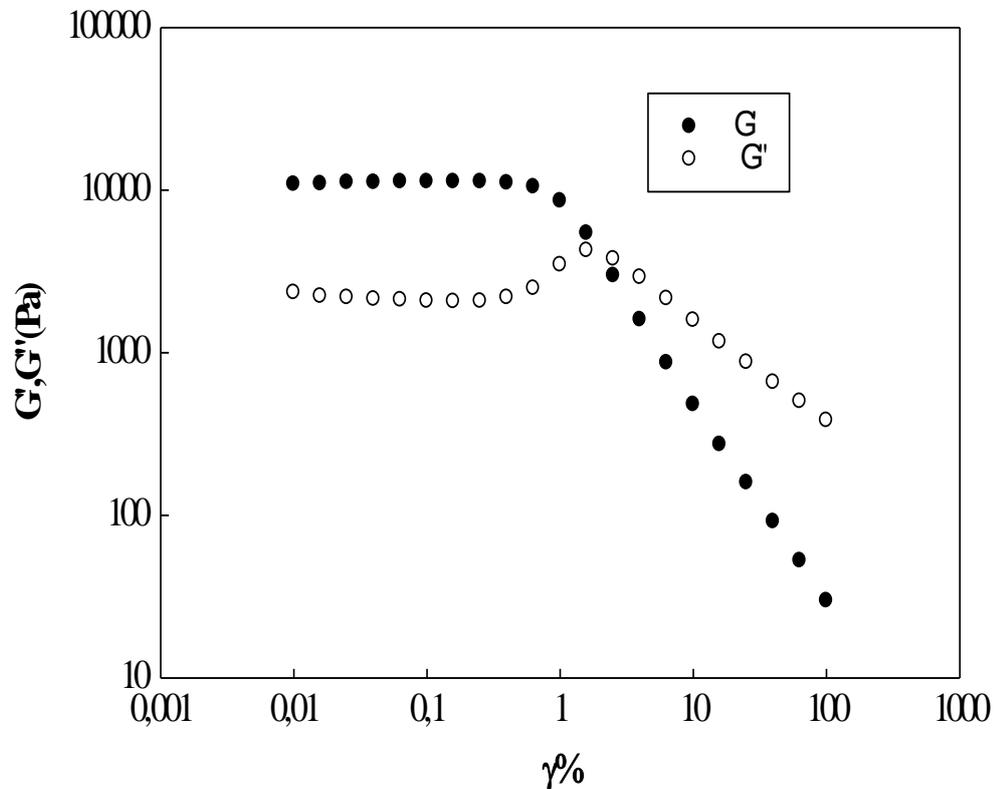


Figure 3.4 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' de l'essai E01 du plan d'expériences en fonction de la déformation (%), $T=37^\circ\text{C}$.

3.1.5. Cinétique de libération du principe actif

A partir des résultats obtenus de la dissolution, le profil de cinétique de libération de la Ranitidine semble ne pas être de type à libération immédiate, à l'image du profil de dissolution d'un des gels présenté sur la Figure 3.5. Sur ce profil, il apparaît clairement que la quantité de médicament libérée ($Q(t)$) évolue sur une échelle de temps ayant l'heure comme unité et que le processus ne commence à s'achever qu'au-delà d'une heure et demi. La modélisation de ce comportement de cinétique par le modèle de Weibull, où la valeur de Q_∞ a été prise à sa valeur maximale de 100%, a donné des résultats satisfaisants associés à des valeurs du coefficient de détermination (R^2) proche de 1.

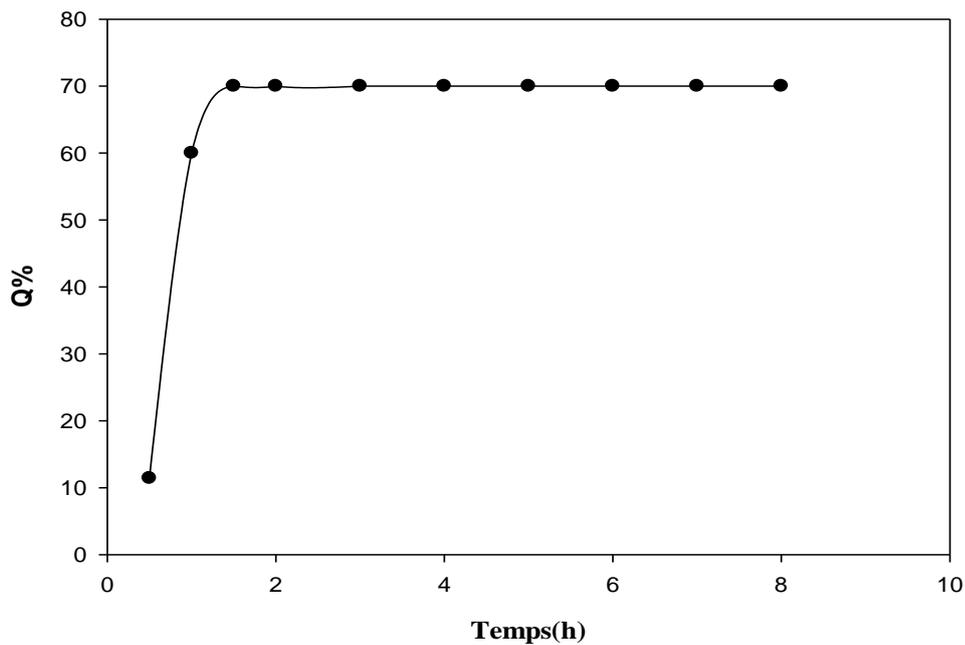


Figure 3.5 : Profil de dissolution typique de l'essai E01 par le modèle de Weibull avec $Q_{\infty} = 100\%$, $T=37^{\circ}\text{C}$.

3.1.6. Modélisation en surface de réponses des résultats

La modélisation en surface de réponses consiste en fait à calculer les coefficients des différents polynômes de réponses par la méthode PLS (Partial Least Square), en s'appuyant sur les résultats des différentes analyses effectuées sur les suspensions (courbe d'écoulement) et les gels (viscoélasticité et dissolution). Sur le Tableau 3.2 sont consignées les valeurs de ces réponses en fonction du numéro des essais de la matrice d'expériences.

Avant d'entreprendre la phase de modélisation, il est intéressant de remarquer que les valeurs associées au paramètre T (temps de latence) du paramètre de Weibull, sont quasiment insensibles à la variation des trois facteurs ; elles fluctuent aux alentours de 0,15h. Aussi, ce paramètre ne sera pas concerné par le traitement de la modélisation, vu que son effet est pratiquement nul. Ce fait peut-être dû aux conditions expérimentales de réalisation des cinétiques de libération et dont les premiers prélèvements d'analyse ont été effectués à ce temps. Ainsi, il n'est pas possible de calculer des temps plus petits pour des raisons de divergence du processus itératif du calcul numérique des paramètres du modèle de Weibull. En effet, dans ce modèle, nous avons un exposant réel qui est le paramètre β . Sur le plan mathématique, une puissance réelle d'une valeur négative n'est pas définie dans le corps des nombres réels mais seulement dans le corps des complexes.

Tableau 3.2: Valeurs de toutes les réponses en fonction du numéro de l'essai dans le cas du système Alginate de sodium-Xanthane-Carbonate de calcium.

Essai	η_{∞} (Pa.s)	η_0 (Pa.s)	$\dot{\gamma}_{cr}$ (s ⁻¹)	P	G'_{LVE} (KPa)	G''_{LVE} (KPa)	T (h)	A	B
1	240.4	548.74	0.3	1.16	58300	17900	0.159	1.82	0.79
2	24.0	247.0	0.3	0.99	3280	573	0.158	0.74	0.41
3	53.76	1837.51	0.06	0.75	64700	12766	0.159	0.92	1.95
4	245.86	845.93	0.11	0.9	13300	2953	0.142	1.81	1.84
5	54.0	1737.0	0.06	0.68	64700	12400	0.156	1.05	0.5
6	335071.0	1873.65	0.09	0.57	87925	11800	0.159	1.86	1.35
7	132.79	3915.75	0.05	0.61	74000	15700	0.159	1.2	1.32
8	76.0	9799.0	0.013	0.9	23500	17900	0.159	0.96	1.13
9	105.03	1101.07	0.08	0.9	11300	2080	0.148	1.24	0.98
10	117.4	1599.37	0.08	1.0	15450	3466	0.157	1.28	0.74
11	62.51	640.0	0.11	1.0	26600	5200	0.157	1.17	2.21
12	370.0	24940.0	0.12	0.82	212000	27300	0.159	1.96	1.12
13	400.0	25000.0	0.12	0.76	212000	27300	0.158	1.58	0.42
14	24.00	247.0	3.33	0.99	3280	573	0.156	0.84	1.37
15	117391.0	1599.37	0.08	0.88	15440	3466	0.158	1.06	0.87
16	47.14	382.3	0.09	1.0	19850	3920	0.149	1.48	0.36
17	62.0	539.0	0.11	0,9	87925	5380	0.159	1.3	0.56

Egalement, la valeur du coefficient de détermination R^2 associé à la réponse (vitesse de cisaillement critique ou $\dot{\gamma}_{cri}$) a été très médiocre ($R^2 \sim 40\%$), due au fait que ce paramètre a été remarqué très fluctuant lors du processus d'identification des paramètres rhéologiques du modèle de Cross par les méthodes d'optimisation, fournies par le logiciel STATISTICA. Aussi, nous jugeons que ses valeurs ne sont pas fiables et de ce fait ne seront pas prises en compte.

Par ailleurs, afin de ne tenir compte que des réponses indépendantes, nous avons analysé les corrélations éventuelles inter-réponses et nous avons décelé une, assez une forte, entre les deux réponses G' et G'' qui est égale à 95%. En conséquence, nous sommes dans l'obligation de ne garder qu'une seule d'entre elles, en l'occurrence le module de conservation G' .

La dernière phase d'investigation, avant la sélection des réponses à retenir, est d'évaluer la qualité des modèles de RSM au sens statistique, après modélisation. La Figure 3.6 illustre le pourcentage des cinq indicateurs de cette qualité, à savoir, R^2 , Q^2 , validité du modèle (Model Validity) et reproductibilité. Il apparaît clairement que la qualité du modèle RSM du paramètre de Weibull β est très faible, vue la valeur quasi-nulle du coefficient de prédiction, Q^2 qui ne nous permet pas d'entrevoir une exploration de ce paramètre en fonction de la variation des excipients.

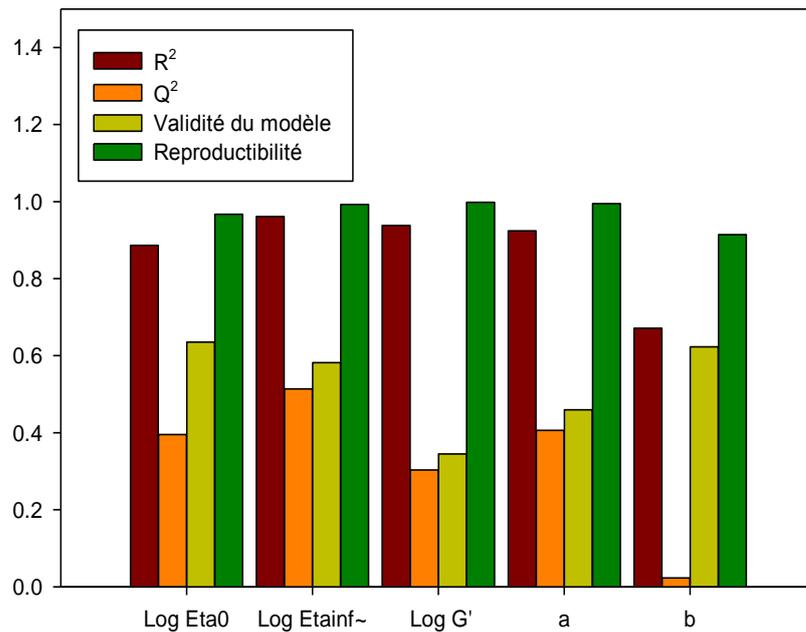


Figure 3.6 : Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des cinq modèles RSM.

En résumé, les réponses qui sont retenues pour la modélisation en surface de réponses, en vue d'explorer les contours iso-réponses sont :

- Les deux viscosités au taux de cisaillement nul, η_0 et extrême η_∞ de la suspension en échelle logarithmique,
- Le module de rigidité du gel G' ,
- Le paramètre caractéristique de l'échelle du temps α du modèle de Weibull

Les valeurs des coefficients et leurs modèles respectifs sont rassemblés respectivement dans le Tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Coefficients des termes des différents modèles de surface de réponses

Coefficient du terme du polynôme	η_0	η_∞	G'	A
Cte	3.12972	1.98896	22945.5	1.29119
Alg	0.299945	0.369858	37141.5	0.353345
Xan	0.479626	0.119278	45061.7	-0.01167
Cac	0.104799	-0.00724	11474.7	-0.04317
Alg*Alg	-0.04928	0.074316	13094.5	0.117784
Xan*Xan	-0.02658	-0.00638	14166.9	0.011462
Cac*Cac	0.135723	-0.05206	16137.4	-0.09251
Alg*Xan	0.115029	-0.01127	16817.2	-0.05316
Alg*Cac	-0.02349	-0.00624	9861.29	-0.00707
Xan*Cac	0.031632	-0.02252	-1611.66	-0.03746

Au regard des valeurs de ces coefficients, qui pour rappel, traduisent l'effet du terme associé, nous remarquons qu'elles ne sont pas du même ordre de grandeur et cela pour chaque réponse. Aussi, pour bien illustrer la contribution de chaque terme par son degré d'effet, nous représentons le graphique associé à ce tableau sur la Figure 3.7.

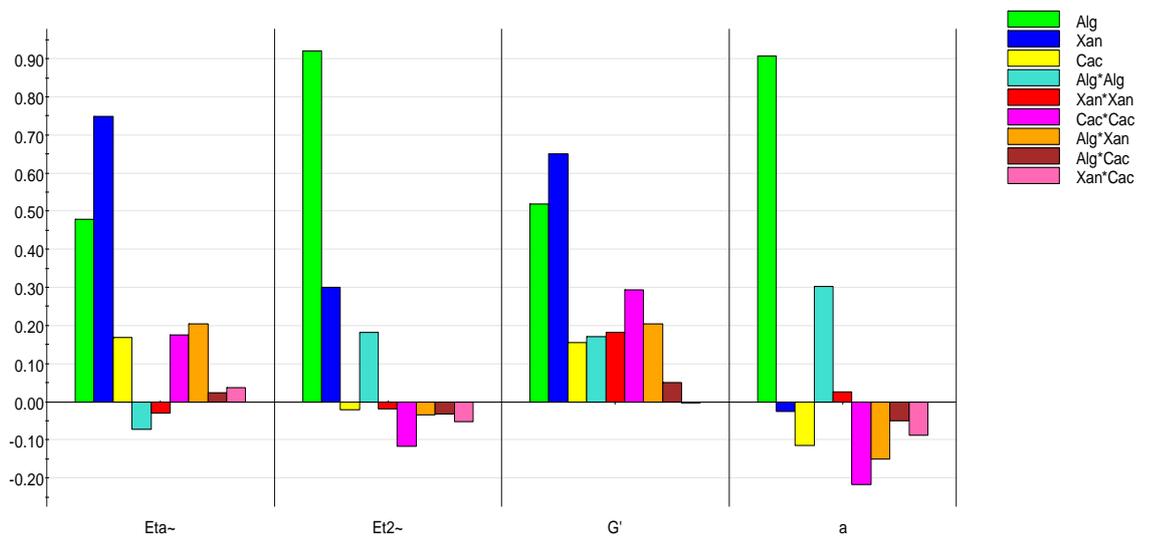


Figure 3.7 : Représentation globale de la contribution de chaque terme des modèles de surface de réponse pour chaque réponse.

Il apparait ainsi :

- Pour η_0 : les deux biopolymères sont les plus influents et leur effet est linéaire et positif. D'ailleurs, leur interaction est synergique mais pas autant importante. L'effet du carbonate de calcium est non linéaire et son interaction avec les deux biopolymères est très faible, quasiment nulle.
- Pour η_∞ : l'alginate de sodium a l'effet le plus important, positif avec une composante non linéaire. A à un degré moindre, le xanthane fait augmenter ce paramètre. Le carbonate de calcium et toutes les interactions sont très faibles et donc insignifiantes.
- Pour G' : les deux biopolymères ont une contribution quasi-égale sur la rigidité du gel. Leur effet est positif et non linéaire et leur interaction, moins importante, est synergique. Le carbonate de calcium a également une contribution sur la rigidité du gel mais n'est pas aussi importante. D'ailleurs son interaction avec l'alginate est positive mais avec le xanthane est pratiquement nulle.
- Pour le paramètre d'échelle de Weibull (α), il apparait de façon nette que c'est l'alginate de sodium qui a l'effet positif le plus important, loin des autres éléments et de leurs interactions.

Au vu de toutes ces constatations, la gélification in-situ est certainement due à la présence des deux biopolymères, à savoir, l'alginate de sodium et le xanthane, et bien évidemment le carbonate de calcium. Lors de l'introduction de la quantité de la suspension dans le milieu gastrique, au pH 1.2, l'alginate de sodium se transforme inéluctablement en acide alginique [126] qui est connu comme étant un gel de faible rigidité. Ce gel ne peut s'interagir avec les contre-ions Ca^{++} , vu son caractère non ionique. De la même manière, les macromolécules du xanthane, au pH 1.2 deviennent non ioniques, leur $pK_a = 2.62$. Ceci leur permet de former un gel par des interactions non-ioniques de type de Van Der Waals. A ce stade, on comprendra les effets propres des deux biopolymères sur la formation du gel, car eux-mêmes se transforment en des gels. En parallèle, les macromolécules des deux espèces de biopolymères peuvent s'interconnecter ou s'enchevêtrer pour renforcer le gel formé. Ceci explique pourquoi nous avons détecté une interaction synergique entre ces deux polymères naturels. Aussi, on peut schématiser les contours iso- G' en fonction de la variation simultanée des deux biopolymères, en fixant la valeur du carbonate de calcium, à sa valeur médiane (Figure 3.8).

Au cours de ce processus de gélification, le carbonate de calcium se solubilise dans le milieu gastrique pour libérer les contre-ions. Au même moment, il a une action alcalinisante qui fait que le pH du milieu gastrique enregistre une cinétique de remontée qui peut dépasser le pKa du xanthane et même le pKa de l'alginate de sodium (pKa = 3,21). Dans cette situation, les deux substances se transforment de nouveau dans leur forme anionique et donc peuvent s'interagir sous un mécanisme ionique avec les divalents Ca^{++} .

Selon la Figure 3.7, ce sont les macromolécules du xanthane qui sont les plus touchées par ce type d'interaction ionique (interaction calcium-xanthane est la plus importante). Pour illustrer ce fait, on se propose de représenter les contours iso- G' en fonction de la variation simultanée du xanthane et du carbonate de calcium, en fixant la concentration de l'alginate de sodium à sa valeur médiane (Figure 3.9).

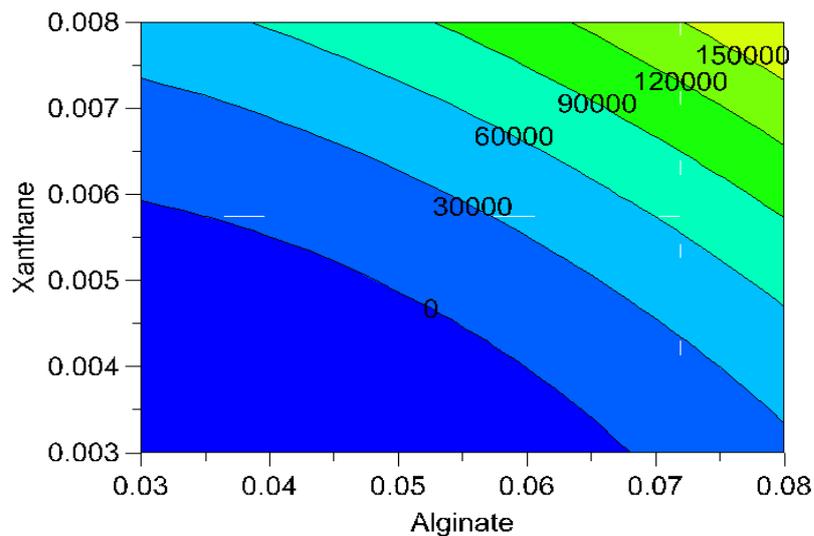


Figure 3.8 : Contours iso- G' en fonction de la variation simultanée des deux biopolymères, $T=37^\circ\text{C}$.

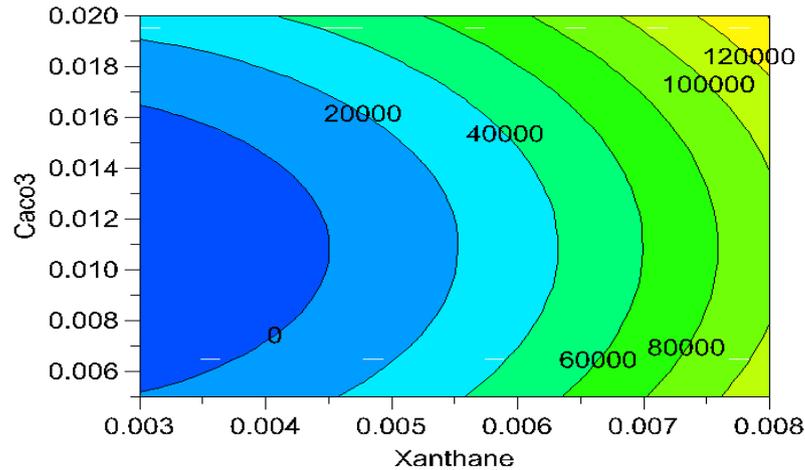


Figure 3.9 : Contours iso- G' en fonction de la variation simultanée du xanthane et du carbonate de calcium, $T=37^{\circ}\text{C}$.

Si le xanthane est l'élément qui semblerait le plus influent sur la formation du gel in-situ, l'alginate de sodium paraît vraisemblablement celui qui gouverne la cinétique de la libération du principe actif (Figure 3.7). Afin de mieux appréhender cette influence, on se propose d'illustrer les contours iso- α en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du carbonate de calcium (Figure 3.10). Aussi, nous confirmons, au vu de ces contours iso- α , que le gradient de cette réponse est quasi-horizontale, parallèle à l'axe de l'alginate de sodium. En conséquence, c'est cet élément qui a le plus de potentialité pour contrôler la libération in-vivo, comme ça été évoqué dans la littérature [41,127]. Par ailleurs, on peut évaluer les valeurs maximales que l'on peut atteindre du paramètre α qui sont aux alentours de 1.9h, justifiant ainsi un processus de libération prolongé. Pour rappel, ce paramètre est caractéristique de l'échelle de temps dudit processus.

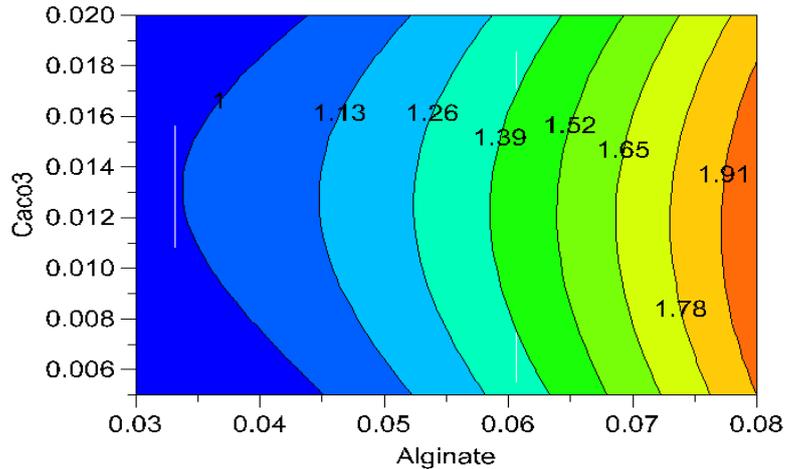


Figure 3.10 : Contours iso- α en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du carbonate de calcium, $T=37^{\circ}\text{C}$.

3.1.7. Conclusion

Dans cette partie de travail, nous nous sommes consacrés à évaluer la potentialité du système ternaire : Alginate de sodium-Xanthane-Carbonate de calcium dans la formation d'un gel in-situ, en ciblant des mécanismes physicochimiques faisant intervenir des interactions non-ioniques puis ioniques, en fonction de l'évolution du pH dans l'estomac. Pour ce faire, nous avons approché cette étude par la méthodologie des plans d'expériences, ce qui a permis d'évaluer et de quantifier la contribution de chaque biopolymère et du carbonate de calcium ainsi que leur interaction sur les propriétés rhéologiques et biopharmaceutiques de la suspension et du gel. A l'issue de cette étude, nous avons fait ressortir quelques points clés qui nous ont éclairés sur les mécanismes qui ont été mis en jeu pour la formation du gel in-situ et les éléments qui en sont responsables. C'est ainsi que le contrôle des propriétés rhéologiques de la suspension est assuré par l'association des deux biopolymères, la gélification in-situ est due principalement au xanthane et de son interaction avec le carbonate de calcium. Toutefois, c'est l'alginate de sodium qui contrôle la libération prolongée de la matière active, comme ça a toujours été évoqué par les auteurs qu'ils l'ont utilisée.

3.2. Conception et caractérisation d'une suspension buvable à libération prolongée de type 2:

Dans ce travail, on envisage de générer une gélification in situ d'une suspension médicamenteuse de type 2 à 1g/100 ml de Ranitidine. Cette gélification est basée sur l'association de deux biopolymères, en l'occurrence, l'alginate de sodium et le chitosane. On prévoit également de s'abstenir quant à l'utilisation du carbonate de calcium, comme source de contre-ions pour provoquer la formation du gel. En effet, la présence de calcium peut être dangereuse pour les patients ayant des problèmes liés à l'hypercalcémie ou à l'ostéolyse [128-129]. Un autre inconvénient majeur est que le gel formé dans le milieu gastrique se détruit facilement, suite à une vidange gastrique dans le milieu intestinal au pH 6,8. Par conséquent, la concentration du calcium libéré augmente considérablement, ce qui génère un problème de surdosage ou d'interactions indésirables avec le médicament.

La méthode envisagée consiste à préparer des suspensions au pH neutre, dans lesquelles le chitosane reste insoluble. Ces suspensions doivent être soumises à une gélification dans le milieu gastrique, suite à la solubilisation du chitosane et son interaction avec l'alginate de sodium préalablement transformé en acide alginique. Le but est d'essayer d'obtenir à la fois un temps de séjour gastrique satisfaisant et une cinétique de libération prolongée.

3.2.1 Caractérisation physico-chimique des suspensions

Le Tableau 3.4 représente les résultats de mesure de la densité et du pH des suspensions formulées. On remarque que le pH est quasiment neutre, ce qui assure la non-solubilité du chitosane dans le système ($pK_a \sim 6.4$). Egalement, on peut remarquer que la densité des diverses suspensions est proche de 1

Sur la Figure 3.11 est présentée une photo microscopique d'une des suspensions du plan d'expériences, à l'échelle structurale, et qui illustre clairement la bonne dispersion des particules du chitosane en des particules primaire dans la phase continue et l'absence des agrégats.

Tableau 3.4 : Caractérisation physico-chimique des formulations

Essais	Densité (g/cm ³)	Ph
essai 1	1.03	7.2
essai 2	1.035	7.5
essai 3	1.006	7.01
essai 4	1.016	7.7
essai 5	1.009	7.4
essai 6	1.035	7.6
essai 7	1.015	7.5
essai 8	1.015	7.15
essai 9	1.015	7.6
essai 10	1.015	7.4
essai 11	1.015	7.4

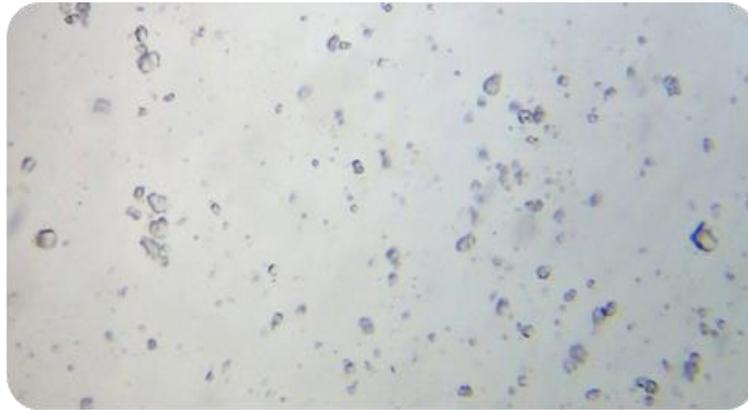


Figure 3.11 : Image illustrant l'observation microscopique des particules de chitosane dans la phase continue de la suspension (Grx100).

3.2.2 Test de gélification

Pour ce test, on utilise le même procédé que celui décrit dans le paragraphe 3.1.2. Ainsi, nous avons pu former des gels localement pour les 11 essais dans le milieu acide à 37°C. Sur la Figure 3.12 est mise une photo illustrant l'aspect macroscopique d'un des gels formés.



Figure 3.12 : Photo du gel formé à base d'alginate de sodium et de chitosane à 37°C dans un milieu gastrique au pH 1.2.

Vue l'absence du carbonate de calcium qui a une action alcaline du milieu gastrique, le pH du milieu ne subira pas un changement notable lors de l'introduction de la suspension. Aussi, la formation du gel résulte des interactions non ioniques, auquel cas l'alginate de sodium se trouverait dans sa forme acide (acide alginique) et le chitosane serait complètement solubilisé avec un caractère cationique. Les interactions qui sont mises en jeu sont telles que les liaisons covalentes, les ponts d'hydrogènes et les interactions hydrophobes [19] contribuant à former un réseau tridimensionnel.

Dans ces conditions, l'acide alginique sous forme non-ionisé [126], devrait former, par liaison hydrogène un réseau de polymères semi-intégrés ou interpénétrant (IPN) [130]. Dans le cas d'une teneur élevée en G-blocs ($G/M > 1$), l'alginate de sodium aura une grande capacité à former des gels acides.

3.2.3 Comportement visqueux des suspensions

La Figure 3.13 montre une courbe typique des courbes d'écoulement des suspensions réalisées. Cette courbe exprime la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement ($\eta_{app} = f(\dot{\gamma})$). Son ajustement par le modèle structural de Carreau d'écriture : $\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (K\dot{\gamma})^2)^P}$, semble bien expliquer les deux régions newtoniennes et le comportement intermédiaire rhéofluidifiant. D'ailleurs, les valeurs du coefficient de détermination (R^2), de tous les essais sont proches de 1. Ce même type de comportement,

ajusté par le modèle de Cross [131] a été trouvé, dans le cas des solutions d'alginate de sodium variant de 1 à 3%, avec $M_w = 1.18 \cdot 10^6$ g/mol et un rapport $M/G=0.38$. Les valeurs des quatre paramètres caractéristiques: η_0, η_∞, K et P sont insérées dans le Tableau 3. 6 de la matrice d'expériences.

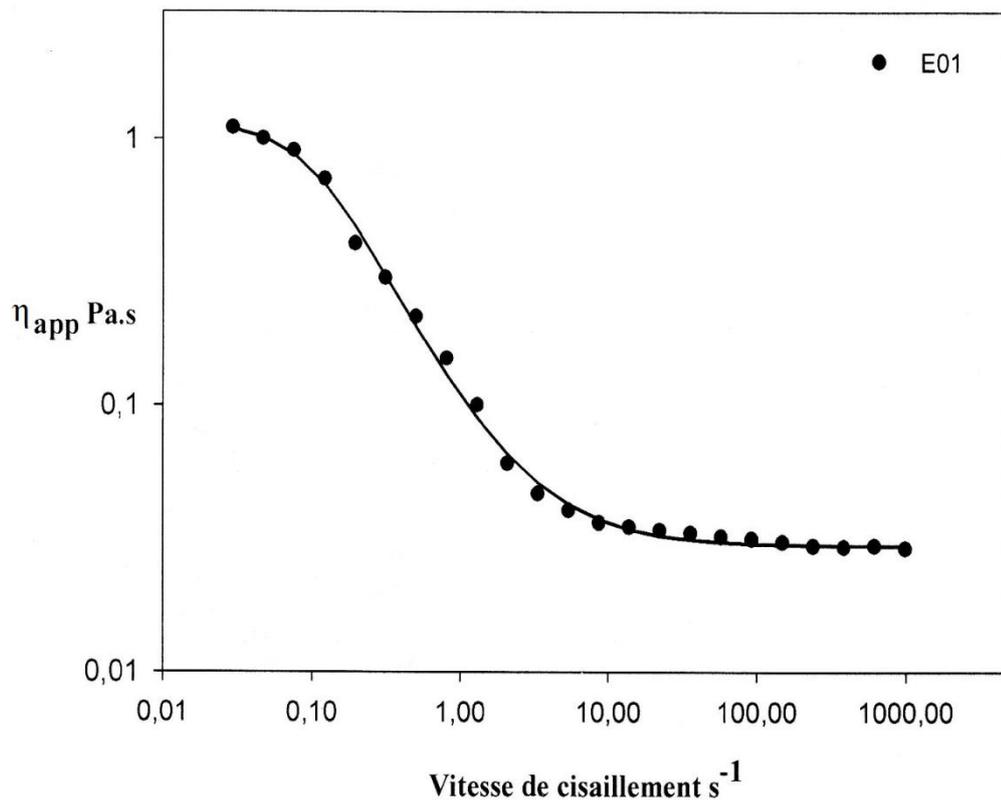


Figure 3.13 : Courbe d'écoulement typique de l'essai E01 ajustée par le modèle de Carreau, $T=20^\circ\text{C}$

3.2.4 Comportement viscoélastique des gels

La Figure 3.14 illustre l'évolution typique des deux modules G' et G'' , d'un des gels du plan d'expériences, en fonction de la déformation. Dans le domaine du LVE, on remarque que $G' > G''$. Donc les gels exhibent le comportement d'un solide viscoélastique [125]. Hors LVE, G' commence à diminuer pour intercepter G'' au point de gel ($G' = G''$). Au-delà de ce point, G'' devient supérieur à G' . En conséquence, le comportement viscoélastique cède la place au comportement d'un liquide à déformation plastique qui n'est récupérable que partiellement.

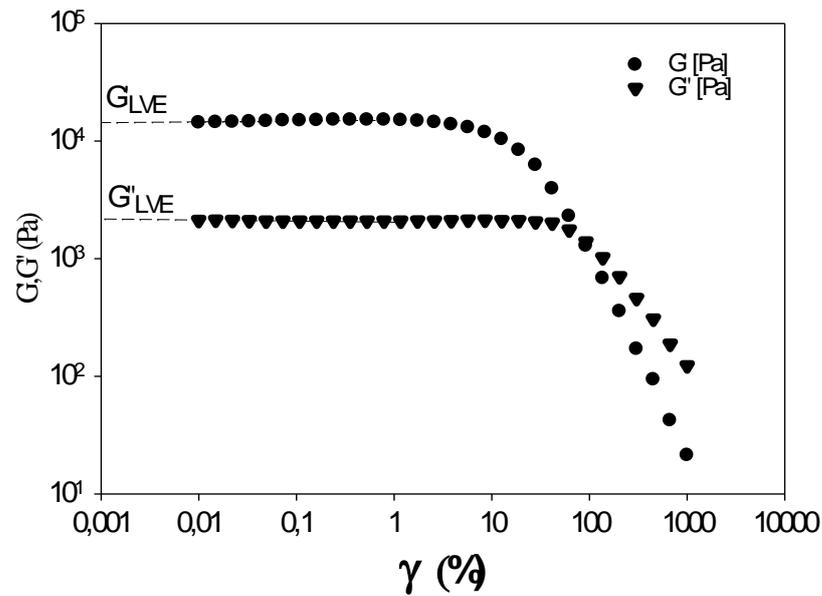


Figure 3.14 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel en fonction de la déformation, $T=37^{\circ}\text{C}$

3.2.5 Cinétique de libération du principe actif

A partir des résultats obtenus, le profil de dissolution de la Ranitidine semble être de type à libération prolongée. En effet, la Figure 3.15 illustre un des profils typiques et montre clairement que la quantité de médicament libéré ($Q(t)$) évolue sur une échelle de temps ayant l'heure comme unité.

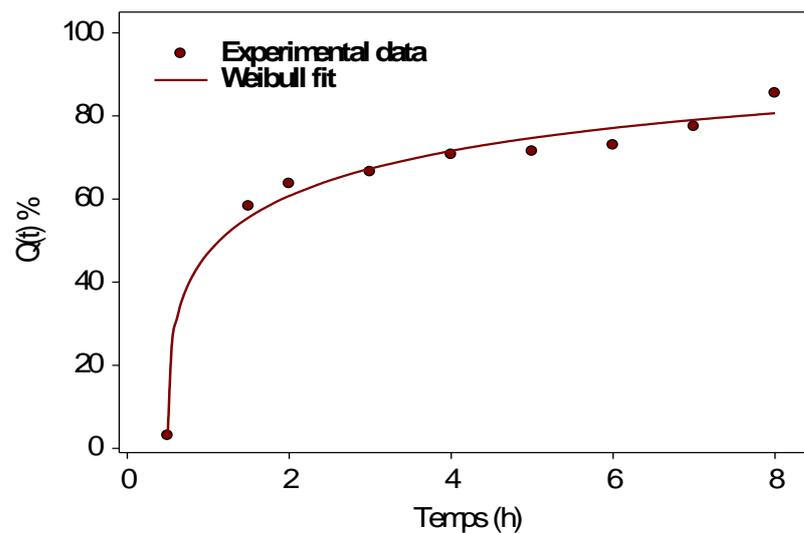


Figure 3.15 : Profil de dissolution typique d'un des essais ajusté par le modèle de Weibull avec $Q_{\infty} = 100\%$, $T=37^{\circ}\text{C}$.

De plus, il a été remarqué que le modèle de Weibull s'intègre bien aux profils expérimentaux (R^2 proche de 1). Les valeurs des paramètres de dissolution caractéristiques sont présentées dans le Tableau 3.5 de la matrice d'expériences.

Pour rappel, le modèle de cinétique de Weibull (Eq.3.1) exprime le pourcentage cumulé du principe actif en solution, Q , en fonction du temps.

$$Q(t) = Q_{\infty} * \left(1 - \exp^{-\frac{(t-T)^{\beta}}{\alpha}} \right) \quad (3.1)$$

Dans ce modèle, Q_{∞} représente le pourcentage maximal dissout du principe actif pour un temps théorique infini. Dans cette étude, ce paramètre a été pris à sa valeur maximale théorique de 100%. Le paramètre T représente le temps de latence avant le début du processus de dissolution. Pour des temps inférieurs à T , le pourcentage de libération du PA est nul. Le paramètre α est un paramètre caractéristique de l'échelle du temps du processus de libération du PA. Lorsque ce paramètre diminue, le profil de dissolution est plus rapide et atteint plus vite 100% (Figure 3.16-A). Le paramètre de forme β a également une influence sur la forme du profil de dissolution et même sur la valeur du pourcentage maximum libéré. Lorsque la valeur de β augmente de 0,1 à 1 (Figure 3.16-B), le profil de dissolution devient plus lent dans la première tranche du temps de libération (première heure) et plus rapide dans la deuxième tranche (après deux heures).

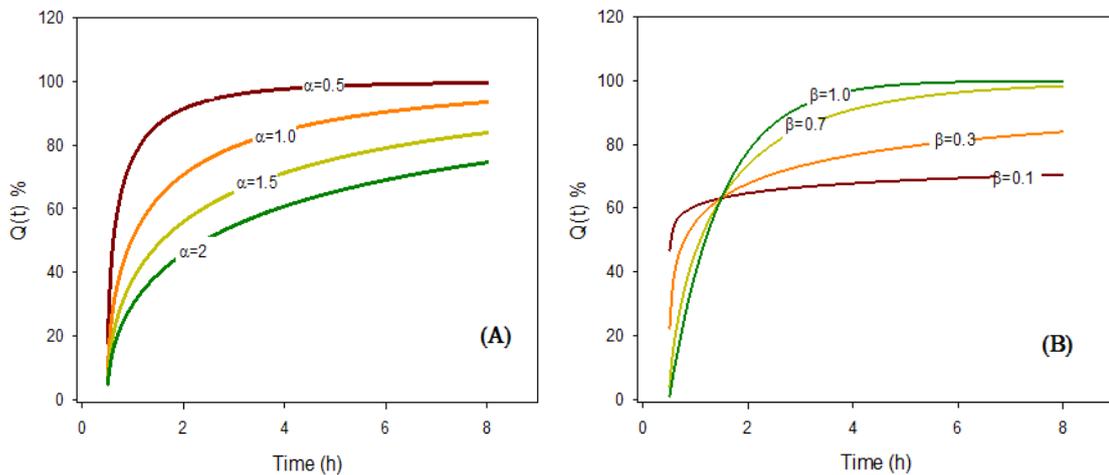


Figure 3.16 : Influence des deux paramètres caractéristiques α et β sur l'allure du profil de dissolution, selon le modèle de Weibull, $Q_{\infty} = 100\%$.

Afin d'exploiter d'autres cinétiques de libération potentielles, deux modèles de dissolution ont été testés: le modèle de Higuchi d'écriture : $Q(t)/Q_{\infty} = K_H\sqrt{t}$ [132] et le modèle de Peppas d'écriture: $Q(t)/Q_{\infty} = K_P t^n$ [133] avec limitation de la libération au-delà de 60%). Cependant, leur l'ajustement n'ont pas été concluants ($R^2 < 0,6$).

A noter que la teneur en calcium dans le milieu de libération a été ignorée car elle n'a aucun effet sur la dissolution in vivo. En effet, El Maghraby et al. [134] ont trouvé que la présence de calcium à 0,15 g/100 ml ou son absence n'avait aucun effet sur les profils de dissolution du Natéglinide à partir de formulations de gélification in-situ à base d'alginate de sodium et de chitosane. En outre, la valeur moyenne de la concentration du calcium dans le suc gastrique, déterminée par spectrométrie d'émission de plasma à couplage inductif, a été trouvée à 0,8 mM/l équivalent à 0,0088 g/100 ml pour les sujets normaux et est donc si faible pour avoir un effet [135].

3.2.6 Modélisation en surface de réponses

Les réponses retenues sont celles qui représentent les propriétés rhéologiques et de dissolution des essais. La qualité, au sens statistique, des modèles PLS, est conditionnée par l'évaluation de quatre paramètres, à savoir le coefficient de détermination (R^2) qui mesure le pourcentage de la variation de la réponse expliquée par le modèle, le coefficient de prédiction (Q^2) qui mesure le pourcentage de la puissance prédictive du modèle (lorsque $Q^2 \geq 0.7$, le modèle aurait une bonne capacité de prédiction et les erreurs de prédiction seront faibles. Le troisième paramètre est caractéristique de la validité du modèle PLS (Model Validity) ; lorsque sa valeur est supérieure à 25%, l'erreur du modèle est dans la même plage que l'erreur pure et donc le modèle est intéressant est exploitable. Le dernier paramètre (Reproductibility) mesure la variation de la réponse dans les mêmes conditions (erreur pure) par rapport à la variation totale de la réponse.

La signification statistique des modèles a également été vérifiée par l'analyse de variance (ANOVA) en utilisant le logiciel Modde (version 6, Umetrics, Suède).

Avant d'entreprendre la détermination des iso-contours, par exploitation des modèles en surface de réponses, nous avons analysé les corrélations potentielles ($R \geq 0.7$) entre les différentes caractéristiques pour ne tenir compte que de celles qui sont indépendantes. Les corrélations potentielles identifiées ont pour équations :

$$\bullet \quad \eta_0 = 0.04\eta_{\infty} + 0.036, \quad R = 0.74 \quad (3.2)$$

$$\bullet \quad \eta_0 = 106.4K - 164.8, \quad R = 0.88 \quad (3.3)$$

$$\bullet \quad \eta_0 = -0.092P + 0.645, \quad R = 0.8 \quad (3.4)$$

$$\bullet \quad G'_{LVE} = 0.138G''_{LVE} + 0.271, \quad R = 0.98 \quad (3.5)$$

Deux réponses indépendantes sont retenues, pour la suite de ce travail, à savoir, la viscosité aux taux de cisaillement nul de la suspension, η_0 et le module de conservation G'_{LVE} du gel. Pour ce qui est des caractéristiques de la dissolution, nous avons remarqué l'absence d'une tendance claire des deux paramètres T et β . Leur valeur oscille dans une fourchette très étroite qui n'a aucune incidence sur l'allure du profil de la libération de la Ranitidine.

$$\bullet \quad \bar{\beta} = 0.46 \quad \text{avec } SD = 0.10 \quad (3.6)$$

$$\bullet \quad \bar{T} = 0.47 \quad \text{avec } SD = 0.03 \quad (3.7)$$

La grandeur SD représente l'écart type (Standard Deviation). Ainsi, ces deux réponses n'ont pas été retenues pour la suite de l'étude.

Tableau 3.5 : Matrice d'expériences du plan CCF contenant différents niveaux des facteurs et les valeurs de toutes réponses en fonction du numéro de l'essai.

Exp No	Facteurs		Paramètres du modèle de Carreau caractéristiques du comportement visqueux de la suspension à 20°C				Paramètres caractéristiques du comportement viscoélastique du gel à 37°C		Paramètres de Weibull caractéristiques de la dissolution à 37°C		
	X_1	X_2	η_∞ (Pa.s)	η_0 (Pa.s)	K	P	G'_{LVE} (KPa)	G''_{LVE} (KPa)	T (h)	α (h)	β
1	-1	-1	0.025	0.78	14.4	0.33	22.0	3.7	0.5	0.85	0.37
2	1	-1	0.028	1.53	14.0	0.56	6.7	1.2	0.49	0.8	0.59
3	-1	1	0.25	4.51	227.2	0.15	56.0	8.2	0.5	1.5	0.48
4	1	1	0.21	5.27	588.2	0.15	14.9	2.3	0.49	1.18	0.55
5	-1	0	0.19	1.43	12.8	0.50	32.4	4.0	0.48	1.3	0.38
6	1	0	0.083	2.30	23.8	0.52	12.6	2.3	0.41	1	0.37
7	0	-1	0.029	1.12	10.8	0.55	6.84	1.1	0.5	0.9	0.54
8	0	1	0.21	4.67	277.7	0.15	34.0	5.34	0.42	1.2	0.65
9	0	0	0.19	2.40	13.3	0.53	19.8	2.95	0.49	1.25	0.368
10	0	0	0.16	2.32	12.9	0.55	20.9	3.1	0.46	1.15	0.43
11	0	0	0.18	2.10	16.9	0.47	26.4	3.8	0.41	1.2	0.39

La Figure 3.17 illustre le pourcentage des quatre indicateurs de la qualité, au sens statistique, des modèles RSM, à savoir, R^2 , Q^2 , validité du modèle et reproductibilité. Il apparaît clairement que la qualité des trois modèles RSM, $\eta_0(X_1, X_2)$, $G'_{LVE}(X_1, X_2)$ et $\alpha(X_1, X_2)$ est satisfaisante et donc les modèles sont potentiellement exploitables en termes de prédiction.

Les résultats de l'ANOVA pour les trois réponses sont rassemblés dans le Tableau 3.6. Il a été remarqué à partir de ces résultats que les modèles obtenus sont statistiquement significatifs, nous prenons en compte les valeurs $F_{(\text{model viscosité})} = 94.8936$, $F_{\text{model}(G')} = 26.8699$, $F_{\text{model}(\alpha)} = 14.4246$ et les valeurs de probabilité ($p = 0.001, 0.001$ et 0.005 pour η_0 , G' et α , respectivement) sont inférieurs à 0.5. Les équations polynomiales (Equations 3.8, 3.9 et 3.10) ont été déterminées par la méthode PLS [115].

$$\eta_0(X_1, X_2) = 2.11 + 0.32X_1 + 1.42X_2 + 0.005X_1X_2 + 0.46X_1^2 + 0.04X_2^2 \quad (3.8)$$

$$G'_{LVE}(X_1, X_2) = 21.45 - 9.84X_1 + 8.95X_2 - 3.87X_1X_2 + 1.43X_1^2 + 0.21X_2^2 \quad (3.9)$$

$$\alpha(X_1, X_2) = 1.18 + 0.09X_1 + 0.17X_2 - 0.041X_1X_2 - 0.018X_1^2 - 0.055X_2^2 \quad (3.10)$$

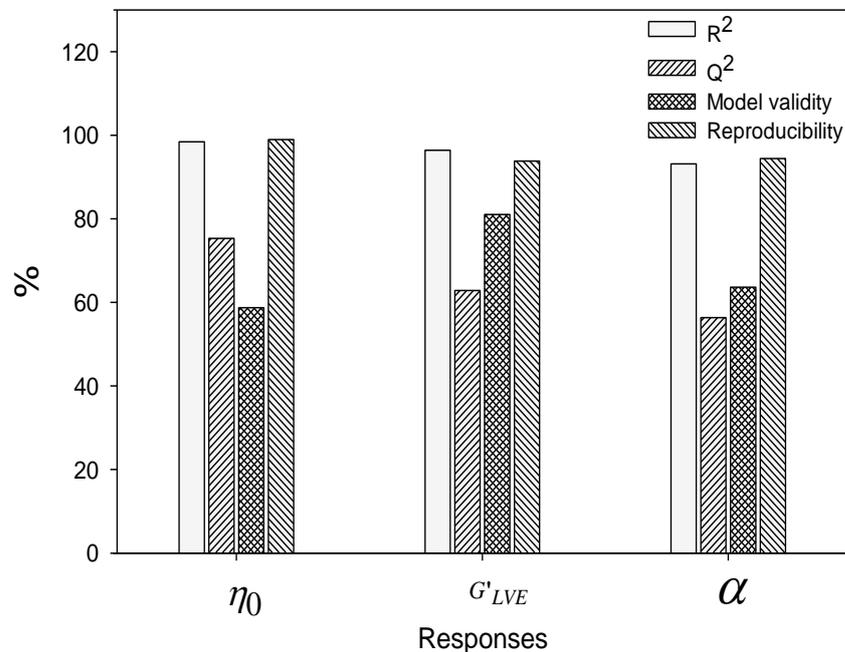


Figure 3.17 : Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des trois modèles RSM.

Tableau 3.6 : Analyse de la variance pour les réponses RSM.

Source	Sum of squares	Degree of freedom	Mean Square	F-value	p	SD
η_0 (Pa.s); Y_1^a						
Model (regression)	23.2889	5	4.6577	94.8936	.001	2.1581
Residual	0.2454	5	0.0490			0.2215
Lack of fit	0.1971	3	80.0657	2.7231	.28	0.2563
Pure error	0.0482	2	0.0241			0.1553
G' (Pa); Y_2^b						
Model (regression)	1953.46	5	390.691	26.8699	.001	19.7659
Residual	72.7006	5	14.5401			
Lack of fit	47.694	3	15.8980	1.2715	.469	3.9872
Pure error	25.0067	2	12.5033			3.5360
α (h); Y_3^c						
Model (regression)	0.41997	5	0.08399	14.4246	.005	0.2898
Residual	0.02911	5	0.00582			0.0763
Lack of fit	0.0241	3	0.0080	3.2153	.246	0.0896
Pure error	0.005	2	0.0025			0.05

^a $R^2=0.990$, $R^2_{adj}=0.979$; ^b $R^2=0.964$, $R^2_{adj}=0.928$; ^c $R^2=0.935$, $R^2_{adj}=0.870$

3.2.7 Etude des contours iso-réponses

3.2.7.1 Contours iso- η_0

La Figure 3.18 montre comment varie la viscosité de la suspension au repos (η_0) en fonction de la variation simultanée du chitosane qui se présente sous forme de particules primaires dispersées dans la suspension, et de l'AlgNa qui occupe la phase dispersante, à l'échelle colloïdale. Quand C_{AlgNa} est inférieure à 6 g/100 ml, η_0 semble être sensible à la variation concomitante des deux biopolymères. Par contre, lorsque C_{AlgNa} dépasse 6g/100ml, le gradient des contours iso- η_0 s'oriente de plus en plus suivant la direction de l'axe de l'alginate de sodium. Ceci démontre l'importance de cet ingrédient qui contrôle la viscosité de la suspension et par la même, la stabilité physique contre la sédimentation [136]. Il est intéressant de remarquer que les valeurs maximale et minimale de la viscosité font partie de la même décade (en échelle logarithmique) qui est de l'ordre de 1Pa.s. Selon l'équation de Stokes [137], cet ordre de grandeur, équivalent à 1000 fois la viscosité de l'eau à la température ambiante (la viscosité de l'eau est de 1mPa.s à 20°C), permet de

ralentir par 1000 fois, le temps de sédimentation, mais reste insuffisant pour assurer une stabilité, à long terme, des particules defloculées du chitosane.

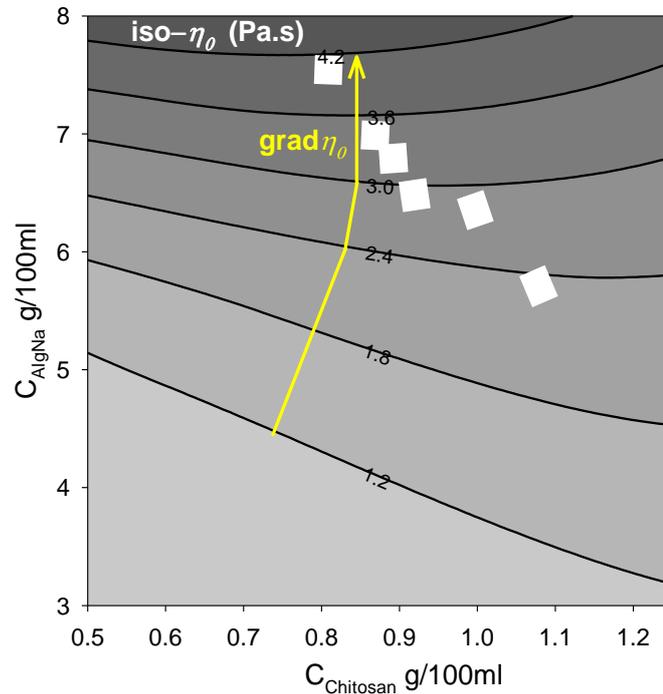


Figure 3.18 : Contours iso- η_0 de la suspension en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane, $T = 20^\circ\text{C}$

3.2.7.2 Contours iso- G'_{LVE}

La représentation graphique de la sensibilité des contours iso- G'_{LVE} du gel, à la variation de la concentration des deux biopolymères, est illustrée dans la Figure 3.19. Le gradient de ces contours, semble prendre une direction constante qui est plus orientée suivant l'axe de l'AlgNa. Ceci démontre l'effet prépondérant positif de l'AlgNa sur le module de conservation du gel. Aussi, nous pouvons déduire que plus nous augmentons la concentration de ce polysaccharide, plus le gel est plus fort. A contrario, ce gradient montre que plus la concentration du chitosane augmente, plus G'_{LVE} diminue. Ceci conduit à présumer que le chitosane, dans son domaine de variation, 0.5% à 2%, a un effet négatif sur la rigidité du gel. El Maghraby et al. [134] ont trouvé qu'en absence de chitosane et d'une source de cations divalents ou trivalents, l'alginate de sodium se transforme en un gel d'acide alginique, relativement mou, dû aux liaisons d'hydrogène avec les groupements carboxyliques. En conséquence, la quantité de chitosane nécessaire et suffisante pour former un gel fort avec l'alginate, est relativement basse mais ne doit pas être nulle. A 0.5% de chitosane, les valeurs du module de conservation, G'_{LVE} des gels peuvent atteindre 50 kPa. Le

mécanisme de la gélification in-situ en présence à la fois d'acide alginique et de chitosane pourrait être le résultat de la formation d'un réseau de chitosane réticulé dans lequel l'acide alginique est piégé [138]. Probablement, ce mécanisme implique des liaisons covalentes (spécifiques au chitosane), des ponts hydrogène (chitosane et acide alginique) et des interactions hydrophobes entre les unités acétylées de chitosane qui sont développées par les deux substances, individuellement et en coopération, en même temps. L'effet du chitosane sur la force du gel, lorsque $C_{\text{Chitosan}} > 0,5 \text{ g/100 ml}$, est probablement dû au plus grand nombre d'unités acétylées de chitosane qui améliorent leurs interactions hydrophobes. En conséquence, une différence d'hydrophilicité entre le chitosane et l'acide alginique devient significative, entraînant des interactions répulsives ségréгатives telles que des interactions d'incompatibilité thermodynamique [139] entraînant une chute de la rigidité du gel et probablement une séparation microscopique des phases, si C_{Chitosan} est encore plus élevée.

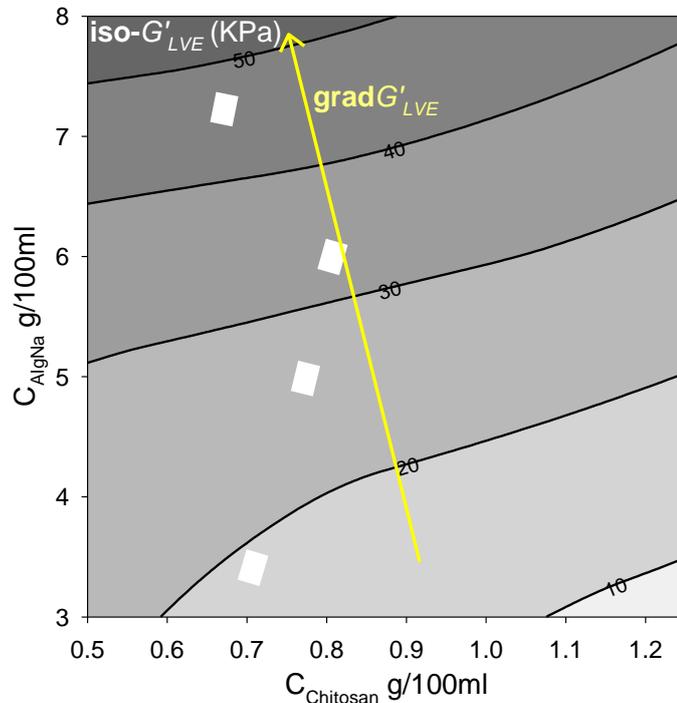


Figure 3.19: Contours iso-réponse du module de conservation G' (Pa) du gel en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane, $T = 37 \text{ °C}$

3.2.7.3 Contours iso- α

La Figure 3.20 montre l'évolution des iso-contours du paramètre d'échelle α en fonction de la variation de la concentration des deux biopolymères. Le gradient de ces contours, orienté dans le sens positif, est conditionné par l'augmentation de la concentration de l'alginate de sodium et de la diminution simultanée de la concentration du chitosane.

A noter, que les profils de libération les plus prolongée sont obtenus pour des valeurs de α maximales. En effet, selon Motwani et al. [140] le paramètre d'échelle (α) représente le temps d'achèvement de $\sim 63\%$ du processus de libération de la matière active.

Dans notre cas, les valeurs maximales de α sont de l'ordre de $\sim 1.5 h$, ce qui dénote le caractère prolongé de la libération. Ces valeurs sont obtenues dans le domaine : $[C_{AlgNa} > 7.5 g/100ml - C_{Chit.} < 0.9 g/100ml]$ qui correspond au même domaine, dans lequel, nous avons obtenu les valeurs, les plus grandes du module de conservation G'_{LVE} . Ceci permet de déduire que plus le gel est fort plus la cinétique de libération est lente.

Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Xu et al. [42] qui utilise la même molécule active (Ranitidine) et la gomme de gellane pour le processus de gélification in-situ. Ils ont constaté que l'augmentation de la viscosité du gel est liée à l'augmentation de la concentration en gomme de gellane. Ces mêmes auteurs ont estimé le temps de séjour gastrique in vivo des gels par la méthode de scintigraphie gamma entre 3 et 8 h, significativement plus élevé que le temps de vidange gastrique standard (2 h).

Ainsi, nous pouvons supposer que le temps de séjour gastrique avec une force de gel plus élevée est également plus grand et, par conséquent, les gels doivent avoir suffisamment de temps pour atteindre la libération de médicament avant la vidange gastrique.

Il faut signaler que l'exposant du modèle de Weibull, β est le paramètre caractéristique de dissolution qui permet de mettre relief le mécanisme régissant la libération [141]. Si $\beta < 0.75$, la diffusion est Fickienne, et si $0.75 < \beta < 1.0$, la diffusion ne l'est pas, impliquant un mécanisme complexe, composé d'une diffusion Fickienne et d'un gonflement de la matrice [142].

Dans notre cas, la valeur de β oscille aux alentours de 0.47 (équation 6). Ainsi, le mécanisme de libération de la ranitidine dans les gels formés in situ, est basé sur une diffusion Fickienne.

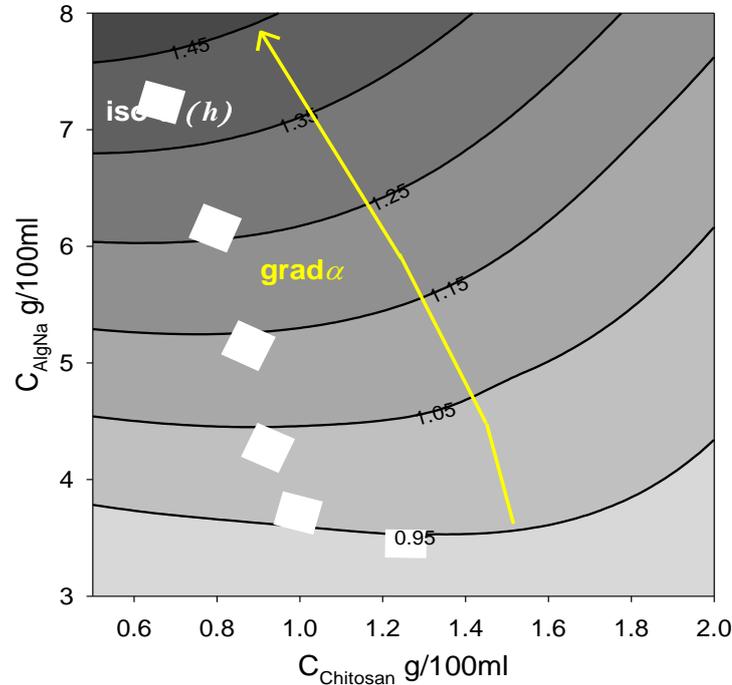


Figure 3.20 : Contours iso-réponse du paramètre de la dissolution α en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. $T = 37^{\circ}\text{C}$

3.2.8 Conclusion

Des systèmes à libération prolongée ont été préparés et évalués, dépourvus de calcium et basés sur la gélification in-situ des suspensions orales contenant de l'alginate sodium et du chitosane. La planification des essais a été exécutée suivant un plan d'expériences de type CCF qui avait comme objectif une modélisation en surfaces de réponses (RSM). L'analyse du comportement visqueux a montré que les suspensions étaient liquides, au repos, présentant une viscosité 1000 fois supérieure à la viscosité de l'eau. L'évaluation du comportement viscoélastique a révélé que les gels exhibaient le comportement d'un solide viscoélastique caractérisé par le module de conservation G' . Ce dernier a pu atteindre des valeurs de l'ordre de 50 kPa lorsque la concentration d'alginate de sodium était supérieure à 7 g/100 ml et celle du chitosane était à sa valeur minimale de 0.5 g/100 ml. L'exploitation des résultats du test de dissolution in vitro, par le modèle de Weibull, a permis de remarquer qu'il ne faut pas mettre une grande quantité de chitosane pour obtenir une libération prolongée de la matière active, au risque d'avoir l'effet inverse.

Dans les conditions optimales : $[C_{AlgNa} > 7.5 \text{ g}/100\text{ml} \text{ et } C_{Chit.} < 0.9 \text{ g}/100\text{ml}]$, La diffusion a été montrée à caractère Fickien, vu que la valeur du paramètre caractéristique β était inférieure à 0,75.

3.3 Formulation d'une suspension anti-reflux à base d'alginate de sodium et de chitosane, générique de la suspension orale GAVISCON®.

Le principe du système anti-reflux de la suspension orale Gaviscon® est basé sur la complexation des macromolécules anioniques de l'alginate de sodium par les contre-ions (Ca^{2+}) libérés par le carbonate de calcium. A l'intérieur du gel formé d'alginate se trouvent piégées des bulles de CO_2 qui ont été libérées par le bicarbonate de sodium et du carbonate de calcium. Tout ceci, génère la production d'un gel mousseux, faiblement dense qui va flotter au niveau de l'œsophage. Une barrière gastrique est ainsi constituée, en haut du contenu de l'estomac qui va empêcher alors les remontées d'acide au niveau de l'œsophage.

Le méthyle parabène et le propyle parabène jouent un rôle important pour la préservation des propriétés saines microbiologiques de Gaviscons®. Sauf que ces deux excipients sont connus pour leur toxicité et sont même soupçonnés comme des substances potentiellement cancérigènes. Egalement, l'emploi du carbonate de calcium peut causer des effets néfastes à la santé, notamment l'augmentation du pH sanguin (alcalose) et 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.

Aussi, l'objectif de cette étude est la mise au point d'une suspension anti-reflux à base d'alginate de sodium et de bicarbonate de sodium, dépourvue de 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. Un plan d'expériences est envisagé pour l'optimisation des paramètres de formulations.

3.3.1. Caractérisation physico-chimique des suspensions

Le Tableau 3.7 regroupe les résultats de la densité et du pH des suspensions formulées ainsi que ceux du produit de référence Gaviscon®. On remarque, à travers ces résultats, 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 conditionnée par la concentration du bicarbonate de sodium.

La Figure 3.21 illustre une photo de la microscopie de la dispersion des particules dans la phase continue de la suspension de référence Gaviscon®. Ces particules insolubles sont celles du carbonate de calcium qui paraissent bien dispersées et bien réparties.

Tableau 3.7 : Valeurs de pH et de densité des essais de formulation et du GAVISCON®

Essais	Densité (g/cm ³)	pH
essai 1	1.063	8.3
essai 2	1.033	8.5
essai 3	1.045	8.2
essai 4	1.042	8.6
essai 5	1.051	8.2
essai 6	1.042	7
essai 7	1.055	8.5
essai 8	1.046	8.4
essai 9	1.051	8.5
essai 10	1.045	8.2
essai 11	1.033	8.5
essai 12	1.046	8.4
essai 13	1.055	8.5
essai 14	1.047	8.2
essai 15	1.038	8.4
GAVISCON®	1.06	8.1

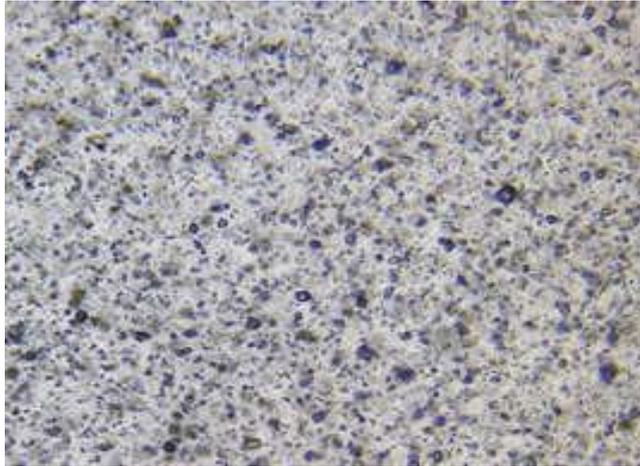


Figure 3.21 : Image illustrant l'observation microscopique (Grx100) de la suspension de référence Gaviscon®.

Sur la deuxième photo microscopique (Figure 3.22) est présenté l'état de la structure d'une des suspensions formulées, de laquelle on peut déduire que les particules insolubles, certainement celles du chitosane, sont de taille homogène et que leur dispersion est satisfaisante.

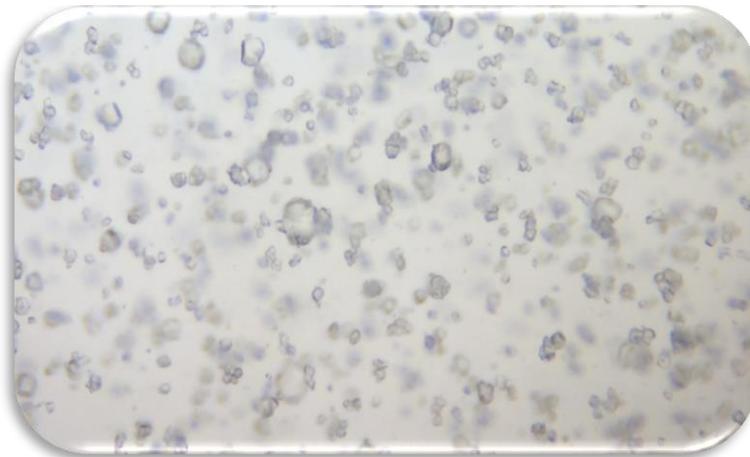


Figure 3.22 : Image illustrant l'observation microscopique (Grx100) de l'essai E01 du plan d'expériences.

3.3.2. Caractérisation de l'activité anti-reflux et formation du radeau

A l'issue de la mise au point du protocole de caractérisation de l'activité anti-reflux, décrit dans le paragraphe 2.2.7.4, on regroupe dans le Tableau 3.8 les résultats de ce test qui consiste à évaluer la formation (ou pas) du radeau, sa vitesse de formation (immédiate,

moyenne ou lente), sa flottabilité (complète ou partielle), son épaisseur (en cm) et sa rigidité (pas rigide, peu rigide, moyennement rigide ou rigide).

Nous remarquons qu'après 30 min, 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 [19].

Par effet de différence de densité, le radeau formé flotte à la surface suite à l'emprisonnement du CO₂ dans le gel qui a été libéré dans le milieu gastrique.

Tableau 3.8 : Résultats des caractéristiques de l'activité anti-reflux des formulations.

Essai N°	Formation du radeau	Vitesse de formation	flottabilité	Epaisseur cm	Rigidité
1	Présence	Immédiate	complète	3.5	Rigide
2	Présence	Immédiate	complète	2	moyennement rigide
3	Présence	Moyenne	complète	2.5	moyennement rigide
4	Présence	Moyenne	complète	2	Rigide
5	Présence	Lente	complète	3	Rigide
6	Présence	Immédiate	complète	1	non rigide
7	Présence	Lente	complète	1.5	Peu 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	3.5	Rigide
13	Présence	Immédiate	complète	1	non rigide
14	Présence	Immédiate	complète	2	Rigide
15	Présence	Immédiate	complète	2	moyennement rigide
Gaviscon®.	Présence	immédiate	complète	3	Rigide

3.3.3 Caractérisation de l'activité antiacide des suspensions

L'analyse de l'activité antiacide, dont la procédure est décrite dans le chapitre II (Matériels et méthodes, paragraphe 2.2.7.4), a été effectuée sur la suspension de référence et sur 03 essais de formulation qui représentent des niveaux différents en quantité de bicarbonate de sodium. Nous pensons que c'est cet ingrédient alcalin qui est responsable des modifications du pH qui peuvent avoir lieu dans le milieu gastrique et donc est important d'appréhender son impact sur le profil de neutralisation. La quantité de bicarbonate de sodium associée aux échantillons concernés par cette analyse est:

Suspension de référence GAVISCON® : 2.67 g/100 ml de bicarbonate de sodium.

- Essai N°15 : 2 g/100 ml de bicarbonate de sodium.
- Essai N°14 : 3 g/100 ml de bicarbonate de sodium.
- Essai N°13 : 4 g/100 ml de bicarbonate de sodium.

Les profils de neutralisation de la suspension de référence et de l'essai E01 sont représentés par la variation du pH en fonction du temps figure 3.23.

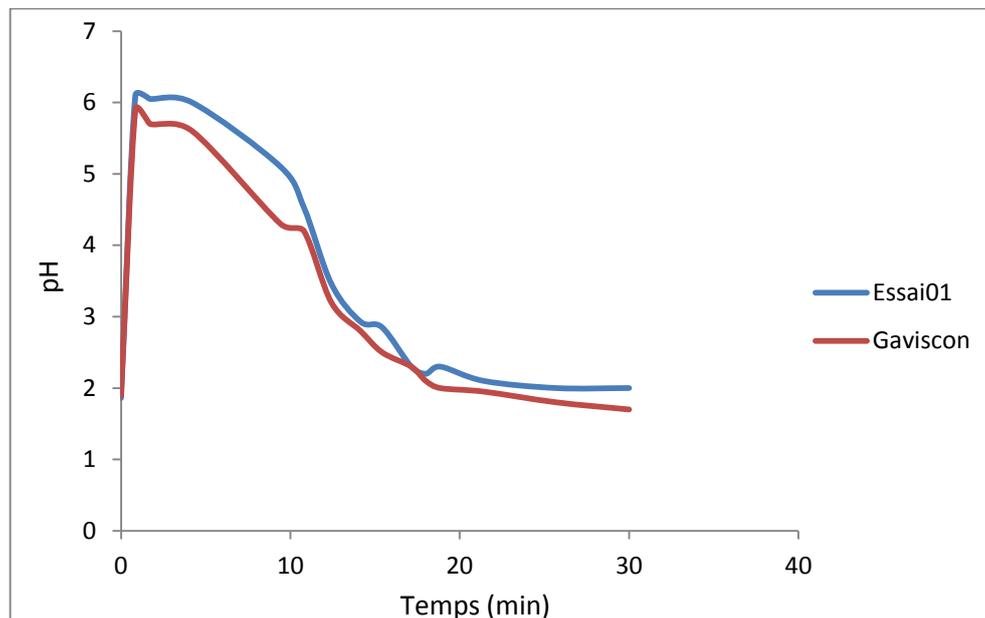


Figure 3.23 : Profil de neutralisation du produit de référence Gaviscon® et de l'essai E01 du plan d'expériences T=37°C

Il apparaît clairement que les deux profils sont quasiment similaires, avec enregistrement rapide d'un pic, aux alentours d'un pH de 5.6 à 5.8 qui correspond à la première phase de

neutralisation due à l'effet alcalinisant du bicarbonate de sodium. Dans cette phase et dans le cas de la suspension Gaviscon®, le processus de gélification peut avoir lieu, grâce à la libération des Ca^{++} du fait que le pH du milieu est inférieur au pKa du carbonate de calcium qui est de 6.4. Par contre, dans le cas des suspensions formulées, sans carbonate de calcium, c'est le chitosane de $pKa \sim 6,5$ qui s'ionise en devenant cationique, d'où l'interaction attractive électrostatique de ses macromolécules avec celles de l'alginate qui, quant-à-elles, restent dans leur forme ionisée anionique, sans omettre la contribution des macromolécules du xanthane qui préservent leur charge négative.

Après le pic du pH, on assiste à un abaissement de sa valeur, sur une durée approximative de 15 mn pour s'établir au $pH \sim 2$. Cette évolution est pratiquement la même pour les deux suspensions (Figures 3.23). Dans cette nouvelle situation, le chitosane reste dans sa forme ionisée cationique, par contre l'alginate de sodium de $pKa \sim 3,4$ peut se transformer dans sa forme non ionisée, à savoir en acide alginique. Cet état de fait est plausible, lorsque les échanges ioniques sont aisés dans le milieu ionique. Dans notre cas, nous avons déjà obtenu un gel ionique qui est très consistant, auquel cas, une quantité considérable du liquide est emprisonnée dans ses mailles. Aussi, faut-il considérer l'efficacité des échanges ioniques, par effet de diminution du pH, jusqu'au poches des liquides emprisonnés qui à leur tour vont modifier le caractère ioniques des macromolécules environnantes du chitosane. Ou doit-on considérer le caractère très visqueux du gel qui empêcherait ces échanges ioniques. C'est pour ces raisons, qu'il est difficile de statuer sur le caractère du gel obtenu (ionique ou pas), lorsque le pH est très bas.

3.3.4. Comportement visqueux et de stabilité des suspensions

Tous les échantillons ont été caractérisés à 20 °C sous cisaillement variable. Leur courbe d'écoulement expérimentale exprimant la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement, $\eta_{app} = f(\dot{\gamma})$ est alors déterminée et ajustée par le modèle structural de Carreau (Eq.3.11) :

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_c}\right)^2\right)^P} \quad (3.11)$$

Où η est la viscosité apparente (Pa.s), η_0 est la viscosité à très faible vitesse de cisaillement (au repos), η_{∞} est la viscosité estimée à vitesse de cisaillement infinie qui a été considérée comme nulle, vue l'absence de la deuxième région newtonienne au niveau de toutes les courbes d'écoulement. $\dot{\gamma}_c$ est une constante caractéristique d'une vitesse de

cisaillement critique à partir de laquelle les éléments figurant en solution subissent un début de déstructuration partielle. Le dernier paramètre, p est l'indice de structure.

Sur la Figure 3.25, nous représentons deux courbes d'écoulement, la première est celle de la suspension de référence et l'autre celle d'un essai typique des suspensions réalisées. Toutes les suspensions enregistrent un comportement newtonien à faible cisaillement et un comportement rhéofluidifiant aux vitesses intermédiaires. L'ajustement obtenu par le modèle de Carreau semble bien expliquer la région newtonienne et le comportement intermédiaire rhéofluidifiant. D'ailleurs, les valeurs du coefficient de détermination (R^2) de tous les essais sont proches de 1.

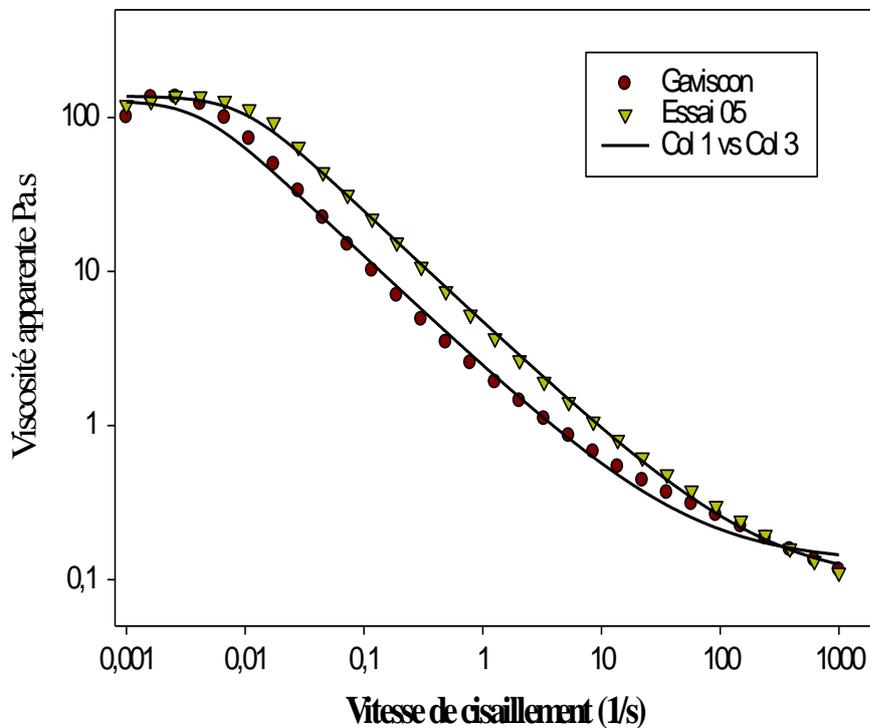


Figure 3.25 : Courbes d'écoulement typique de l'essai E05 et de la suspension GAVISCON® ajustées par le modèle de Carreau, $T=20^{\circ}\text{C}$

A noter que la quantité introduite de xanthane, à 0.5 g/100 ml dans les toutes les suspensions a permis de rehausser la viscosité de quelques-unes d'entre elles, au niveau de la suspension de référence GAVISCON®. Toutefois, en examinant l'ensemble des courbes d'écoulement des suspensions réalisées et en les comparant à la courbe d'écoulement témoin d'une solution de xanthane (seul) à 0.5 g/100 ml, nous constatons qu'il existe des suspensions qui ont subi une chute drastique de leur viscosité (η_0) malgré qu'elles

contiennent 0.5 g/100 ml de xanthane (Figure 3.26). En effet, les essais E02, E04, E06, E08, E09, E13, E14 et E15 ont une viscosité, au cisaillement nul, plus petite que celle du xanthane à 0.5 g/100 ml. Ceci laisse supposer qu'il existe un élément ou plusieurs éléments, dans la suspension, qui auraient un effet néfaste sur la viscosité potentiellement générée par le xanthane.

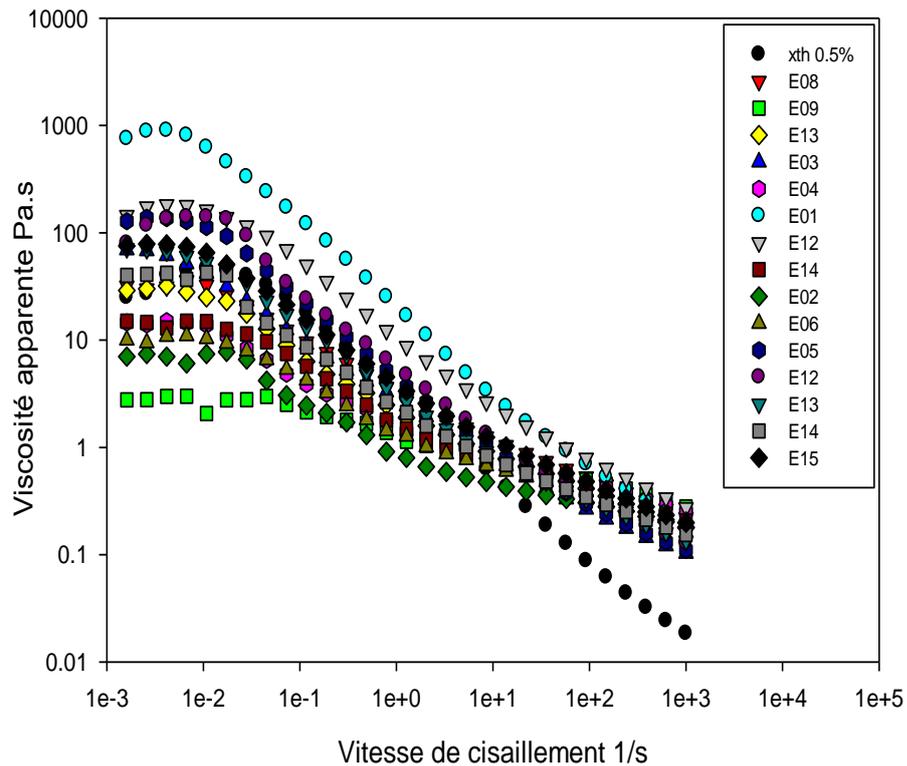


Figure 3.26 : Courbes d'écoulement des suspensions du plan d'expériences et celle du témoin (xanthane à 0,5g/100ml), T=20°C.

Par ailleurs, afin d'appréhender la stabilité physique des suspensions à 20°C contre la sédimentation, nous proposons de réaliser des analyses en régime dynamique dans le domaine de viscoélasticité linéaire, associé à une déformation fixe de 1% et sous une rampe décroissante en fréquence de 100 à 0.01 Hz. Le but est d'évaluer le comportement asymptotique du module de conservation G' aux très faibles fréquences ($\text{Hz} = \text{s}^{-1}$), qui traduit, en l'inversant, un temps. Un résultat typique est représenté dans la Figure 3.27, qui illustre la variation de ces deux caractéristiques en fonction de la fréquence. On remarque que les deux modules sont sensibles à la fréquence lorsque celle-ci est importante. Toutefois, en-deçà d'une certaine fréquence $\sim 0,5 \text{ Hz} (\text{s}^{-1})$, le module G' devient stable, ne dépendant plus de la fréquence. Dans ce domaine, la valeur de G' est supérieure à celle de G'' , ceci

indique de la nature élastique des échantillons mis au point. Mais aussi, l'extrapolation de ces deux plateaux aux très faibles fréquences, à l'inverse à des temps très grands, permet de déduire une préservation des propriétés viscoélastiques de l'échantillon. Aussi, peut-on conclure d'une stabilité potentielle des suspensions formulées, au vu de la conservation de leur rigidité dans le temps.

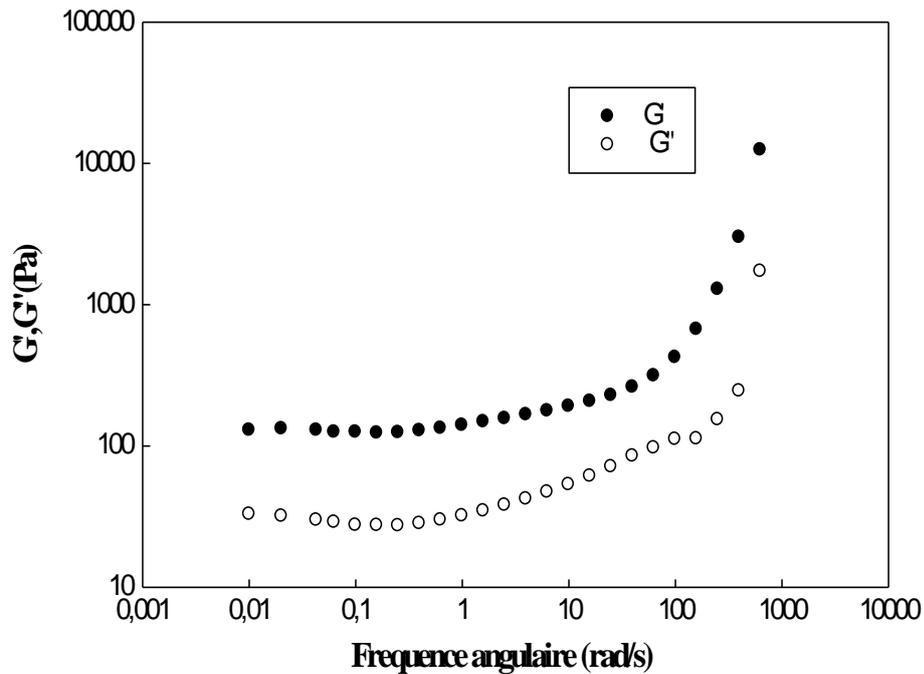


Figure 3.27 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' de l'essai E01 du plan d'expérience en fonction de la variation de la fréquence, $T=20^{\circ}\text{C}$

3.3.5 Comportement viscoélastique des gels de radeaux

La Figure 3.28 illustre l'évolution typique des deux modules G' et G'' d'un des gels du plan d'expériences, en fonction de la déformation. Dans le domaine du LVE, on remarque que $G' > G''$ ce qui dénote que les radeaux exhibent le comportement d'un solide viscoélastique [125]. Hors LVE, G' commence à diminuer pour intercepter G'' au point gel ($G' = G''$) [143]. Au-delà de ce point, G'' devient supérieur à G' . En conséquence, le comportement viscoélastique cède la place au comportement d'un liquide à déformation plastique qui n'est plus entièrement récupérable. Les valeurs des deux modules obtenues du domaine LVE, G'_{LVE} et G''_{LVE} , des 15 essais du plan d'expériences, sont regroupées dans le Tableau 3.10.

Il est intéressant de souligner que les deux modules de conservation G'_{essai} et $G'_{\text{réf}}$ sont comparables ce qui laisse supposer que le chitosane peut faire l'objet d'un agent complexant, au même titre que le carbonate de calcium.

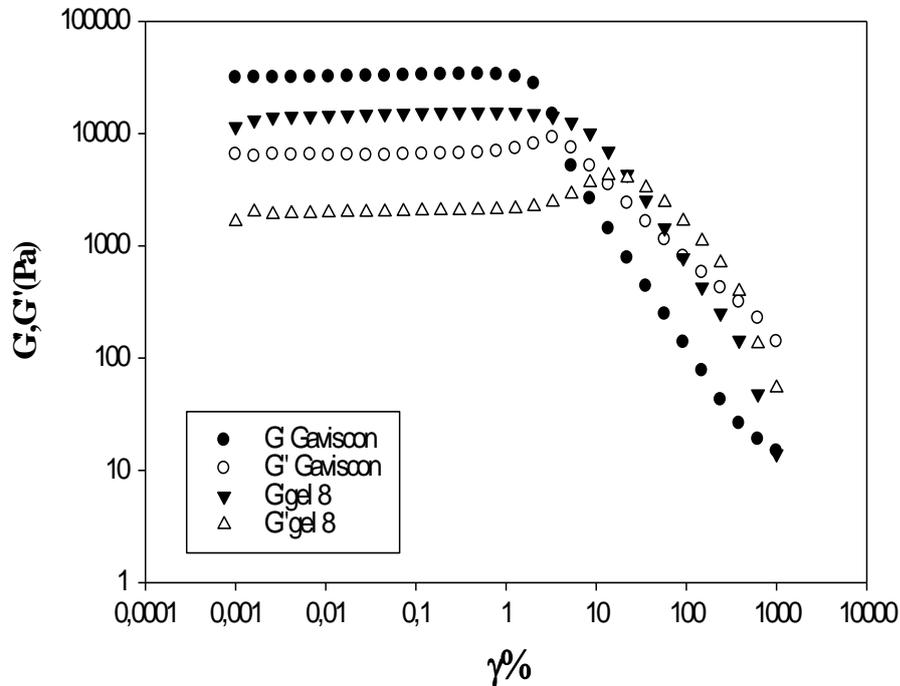


Figure 3.28 : Variation des deux modules de conservation $G'(\gamma)$ et de perte $G''(\gamma)$ des radeaux générés par la suspension GAVISCON® et par une suspension du plan d'expériences, $T=37^{\circ}\text{C}$.

3.3.6 Modélisation en surfaces de réponses

Tous les résultats de la caractérisation des suspensions et des gels sont résumés dans le Tableau 3.10 de la matrice d'expériences du plan Box Benken. Les conditions de sélection des réponses à traiter sont les mêmes que celle décrites dans le paragraphe 3.2.6. Le Tableau 3.9 résume les valeurs des corrélations en inter- caractéristiques. Nous considérons que deux réponses sont significativement corrélées si $R \geq 0,70$.

C'est ainsi que G' est fortement corrélé à G'' , η_0 est corrélé à P et, P est corrélé à $\dot{\gamma}_c$.

Nous proposons alors de ne sélectionner que des réponses indépendantes et qui en même temps offrent plus de sens physique et physicochimique aux suspensions. Dans la suite de cette étude, nous considérons les trois réponses :

- η_0 : viscosité au cisaillement nul des suspensions,
- G' : Rigidité du radeau formé dans le milieu gastrique,
- pH du radeau au pic.

Tableau 3.9 : Matrice de corrélation réponse-réponse, évaluée à partir des valeurs des réponses de la matrice d'expériences.

Coeff. R (Rép-Rép)	η_0	$\dot{\gamma}_c$	G'	G''	P	pH
η_0	1.00	0.56	-0.11	-0.11	0.67	-0.04
$\dot{\gamma}_c$	0.56	1.00	-0.28	-0.28	0.65	0.18
G'	-0.11	-0.28	1.00	1.00	0.04	-0.17
G''	-0.11	-0.28	1.00	1.00	0.04	-0.17
P	0.67	0.66	0.04	0.04	1.00	-0.13
pH	-0.04	0.18	-0.17	-0.17	-0.13	1.00

Tableau 3.10: Matrice d'expériences du plan Box Benhken contenant différents niveaux des facteurs et les valeurs de toutes réponses en fonction du numéro de l'essai.

Exp No	Eléments (g/100 ml)			Paramètres de Carreau caractéristiques du comportement visqueux de la suspension à 20 °C				Paramètres caractéristiques du comportement viscoélastique du gel à 37 °C		pH initial du radeau
	AlgNa	Chit	Bicarb	η_0 (Pa.s)	η_{inf} (Pa.s)	$\dot{\gamma}_c$ (s^{-1})	p	G' (KPa)	G'' (KPa)	pH
1	5	0.3	4	684.9	-	0.01	0.34	136	25.1	5.5
2	4	0.1	2	7.54	-	0.003	0.16	286	47.6	5.7
3	4	0.3	3	74.86	-	0.0026	0.26	5690	918	5.2
4	3	0.5	3	16.54	-	0.0018	0.17	400	83.5	5
5	5	0.5	3	136.9	-	0.006	0.32	341	66.1	5.4
6	3	0.1	3	10.81	-	0.005	0.17	208	37.2	5.1
7	4	0.5	4	103.1	-	0.011	0,31	80,8	14	5,3
8	4	0.3	3	33.34	-	0.006	0.22	307	54.2	6.4
9	5	0.1	3	2.58	-	0.048	0.11	5000	700	6
10	5	0.3	2	83.01	-	0.0045	0.26	897	152	5.2
11	3	0.3	2	78.38	-	0.003	0.27	153	27.1	5
12	3	0.3	4	168.25	-	0.011	0.3	757	136	5.7
13	4	0.1	4	30.86	-	0.0034	0.22	327	54.2	6.4
14	4	0.3	3	15.03	-	0.006	0.19	930	163	6
15	4	0.5	2	44	-	0.0037	0.24	919	140	5

Les modèles en surfaces de réponses des trois caractéristiques retenues ne peuvent être exploités que si leur qualité par rapport au quatre indicateurs, R^2 , Q^2 , validité du modèle et reproductibilité soit satisfaisante. La Figure 3.29 illustre le pourcentage de ces indicateurs qui ont été évalués suite au processus d'ajustement numérique opéré par la méthode PLS. Pour améliorer la qualité des modèles, nous avons eu recours à l'élimination de deux essais de la matrice d'expériences, en l'occurrence E01 et E09. Egalement les deux modèles RSM η_0 et G' ont été traitées en logarithme, ce qui a permis d'améliorer la valeur du coefficient de prédiction (Q^2). Quant-au modèle RSM du pH, nous pouvons constater qu'il n'est pas potentiellement prédictif, aussi on s'abstient quant à son exploitation. Les expressions des deux modèles RSM retenus sont :

$$\bullet \quad \text{Log}\eta_0(X_1, X_2, X_3) = 1,6 - 0,3X_1 + 0,1X_2 + 0,13X_3 - 0,1X_1^2 + 0,02X_2^2 + 0,14X_3^2 + 0,045X_1X_2 + 0,093X_1X_3 - 0,014X_2X_3 \quad (3.12)$$

$$\bullet \quad \text{Log}G^{(X_1, X_2, X_3)} = 2,93 - 0,01X_1 + 0,17X_2 - 0,1X_3 - 0,21X_1^2 - 0,013X_2^2 - 0,13X_3^2 - 0,11X_1X_2 + 0,12X_1X_3 + 0,03X_2X_3 \quad (3.14)$$

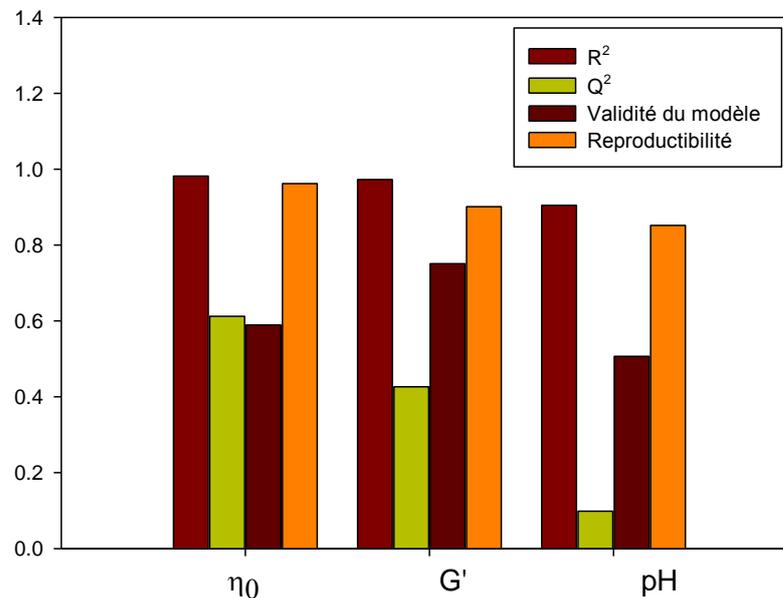


Figure 3.29 : Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des trois modèles RSM

3.3.7. Etude des contours iso-réponses

3.3.7.1 Contours iso- η_0 et iso- G' au niveau bas de Bicarbonate (2 g/100 ml)

La viscosité au taux de cisaillement nul reflète l'état de l'organisation de la structure, au repos, dont les éléments principaux sont le xanthane qui a été mis à 0,5 g/100 ml en vue de renforcer la viscosité des essais et donc garantir leur stabilité. Le deuxième élément qui est connu pour son effet de rehaussement de la viscosité est l'alginate de sodium à l'état colloïdal. Sauf, qu'au regard des contours iso- η_0 (Figure 3.30), il apparaît que cet ingrédient a généré un effet complètement opposé, contrairement aux particules insolubles du chitosane qui contribuent à l'accroissement de la viscosité, particulièrement, lorsque la concentration d'alginate < 3,5 g/100 ml. Ce résultat, inattendu, laisse penser qu'il existe une incompatibilité entre le xanthane et l'alginate de sodium, aux conditions de leur concentration. Boyd et al. [142.] se sont penchés sur cette question et ont trouvé, qu'indépendamment du rapport mannuronate/guluronate de l'alginate, lorsque les deux concentrations des deux biopolymères sont élevées, ils obtiennent une séparation de phase, lorsque la teneur en sel du mélange était augmentée. Les auteurs ont suggéré que les résultats de la séparation de phase, de nature ségrégative, est entraînée par des interactions répulsives entre les deux polyélectrolytes. Cette situation peut justifier la nôtre, du fait que la quantité de sel mise en jeu est importante (le bicarbonate de sodium a été introduit au minimum à 2g/100ml).

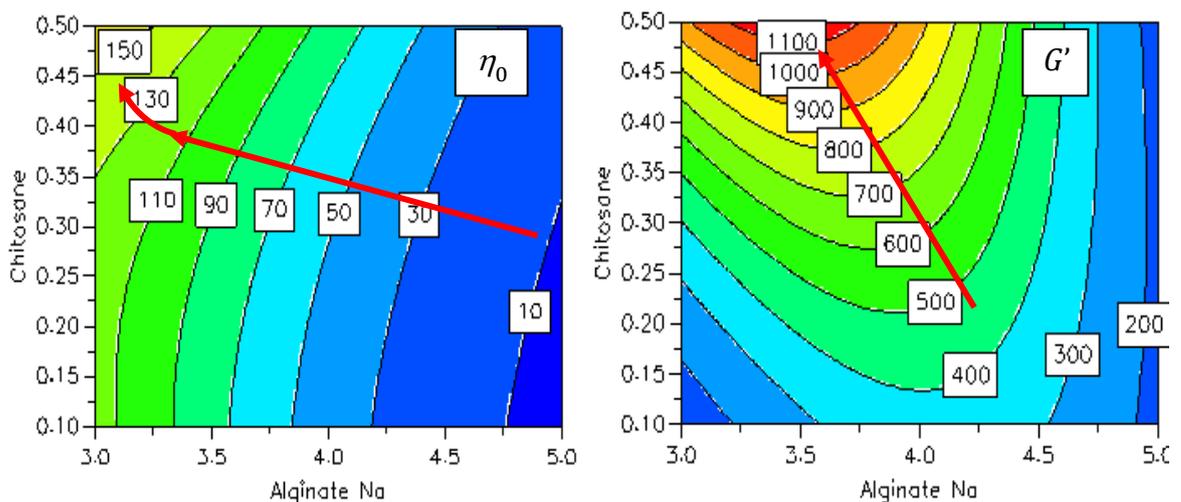


Figure 3.30 : Contours iso η_0 et iso G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. Niveau bas en Bicarbonate

Pour ce qui des contours iso- G' , traduisant l'évolution du module de conservation en fonction de la variation de l'alginate et du chitosane, on peut remarquer que c'est ce dernier qu'il a l'effet le plus important et qu'une concentration de 3 g/100 ml d'alginate suffit largement pour générer une rigidité du radeau aux alentours de 10^3 Pa, comparable à celui du produit de référence GAVISCON®. Vraisemblablement, les suspensions contenant de fortes concentrations en xanthane et en alginate de sodium, auquel cas, une incompatibilité thermodynamique s'instaure, accuseront non seulement une perte en viscosité mais, en plus, leur radeau formé in-situ sera lâche avec des valeurs de G' relativement faibles.

Aussi, il est intéressant de représenter ces contours iso-réponses, dans le cas où la quantité du bicarbonate est à son niveau maximal, pour évaluer l'effet de ce sel sur les interactions ségréгатives xanthane-alginate et leur conséquence sur les propriétés mécaniques du radeau. La Figure 3.31 illustre ces contours pour une concentration de 4g/100ml de bicarbonate.

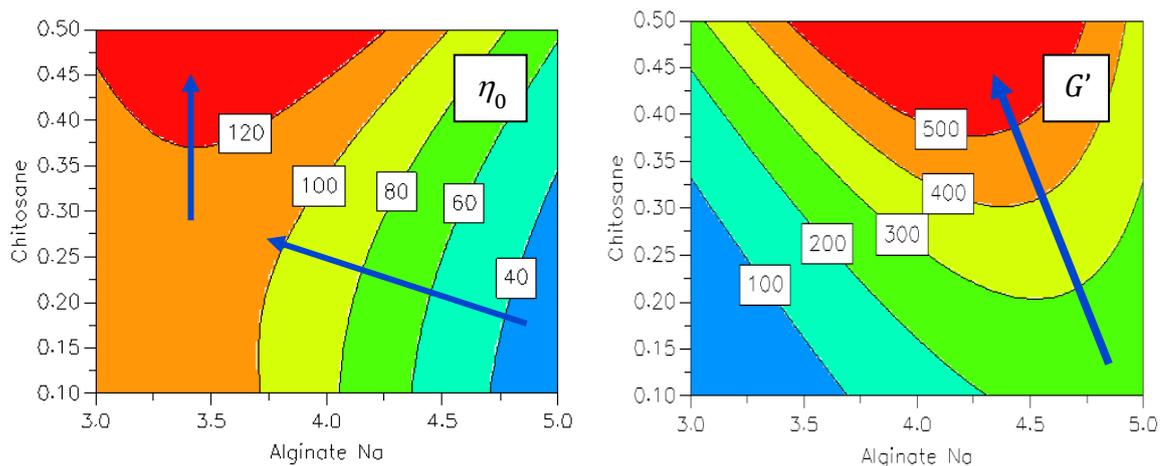


Figure 3.31 : Contours iso η_0 et iso G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. Niveau haut en Bicarbonate

Ainsi, sur les contours iso- η_0 , on peut observer que l'alginate a un effet négatif sur la viscosité, notamment lorsque sa concentration est supérieure à 3,5 g/100 ml. En revanche, en deçà de cette concentration, c'est le chitosane qui manifeste une augmentation de η_0 . Cette même tendance (sur les plans qualitatif et quantitatif) a été observée lorsque la quantité de bicarbonate a été mise à sa valeur minimale. Le gradient des contours iso- G' est conditionné principalement par le chitosane, qui pour rappel, offre une source de cations susceptibles de former des complexes avec les sites anioniques des macromolécules du xanthane et de l'alginate lorsque le $\text{pH} > \text{pKa}$ de ce dernier. Ce même gradient a également été observé dans

le cas où la concentration du bicarbonate est égale à 2 g/100 ml. Toutefois, sur le plan quantitatif, nous assistons à une chute drastique du module de conservation G' du radeau ($G'_{max} = 500 Pa$). Ceci permet de faire l'hypothèse que la quantité élevée du sel (bicarbonate) a aggravé les interactions de ségrégation xanthane-alginate de sodium, si bien que ça a entraîné une influence négative sur la formation du radeau in-situ.

3.3.8 Conclusion

Le but de cette partie de travail consistait à envisager la possibilité de formuler une suspension médicamenteuse à raft-forming dépourvue de carbonate de calcium et des parabènes. Il s'agit d'un gel mousseux qui se forme in-situ et qui constitue une barrière anti reflux pour protéger l'œsophage. Nous avons sélectionné le xanthane pour son pouvoir viscosifiant à 0,5 g/100 ml, l'alginate de sodium du fait qu'elle est très utilisée dans les systèmes à gélification in-situ et le chitosane comme source de cations, pour le processus de complexation in-situ, mais aussi pour ses propriétés antimicrobiennes. Un plan d'expériences de type Box Behnken a été emprunté pour organiser les essais de formulation et pour réaliser une étude fine d'effet des facteurs de contrôle par la méthode de surface de réponses, RSM. Les résultats qui en découlaient de cette démarche ont montré que l'accroissement simultané des concentrations des deux espèces de biopolymères dans les suspensions, a généré un effet négatif de chute de viscosité qui a été aggravé par la présence d'une quantité considérable de sel, en l'occurrence, le bicarbonate de sodium. Tout ceci a eu un effet d'entraînement fatal sur les propriétés mécaniques du radeau. Toutefois, pour des concentrations, faibles en alginate, aux alentours de 3 g/100 ml, il a été possible de formuler des suspensions et des radeaux flottants comparables au produit de référence GAVISCON®, en terme de propriétés rhéologiques. Dans cette partie de travail, nous n'avons pas pu réaliser l'étude microbiologique, pour pouvoir démontrer l'efficacité du chitosane.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail de recherche était de développer des suspensions médicamenteuses dont le mécanisme d'action s'appuie sur la gélification in-situ, de laquelle diverses indications thérapeutiques peuvent être proposées sous un mode de libération ciblé. C'est ainsi que nous avons présenté dans ce mémoire trois systèmes différents, avec un facteur commun. Le traitement est proposé sous la forme galénique d'une suspension, mais une fois la dose administrée par voie orale, se transforme en un gel, suite à des mécanismes physicochimiques qui font appel à différentes interactions, notamment, ionique, non ionique, d'hydrophobie ou covalente. Ces interactions dépendent bien évidemment du pH du milieu gastrique qui est contrôlé par la présence dans la formulation, d'agents tampons, à l'image du bicarbonate de sodium ou du carbonate de calcium.

Pour ce faire, nous avons associé deux polysaccharides anioniques, l'alginate de sodium et la gomme xanthane avec d'autres sources de cations divalents dans le milieu gastrique, en l'occurrence du carbonate de calcium et du chitosane. De ces associations, nous avons mis au point trois systèmes, en vue d'un traitement prolongé associant à la fois une action anti-reflux et un principe actif anti-sécrétoire. A cet effet, deux suspensions orales à libération prolongée à base de Ranitidine et une formulation anti-reflux à base de chitosane ont été formulées et étudiées.

Dans la première partie de notre travail, nous avons formulé un système matriciel constitué du couple alginate-xanthane en présence du carbonate de calcium et des parabènes. La complexation a eu lieu entre les macromolécules de l'alginate de sodium et des cations divalents du calcium, libérés par solubilisation dans le milieu acide de l'estomac, pour former un réseau tridimensionnel entre l'alginate et les contre-ions du calcium de type Egg-box en présence du principe actif qui a été emprisonné dans le gel. Pour planifier les essais de formulation, nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences, ce qui a permis d'évaluer et de quantifier la contribution de chaque biopolymère et du carbonate de calcium ainsi que leur interaction sur les propriétés rhéologiques et biopharmaceutiques de la suspension et du gel. A l'issue de cette étude, nous avons fait ressortir quelques points clés qui nous ont éclairés sur les mécanismes qui ont été mis en jeu pour la formation du gel in-situ et les éléments qui en sont responsables. C'est ainsi que le contrôle des propriétés rhéologiques de la suspension est assuré par l'association des deux biopolymères, la gélification in-situ est due principalement au xanthane et de son interaction avec le carbonate

de calcium. Toutefois, c'est l'alginate de sodium qui contrôlait la libération prolongée de la matière active, comme ça a toujours été évoqué par les auteurs qu'ils l'ont utilisée dans le domaine de la gélification in-situ.

Le deuxième volet de ce travail a été consacré à la réalisation d'une matrice alginate-chitosane dépourvue de calcium, auquel cas, une complexation non-ionique a été envisagée dont le mécanisme est basé sur plusieurs types d'interaction, notamment par des liaisons hydrogène entre les macromolécules de l'acide alginique et celles du chitosane ainsi que par des liaisons hydrophobes entre les unités résiduelles acétylées du chitosane. La planification des essais a été exécutée suivant un plan d'expériences de type CCF qui avait comme objectif une modélisation en surfaces de réponses (RSM). L'analyse du comportement visqueux a montré que les suspensions étaient liquides, au repos, présentant une viscosité 1000 fois supérieure à la viscosité de l'eau. Dans le milieu acide de l'estomac, nous avons déduit que ces polysaccharides formaient un réseau tridimensionnel et piégeaient, par la même, le principe actif (Ranitidine). L'évaluation du comportement viscoélastique de ces gels a révélé qu'ils exhibaient le comportement d'un solide viscoélastique, caractérisé par le module de conservation G' G'' . L'exploitation des résultats du test de dissolution in vitro, par le modèle de Weibull, a permis de remarquer qu'il ne faut pas mettre une grande quantité de chitosane pour obtenir une libération prolongée de la matière active, au risque d'avoir l'effet inverse. Dans les conditions optimales : [$C_{AlgNa} > 7.5 \text{ g}/100\text{ml}$ et $C_{Chit.} < 0.9 \text{ g}/100\text{ml}$], la diffusion a été montrée à caractère Fickien, vu que la valeur du paramètre caractéristique β était inférieure à 0,75.

Dans la troisième et dernière partie expérimentale de ce travail, nous avons élaboré une stratégie de développement d'une suspension médicamenteuse qui produirait, dans le milieu gastrique un système flottant anti-reflux. L'originalité de cette démarche était de ne pas employer l'agent complexant usuel, à savoir le carbonate de calcium et de tenter d'éliminer les parabènes de la formulation. Nous avons, pour ce faire, rajouté du chitosane qui a la capacité de complexer les macromolécules anioniques, au vu de son caractère cationique dans le milieu acide et pour ses propriétés antibactériennes. Nous avons également rajouté du bicarbonate de sodium, dans le but d'ajuster la densité du radeau mais surtout comme agent tampon dans le milieu gastrique, afin d'orienter les interactions de complexation selon le mode ionique. Par ailleurs, nous avons porté notre intérêt sur le xanthane pour son pouvoir viscosifiant à $0.5 \text{ g}/100 \text{ ml}$ et l'alginate de sodium du fait qu'elle est très utilisée dans les systèmes à gélification in-situ. Nous avons organisé nos essais en utilisant un plan

d'expériences de type Box Behnken en vue de réaliser une étude fine d'effet des facteurs de contrôle par la méthode RSM. Les résultats qui en découlaient de cette démarche ont montré que l'accroissement simultané des concentrations des deux espèces de biopolymères dans les suspensions, a généré un effet négatif de chute de viscosité qui a été aggravé par la présence d'une quantité considérable de sel, en l'occurrence, le bicarbonate de sodium. Tout ceci a eu un effet d'entraînement fatal sur les propriétés mécaniques du radeau. Toutefois, pour des concentrations, faibles en alginate, aux alentours de 3 g/100 ml, il a été possible de formuler des suspensions et des radeaux flottants comparables au produit de référence GAVISCON®, en termes de propriétés rhéologiques. Dans cette partie de travail, nous n'avons pas pu réaliser l'étude microbiologique, pour pouvoir démontrer l'efficacité du chitosane.

Ce travail de formulation de suspensions médicamenteuses basées sur la gélification in-situ est loin d'être achevé, il est donc souhaitable de le compléter, en tentant de l'approcher par d'autres techniques d'analyse, pour évaluer avec précision les interactions qui ont produit les gels dans le milieu gastrique et surtout de réaliser une étude microbiologique approfondie, notamment lorsque les parabènes étaient éliminés de la formulation.

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

PA	Principe actif
LP	Libération prolongée
RGO	Reflux gastro-œsophagien
SOI	Sphincter œsophagien inférieur
η_r	Viscosité relative
δ	Angle de perte
λ	Longueur d'onde
$\sigma(t)$	Contrainte sinusoïdale
ω	Pulsation des oscillations
$\dot{\gamma}(s^{-1})$	Vitesse de cisaillement
t(h)	Temps
η_{app} (Pa.s)	Viscosité de cisaillement apparente
γ (%)	Déformation
ϕ	Diamètre du plateau du système de mesure (Rhéomètre)
ϵ	L'épaisseur de l'entrefer
G' (Pa)	Module de conservation
G'' (Pa)	Module de perte
T°C	Température
C_{AlgNa} (%)	Concentration de l'alginate de sodium
C_{CaCO_3} (%)	Concentration du carbonate de calcium
C_{Xanth} (%)	Concentration de la gomme xanthane
C_{Chit} (%)	Concentration du chitosane
C_{NaHCO_3} (%)	Concentration du bicarbonate de sodium
HCl	L'acide chlorhydrique

NaOH	L'hydroxyde de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AbouYoussef, N.A.H., Kassem, A.A., El-Massik, M.A.E., et al., “Development of gastroretentive metronidazole floating raft system for targeting *Helicobacter pylori*”, *Int J Pharm*, V.486,(2015),297–305.
2. Prajapati, V.D., Jani, GK., Khutliwala, TA., et al., “Raft forming system-an upcoming Approach of gastroretentive drug delivery system”, *J Control Release*, V.168, (2013), 151–165.
3. Rajinikanth, P.S., Mishra B.P.S., “Floating in situ gelling system for stomach site-specific delivery of clarithromycin to eradicate *H. pylori*”, *J Control Release*, V.125, (2008), 33–41.
4. Strugala, V., Dettmar, P.W., Thomas, E.C.M., “Evaluation of an innovative over-the-counter treatment for symptoms of reflux disease: quick-dissolving alginate granules”, *ISRN Pharm*,(2012),1-7.
5. Sosnik, A., Das Neves, J., Sarmiento, B.A., “Mucoadhesive polymers in the design of nano- drug delivery systems for administration by non-parenteral routes”, a review. *Prog Polym Sci*, V.39, (2014), 2030–2075.
6. Lefnaoui, S., Moulai-Mostefa, N., “Investigation and optimization of formulation factors of a hydrogel network based on kappa carrageenan–pregelatinized starch blend using an experimental design”, *Colloid Surf A*, V.458, (2014), 117–125.
7. Richardson, J.C., Dettmar, P.W., Hampson, F.C., et al., “Oesophageal bioadhesion of sodium alginate suspensions: particle swelling and mucosal retention”. *Eur J Pharm Sci*, V.23, (2004), 49–56.
8. Laloo, A.K., McConnell, E.L., Jin, L., et al. “Decoupling the role of image size and calorie intake on gastric retention of swelling-based gastric retentive formulations: pre-screening in the dog model”, *Int J Pharm*, V.431, (2012),90–100.
9. Mandal, U.K., Chatterjee, B., Senjoti, F.G., “Gastro-retentive drug delivery systems and their in vivo success: a recent update”, *Asian J Pharm Sci*, V.11, (2016), 575–584.
10. Itoh, K., Kubo, W., Fujiwara, M., et al., “The influence of variation of gastric pH on the gelation and release characteristics of in situ gelling pectin formulations”, *Int J Pharm*, V.312,(2006),37–42.
11. Itoh, K., Yahaba, M., Takahashi, A., et al. “In situ gelling xyloglucan/pectin formulations for oral sustained drug delivery”. *Int J Pharm*, V.356, (2008), 95–101.
12. Remya P. N.*, Damodharan N. and Venkata Anjaneyulu M. “Oral sustained delivery of Ranitidine from *in-situ* gellingsodium-alginate formulation ”*J. Chem. Pharm. Res.*, 3(3), (2011),814-821.

13. Kubo, W., Miyazaki, S., Dairaku, M., et al., "Oral sustained delivery of ambroxol from in situ-gelling pectin formulations", *Int J Pharm*, V.271,(2004),233–240.
14. Miyazaki, S., Kubo, W., Itoh, K., et al., "The effect of taste masking agents on in situ gelling pectin formulations for oral sustained delivery of paracetamol and ambroxol". *Int J Pharm*, V.297, (2005), 38–49.
15. Isabelle Roguet Gaviscon 2017 le Dictionnaire Vidal France.
16. Allan, S., Hoffman "Hydrogels for biomedical applications" *Advanced Drug Delivery Reviews* V.64, (2012), 18–23.
17. Pawar, AY., Jadhav KR., Nikam, MN., "A raft forming system: a novel approach for gastroretention". *Int J Pure App Biosci*. V.3, (2015), 178–192.
18. Sung-Joo Hwang, Gye Ju Rhee, Ki Myung Lee, Kyoung-Hee Oh, Chong-KookKim. "Release characteristics of ibuprofen from excipient-loaded alginate gel beads". *International Journal of Pharmaceutics*, V.116, (1995), 125-128.
19. Berger J, Reist M, Mayer JM, et al. "Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications". *Eur J Pharm Biopharm*. V.57, (2004), 19–34.
20. Dave, BS., Amin, AF., Patel, MM., "Gastroretentive drug delivery system of ranitidine hydrochloride: formulation and in vitro evaluation". *AAPS Pharm Sci Tech*. V.5, (2004),77–82.
21. Jean-David, Zeitoun, et al "Hépatologie gastro-enterologie chirurgie digestive " 3^{ème} édition (2011).
22. Jacques Frexinos, Louis Buscail "Hepato-Gastro-Entérologie Proctologie" Edition Masson (2004).
23. Caroline J.P.Vinel "Hépatogastro-entérologie " (2008).
24. Lee Goldman, Andrew I. Schafer, Jean-Louis Schlienger " Medicine maladies gastro-intestinales", (2013), Edition Masson, Paris.
25. Marie Meslier " Place du conseil officinal dans la prise en charge du reflux Gastro-œsophagien " Thèse de doctorat (2014) l'Université Toulouse III - Paul Sabatier.
26. Rinaudo, M., "Role of Substituents on the Properties of Some Polysaccharides", *Biomacromolecules*, 5(4), (2004), 1155-1165.
27. Stanford ECC (1881) Br Patent 142.
28. Stanford ECC "New substance obtained from some of the commoner species of marine algae"; algin .*Chem News* 47 (1883a): 254 – 257.

29. Stanford ECC “New substance obtained from some of the commoner species of marine algae”; *algin*. *Chem News* 47 (1883b), 267–269.
30. H.A.,Rehm “Alginates : Biology and Applications”,Springer,V.13, Series Editor : Alexander Steinbüchel,Germany.
31. Fisher, FG., Dörfel, H., “Die Polyuronsäuren der Braunalgen (Kohlenhydrate der Algen)”, *Z Physiol Chem*, V.302, (1955),186–203.
32. Arne Haug et al, “Uronic acid sequence in alginate from different sources” *Carbohydrate Research*, V.32, (1974), 217-225.
33. Mouloud Lezehari “ Préparation et caractérisation de supports adsorbants à base d’argiles pontées et d’alginate : Application à l’adsorption de composés organiques et métaux lourds”, Thèse de Doctorat, (2011), page31.
34. Miyazaki, et al. “Oral sustained delivery of paracetamol from *in situ* gelling xyloglucan formulations”. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29, (2003) 113-119.
35. Miyazaki, S., Aoyama, H., Kawasaki, N., Kubo, W., Attwood, D., “*In situ* gelling gellan formulation as vehicles for oral delivery”, *J. Control. Release*, V.60, (1999), 287-295.
36. Endo, H., Watanabe, Y., Matsumoto, M., Shirotake, S., “Preparation and evaluation of heat-sensitive melting gel-acetaminophen gel”, *Jpn. J. Hosp. Pharm.*, V.26,(2000), 250-258.
37. Giovana Bonat., “Celli Development and evaluation of a novel alginate-based *in situ* gelling system to modulate the release of anthocyanins”, *Food Hydrocolloids*, V.60, (2016), 500-508.
38. Martinsen,A.,Skjakbraek,G.,and Smidsrod,O., “ Alginate as Immobilization Material.1.Correction between Chemical and Physical-Properties of Alginate Gel Beads”, *Biotechnol. Bioeng*, V. 33, (1989), 79-89.
39. Seely, G.R., and Hart, R.L., “The binding of alkaline earth metal ions to Alginate”, *Macromolecules*, V.7, (1974), 706-710.
40. Wong,M.,“ Alginates in tissue engineering ». *Biopolymer Methods in tissue Engineering*.A.P.Hollander and P.V.Hatton,eds”, Humana Press,Totowa,New Jersey,(2004).
41. Miyazaki, S., Kawasaki, N., Kubo, W., Endo, K., Attwood, D., “Comparison of *in situ*gelling formulations for the oral delivery of cimetidine”, *Int. J. Pharm*, V.220, (2001), 161-168.
42. Haoping, Xu., “A Novel *In Situ* Gel Formulation of Ranitidine for Oral Sustained Delivery”*Biomol Ther*, V. 22, (2014), 161-165.

43. Miyazaki, S., Kawasaki, N., Endo, K., Attwood, D., “Oral sustained delivery of theophylline from thermally reversible xyloglucan gels in rabbits”, *J. Pharm. Pharmacol.*, V. 53, (2001),1185–1191.
44. Miyazaki, S., Ishii, K., Nadai, T., “The use of chitin and chitosan as drug carriers”, *Chem. Pharm. Bull.*, V. 29, (1981),3067–3069.
45. Lueben, H.L., Lehr, C.M., Rentel, C.O., Noach, A.B.J., De Boer, A.G., Verhoef, J.C., Junginger, H.E., “ Bioadhesive polymers for the peroral delivery of peptide drugs”, *J. Control. Rel.*, V.29,(1994), 329-338.
46. Lehr, C.M., Bowstra, J.A., Schacht, E.H., Junginger, H.E., “*In vitro* evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers”, *Int. J. Pharm.*, V. 78, (1992),43-48.
47. Kubo, W., Miyazaki, S., Dairaku, M., Togashi, M., Mikami, R., Attwood, D., 2004. “Oral sustained delivery of ambroxol from *in situ*-gelling pectin formulations”. *Int. J. Pharm.*, V. 271,(2004), 233-240.
48. El Maghraby, G.M., Elzayat, E., Alanazi, F., “Development of modified in situ gelling oral liquid sustained release formulation of dextromethorphan”. *Drug Dev Ind Pharm*, V.38, (2012), 971–978.
49. El Maghraby, G.M., Elsisy, A.E., Elmeshad, G.A., Elmeshad, “Development of liquid oral sustained release formulations of nateglinide: in vitro and in vivo evaluation”, *J Drug Del Sci Technol*, V.29, (2015), 70–77.
50. Martinez-Ruvalcaba, A., Chornet E., Rodriguez, D., “Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels”, *Carbohydr Polym.*, V.67, (2007), 586–595.
51. Lefnaoui, S., Moulai-Mostefa, N., “ Polyelectrolyte complex based on carboxymethyl-kappa-carrageenan and Eudragit RL 30D as prospective carriers for sustained drug delivery”, *Chem Eng Res Design*, V.97,(2015),165–174.
52. Shanmugam, S., Manavalan,R.,Venkappayya,D.,Sundaramoorthy,K., Mounisamy,V.M., Hemalatha,S., Ayyappan,T., "Natural products radians,Annu. Res". Rep,V.4, (2005), 478–481.
53. Rebiha Mounia, “Electrocinétique et rhéologie du xanthane en solution. Application à la formation et la stabilité d’une émulsion de caseinate de sodium”, Thèse de Doctorat, Université Blida 1, 2014.
54. Jeanes, A., Pittsley, J.E., and Senti, F.R., “Polysaccharide B-1459: A new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation”, *Journal of Applied Polymer Science*, 5(17), (1961), 519-526.
55. Raymond, C., Rowe et al., “ Handbook Excipients, Fifth Edition”, (2006), page 821.
56. Simon, J-L., “Gomme xanthane; agent viscosant et stabilisant”, F4300, 10/12/2001.

57. Sangamesh, G., Kumbar Cato, T., Laurencin Meng Deng, “Natural and Synthetic Biomedical Polymer”, First edition, 2014.
58. Escudier, M.P., Gouldson, I.W., Pereira, A. S., Pinho, F. T., and Poole. R. J., “On the reproducibility of the rheology of shear-thinning liquids”. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 97(2-3), (2001), 99–124.
59. Rigal Claire “Comportement de fluides complexes sous écoulement : Approche expérimentale par résonance magnétique nucléaire et techniques optiques et simulations numériques”, Thèse de doctorat 2012.
60. Ross-Murphy, S.B., Morris, V.J., and Morris, E.R., “Molecular viscoelasticity of xanthan polysaccharide”, *Faraday Symposia of the Chemical Society*, 18(0), (1983), 115-129.
61. A. Hadjsadok “Etude rhéologique et physicochimique des systèmes à structure complexe à base de caséinate de sodium”, Thèse de doctorat, Université Blida 1, 2009.
62. Ruissen, A.L., Van Der Reijden, W.A., Van'T Hof, W., Veerman, E.C., Nieuwamerongen, A.V., “Evaluation of the use of xanthan as vehicle for cationic antifungal peptides”. *Journal Control Release*, V.60,(1999),49-56.
63. Chollet, J.L., Jozwiakowski, M.J., Phares, KR., Reiter, M.J., Roddy, P.J., Schultz, H.J., TA. Q.V., Tomai. A., “Development of atopyically active imiquimod formulation”, *Pharm. Dev. Technol*, V.4, (1999), 35-43.
64. Anuj Kumara, et al., “Application of xanthan gum as polysaccharide in tissue engineering: a review”. *Carbohydrate Polymers*, V.180, (2018), 128-144.
65. Dupasquier, Florence., “Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération in vivo du tissu cutané après brûlures du troisième degré”.
66. Sangamesh, G., Kumbar, et al., “Natural and Synthetic Biomedical Polymers”,(2014), page 91.
67. Muzzarelli, A., Riccardo, “Chitin”, Pergamon Press, Oxford, chap 2, (1977).
68. Pengju, L., Yongqiang, L., Ru, C., Xuan, W., et Baoyan, Z., “Studies on graft copolymerization of chitosan with acrylonitrile by the redox system”, *Polymer*, V.50,(2009), 5675-5680.
69. Pillai, C.K.S., Paul, W., et Sharma, C.P., “Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation”, *Progress in Polymer Science*, V.34, (2009), 641-678.
70. Sannan, T., Kurita, K., Ogura, K., and Iwakaru, T., “Studies on chitin: 7. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation”, *Polymer* V.19(4), (1978), 458–459.

71. Neugebauer, W. A., Neugebauer, E., and Brzezinski, R., "Determination of the degree of N-acetylation of chitin–chitosan with picric acid", *Carbohydr Res* V.189, (1989), 363–367.
72. Wang, W., Li, S., and Qin, W., "Colloid titration method to measure the amino concentration of chitosan", *China Surf Detergent Cosmetics* V.2, (1989), 36–38.
73. Louise Raymond, Frederick G. Morin and Robert H. Marchessault "Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR", *Carbohydrate Research*, 246, (1993), 331-336.
74. Ke, H., and Chen, Q., "Potentiometric titration chitosan by linear method". *Chem Bull*, V.10, (1990), 44–46.
75. Khan, T.A., Peh, K.K., et al., "Mechanical bioadhesive strenght and biological evaluation of chitosan films for wound dressing", *Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutical Science*, V.3 (3), (2000), 3003-3371.
76. J-H Pa, T.L., Yu, "Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solutions", *Macromolecular Chemistry and Physics*, V.202, (2001), 985-991.
77. *Berth, G., Dautzenberg, H., et Peter, M. G., (1998). "Physico-chemical characterization of chitosans varrying in degree of acetylation", Carbohydrate Polymers, V.36,(1998),205-218.*
78. Grégorio Crini., Pierre-Marie Badot., et Eric Guibal., "Chitine et chitosane du biopolymère à l'application", (2007).
79. Pengju, L., Yongqiang, L., Ru, C., Xuan, W., et Baoyan, Z., "Studies on graft copolymerization of chitosan with acrylonitrile by the redox system", *Polymer*, V.50,(2009), 5675-5680.
80. Pillai, C.K.S., Paul, W., et Sharma, C.P., "Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation", *Progress in Polymer Science*, V.34,(2009), 641-678.
81. Liang, T.-W., Chen, Y.-I., Yen, Y.-H., Wang, S.-L., "The antitumor activity of the hydrolysates of chitinous materials hydrolyzed by crude enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens*V656", *Process Biochemistry*, V.42, (2007),527-534.
82. Shozo Miyazaki, Kuniaki Ishil Tanekazu Nadai "The Use of Chitin and Chitosan as Drug Carriers", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, V.29,(1981), 3067-3069.
83. Y. Kawashima, T. Handa, A. Kasai, H. Takenaka, Y. Ando, "Novel method for the preparation of controlled-release Theophylline granules coated with a polyelectrolyte complex of sodium polyphosphate-chitosan", V.74, (1985), 264-268.
84. Entsar I. Rabea, Mohamed E.-T. Badawy, Christian V. Stevens, Guy Smagghe, and

- Walter Steurbaut “Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action” *Biomacromolecules American chemical society* V.4 N°6 (2003).
85. Raymond, C.Rowe., Paul, J., Sheskey and Marian, E.Quinn., “Handbook of Pharmaceutical Excipients”, Sixth edition, (2009), page 622.
 86. Fang,N., Chan,V., Mao,H.Q., et Leong,K.W., “Interactions of phospholipid bilayer with chitosan: effect of molecular weight and pH”, *Biomacromolecules*, V.2,(2001), 1161-1168.
 87. Vipul D. Prajapati et al“Raft forming system An upcoming approach of gastroretentive drug delivery system”, *Journal of Controlled Release*, V.168, (2013), 151–165.
 88. Howida Kamal Ibrahim., “A novel liquid effervescent floating delivery system for sustained drug delivery”, *Drug Discov. Ther.* V.3 (4), (2009), 168–175.
 89. Padmasri, S., Sandhya, “Approaches for gastroretentive drug delivery systems”,*Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.*, V.1, (2010), 589–601.
 90. A. Kumar, R. Maji, B. Das, “Gastroretentive drug delivery systems: a review”, *AsianJ. Pharm. Clin. Res*, V.3, (2010), 2–10.
 91. A. Pandey, G. Kumar, P. Kothiyal, Y. Barshiliya, “A review on current approaches in gastroretentive drug delivery system”, *Asian J. Pharm.Med. Sci.*,V.2, (2012), 60–77.
 92. S. Shah, P. Upadhyay, “In situ gel: a novel approach of gastroretentive drug delivery”,*Asian J. Biomed. Pharm. Sci.*,V.2, (2012), 1–8.
 93. Porter, S.C., Bruno, C.H., “Coating of pharmaceutical dosage forms”, second ed. In: Liebermann, H.A., Lachman, L., Schwartz, J.B. (Eds.), *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Vol. 3. Marcel Dekker, New York, pp. (1990), 83–85.
 94. Frichman, W.H., “A new extended-release formulation for diltiazem HCl for the treatment of mild to moderate hypertension”, *J. Clin. Pharmacol.*,V.33,(1993), 612–622.
 95. Varma, M.V.S., Kaushal, A.M., Garg, S., “Influence of micro-environmental pH on the gel layer behavior and release of a basic drug from various hydrophilic matrices”,*J. Controlled Release*,V.103,(2005), 499–510.
 96. Kawasaki, N., Ohkura, R., Miyazaki, S., Uno, Y., Sugimoto, S., Attwood, D., “Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for oral drug delivery”, *Int. J. Pharm.*,V.181,(1999), 227–234.
 97. WU RL, Zhao CS,Xie JW,Yisl,Yisl,Song HT,Hezg., “Preparation of *in situ* gel

- systems for the oral delivery of ibuprofen and its pharmacokinetics study in beagle dogs". V.43, (2008),956-962.
98. Takahashi, A., et al., "Percutaneous absorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from *in situ* gelling xyloglucan formulations in rats", Int. J. Pharm, V.246, (2002), 179-186.
 99. Rajinikanth, P.S., Mishra, B., "Floating *in situ* gelling system of acetohydroxamic acid for clearance of H⁺, pylori. Drug Dev. Ind. Pharm., V.34, (2008), 577-587.
 100. Lena Murad Thomas, "Formulation and evaluation of floating oral in-situ gel of metronidazole" Int.J.Pharm. Sci., V.6, Issue, 10, (2014), 265-269.
 101. Pallavi Tiwari., Shashank Soni., Veerma Ram., Anurag Verma, "Raft forming buoyant pH dependent thixotropic gelling systems incorporated with gelucire 43/01 as a potential stomach specific drug delivery system for Famotidine", J App Pharm, V.7, Issue 3, (2015) 183-202.
 102. Rencai Chen., et al., "Formulation and statistical optimization of gastric floating alginate/oil/chitosan capsules loading procyanidins: in vitro and in vivo evaluations" International Journal of Biological Macromolecules, V.108, (2018), 1082–1091.
 103. Abolfazl Mostafavi., et al., "Development of a prolonged-release gastroretentive tablet formulation of ciprofloxacin hydrochloride: Pharmacokinetic characterization in healthy human volunteers", International Journal of Pharmaceutics, V.409, (2011) 128–136.
 104. Tofeeq Ur-Rehman., et al., "Chitosan in situ gelation for improved drug loading and retention in poloxamer 407 gels". International Journal of Pharmaceutics, V.409, (2011), 19–29.
 105. Rozier, A., Mazuel, C., Grove, J., Plazonnet, B., "Gelrite™: a novel, ion-activated, *in situ* gelling polymer for ophthalmic vehicles. Effect on bioavailability of timolol", Int. J. Pharm, V.57, (1989), 163-168.
 106. Sanzgiri, Y.D., Maschi, S., Crescenzi, V., Callegaro, L., Topp, E.M., Stella, V.J., "Gellan-based systems for ophthalmic sustained delivery of methylprednisolone", J. Control. Rel, V. 26, (1993), 195-201.
 107. Belgamwar, V.S., Chauk, D.S., Mahajan, H.S., Jain, S.A., Gattani, S.G., Surana, S.J., "Formulation and evaluation of *in situ* gelling system of dimenhydrinate for nasal administration". Pharm. Dev Technol, V.2, (2009), 1-9.
 108. Liu Y, Chen L, Zhou C, et al. "Development and evaluation of alginate-chitosan gastric floating beads loading with oxymatrine solid dispersion". Drug Dev Ind Pharm. V.42 (2016), 456–463.
 109. Natrajan D, Srinivasan S, Sundar K, et al. "Formulation of essential oil-loaded

- chitosan-alginate nanocapsules”. *J. Food Drug Anal.*, V.23, (2015), 560–568.
110. He M, Zhang X, Yao W, et al. “Construction of alternate layered chitosan/alginate composite hydrogels and their properties”. *Mater Lett.* V.200, (2017),43–46.
 111. Coppi, G., Iannucelli, V., “Alginate/chitosan microparticles for tamoxifen delivery to the lymphatic system”. *Int. J. Pharm.*, V.367, (2009), 127–132.
 112. Pasparakis, G., Bouropoulos, N., “Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads”, *Int. J. Pharm.*, V.323,(2006),34–42.
 113. Han, F., Dong, Y., Song, A., et al., “Alginate/chitosan based bilayer composite membrane as potential sustained-release wound dressing containing ciprofloxacin hydrochloride”, *Appl. Surf. Sci.*, V.311,(2014),626–634.
 114. Silva, D., Pinto, L.F.V., Bozukova, D., et al., “Chitosan/alginate based multilayers to control drug release from ophthalmic lens”, *Colloids Surf B Biointerfaces*, V.147,(2016),81–89.
 115. Kortejarvi, H., Yliperttula, M., Dressman, JB., et al., “Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Ranitidine hydrochloride”, *J. Pharm. Sci.*, V.94, (2005), 1617–1625.
 116. Kurita, KT., Tada, T., Ishii, S., et al., “Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic”, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, V.31,(2003),485–491.
 117. Lindgren, Å., Sjostrom, M., Wold, S., “PLS modelling of detergency performance for some technical nonionic surfactants”, *Chemom. Intel. Lab. Syst.*, V.32, (1996),111–124.
 118. Renata Czechowska-Biskup, Diana Jarosinska, Bozena Rokita, Piotr Ulanski, 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, V.17, (2012).
 119. G.A.F. Roberts, J.G. Domszy, “Determination of the viscosimetric constants for chitosan”, *International Journal of Biological Macromolecules*, V.4,(1982),374-377.
 120. F.C. Hampson, A. Farndale, V. Strugala, J. Sykes, I.G. Jolliffe, P.W. Dettmar, “Alginate rafts and their characterisation”, *International Journal of Pharmaceutics*, V.294, (2005), 137–147.
 121. N. Washington, C.G. Wilson, S.S. Davis, “Evaluation of raftforming antacid neutralizing capacity: in vitro and in vivo correlations”, *International Journal of Pharmaceutics*, V.27,(1985), 279-286.
 122. Amitkumar K. Joshi, T.J.Mehta, M.R.Patel, K.R.Patel, N.M. Patel “Design and

- development of gastroretentive floating tablets of Ranitidine HCL” International Journal of Drug Formulation and Research, V.2, Issue 5, (2011), 242-253
123. Dave BS, Amin AF, Patel MM. Gastroretentive drug delivery system of ranitidine hydrochloride: formulation and in vitro evaluation. AAPS Pharm Sci Tech., V.5, (2004), 77–82.
 124. M.M. Yahoum, N. Moulai-Mostefa, D. LeCerf “Synthesis, physicochemical, structural and rheological characterizations of carboxymethyl xanthan derivatives” Carbohydrate Polymers, V.154, (2016), 267–275.
 125. Van Otterloo, J., Cruden, AR., “Rheology of pig skin gelatine: defining the elastic domain and its thermal and mechanical properties for geological analogue experiment applications”, Tectonophysics, V.83, (2016), 86–97.
 126. Draget KI, Skjåk Braek G, Smidsrød O. “Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight”. Carbohydr Polym., V.25, (1994), 31–38.
 127. Gamal M. El Maghraby Ehab M. El Zayat Faris Nakaed Alanazi “Investigation of *in situ* gelling alginate formulations as a sustained release vehicle for co-precipitates of dextromethorphan and Eudragit S100”, Acta Pharm., V.64, (2014), 29–44.
 128. Guidon C. Hypercalcemies sévères. EMC-Anesthésie Réanimation, V.2, (2005), 114–131.
 129. Kashouty R, Yono N, Al Samara M. Status epilepticus secondary to milk-alkali syndrome induced by hypercalcemia (oral antacids). Seizure, V.20, (2011), 659–661.
 130. Matricardi P, Di Meo C, Coviello T, et al. “Interpenetrating polymer networks polysaccharide hydrogels for drug delivery and tissue engineering”. Adv Drug Deliv Rev., V.65, (2013), 1172–1187.
 131. Ma J, Lin Y, Chen X, et al. “Flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of sodium alginate aqueous solutions”. Food Hydrocolloid. V.8, (2014), 119–128
 132. Higuchi T. “Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspensions”. J Pharm Sci. V.50, (1961), 874–875.
 133. Siepmann J, Peppas NA. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). Adv Drug Deliv Rev., V.48, (2001) 139–157.
 134. El Maghraby GM, Elsis AE, Elmehad GA. Elmehad, development of liquid oral sustained release formulations of nateglinide: in vitro and in vivo evaluation. J Drug Del Sci Technol., V.29, (2015), 70–77.
 135. Engel RW, Bell WB. “Potassium, sodium and calcium in gastric secretions”. Nut Rev. V.4, (1953), 109–111.

136. Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC. Handbook of pharmaceutical excipients. London; Greyslake (IL): Pharmaceutical Press; Washington (DC): American Pharmacists Association; 2006.
137. Kubo W, Miyazaki S, Attwood D. "Oral sustained delivery of paracetamol from in situ-gelling gellan and sodium alginate formulations". *Int J Pharm.*, V.258, (2003),55–64.
138. Wang M, Fang Y, Hu D. Preparation and properties of chitosan-poly (N-isopropylacrylamide) full-IPN hydrogels. *React Funct Polym.*, V.48,(2001),215–221.
139. Grinberg VY, Tolstoguzov VB. Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions. *Food Hydrocolloid*, V.11, (1997), 145–158.
140. Motwani T, Hanselmann W, Anantheswaran RC. Diffusion, counter-diffusion and lipid phase changes occurring during oil migration in model confectionery systems. *J Food Eng.*, V.104, (2011), 186–195.
141. Papadopoulou V, Kosmidis K, Vlachou M, et al. On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *Int J Pharm.*, V.309, (2006), 44–50.
142. Carbinatto FM, de Castro AD, Evangelista RC, et al. "Cury, insights into the swelling process and drug release mechanisms from cross-linked pectin/high amylose starch matrices". *Asian J Pharm Sci.*, V.9, (2014), 27–34.
143. Barnes, H.A. "A handbook of elementary rheology" Institute of non-Newtonian fluid mechanics University of Wales (2000), 101.
144. Boyd, M., et al., "Phase separation behaviour in xanthan and sodium alginate mixtures" (2004), 262-271.

**ANNEXE A
RHEOLOGIE**

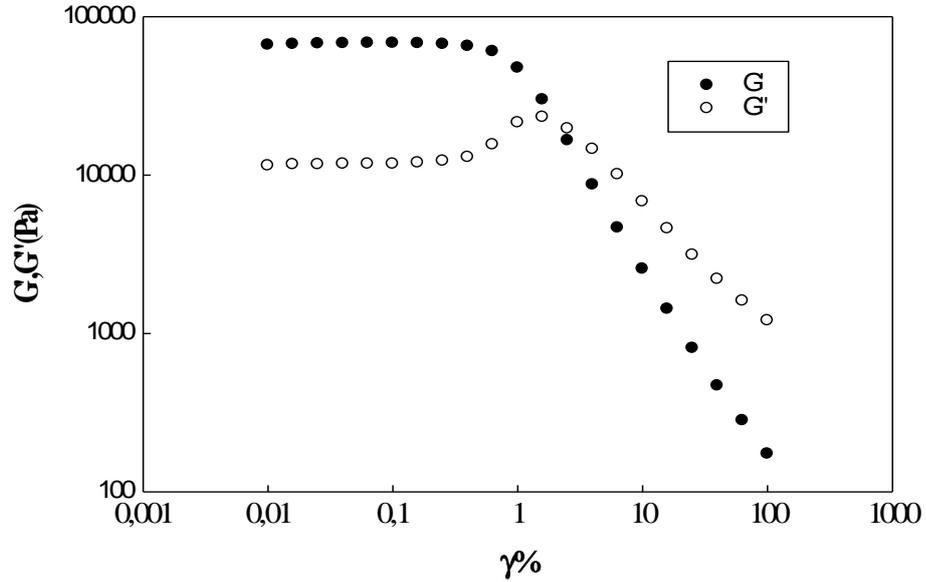


Figure 1: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 1 en fonction de la déformation. T=37°C du système Alginate de sodium-Xanthane

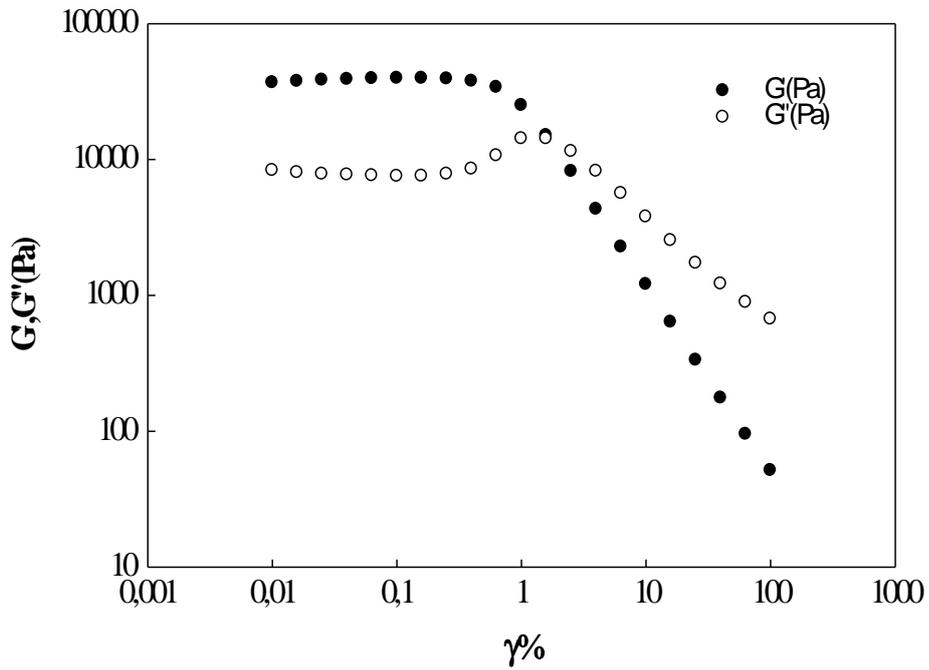


Figure 2 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 2 en fonction de la déformation. T=37°C du système Alginate de sodium-Xanthane

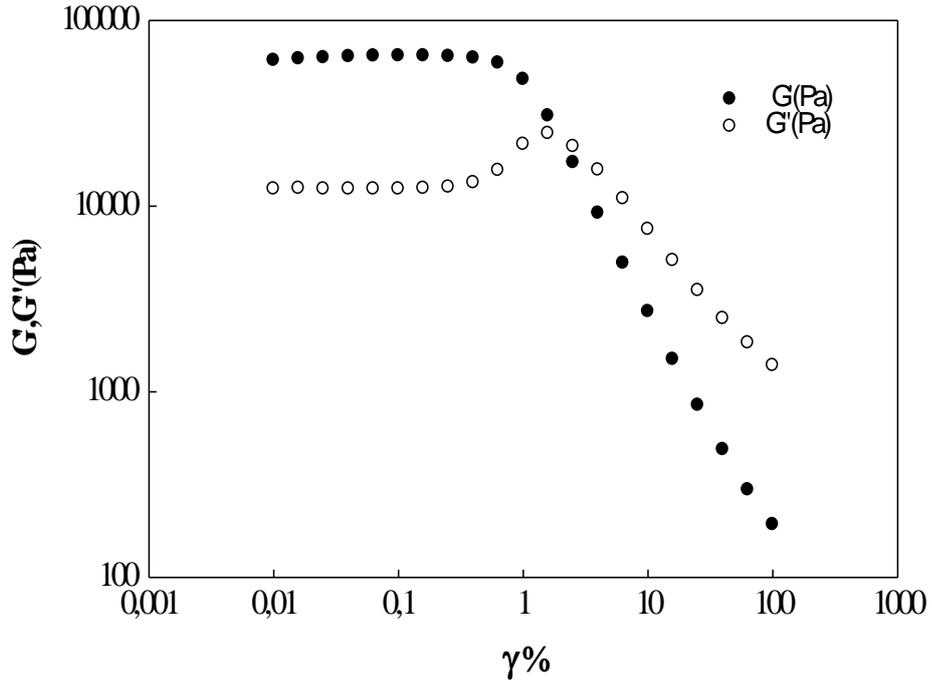


Figure 3 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 3 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane

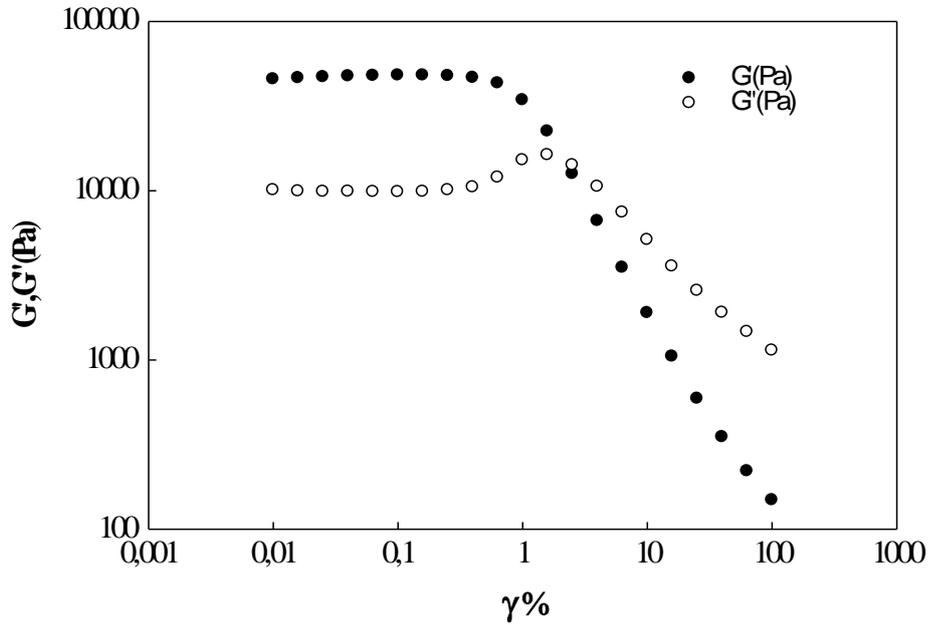


Figure 6 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 6 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane

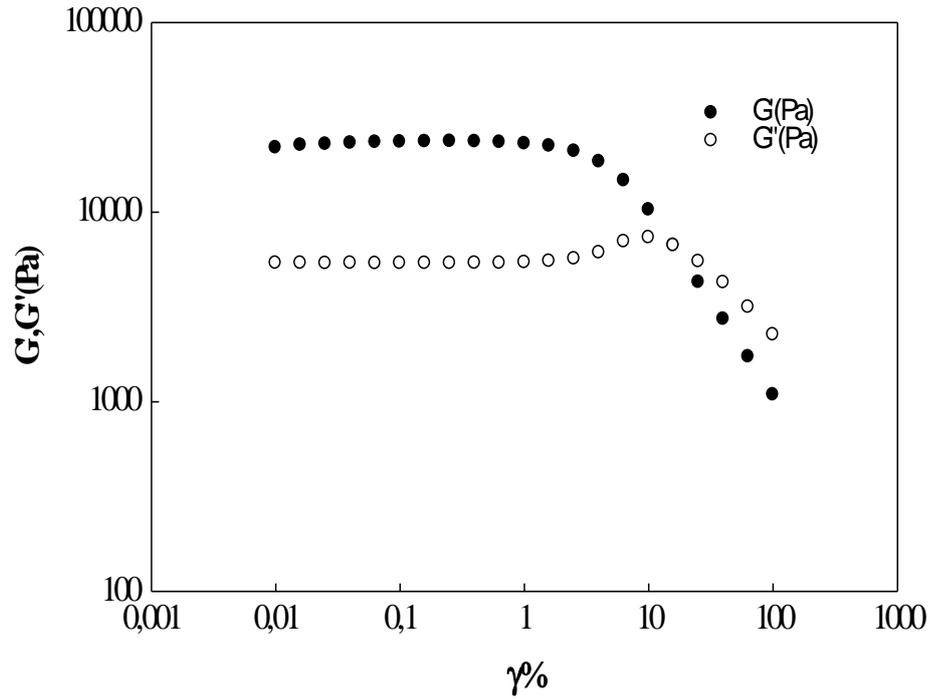


Figure 7: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 7 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane

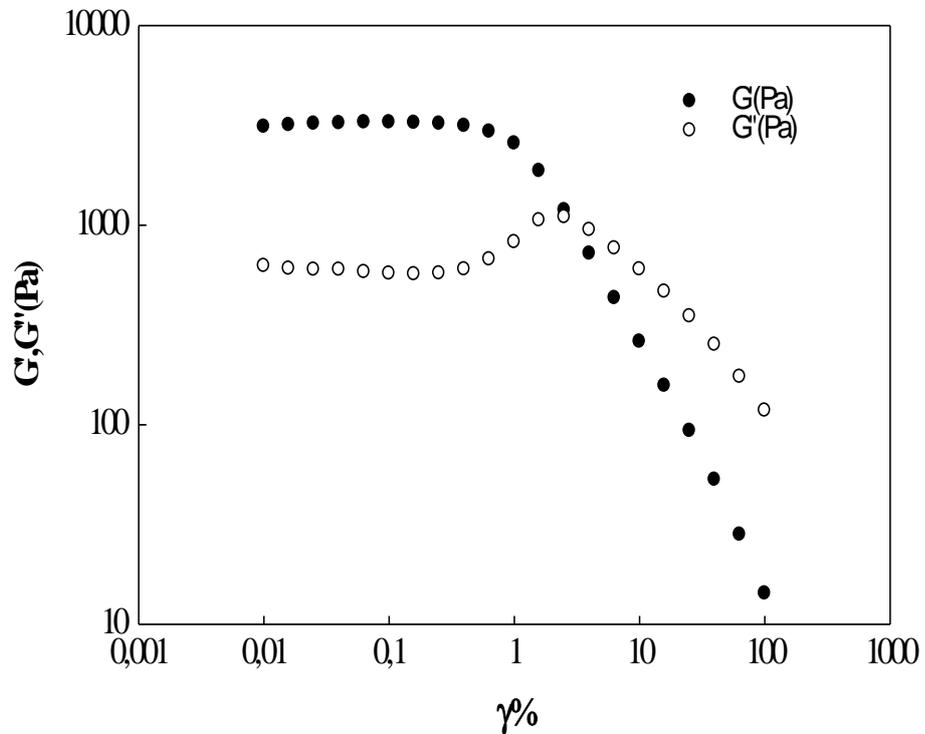


Figure 8: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 8 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane

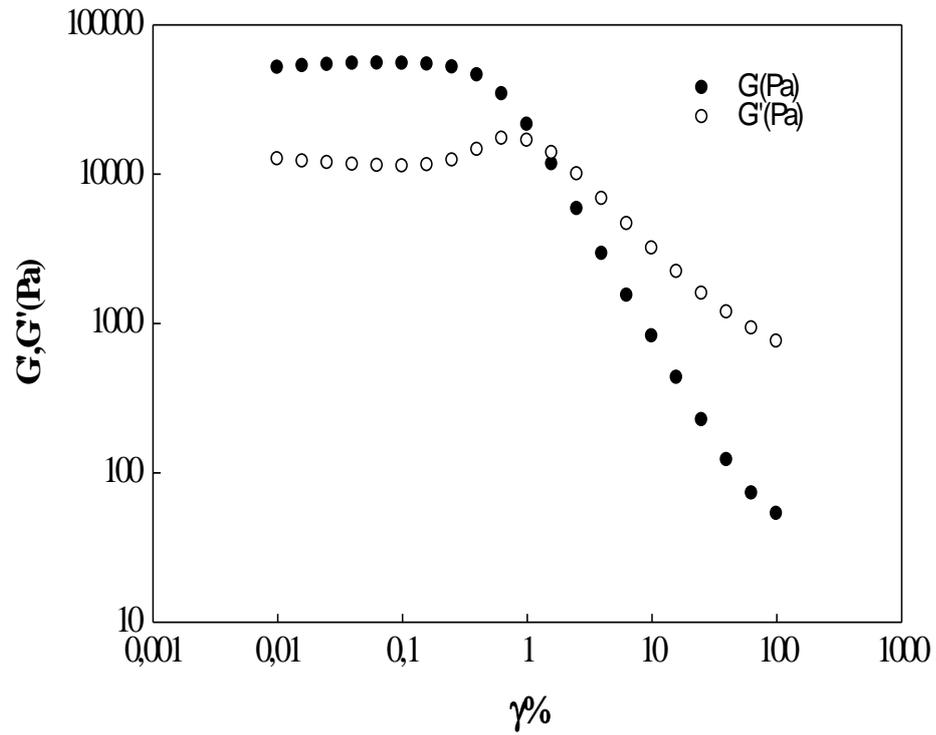


Figure 10: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 10 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane.

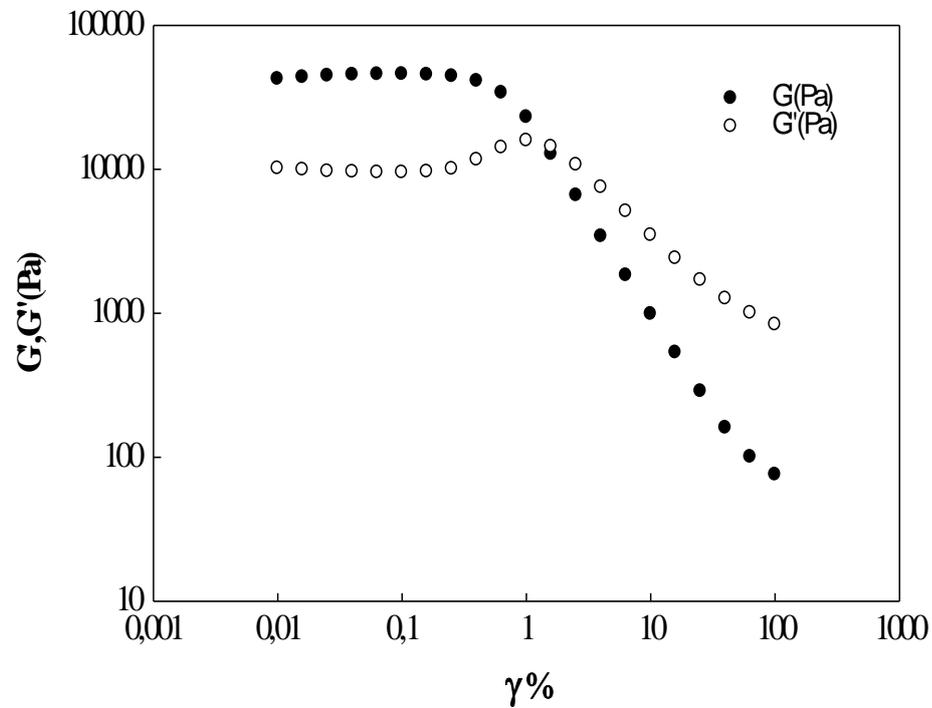


Figure 11: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 11 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane.

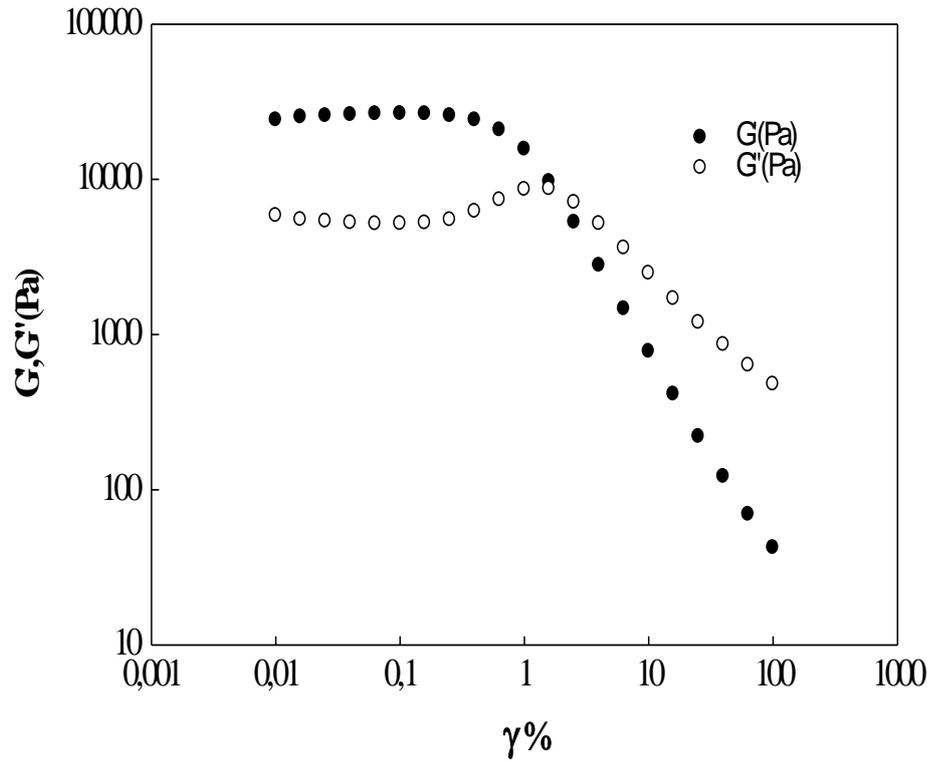


Figure 12: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 12 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xanthane.

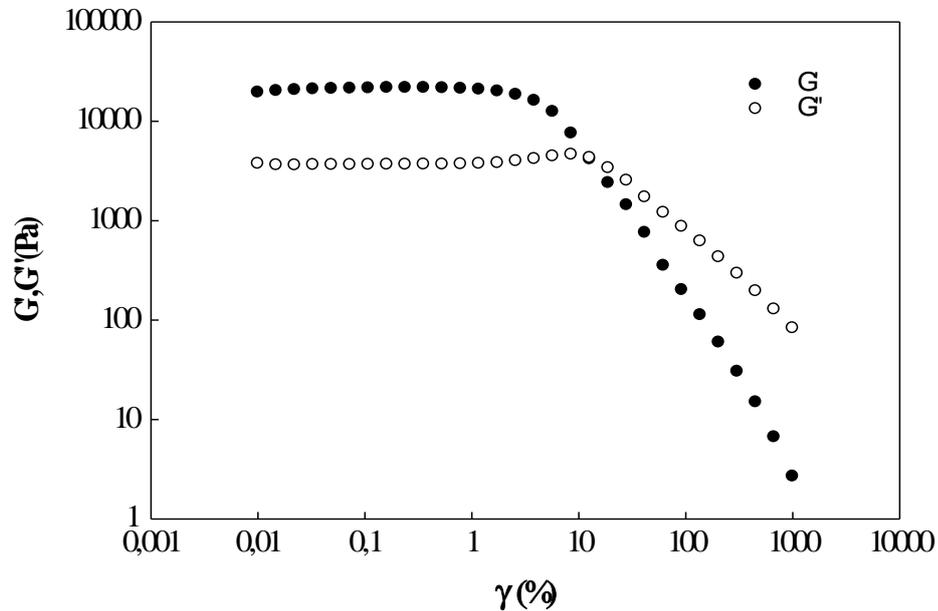


Figure 13: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 1 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane

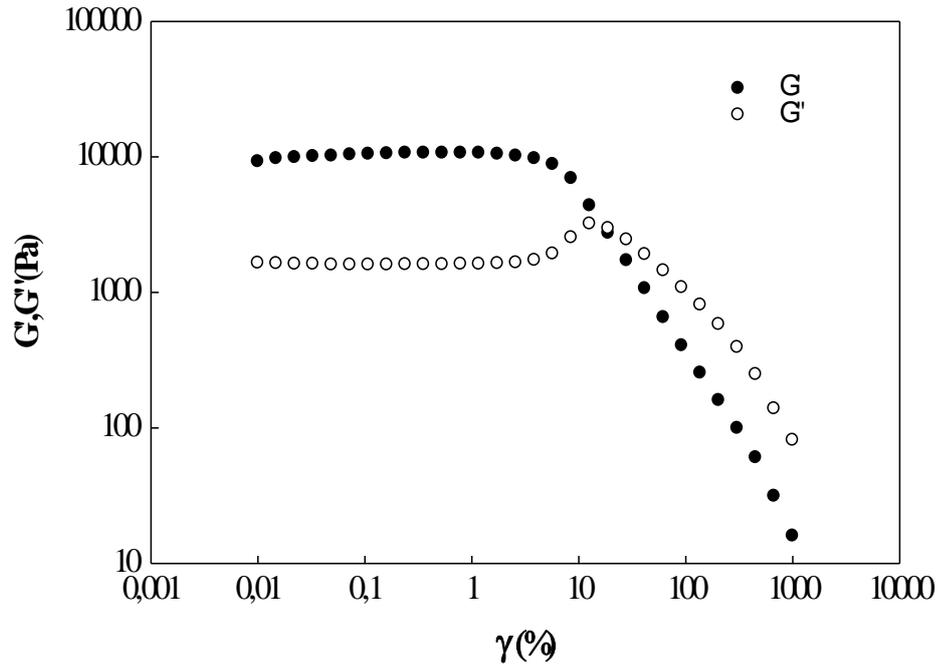


Figure 14: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel2 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane

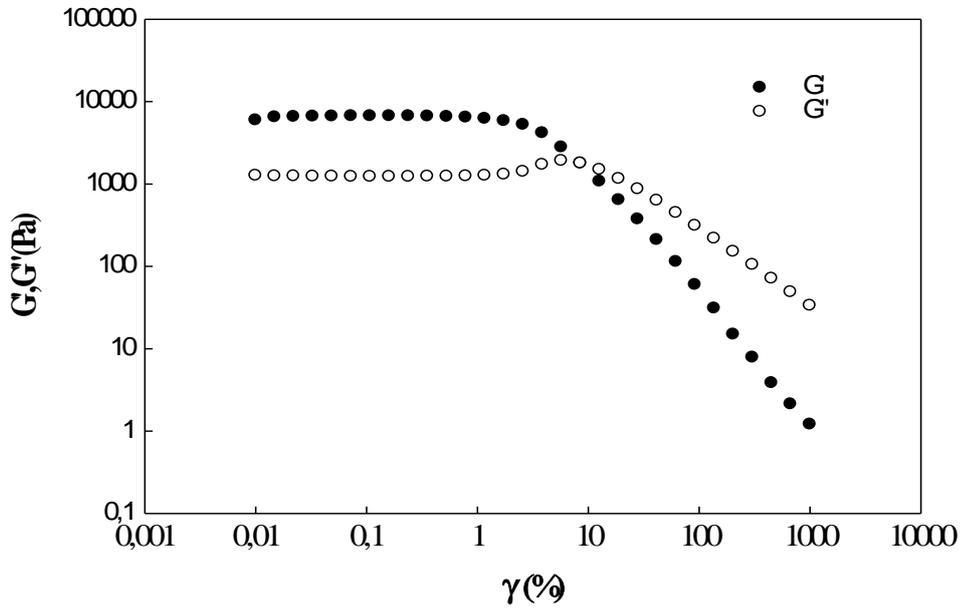


Figure 15: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel4 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane

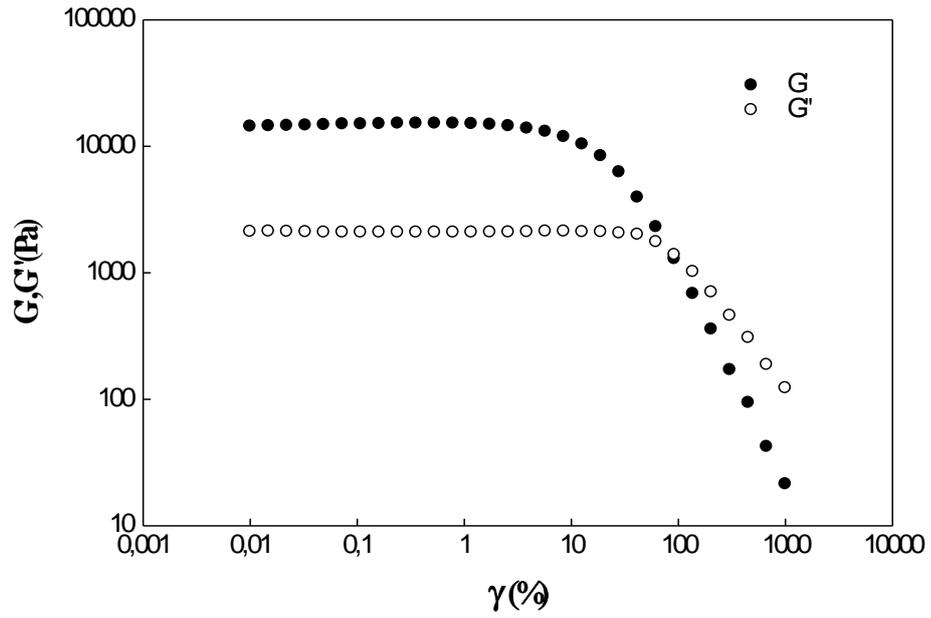


Figure 16: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel5 en fonction de la déformation. T=37°C du système Alginate de sodium-Chitosane

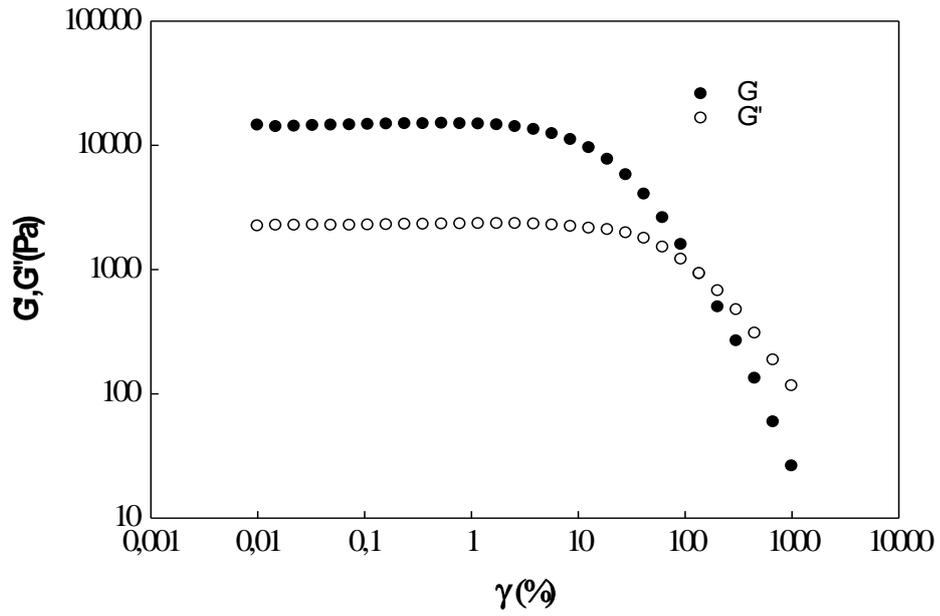


Figure 17: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel6 en fonction de la déformation. T=37°C du système Alginate de sodium-Chitosane

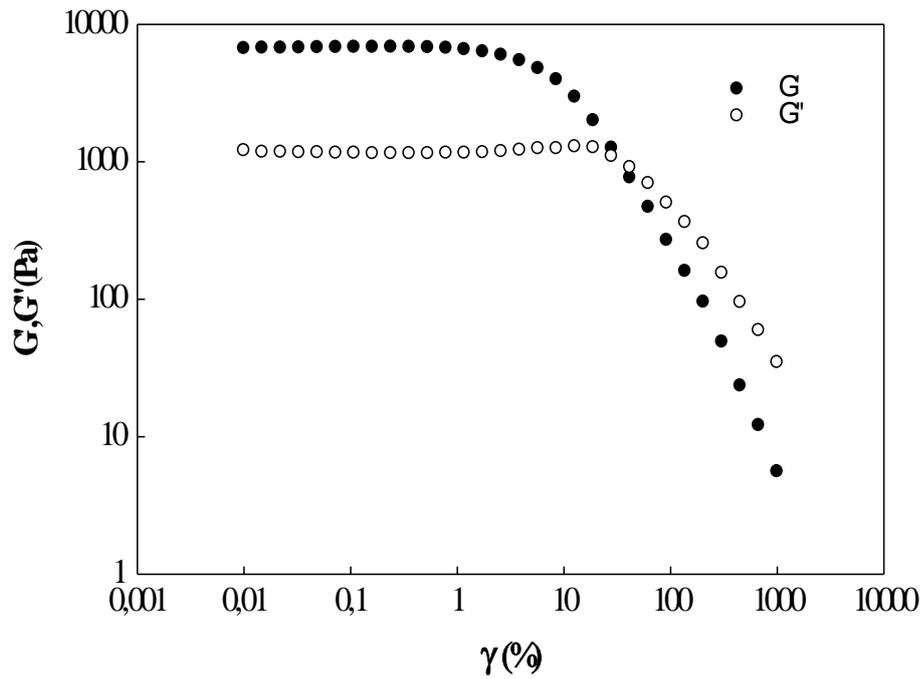


Figure 18: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel7 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane

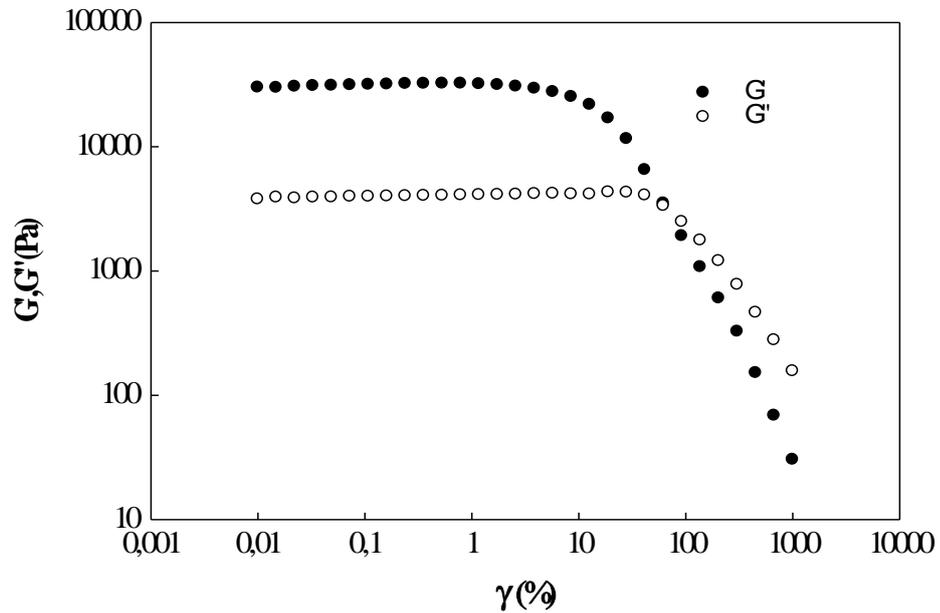


Figure 19: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel8 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane

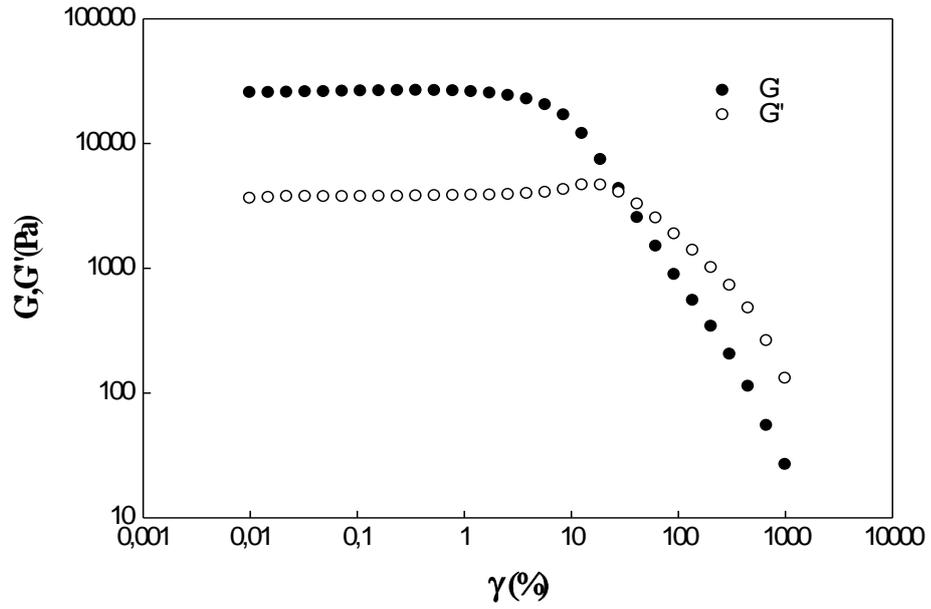


Figure 20: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel11 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane.

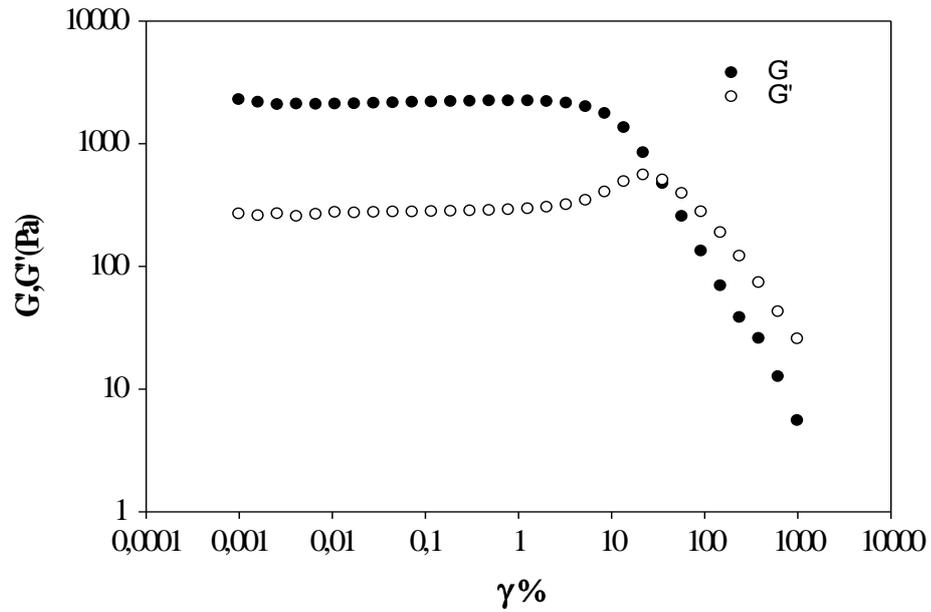


Figure 21: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel1 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système anti-reflux

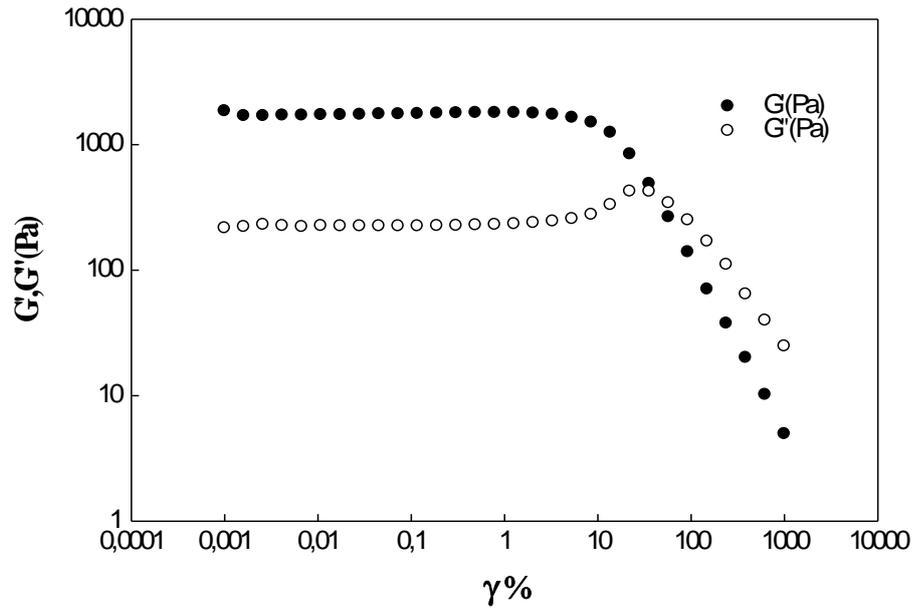


Figure 22: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du ge2 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système anti-reflux.

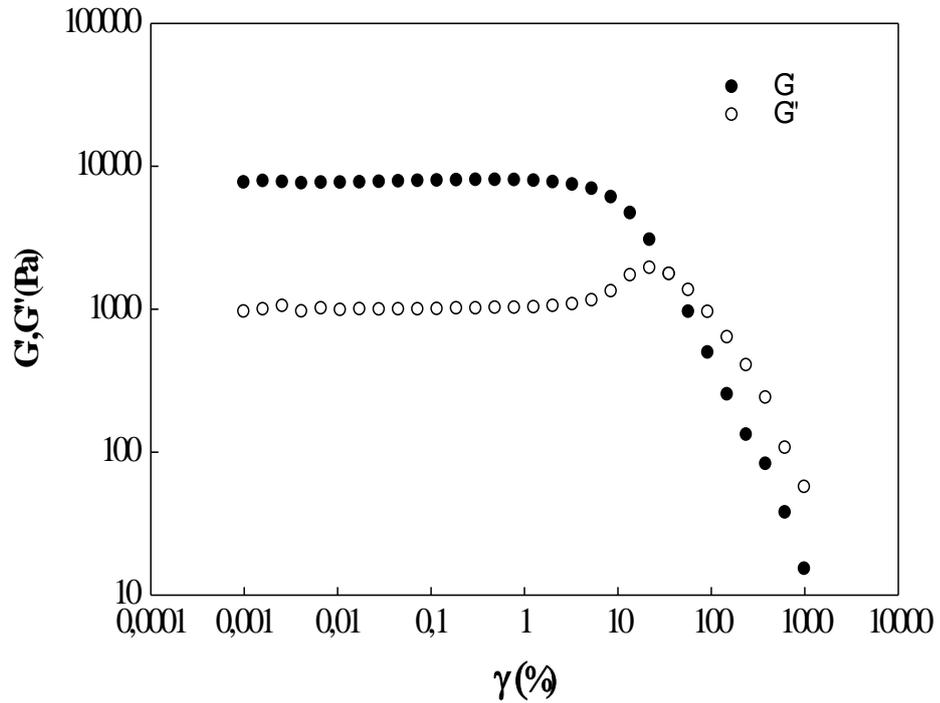


Figure 23: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du ge3 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système anti-reflux.

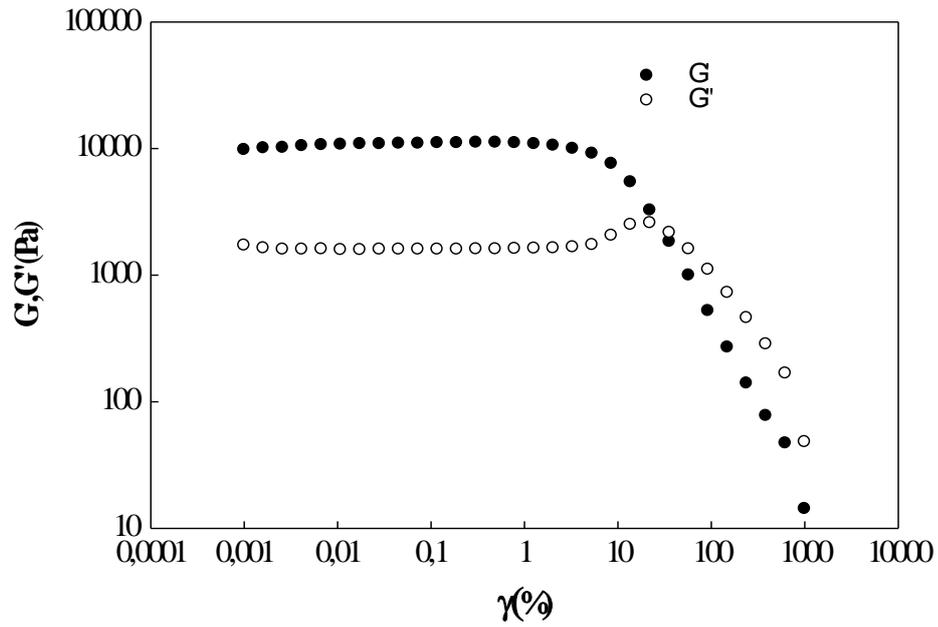


Figure 24: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 4 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système anti-reflux.

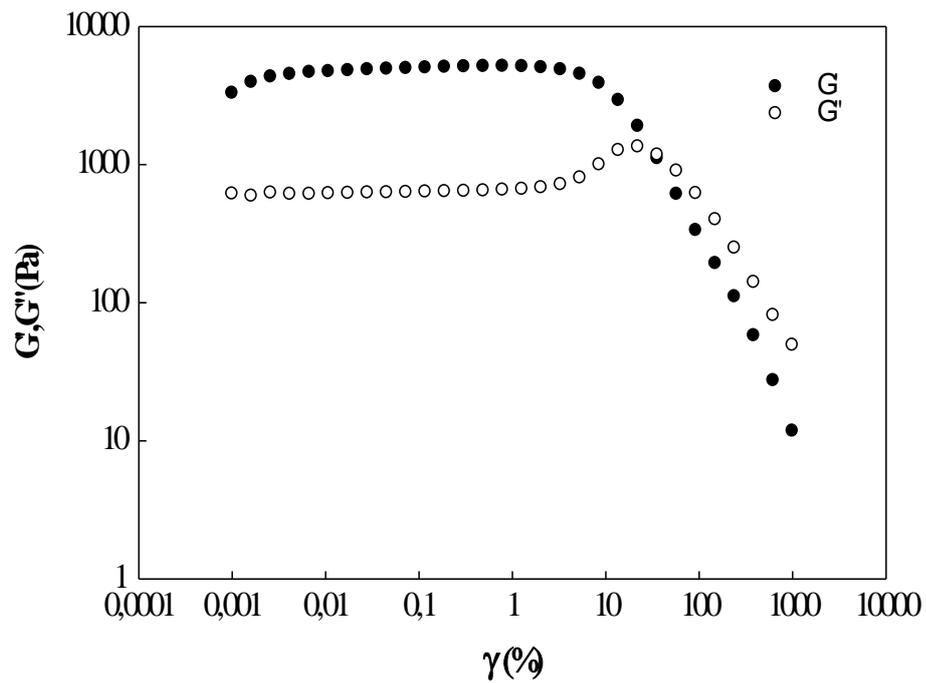


Figure 25: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 5 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système anti-reflux.

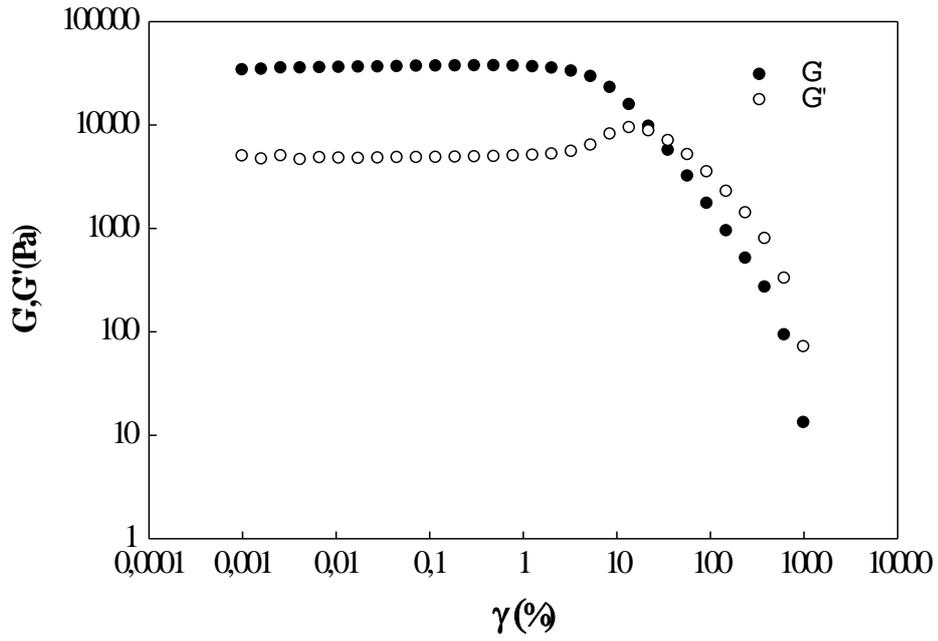


Figure 26: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 6 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système anti-reflux.

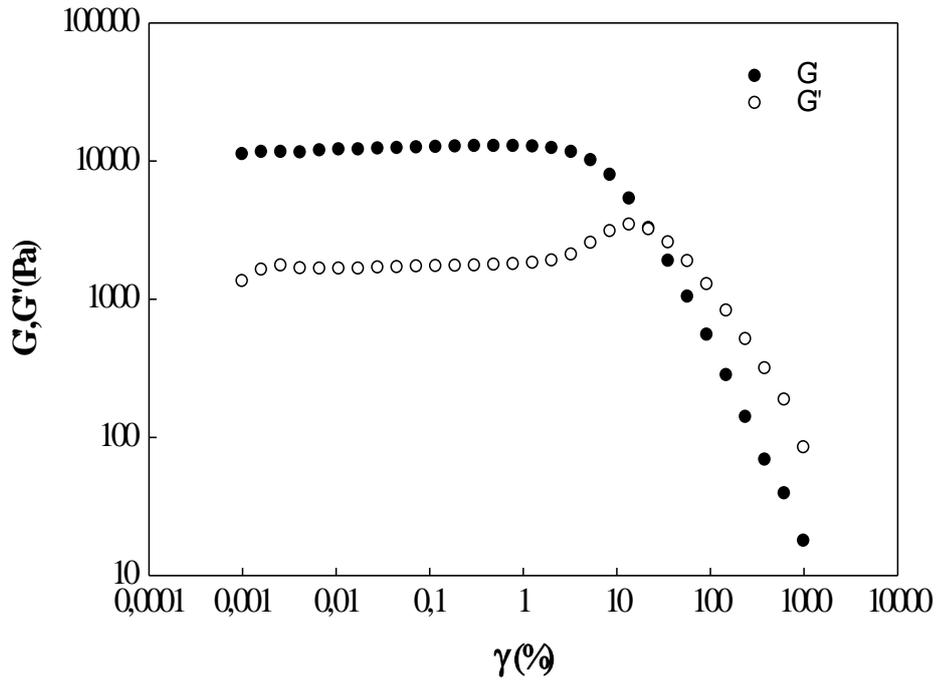


Figure 27: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 7 en fonction de la déformation. $T=37^{\circ}\text{C}$ du système anti-reflux.

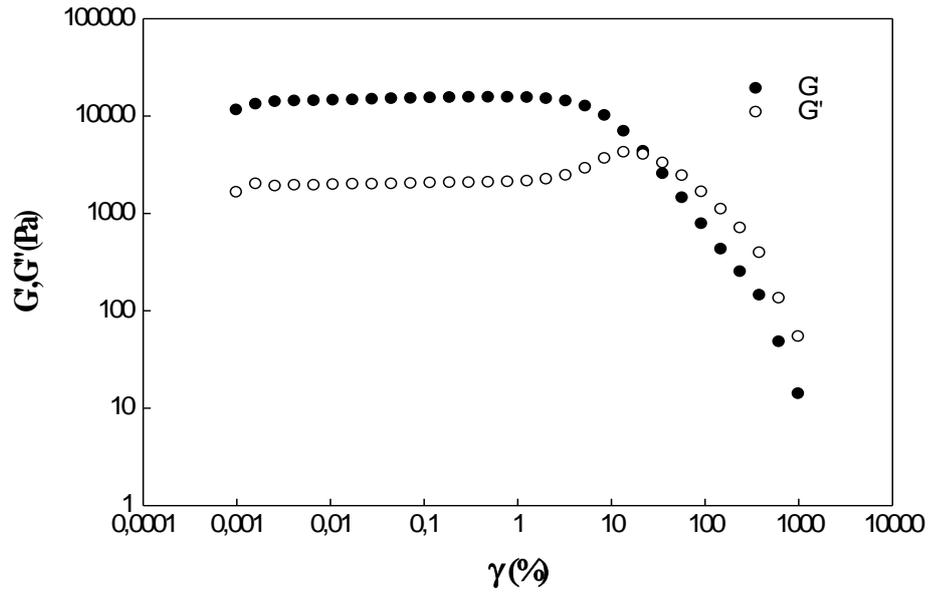


Figure 28: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 8 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système anti-reflux.

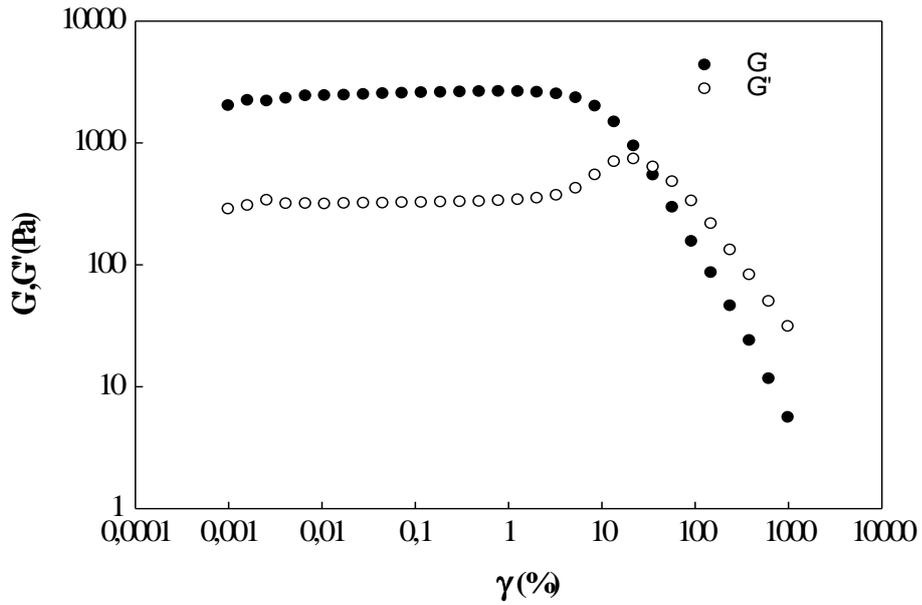


Figure 29: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 9 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système anti-reflux.

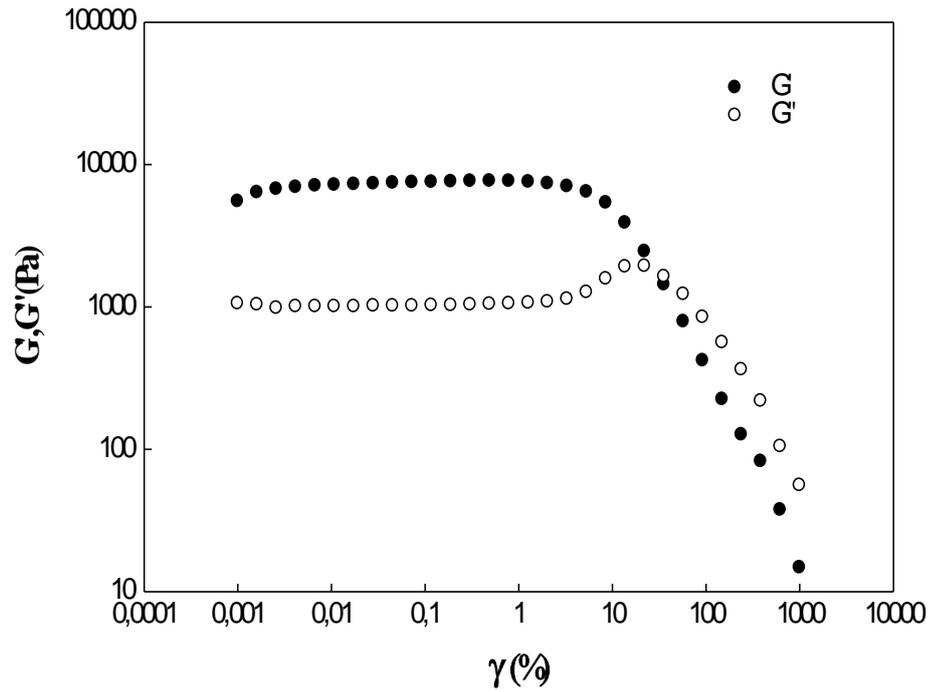


Figure 30: Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' du gel 8 en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$ du système anti-reflux.

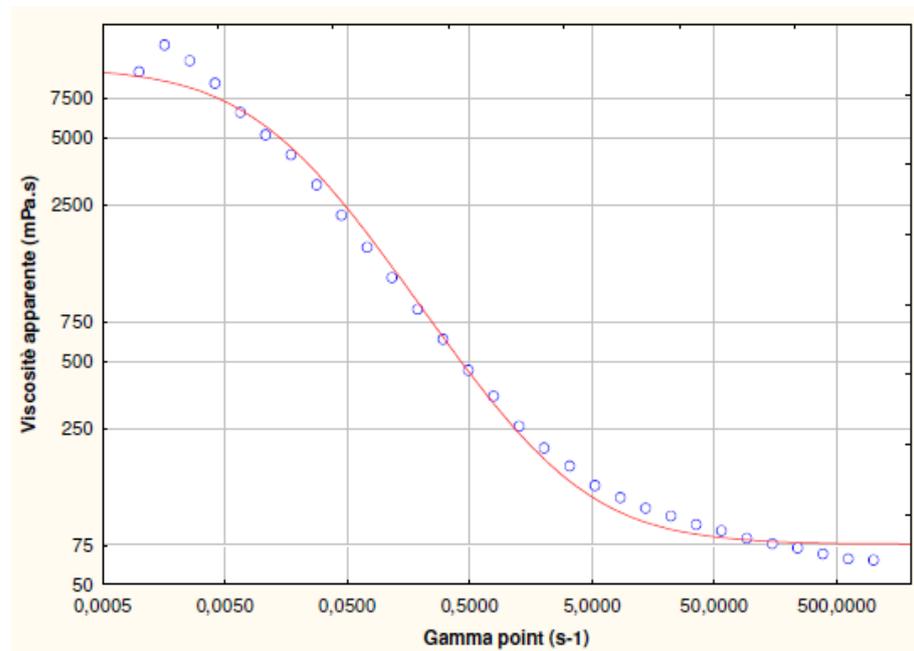


Figure 31: Courbe d'écoulement typique de l'essai E01 ajustée par le modèle de Cross. $T=20^\circ\text{C}$

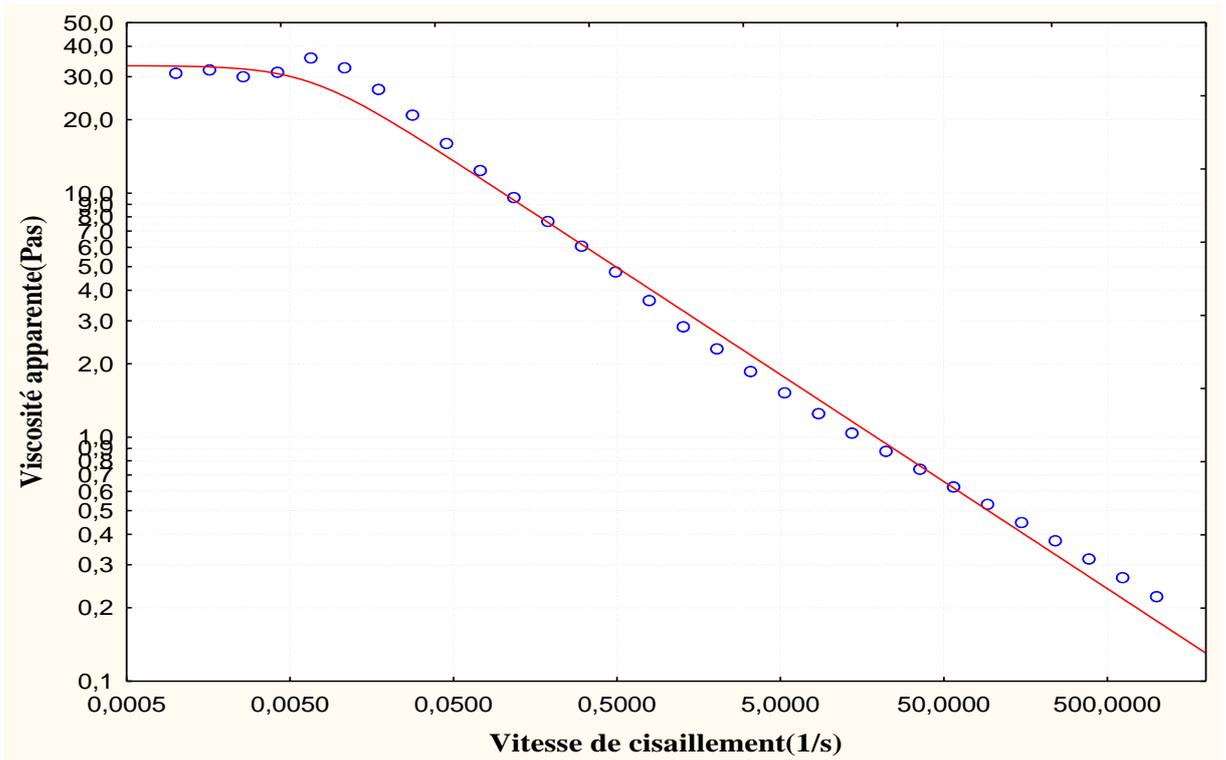


Figure 32: Courbe d'écoulement typique de l'essai E01 ajustée par le modèle de Cross.
T=20°C.

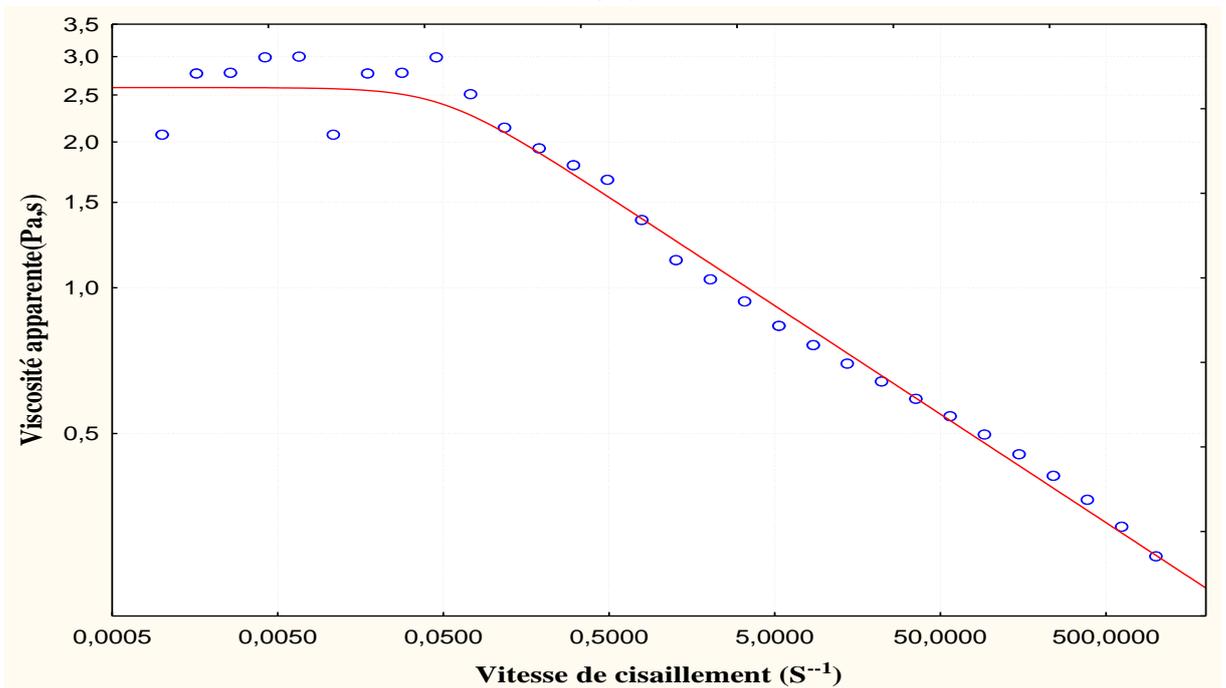


Figure 33: Courbe d'écoulement typique de l'essai E02 ajustée par le modèle de Cross.
T=20°C.

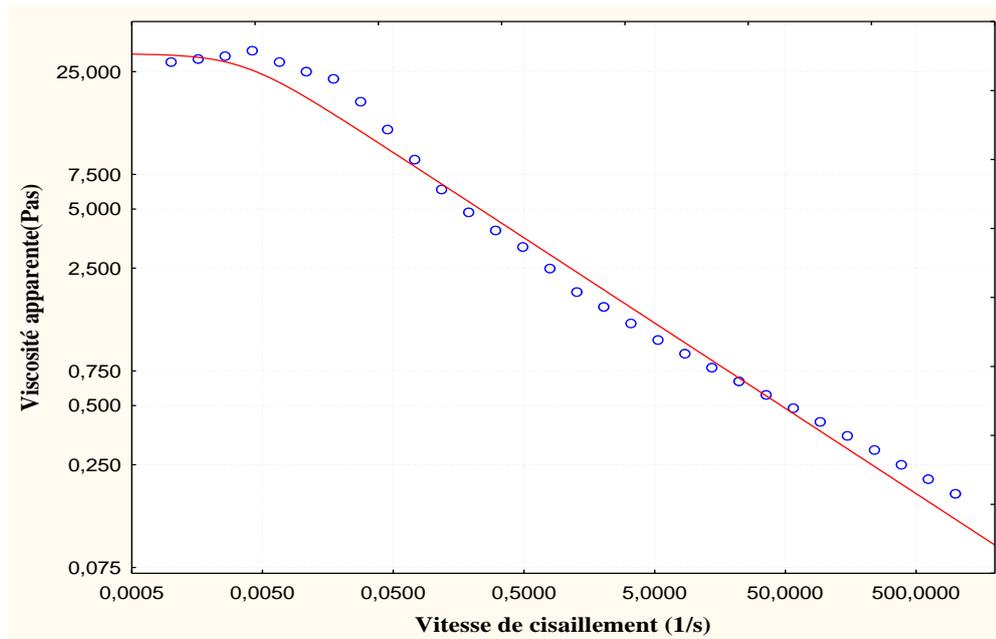


Figure 34: Courbe d'écoulement typique de l'essai E03 ajustée par le modèle de Cross.
T=20°C.

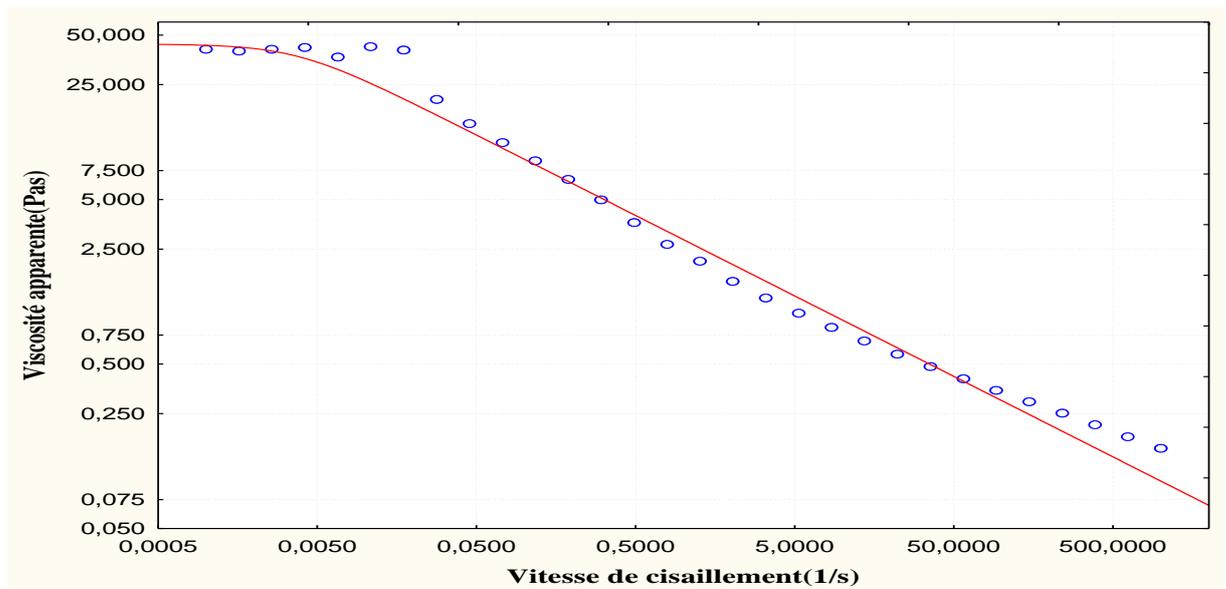


Figure 35: Courbe d'écoulement typique de l'essai E11 ajustée par le modèle de Cross.
T=20°C.

ANNEXE B
Dissolution

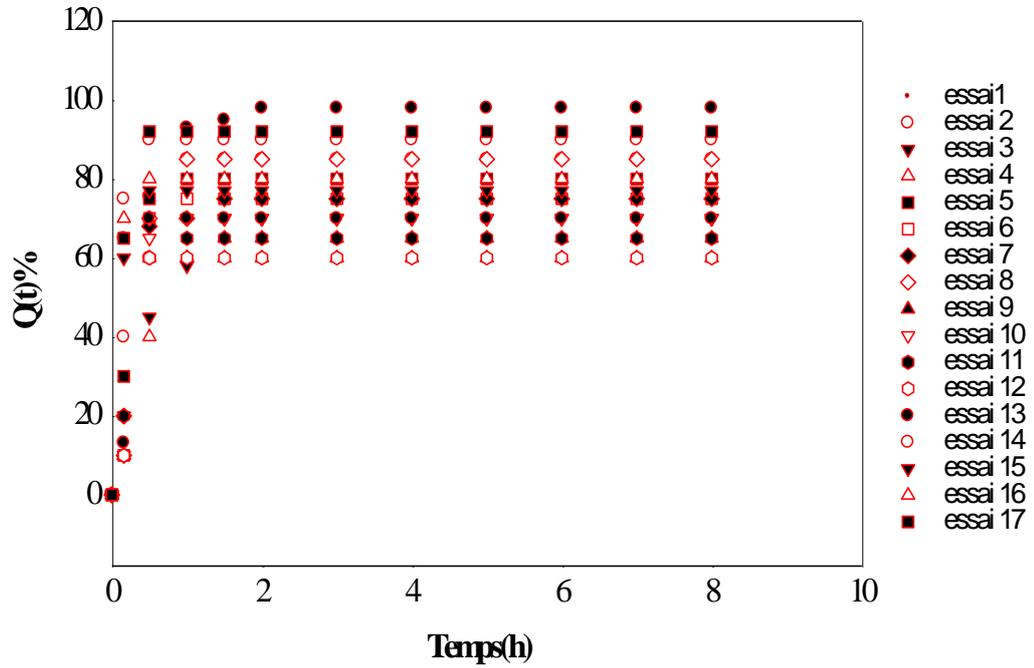


Figure : Profil de dissolution des suspensions ajusté par le modèle de Weibull avec $Q_{\infty} = 100\%$, $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Xhantane

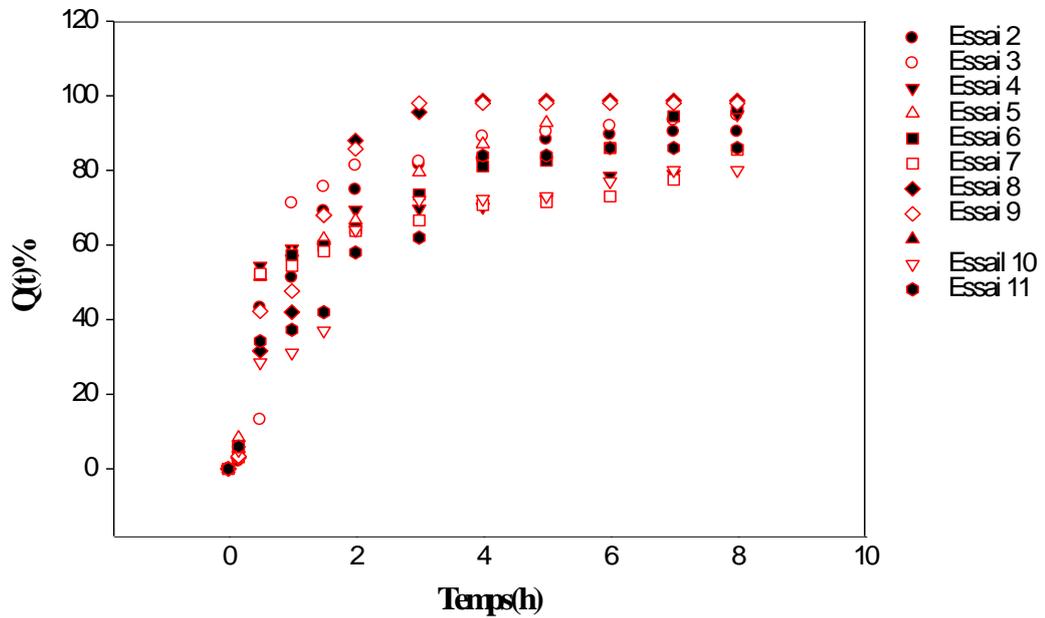


Figure : Profil de dissolution des suspensions ajusté par le modèle de Weibull avec $Q_{\infty} = 100\%$, $T=37^{\circ}\text{C}$ du système Alginate de sodium-Chitosane.

ANNEXE C

Détermination de la solubilité :

L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la substance dans une phase aqueuse afin d'assurer une multitude d'application.

Tableau 1: Test de solubilité du chitosane extrait et du chitosane commercial

<i>Solution</i>	<i>Chitosane extrait</i>	<i>Chitosane commerciale</i>
<i>Acide acétique</i>	<i>Soluble</i>	<i>Soluble</i>
<i>Eau</i>	<i>Insoluble</i>	<i>Insoluble</i>
<i>NaOH</i>	<i>Insoluble</i>	<i>Insoluble</i>

Nous avons vérifié la solubilité du chitosane à différentes concentrations d'acide acétique, le résultat est présenté sur le tableau 2.

Tableau 2 : Résultats du test de solubilité du chitosane extrait et commerciale à différentes concentrations d'acide acétique.

	<i>Chitosane extrait</i>	<i>Chitosane commerciale</i>
<i>Concentration (M)</i>	<i>Temps (min)</i>	<i>Temps (min)</i>
<i>0.1</i>	<i>15</i>	<i>4</i>
<i>0.05</i>	<i>30</i>	<i>10</i>
<i>0.04</i>	<i>30</i>	<i>15</i>
<i>0.03</i>	<i>30</i>	<i>20</i>
<i>0.02</i>	<i>40</i>	<i>Insoluble</i>
<i>0.01</i>	<i>45</i>	<i>Insoluble</i>

La différence liée à la solubilité des deux types de chitosane est liée au degré de désacétylation, lorsque le DDA est peu élevé, le chitosane est peu soluble, cette différence nous permet de déduire que le DDA du chitosane extrait est plus élevé que celui chitosane commerciale, ce qui est à démontrer dans la suite de notre travail.

Caractérisation granulométrique de chitosane :

La figure 1 illustre la distribution granulométrique du chitosane, suite à l'analyse de sa poudre par granulométrie à diffraction laser.

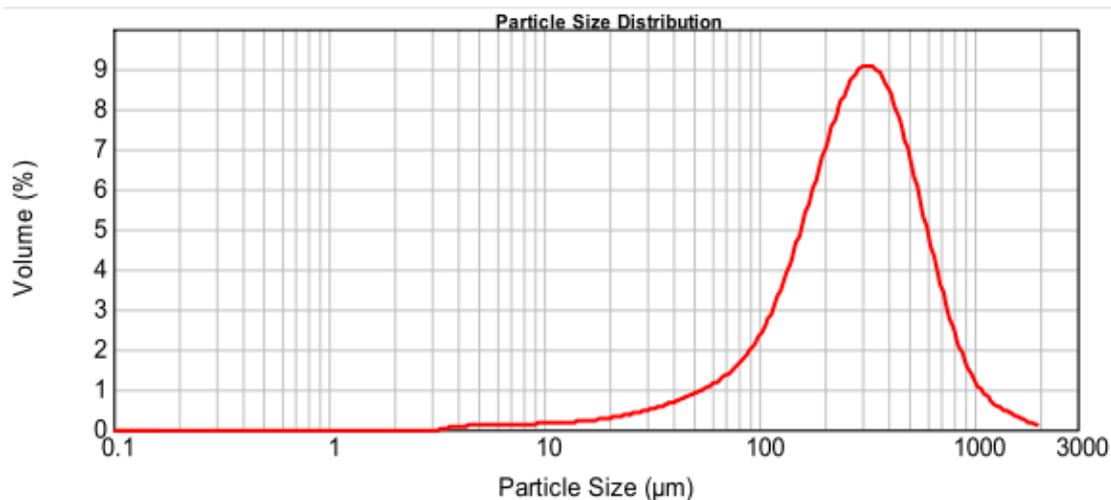


Figure 1: Distribution granulométrique du chitosane obtenu par diffraction laser

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 1 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 ».

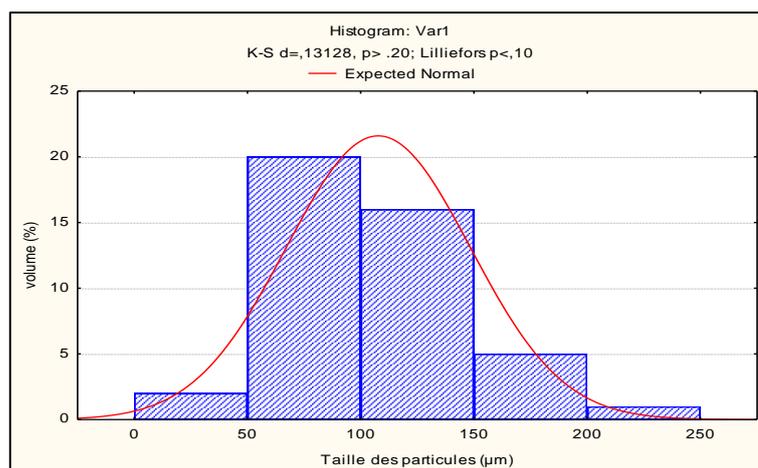


Figure 2 : Distribution granulométrique obtenue par tamisage.

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 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 apparaît clairement que la distribution granulométrique de la poudre du chitosane est satisfaisante et peut être utilisée sous forme de particules insolubles dans une suspension.

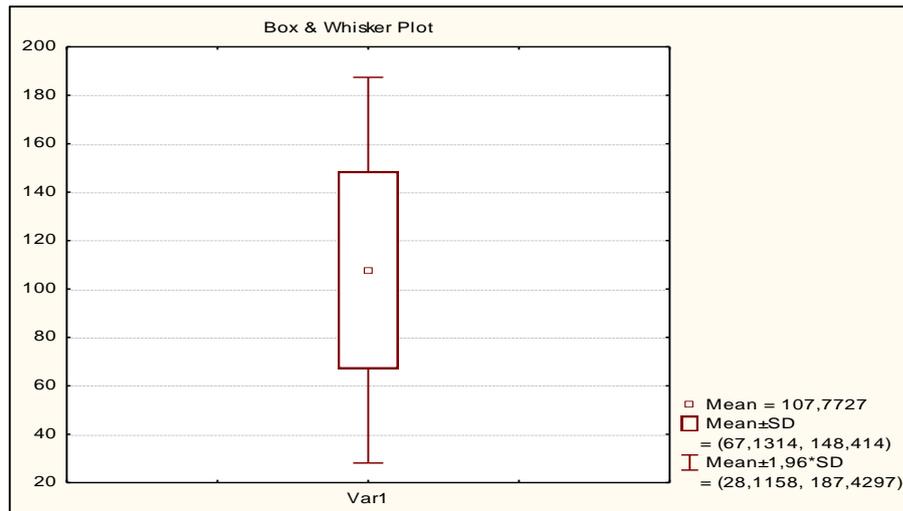


Figure 3 : Illustration graphique par la boîte à Moustaches (Box Whisker Plot), des trois caractéristiques granulométriques de la poudre de chitosane :

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

Détermination du pKa par dosage pH métrique :

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 (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.

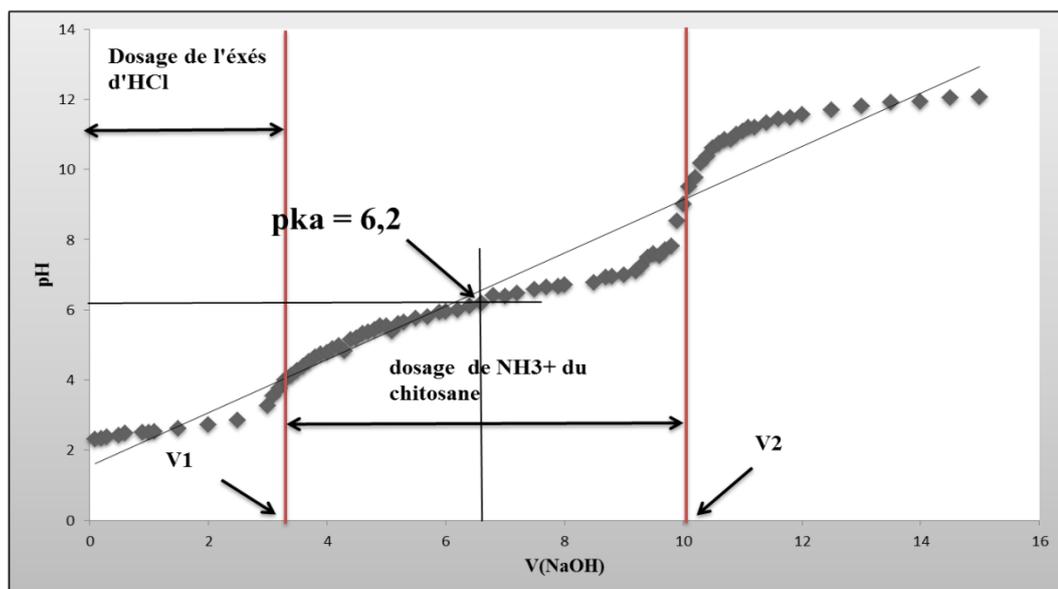


Figure 4 : Dosage pH métrique du chitosane.

Détermination de teneur en eau, cendres et lipides :

Parmi les analyses physicochimiques du chitosane effectuées, la détermination de la teneur en eau, la teneur en minéraux (cendres) et la teneur en lipides.

Le résultat des trois caractérisations obtenues est regroupé dans le tableau 3:

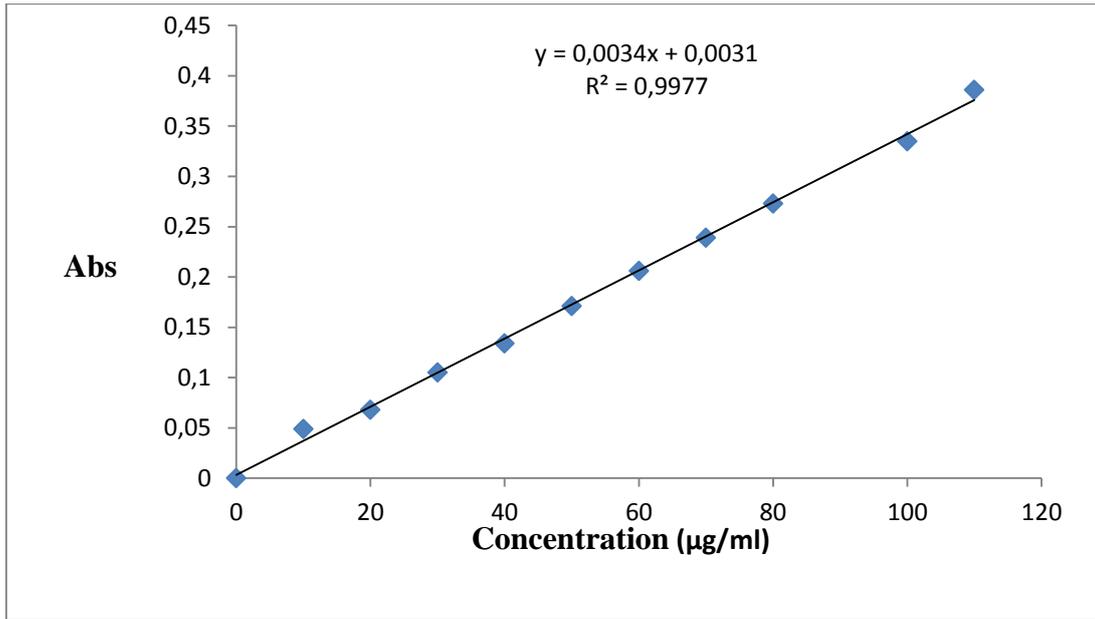
Tableau 3 : Caractéristiques du chitosane.

Caractéristiques	Chitosane extrait
Teneur en eau (%)	6.26
Teneur en cendre (%)	3
Teneur en lipide (%)	2

Notre 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 traduite par la présence de 2% de lipides et de pigments.

Courbe d'étalonnage

11 mg de Chlorhydrate de Ranitidine a été dissous dans du HCl 0,1 N et le volume a été complété à 100 ml dans une fiole jaugée. Cette solution (11 mg/100ml) a été encore diluée avec HCl 0,1 N pour obtenir une solution de 10 à 111($\mu\text{g/ml}$). L'absorbance de chaque solution a été mesurée à 314 nm en utilisant un spectrophotomètre UV et HCl 0,1 N comme étalon de référence. La courbe standard a été générée pour toute la gamme de 10 à 111($\mu\text{g/ml}$).



Courbe d'étalonnage Ranitidine-HCl 0.1N