

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Spécialité : Chimie des Produits Naturels



Présenté par :

AMROUCH Abir

RACHEDI Meroua Rayane

En vue d'obtention du diplôme de Master

*Thème :*

*Production pilote des nanocomposites à base des pectines pour la  
délivrance des médicaments*

Les Membres de jury :

Dr. A. Kezzim	MCB	Présidente	Université de Blida 1
Dr. Z.Zeffouni	MCB	Promotrice	Université de Blida 1
Dr. M.Taleb	MAA	Examinatrice	Université de Blida 1

Blida. Juillet 2022

## REMERCIEMENT

*Avant tout, on remercie Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force, la persistance pour réaliser ce travail dans de meilleures conditions*

*. Au terme de notre travail de mémoire nous tenant à exprimer toutes nos reconnaissances et remerciements à Madame **Z.ZEFFOUNI** pour avoir accepté de diriger ce travail*

*On remercie aussi les personnes des laboratoires pédagogiques de chimie du pavillon 5 et de recherche de chimie des substances naturels de pavillon 8.*

# ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents : en témoignage de l'amour, du respect et de la gratitude que je vous porte. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien, votre dévouement, votre compréhension et pour l'attention dont vous avez et vous faites toujours preuve. Les mots me manquent pour vous exprimer ma reconnaissance.*

*A toute ma famille et mes amis*

*« Abir »*

# ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à*

*A mon père, et ma mère*

*A mes chers frères et mes chères sœurs*

*A mes ami(e)s*

*Et à tous ceux qui me sont chers*

**« Rayane »**

## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique

C : carbone

°C: Degré Celsius

Ca: Calcium

Ca<sup>2+</sup>: Ion calcium

DE : degré d'estérification

DM : Degré de Méthoxylation

FAOSTAT : food and agriculture organization corporate statistical database

(base de données statistique de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FDA : food and drug administration

FM : faiblement méthylée

FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier

g: gramme

h: Heure

HCl: Acide chlorhydrique

HG : homogalacturonique

HM : hautement méthylée

Hydrogel DR : hydrogel à double réseaux

Hydrogel NC : hydrogel nanocomposite

Hydrogel TC : hydrogel topologique

Kg : Kilogramme

LADMER : ( liberation , absorption , distribution , métabolisme , excréation

M: mol / Litre

MeO : Tenor de méthoxy

MeOH : Méthanol

Mg: Magnesium

min: minute

mL: Millilitre

MS: Matière sèche

Na: Sodium

NaCl: Chlorure de sodium

NaOH: Hydroxyde de sodium

pH: Potentiel d'hydrogène

Ph: Phosphore

PM : poids moléculaire

R% : rendement

RMN : Résonance magnétique nucléaire

S: Soufre

T°: Température

Tr : tours

µm : micromètre

## LISTES DES FIGURES

### *Chapitre I : Recherche bibliographie*

Numéro de figure	Le nom de figure	La page
Figure I .1	Photo de la fleur et fruits de Citrus sinensis	4
Figure I .2	Coupe équatoriale d'une orange	5
Figure I.3	Structure de cellulose et hémicellulose	8
Figure I .4	Structure de flavonoïdes et anthocyanes	8
Figure 1.5	Structure de caroténoïdes	8
Figure I .6	Structure moléculaire de pectine	11
Figure 1.7	Pectines hautement méthylées	16
Figure I .8	Pectines faiblement méthylées	16
Figure I .9	Etapas de formation de gel en présence de ca <sup>++</sup>	17
Figure I .10	Classification des hydrogels	19
Figure I .11	Argile de bentonite	23
Figure I .12	Nanocomposites à base de biopolymères structure	24
Figure I .13	Structure d'un microcomposite	25
Figure I .14	Structure de nanocomposite intercalé	25
Figure I.15	Structure de nanocomposite exfolié	25
Figure I .16	Schéma de l'élaboration de nanocomposite par mélange a l'état fondu	26
Figure I .17	Formation de nanocomposite par polymérisation in-situ	27
FigureI .18	Schéma de là l'élaboration de nanocomposites par mélange en solution	27
Figure 1.19	Schéma de la libération à partir d'une matrice inerte	30
Figure I .20	Schéma de la libération à partir d'une matrice hydrophile	31
Figure I .21	Schéma de la libération à partir d'une matrice érodable	31
Figure I .22	La formule chimique de la metformine	32

## *Chapitre II : matériels et méthodes*

<b>Numéro de figure</b>	<b>Le nom de figure</b>	<b>La page</b>
Figures II.1	Les étapes pour la préparation de poudre des écorces d'oranges	36
Figure II.2	Montages d'extraction de la pectine	37
Figure II.3	La pectine extraite avant et après le séchage	38
Figure II.4	Le titrage de degrés d'estérification	41
Figure II.5	Photo représente le spectrophotomètre FTR	42
Figure II.6	Photo représente l'hydrogel avant et après le séchage	44
Figure II.7	Photo d'hydrogel qui contient l'argile (bentonite) après le séchage	44

## *Chapitre III : résultats et discussions*

<b>Numéro de figure</b>	<b>Le nom de figure</b>	<b>La page</b>
Figures III.1	Evaluation du rendement d'extraction en fonction de pH	49
Figure III.2	Evaluation de degrés d'estérification en fonction des pH	50
Figure III .3	Evaluation de MeO% en fonction de pH	50
Figure III .4	Evaluation du rendement d'extraction en fonction de température	51
Figure III .5	Evaluation de degrés d'estérification en fonction de température	51
Figure III .6	Evaluation de MeO% en fonction de température	52
Figure III .7	Variation des rendements en fonction de temps	53

Figure III .8	Variation des DE% en fonction de temps	53
Figure III .9	Variation des MeO% en fonction de temps	53
Figure III .10	Test molish positif (+)	54
Figure III .11	Spectre infrarouge IR de pectine extraite	55
Figure III .12	Courbe d'étalonnage représente l'absorbance en fonction de la concentration de metformine	56

## LISTE DES TABLEAUX

### *Chapitre I : Recherche bibliographique*

Numéro de tableau	Le nom de tableau	La page
Tableau. I 1	Les caractéristiques d'orange	5
Tableau I .2	La classification des oranges	6
Tableau I .3	Principaux composés d'orange	7
Tableau I .4	Déférents sources de pectines	12

### *Chapitre II : matériels et méthodes*

Numéro de figure de tableau	Le nom de tableau	La page
Tableau II.1	Les produits chimiques utilisés dans notre étude	35
Tableau II.2	Les conditions d'extraction de la pectine à différents pH	39
Tableau II.3	Les conditions d'extraction de pectines à diverses températures	39
Tableau II.4	Les conditions d'extractions de la pectine à différent temps	40

### *Chapitre III : résultats et discussions*

Numéro de tableau	Le nom de tableau	La page
Tableau III.1	Résultats des rendements d'extraction des pectines et ses caractéristiques chimiques en fonction de pH	49
Tableau III.2	Résultats des rendements et caractérisations chimiques des pectines en fonction de température °C.	51
Tableau III. 3	Résultats des rendements et caractérisations chimiques en fonction des temps.	52

## **TABLE DES MATIERS**

<b>REMERCIEMENT</b> .....	
LISTE DES ABREVIATIONS.....	
LISTE DES FIGURES.....	
LISTE DES TABLEAUX .....	
RESUME .....	
ABSTRACT.....	
المخلص.....	
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Recherche bibliographique</b> .....	<b>3</b>
I .1. Généralités sur l’oranger.....	4
I .1.1. Historique .....	4
I 1.2. Description de l’oranger .....	4
I 1.3. Structure morphologique de fruit .....	5
I .1.4. Taxonomie des oranges .....	6
I .1.5. Composition chimique de fruit .....	6
I .1.6. Composition chimique de l’écorce de fruit .....	7
I .1.7. Principales variétés d’oranges .....	9
I.2. Généralité sur la pectine .....	10
I.2.1. Introduction .....	10
I.2.2. Définition .....	10
I.2.3. Structure de pectine .....	10
I.2.4. Principale source de pectine .....	11
I. 2.4.1.En générale.....	11
I 2.4.2. Les agrumes en particulières .....	12
I .2.5. Méthodes d’extraction de pectine .....	13
I .2.5.1.Extraction chimique .....	13
I .2.5.2.Extraction physique .....	13

I 2.6. Propriétés physico chimiques de pectine .....	13
I 2.6.1. Solubilité et précipitation.....	13
I 2.6.2. Viscosité .....	14
I 2.6.3.Pouvoir émulsifiant .....	14
I.2.6.4. Pouvoir moussant .....	14
I.2.6.5. Pouvoir gélifiant .....	14
I.2.7.Applications de pectines .....	17
I.2.7.1.Industrie alimentaire .....	17
I.2.7.2.Industrie pharmaceutique .....	17
I.2.8.Dégradation de pectines .....	18
I.3.Généralités sur l'hydrogel .....	19
I.3.1. Définition d'hydrogel .....	20
I.3.2. Propriétés notables d'hydrogels .....	20
I.3.2.1. Dégradabilité .....	20
I.3.2.2. Propriétés mécaniques .....	21
I.3.2.3. Porosité .....	21
I.3.3. Exemple d'application d'hydrogel .....	22
I.4. Les nanocomposites à matrices biopolymères .....	22
I.4.1 Les argiles .....	23
I.4.1.1.La bentonite .....	23
I.4.2. Capacité d'échange cationique d'argile .....	23
I.4.3. Capacité de gonflement d'argile .....	24

I .4.4. Structure des nanocomposites .....	24
I .4.4.1. Les microcomposites .....	24
I .4.4.2. Les nanocomposites intercalés .....	25
I .4.4.3. Les nanocomposites exfoliés .....	25
I .4.5. Préparation des nanocomposites .....	26
I.4.5.1. Mélange a l'état fondu .....	26
I.4.5.2. Polymérisation in-situ .....	27
I.4.5.3. Mélange en solution .....	27
I.4.6. Propriétés des nanocomposites .....	28
I.4.7. Les applications des nanocomposites .....	28
I.5. La libération prolongée de principe actif .....	28
I.5.1. Intérêts et limites des formes à libération prolongée.....	29
I.5.2. Système LADMER et prolongation de l'action .....	29
I.5.3. Les forme à libération prolongée « les matrice ».....	30
I.5.3.1. Les matrices internes .....	30
I .5.3.2 Les matrices hydrophiles .....	30
I .6. La metformine .....	32
I .6.1. Généralité sur la metformine .....	32
I.6.2. Données pharmacocinétiques .....	33
I .6.3. Propriétés pharmacodynamiques .....	33

<b>Chapitre II : matériels et méthodes.....</b>	<b>34</b>
II.1. L'objectif de cette étude.....	35
II.1 Matériels .....	35
II.2. Protocole expérimentale.....	35
II.2.1. Préparation de la matière végétale .....	35
II.2.2. Optimisation de l'extraction des pectines.....	37
II.2.2.1.L'effet de pH sur l'extraction de pectine .....	38
II.2.2.2 Effet de la température sur l'extraction de pectine .....	39
II.2.2.3. Effet de temps sur l'extraction de pectine .....	40
II.2.3. Caractérisation chimique de pectine .....	40
II.2.3.1 Degré d'estérification (DE) .....	40
II.2.3.2. La teneur en méthoxy (MeO) .....	41
II.2.3.2. Test de Molisch.....	42

II.2.4. Caractérisation physique de pectine.....	42
II.2.4.1. Spectroscopie infrarouge (FT-IR-ATR) .....	42
II.2.5. Dissolution de pectine.....	43
II.2.6.Synthèse de la pectine FM.....	43
II.2.7. Formation de l'hydrogel.....	43
II.2.8.Courbe d'étalonnage de metformine.....	45
II.2.9 La libération de principe actif (metformine) .....	45
II.2.9.1. Préparation des solutions tampon .....	45
II.2.9.2. La libération de principe actif « metformine » (pH=1.2) .....	46
II.2.9.3 La libération de principe actif « metformine » (pH=6.8) .....	46
<b>Chapitre III : résultats et discussions.....</b>	<b>48</b>
III.1. Optimisation d'extraction de pectine.....	49
III.1.1. Effet de pH.....	49
III.1.2. Effet de température.....	50
III.1.3. Effet de temps.....	52
III.2. Le résultat de Caractérisation chimiques.....	54
III.3. Le résultat de caractérisation physique.....	55
III.3.1. Spectroscopie infrarouge (FT-IR-ATR) .....	55
III.4. Courbe d'étalonnage.....	56
III.5. La libération de principe actif (metformine) .....	56
III.6. Résultats d'absorbance par UV-visible.....	57
CONCLUSION .....	58
LES REFERENCES .....	59

## **RESUME**

L'objectif de ce travail était de produire un pilote à base de pectine extraite à partir des écorces d'oranges pour la délivrance de médicament

La pectine était notre biopolymère choisit pour cette étude. Elle a été extraite à partir des écorces d'orange sous reflux dans un milieu acide qui a donné un rendement de 23%

Une solution de chlorure de calcium a été ajoutée à notre polysaccharide pour former notre hydrogel à base de pectine.

Les analyses qualitatives ATR-FTIR de polysaccharide pectine ont montré la présence des zones riches en fonction chimiques qui indique la présence des acides, des carbonyles...

On a incorporé une dose de 500mg de metformine deux fois dans l'hydrogel, la première avec la bentonite et la seconde sans lui.

La libération prolongée de principe actif dans le milieu gastrique (pH=1.2 ) et le milieu intestinal ( pH=6.8) a été mesuré par la spectroscopie UV-visible.

Les résultats de la libération prolongée de la metformine pendant 1h ont montré que la libération était favorable dans le milieu intestinal.

## **Abstract**

The objective of this work was to produce a pilot based on pectin extracted from orange peels for drug delivery

Pectin was our chosen biopolymer for this study. It was extracted from orange peels by the hot acid hydrolysis method which gave a yield of 23% .

A solution of chlorure of calcium was added to our polysaccharide to form our pectin-based hydrogel.

Qualitative ATR-FTIR analysis of pectine polysaccharide showed the presence of areas rich in chemical functions indicating the presence of acids, carbonyls...

A dose of 500mg of metformin was incorporated twice in the hydrogel, once in the presence of bentonite and the other with its absence.

The sustained release of active ingredient in two media (pH=1.2 and pH=6.8) was measured by UV-visible spectroscopy.

The results of the sustained release of metformin for 1h showed that the release was favorable in the intestinal medium.

## الملخص

الهدف الرئيسي الذي تم من أجله هذا العمل هو تحضير هيدروجيل قائم على البوليمر الحيوي لتسليم الدواء.

كان البكتين هو البوليمر الحيوي الذي اخترناه لهذه الدراسة. تم استخلاصه من قشور البرتقال بطريقة التحلل الحمضي الساخن والتي أعطت عائد 23%.

تمت إضافة محلول كلوريد الكالسيوم إلى عديد السكاريد الخاص بنا لتشكيل هيدروجيلنا القائم على البكتين

أظهرت التحليلات مطياف الأشعة تحت الحمراء النوعية لـ لعديد السكاريد الأوليان وجود مناطق غنية بالوظائف الكيميائية التي تشير إلى وجود الأحماض والكربونيل ، إلخ.

تم دمج جرعة 500 مجم من الميتفورمين مرتين في الهيدروجيل ، مرة في وجود البنثوناييت ومرة بدونها.

تم قياس الإطلاق المستمر للمكون النشط في وسطين (الرقم الهيدروجيني = 1.2 ودرجة الحموضة = 6.8) بواسطة التحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية.

أظهرت نتائج الإطلاق المطول للميتفورمين لمدة ساعة واحدة أن الإطلاق كان إيجابيًا في الوسط المع

## INTRODUCTION GENERALE

À l'heure actuelle, il faut mettre au point des biomatériaux ayant de nouvelles propriétés pour des applications biomédicales, comme l'administration de médicaments.

Des polymères synthétiques et naturels sont utilisés pour le développement de ces matériaux. De nombreuses études sur les propriétés fonctionnelles des biomatériaux ont été menées à l'aide de polymères synthétiques pour contrôler la structure du polymère et modifier ses propriétés fonctionnelles. De plus, de nombreux rapports ont démontré que la majorité des polymères synthétiques présentent un certain nombre de lacunes, comme une cytotoxicité élevée et une faible biocompatibilité. Les principaux avantages des polymères naturels sont la biocompatibilité, la biodégradabilité et un faible coût.

La pectine est un polyoside complexe qui constitue les parois cellulaires de la plupart des plantes, et elle a été largement utilisée dans les industries pharmaceutiques et alimentaires en raison de ses propriétés gélifiantes.. En outre, les matériaux de pectine fournissent des systèmes améliorés de chargement et de libération des médicaments (c.-à-d. antibiotiques, analgésiques et/ou facteurs de réparation des tissus sur le site d'action). Les applications potentielles des hydrogels de pectine ont fait l'objet d'études intenses dans le domaine des biomatériaux pour la cicatrisation des plaies, l'ingénierie tissulaire, la dentisterie et les produits de soins de la peau.

Durant les dernières années, les nanocomposites à base de polymères ont suscité beaucoup d'intérêt en raison de leurs propriétés remarquables en comparaison avec les polymères classiques telles que la rigidité, la ténacité, la résistance chimique, les propriétés barrière et la stabilité thermique. Diverses charges minérales et organiques ont été utilisées pour accéder à ces nanocomposites.

Les argiles restent toutefois, de loin les plus utilisées pour accéder à ces matériaux. Ce minéral répandu et bon marché permet d'améliorer sensiblement les propriétés mécaniques, thermiques, barrières ainsi que les propriétés retardatrices de flamme des nanocomposites sans augmenter leur densité ou réduire leur transparence et ce, relativement aux matériaux originaux.

L'objectif de ce travail est de préparer de nouveaux nanocomposites hydrogel de pectine-argile en utilisant des argiles non modifiée (la bentonite) et cela pour étudier la libération de notre principe actif la Metformine qui est un antidiabétique oral utilisé dans le traitement de diabète de type 2 .

Avant d'entamer l'étude, nous avons divisé ce manuscrit en trois chapitres. La première partie on va parler d'une vue globale sur notre matière végétal, le polysaccharide qu'on a extrait à partir de cette matière (la pectine) ainsi que son hydrogel.

La deuxième partie sera sur les nanocomposites d'une façon générale (leurs caractéristiques, méthodes de fabrication ainsi que les applications) plus quelques informations de base sur la bentonite.

La dernière partie du premier chapitre sera comme une vue générale sur le principe actif qu'on va étudier (la Metformine) et sur sa libération prolongée.

Le deuxième chapitre est la partie expérimentale de notre étude mettant au point le matériel et les méthodes utilisées pour l'extraction, la détermination des conditions optimales pour l'extraction de pectine en étudiant l'effet des paramètres : température, pH, temps d'extraction, aussi la préparation de l'hydrogel à base de pectine ainsi que la libération de la metformine et la caractérisation par l'UV.

Le dernier chapitre consiste à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions avant de finaliser le travail par une conclusion générale.

# *Chapitre I : recherche bibliographique*

## **I .1Généralités sur l’oranger**

### **I.1.1. Historique**

L'oranger *Citrus sinensis* pousse naturellement dans le sud-est de la Chine, où il poussait il y a 2000 ans. Il a ensuite été transporté en Inde et les habitants l'ont appelé "Nagurn". C'est un terme dérivé de Nagaranga, qui signifie la maladie d'un éléphant qui mange trop de fruits verts.

Les arbres ont lentement atterri sur le sol et sont finalement arrivés en Espagne vers le 7ème siècle. Il n'a été introduit en France que 1000 ans plus tard. Aujourd'hui L'orange fait partie des fruits les plus importants sur le plan commercial lorsqu'au début de siècle elle a été considérée comme fruit exotique [1]

### **I .1.2. Description de l’oranger**

L'oranger est un arbre au port harmonieux et de croissance rapide, son aspect est plutôt arrondi ou parfois en colonne, cultivé dans les régions chaudes et qui produit les oranges.

Les orangers peuvent atteindre une grande taille d'environ 10 m au-dessus du sol, avec des feuilles vert foncé persistantes, ovales, de 6 à 12 cm de longueur, et des pétioles ailés. Les fleurs printanières des orangers sont regroupées en 2 ou 6 groupes et sont d'un blanc éclatant et très parfumées. Les fruits mettent environ 10 à 12 mois à mûrir. [2]



Figure 1.1 Photo de la fleur et fruits de *Citrus sinensis*

Dans le tableau suivant on trouve les différentes parties d'orange avec leurs caractéristiques :

Tableau 1.1 : Les caractéristiques d'orange

Parties de Fruit		Caractéristique
Écorce	Épicarpe	couleur en orange
	Mésocarpe	partie interne couleur blanchâtre
Pulpe		Juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés représente 50 à 80% du fruit
Les pépins		représentent de 0 à 4%,

### I .1.3. Structure morphologique de fruit

L'orange est un agrume, également connu sous le nom hesperidium . Il a une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit, contrairement à d'autres fruits comme les tomates et les raisins [3], elle donne un jus délicieux consommé frais ou conservé en quantité très importante dans le monde entier. Il mûrit entre novembre et avril, selon la variété [4]

Les oranges varient en forme et en couleur selon la variété, mais sont généralement sous forme sphérique et à peau lisse (oranges vives à rouges foncés), d'où son appellation [5] .

La structure d'une orange est présentée dans la Figure I.2. Les parties caractéristiques communes aux agrumes sont les suivantes

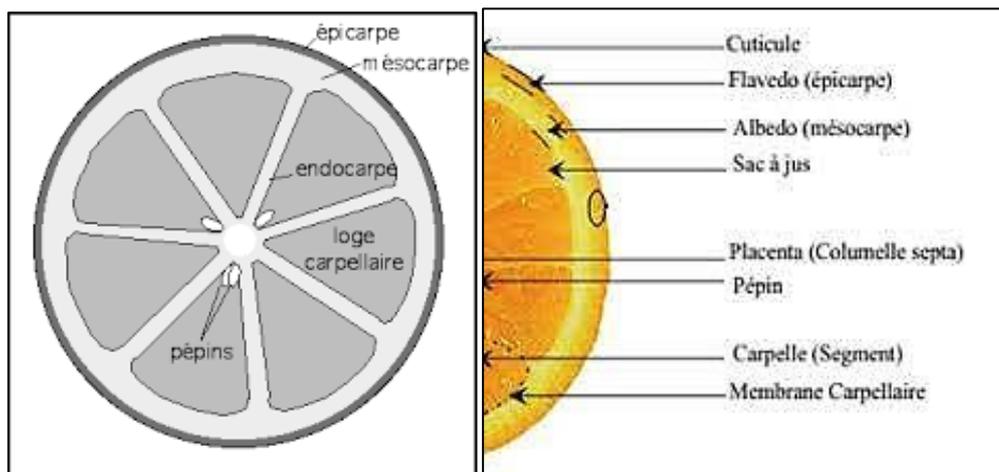


Figure I .2 : Coupe équatoriale d'une orange

#### **I .1.4.Taxonomie des oranges**

La classification des oranges est présentée dans le tableau suivant [5].

Tableau1.2. : La classification des oranges

Règne	Végétal
Ordre	Géraniales
Sous-ordre	Géraniineae
Classe	Dicotyledoneae
Sous-classe	Archichalmydeae
Division	Embryophyta
Sous-division	Angiospermes
Famille	Rutaceae
Sous-famille	Aurantiodeae
Tribu	Citreae
Sous tribu	Citrinae
Genre	Citrus
Espèce	Citrus sinensis

#### **I .1.5. Composition chimique de fruit**

Les orange sont des fruits juteux par excellence, elles sont riches en eau (plus de 85%). Cette eau contient la plupart des éléments sous formes dissoute nutriments .Elle contient 23 éléments nutritifs essentiels, y compris les glucides (40% de saccharose), de la vitamine C, vitamines PP, B1, B2, B3, B9, E, provitamine A. Riche en calcium, fer ,phosphore, et également des protéines, de l'acide citrique, et les poly phénols.[5]

Tableau I .3: Principaux composés d'orange

Constituants	Teneurs
Acides Organiques	8.5 à 12 % dans le fruit à maturité, représenté par le saccharose (40%)
Autre Composés Energétiques	Lipides concentrés dans les pépins, peu de protéines
Vitamine	Vitamine c (40 à 80 mg pour 100 g) Vitamines hydrosolubles qui sont toutes des vitamines du groupe B (B1 et B9, en particulier) Vitamine A (0.05 à 0.2 mg pour 100g) Vitamine E (0.24 mg pour 100g)
Oligo-Eléments	Fer, cuivre, zinc, Manganèse, Nickel, Iode, Trace de Bore et Sélénium
Fibres	Une teneur de 2.4 % en moyenne, elles ont l'originalité d'être riche en pectine (environ 50%)
Flore Mésophiles	Levures et lactobacilles indispensable à sa bonne digestion
Substances Aromatique	Ce sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (aldéhydes, esters.....etc), des essences es odorantes
Pigments	Donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orangé pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, Jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violacé pour les anthocyanes.

### I. 1.6. Composition chimique de l'écorce de fruit

L'écorce d'orange est essentiellement composée de cellulose, d'hémicellulose, de substances pectiques, de colorants (flavonoïdes, anthocyanes, caroténoïdes) et d'huiles essentielles. Il contient également d'autres composés tels que des glucides, des minéraux et certaines graisses et protéines [5]. L'écorce d'orange est riche en glucides solubles et insolubles [6]. En effet, les écorces d'orange contiennent beaucoup de sucres solubles : glucose, fructose et saccharose [5]. Le saccharose et le glucose sont les principaux sucres des stades précoces et matures de l'écorce [6].

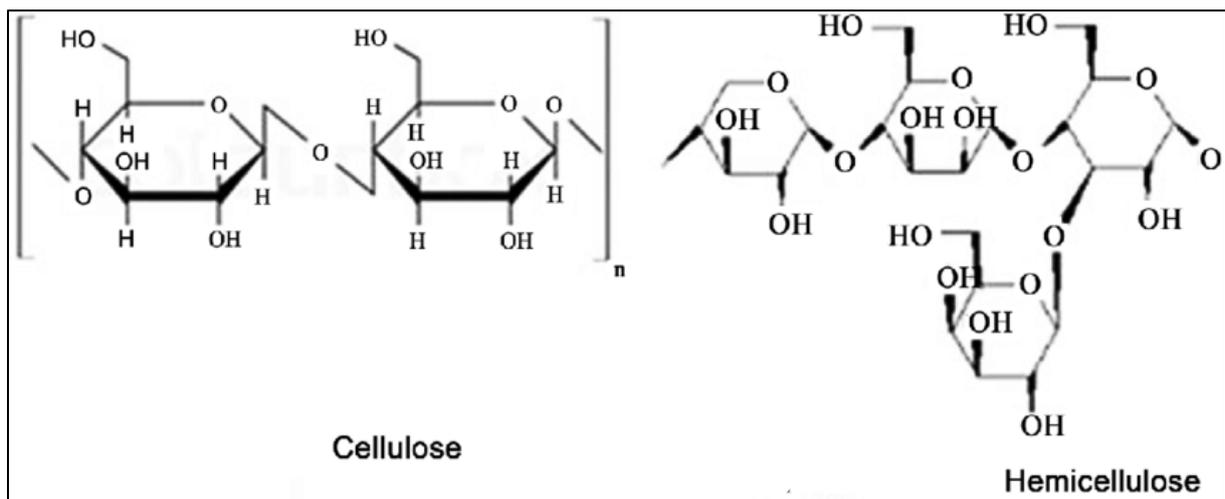


Figure I.3 : Structure de cellulose et l'hémicellulose

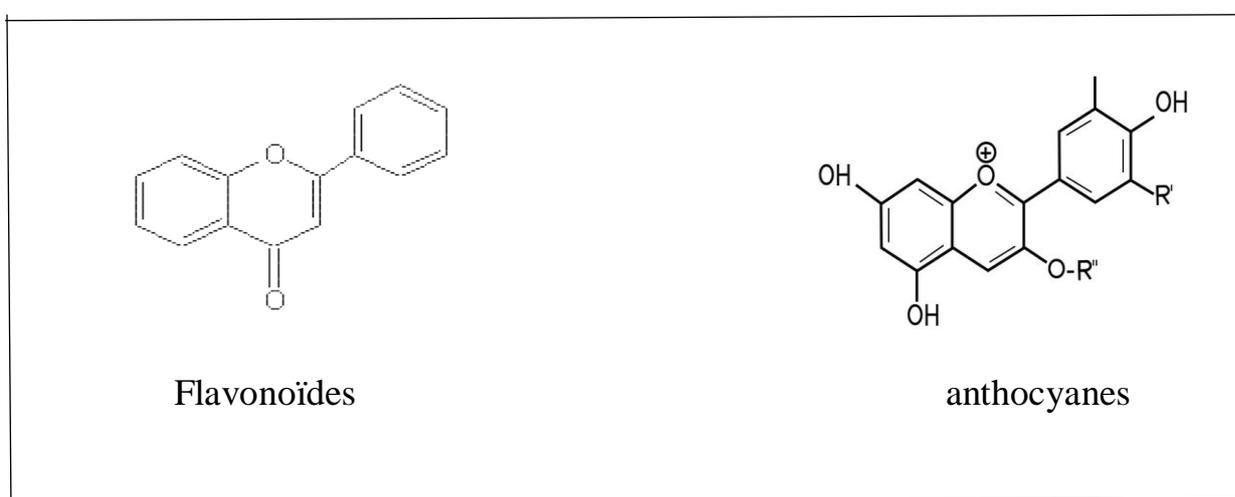


Figure I.4 : Structure de Flavonoïdes et anthocyanes

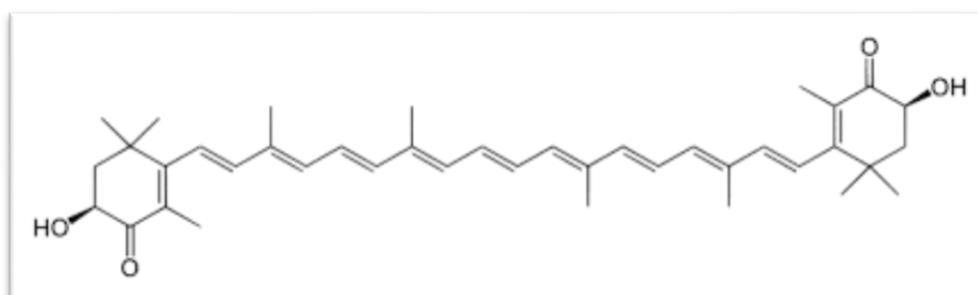


Figure I.5 : Structure de caroténoïdes

Concernant les polysaccharides insolubles des parois cellulaires de la peau d'orange, ils sont composés de cellulose et d'hémicellulose. Ce dernier est riche en acide galacturonique, arabinose, galactose, rhamnose et une petite quantité de xylose, et peut-être de glucose. L'amidon est particulièrement abondant dans l'albédo, mais se trouve également dans le flavédo quand il est vert [7] Selon les rapports, les écorces d'agrumes sont généralement une très bonne source de pectine et de fibres alimentaires, avec un rapport équilibré de parties solubles et insolubles [8].

La peau d'orange est également riche en composés phénoliques tels que les flavonoïdes [9] et les acides phénoliques, qui représentent environ un tiers des composés phénoliques [9] La plupart des acides phénoliques aux propriétés antioxydantes sont des dérivés cinnamiques ou benzoïques [10]. Ce sont des composés qui possèdent une fonction acide en plus de la fonction phénol [10] L'écorce d'orange contient principalement de l'acide chlorogénique, de l'acide caféique, de l'acide p-coumarique, de l'acide sinapique, de l'acide férulique (acide hydroxycinnamique) [11] . Concernant les flavonoïdes, les oranges contiennent plus de 60 sortes, qui se répartissent en quatre catégories selon leur structure moléculaire : les flavanones, les flavonoïdes, les flavonols et les anthocyanes [12].

## **I.7 Principales variétés d'orange**

Il existe deux grandes catégories d'oranges : les oranges douces (*Citrus sinensis* L.) et les oranges amères (*Citrus aurantium* L.)

Variété d'orange douces :

Cette variété est divisée en quatre classes, chacune avec des caractéristiques distinctes :

- Oranges communes :  
On les appelle encore "Blonde" et c'est la race la plus abondante. La variété principale est Valencia, la première variété commerciale de tous les types d'agrumes. Cela peut être trouvé dans toutes les principales zones de culture d'oranges [13]
- Oranges sanguines :  
Les oranges sanguines se caractérisent par une chair et un zeste plus ou moins rougeâtres, et une saveur riche. Ce sont peut-être les oranges les plus juteuses, mais elles ne durent que quelques mois.
- Oranges navels :

L'orange navel se caractérise par sa croissance sur la partie supérieure de l'orange. Le mot «nombril» signifie en fait «nombril» en anglais. [14].

- Orange non acide ou sucré :  
Ces oranges ont une acidité très faible et un mauvais goût. Les oranges sans citron vert sont des fruits de début de saison, également appelés oranges "douces". Ils contiennent très peu d'acide, ce qui les rend impropres à l'extraction de jus. Ils ne poussent pas en grand nombre.[14]

## **I .2. Généralités sur la pectine**

### **I 2.1. Introduction**

Les polymères naturels jouent un rôle important dans de nombreuses applications, pour leurs propriétés nutritionnelles et surtout fonctionnelles, aussi pour leur image comme produit naturel. Parmi ces polymères les pectines qui sont très largement utilisées dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique

Les pectines, du mot grec pektos, qui signifie «prise en gelée», ont été isolées pour la première fois par Henri Braconnot, en 1825, à partir d'extraits végétaux. Ces molécules représentent un ensemble complexe et hétérogène de polysaccharides fortement hydratés et riches en acides uroniques. Au début du XXème siècle, la pectine a fait l'objet, pour la première fois d'une extraction à l'échelle industrielle.[15]

### **I .2.2.Définition**

Les pectines sont une classe complexe de polysaccharides qui entrent dans la composition des parois cellulaires végétales et particulièrement dans les fruits (pommes, bananes...) et les agrumes comme citrons, oranges aussi dans des nombreux légumes comme les betteraves. Ce sont des polysaccharides complexes que l'on retrouve principalement dans la lamelle moyenne et la paroi cellulaire primaire des plantes supérieures [16] ou elles jouent le rôle de ciment intercellulaire, responsables de la rigidité et l'agrégation

D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau, celle-ci étant un bon solvant pour les pectines.[16]

### **1.1 Structure de la pectine**

Le squelette de la pectine est composé majoritairement d'unités d'acide D-galacturonique reliées en  $\alpha$ -(1→4) par des liaisons glycosidiques et de faibles quantités de  $\alpha$ -L-rhamnose plus ou moins ramifiés [15].

Selon l'âge des tissus, on rencontre la pectine sous deux formes :

- la protopectine : insoluble car liée aux autres composants.
- L'acide pectique : soluble dans l'eau à froid.

La transformation progressive de la protopectine en pectine soluble se fait au cours de la croissance cellulaire, selon des mécanismes enzymatiques complexes qui aboutissent au ramollissement des tissus végétaux [17].

Toute une série de substitutions, qui en font rarement une structure homogalacturonique simple, se trouve sur le long de la chaîne principale. En effet, les fonctions acides carboxyliques sont plus ou moins estérifiées par du méthanol [18]. D'où la détermination du Degré de Méthoxylation (DM) des pectines qui est défini comme étant le nombre de fonctions carboxyliques méthylées pour cent motifs d'acide galacturonique de la chaîne principale.

Les trois entités, homogalacturonane, rhamnogalacturonane et chaînes latérales d'oses neutres (galactanes, arabanes, xylnes, etc.) forment les domaines constitutifs des pectines. [19].

L'hydrosolubilité des substances pectiques diminue quand le DM diminue [19]. Les pectines hautement méthylées sont donc très solubles dans l'eau.

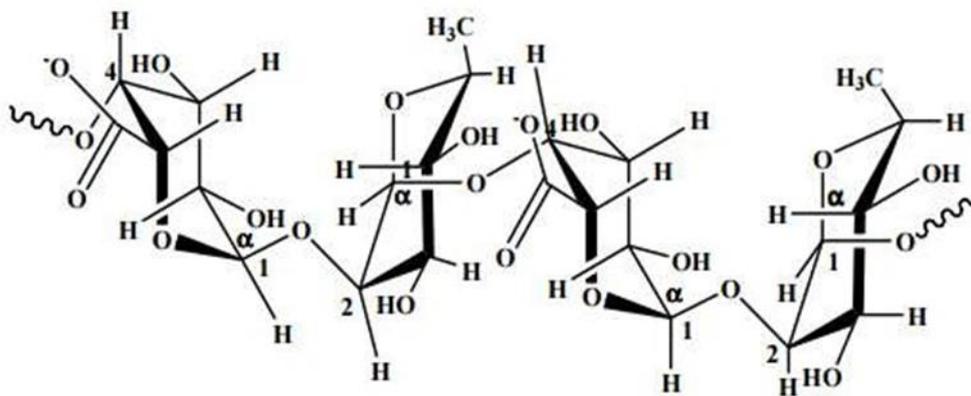


Figure I. 6 : Structure moléculaire de la pectine.

## I 2.4.Principales sources de pectines

- **En général**

Le zeste d'agrumes est un ingrédient important pour l'obtention de la pectine, qui est couramment utilisée comme agent gélifiant pour les aliments, avec le marc de pomme.

Plusieurs travaux de recherche ont été consacrés à la valorisation des sous-produits issus de la transformation des fruits et légumes (industrie agroalimentaire) dans le but de procéder à l'extraction de la pectine (tableau I .4) [20].

Tableau I.4: Différentes sources de pectine

Fruits	Teneur en pectine (% du poids frais)
Ecorce d'orange	3.60 - 5.50
Ecorce de citron	2.50 - 4.00
Ecorce de fruit de la Passion	2.10 - 3.00
Marc de pomme	1.50 - 2.50
Tamarin	1.71
Banane	0.70 - 1.20
Pulpe de betterave	1.00
Mûre	0.72
Pomme	0.50 - 1.60
Pêches	0.10 - 0.90
Tomate	0.20 - 0.60
Carotte	0.20 - 0.50
Mangue	0.26 - 0.42
Ananas	0.04- 0.13

- **Les agrumes en particulier**

L'Algérie est un pays agrumicole, ce qui lui confère une grande possibilité d'exploitation des résidus d'agrumes pour la production de pectines.

L'industrie de fabrication de jus d'agrumes rejette les résidus de pelures, de pulpe et de noyaux. Le résidu d'orange, comme les autres agrumes, est périssable s'il n'est pas traité immédiatement, et la pectine est considérablement dégradée par les enzymes pectiques qu'elle contient.

Lors de la production abondante de fruits, il est essentiel de conserver convenablement les résidus qui sont considérables afin de récupérer les pectines.

La production de pectine à partir de marcs des agrumes séchés présente plusieurs avantages, dont les plus évidents, sont la disponibilité de la matière première durant toute l'année[21]

### **I .2.5. Méthodes d'extraction de pectine**

Plusieurs modes d'extraction des pectines sont envisageables. Il peut s'agir des méthodes chimiques, physiques

#### **I .2.5.1. Extraction chimique**

L'extraction par voie chimique consiste à solubiliser les pectines restant dans la pulpe ou les écorces, à l'aide d'acide dilué, à chaud. Le processus de production de pectine comprend trois étapes principales :

- Préparation de la matière première et solubilisation de la protopectine.
- Précipitation alcoolique des pectines.
- Lavage, séchage, broyage et standardisation des pectines extraites.

Les conditions d'extraction (pH, température, temps) doivent être optimisées pour obtenir chaque type de pectine avec des rendements acceptables. Pour des pH de l'ordre de 1.5 à 3 et des températures de 70 à 90° C, et la durée de l'extraction peut varier de 50mn à 90 min [22]

#### **I .2.5.2. Extraction physique**

L'extraction des pectines de la paroi exige un milieu aqueux (eau pure, agents chimiques dilués ou enzymes). Cependant, un certain nombre de procédés d'extraction des pectines sont considérés comme physiques (ou mécaniques). Parmi ces procédés insuffisamment précis, se classent les extractions par cuisson-extrusion, autoclave, microonde, Soxhlet ou pression manuelle.[22]

### **I .2.6. Propriétés physico chimiques de pectine**

Les substances pectiques ont plusieurs propriétés physico-chimiques, celles qui sont importantes pour leurs analyses et justifient leur emploi dans les industries agricoles et alimentaires sont :

#### **I 2.6.1. Solubilité et précipitation**

La solubilité des pectines est conditionnée par un certain nombre de facteurs liés essentiellement à leurs structures et notamment : leur masse moléculaire, l'importance de leur taux de ramification, la valeur de leur degré de méthylestérification ainsi que la répartition des groupements méthylester le long de la chaîne pectique. Les pectines sont, par ailleurs, solubles dans le Diméthylsulfoxyde le formamide, le diméthylformamide et le glycérol.[23]

### **I .2.6.2. Viscosité**

Cette propriété est obtenue lorsque la molécule ne peut pas créer de région de jonction en raison de sa structure (PM/taille/...) modifiant le comportement de la phase continue. Les pectines HM de poids moléculaire élevé dans des milieux qui ne favorisent pas la gélification, comme les boissons à base de jus de fruits, présentent cette propriété. Comme pour les pectines LM, on parlerait plutôt du comportement viscoélastique typique, où chaque composant peut être modifié en fonction, par exemple, de la teneur en calcium du milieu réactionnel. Ces pectines sont largement utilisées dans les confitures, les gelées et les confitures.

La viscosité des solutions de pectines totalement méthylées est indépendante du pH au contraire des solutions de pectines comportant des fonctions carboxyliques libres [23]

### **I .2.6.3. Pouvoir émulsifiant**

L'émulsification est généralement une propriété fonctionnelle associée aux protéines alimentaires. En revanche, la nature majoritairement hydrophile des polysaccharides signifie qu'ils présentent généralement peu d'activité à l'interface huile-eau et sont donc moins utiles que les émulsifiants.

Comme la plupart des polysaccharides, la pectine n'est généralement pas considérée comme un émulsifiant. À l'exception de la pectine de betterave à sucre acétylée, qui a une activité de surface beaucoup plus élevée que la pectine HM ou LM et peut facilement former et stabiliser des émulsions d'huile végétale dans l'eau. [24]

### **I .2.6.4. Pouvoir moussant**

L'origine moléculaire des capacités considérables d'émulsification et du pouvoir moussant de la pectine est le caractère hydrophobe des groupes acétyles (2-9%) [19]

### **I .2.6.4. Pouvoir gélifiant**

La pectine est largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour ses propriétés gélifiantes, épaississantes et stabilisantes.

Les propriétés fonctionnelles sont sensibles au degré d'estérification (DE), dont la valeur dépend du type de tissu végétal dont la pectine est extraite.

Un gel est un réseau tridimensionnel de macromolécules comprenant des solvants. Ceci est causé par des changements physiques ou chimiques qui tendent à réduire la solubilité de la pectine, favorisant la formation de cristaux localisés [19].

Les pectines hyperméthylées ( $DE \geq 50\%$ ) forment des gels en milieu acide à forte teneur en sucre ( $> 50\%$ ), tandis que les pectines hypométhylées ( $< 50\%$  DE) en présence d'ions calcium via différents mécanismes forment un gel [19].

Les gels de pectine HM sont plus faibles que les gels de pectine LM et leur stabilité diminue avec l'augmentation de la température.

Les propriétés des gels de pectine sont également affectées par la distribution des charges le long de la chaîne de l'homogalacturonane, la masse moléculaire moyenne de l'homogalacturonane, la concentration ionique de la solution, et la nature du cation de réticulation.

La formation de gel est inhibée par l'augmentation du degré d'acétylation de l'homogalacturonane et par la présence des régions de rhamnogalacturonane I attachées à l'homogalacturonane [25]

#### ➤ Gélification de pectine hautement méthylées (HM)

Les pectines « hautement méthylées » (HM pour High Methoxyl) (figure 1.7) ayant un DM  $> 50\%$  sont majoritairement présentes dans la nature. Elles forment des gels irréversibles en milieu acide pH (2 à 3.8) et en présence de solubles de types polyols, et particulièrement le saccharose, glucose et fructose à des teneurs supérieures à 60 %, à cela s'ajoute l'activité de l'eau et la température. La gélification résulte de la formation de zone de jonction entre les régions homogalacturoniques (HG) des molécules pectiques, sous l'action du sucre qui favorise la diminution de l'activité de l'eau et de l'acide qui réduit les répulsions électrostatiques intermoléculaires [25].

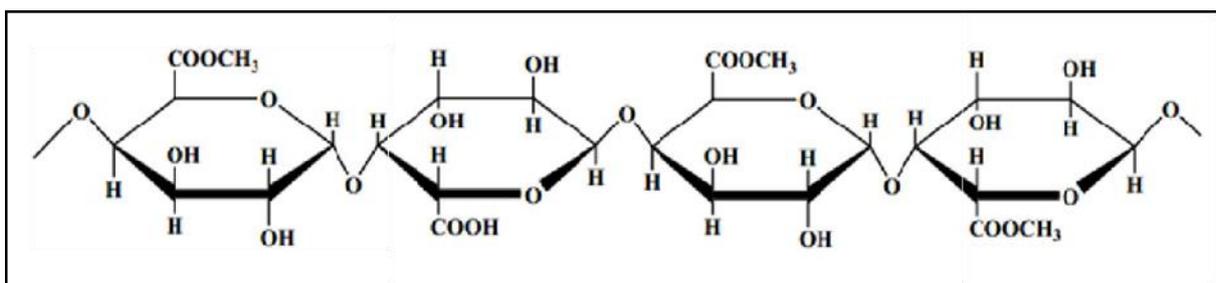


Figure I. 7 : Pectines hautement méthylées

#### ➤ Gélification des pectines faiblement méthylées

Les pectines « faiblement méthylées » (LM pour Low Methoxyl) (figure 1.8) ayant un DM  $< 50\%$  sont obtenues à partir des pectines HM, soit par voie chimique ou par voie enzymatique

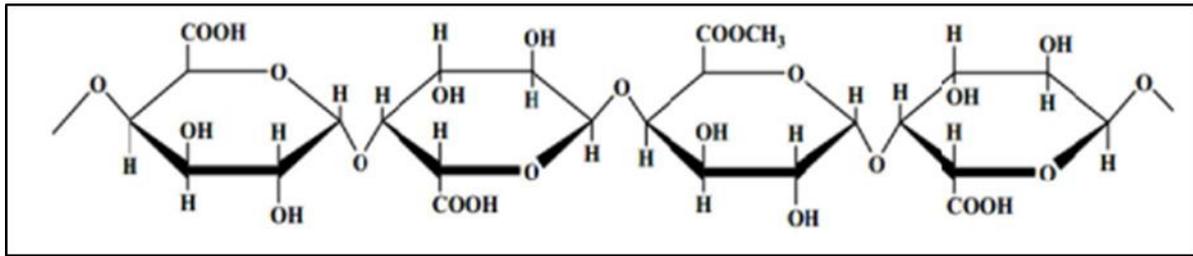


Figure I.8 : Pectines faiblement méthylées

Ces pectines forment des gels alimentaires thermoréversibles en présence des ions divalents, en l'occurrence le cation  $\text{Ca}^{++}$ , le seul utilisé en industrie alimentaire, mais dans une gamme de pH plus large de 2,8 à 7 et en absence de saccharose [25].

La gélification est due à la formation des zones de jonction entre les régions HG des deux chaînes pectiques via des ponts  $\text{Ca}^{++}$  [23] en formant de cavités qui permettent l'association des chaînes de pectines par la chélation des ions de calcium, formant un réseau moléculaire sous la forme de "boîte à œufs" par analogie aux alginates [23].

Les différentes étapes de la formation des gels en présence de  $\text{Ca}^{++}$  sont résumées dans le schéma suivant :

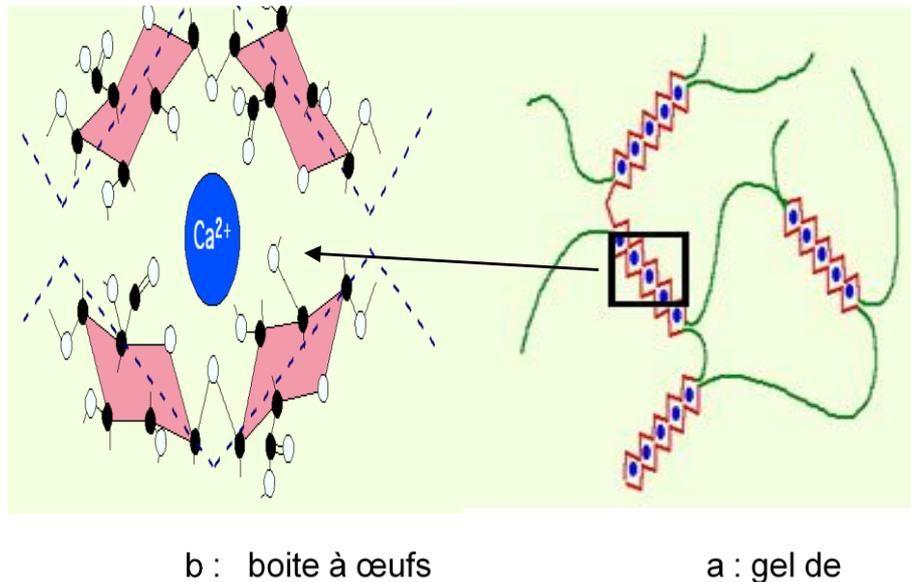


Figure I. 9 : Etapes de formation des gels en présence de  $\text{Ca}^{++}$

## **I .2.7. Applications de pectines**

### **I .2.7.1. Industrie alimentaire**

- Les pectines sont des gélifiants naturels. Elles sont utilisées comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées, et des conserves...
- Les interactions protéine-pectine améliorent la solubilité, l'émulsification, la gélification et le comportement moussant des concentrés protéiques [26]

### **I .2.7.2. Industrie pharmaceutique**

- La pectine était l'un des ingrédients principaux utilisés dans des pastilles pour le mal de gorge comme adoucissant
- Dans les produits cosmétiques, elle agit en tant que stabilisateur et est employée dans les préparations curatives de blessures et particulièrement et surtout dans les adhésifs médicaux, tels que les dispositifs de colostomie [26]
- Elle régule le transit intestinal et capture sucres et graisses dans l'intestin
- Comme prophylactique naturel, la pectine agit contre l'empoisonnement des cations toxiques
- Elle fait baisser le taux de LDL (mauvaise cholestérol, cela risque d'empêcher la circulation de sang et d'entraîner un accident cardiovasculaire) et de glycémie à cause de sa capacité de réguler le profil liquide (absorbe les sucs sécrétés par le foie au niveau intestinal [25])
- Utilisées pour traiter la diarrhée, particulièrement chez les enfants en bas âge. Cependant, elle a une action antimicrobienne in vitro à l'égard de quelques souches bactériennes [26]
- Dans les formulations à libération contrôlée, les hydrogels de pectine se trouvent dans les comprimés comme liant
- La pectine s'est révélée aussi d'une action prometteuse dans les colites ulcéreuses, la maladie de crohn et du cancer du côlon [25]

- Lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse, elle réduit le temps de coagulation du sang prélevé, elle est utile dans le contrôle de l'hémorragie ou de saignement local [26].
- Certains dérivés de pectine ont été utilisés pour les préparations des vaccins, mais aussi en tant que vecteurs dans l'administration de produits pharmaceutiques [26].

### **I .2.8. Dégradation de pectines**

Les substances pectiques en solution peuvent subir deux grands types de dégradations, des estérifications et des dépolymérisations.

- **Réaction de desestérifications**

C'est un ensemble de réactions classiques qui libèrent le méthanol et forment des pectases et des dépolymérisations, par hydrolyse des liaisons  $\alpha$  (1-4) en milieu acide [27].

- **Réactions de dépolymérisations**

Elles s'effectuent soit par hydrolyse des liaisons  $\alpha$  (1-4), soit par des réactions de  $\beta$  élimination qui provoquent la rupture des liaisons glycosidiques adjacentes en un groupe estérifié entre les résidus d'acides galacturonique et l'apparition d'une double liaison entre les carbones C-4 et C-5 en milieu neutre à basique [27]

## I .2. Généralités sur l'hydrogel

Un hydrogel est un réseau tridimensionnel de polymères gonflé par de grandes quantités d'eau. Ils sont classés selon différents critères, comme la montre la figure suivante [28]

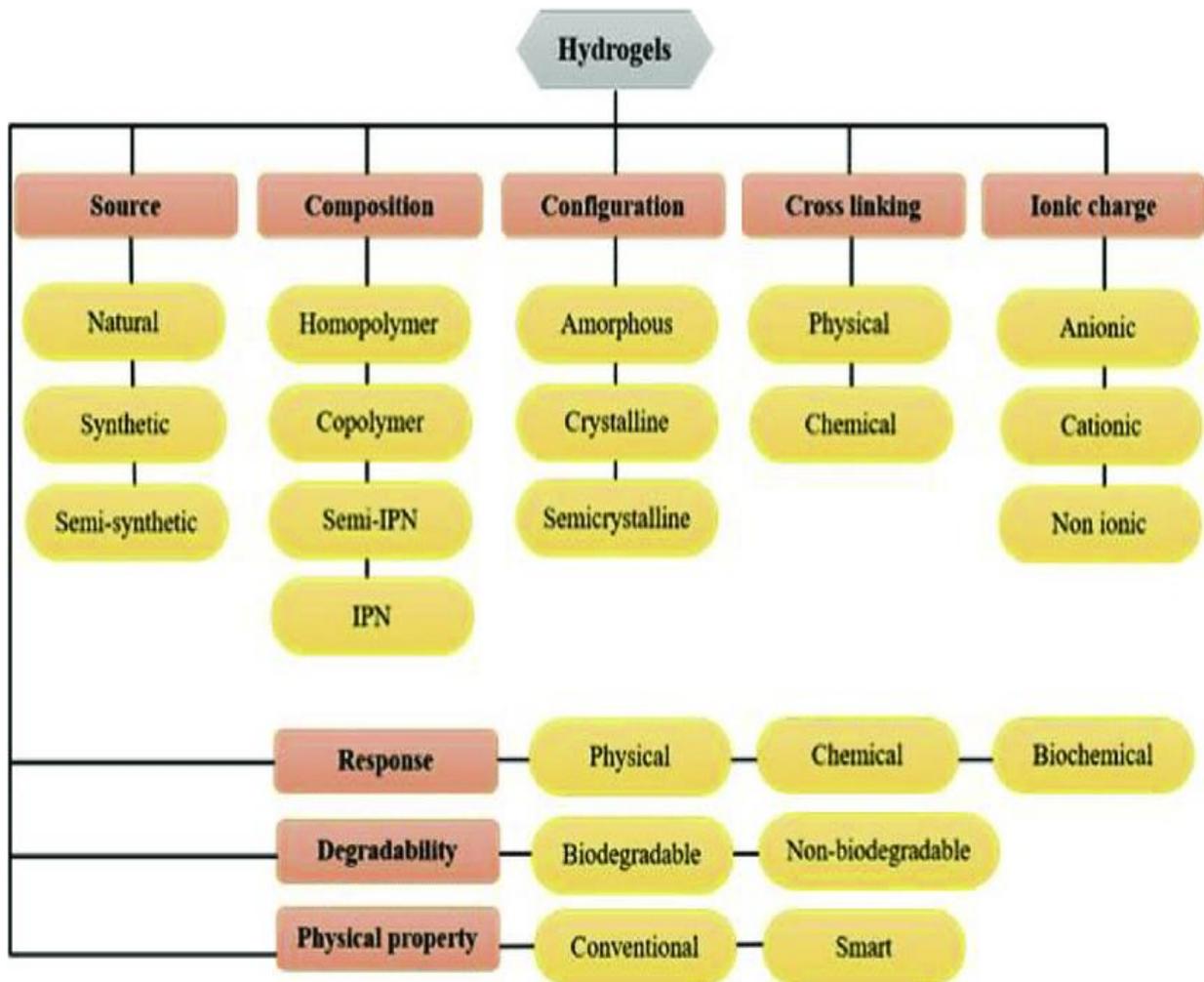


Figure I. 10 : Classification des hydrogels

- La source du polymère : hydrogel naturel ou synthétique.
- La nature de la réticulation : hydrogel chimique ou physique.
- La nature du réseau polymérique : réseau homopolymérique ou copolymérique, réseau de polymères enchevêtrés.
- La charge de l'hydrogel.
- Leur durée de vie dans l'organisme : hydrogel dégradable ou non-dégradable [28]

Depuis que les premiers hydrogels synthétiques ont été formés en 1960, la technologie des hydrogels a progressé dans de nombreuses applications industrielles, telles que l'industrie alimentaire, la pharmacie et même la biomédecine [29]. Ils jouent maintenant un rôle important dans l'ingénierie tissulaire, les biocapteurs et la fixation cellulaire et même comme vecteurs de médicaments. Dans ces applications, les systèmes de délivrance contrôlée de médicaments à base d'hydrogel sont devenus un domaine de recherche majeur et plusieurs produits commerciaux ont été développés. En outre, le développement d'une large gamme de monomères fonctionnels continue d'élargir la polyvalence des hydrogels [29].

### **I .3.1. Définition d'hydrogel**

Un hydrogel est un réseau polymère hydrophile qui peut absorber jusqu'à des milliers de fois sa masse sèche en eau. Les hydrogels peuvent être chimiquement stables ou se dégrader et se dissoudre [30]

Un hydrogel est dit "réversible" ou "physique" lorsque le réseau est un enchevêtrement de polymères maintenus ensemble par des forces secondaires de type liaison hydrogène, ionique ou hydrophobe. Les domaines réticulés des gels physiques créent une inhomogénéité. Les chaînes polymères libres représentent des réseaux transitoires dans les gels physiques car les sites de réticulation ne sont pas permanents.[30]

Un hydrogel est considéré comme "permanent" ou "chimique" lorsque son réseau est réticulé de manière covalente.[31]

Comme les hydrogels physiques...Les hydrogels chimiques ne sont pas homogènes. Ils contiennent généralement des régions gonflables à l'eau de haute densité de réticulation. Ces régions sont dispersées dans des régions à faible densité de réticulation, très gonflables à l'eau. [31]

### **I .3.2.Propriétés notables d'hydrogels**

Les hydrogels destinés à être utilisés comme matériaux biologiques en biotechnologie nécessitent certaines propriétés physico-chimiques qui doivent être caractérisées et contrôlées. Deux caractéristiques importantes sont la biocompatibilité et propriétés mécaniques [32]. La perméabilité des hydrogels est également un paramètre nécessaire pour étudier les applications potentielles d'encapsulation et de libération. [32]

### **I.3.2.1 Dégradabilité**

Le contrôle de la dégradation des biomatériaux est souvent un facteur critique dans les applications biomédicales. En se dégradant, le matériau laisse place à la croissance de nouveaux tissus ou à la diffusion de molécules bioactives. La dégradation du gel peut être contrôlée par des moyens physiques et/ou chimiques : la masse molaire du polymère ou sa composition peut être utilisée pour contrôler la cinétique de dégradation in vivo. [32]

### **I.3.2.2. Propriétés mécaniques**

Les propriétés mécaniques de l'hydrogel sont très importantes pour le choix du matériau à utiliser pour une application spécifique : en génie tissulaire ou en lentilles de contact (gels souples), pour les épaississants dans l'alimentaire, les propriétés attendues sont différentes dans l'industrie (gel très souple), ou réaliser des microbilles absorbantes (gel dur). Pour mieux comprendre le comportement mécanique des hydrogels, nous utilisons des théories élastiques et viscoélastiques basées sur la réponse temporelle des gels sous pression. Les conditions de formation de l'hydrogel, telles que le temps de réaction, la température, la quantité et le type de solvant, peuvent affecter la structure finale du gel ainsi que les propriétés mécaniques du gel. [33]

Récemment, trois nouveaux types d'hydrogels aux propriétés mécaniques favorables ont été développés : les hydrogels « topologiques » (TC), les hydrogels « nanocomposites » (NC), et les hydrogels « à double réseau » (DR). Le gel TP a des points de réticulation en forme de 8 qui peuvent glisser autour des chaînes polymères, et cette réticulation flexible le rend extrêmement extensible. Dans les gels NC, les chaînes polymères sont réticulées par des blocs inorganiques de plusieurs dizaines de nanomètres. Ils sont également très extensibles et possèdent d'autres propriétés physiques intéressantes comme une excellente clarté optique. Enfin, les hydrogels DR sont constitués de deux réseaux de polymères interpénétrés : l'un constitué de polymères rigides hautement réticulés et l'autre d'un polymère souple faiblement réticulé. Ils ont une résistance à la rupture élevée. L'invention de ces trois hydrogels élargit encore le champ d'application des gels dans l'industrie. [33]

### **I.3.2.3. Porosité**

De nombreuses applications sont basées sur la diffusion de solutés dans des hydrogels. Par conséquent, la porosité du gel (la taille des pores du réseau) et les paramètres affectant la diffusion des solutés dans le gel sont des caractéristiques

importantes à déterminer. Il existe différents modèles mathématiques permettant de simuler les phénomènes de transport dans les gels. Les chaînes polymères empêchent ou retardent le mouvement des solutés en réduisant le volume libre moyen disponible : elles agissent comme des barrières physiques et augmentent la longueur du chemin parcouru. La structure du réseau (taille des pores), la composition du polymère, la nature et la taille du soluté sont autant de paramètres à prendre en compte dans les phénomènes de diffusion. [34]

### **I.3. Exemple d'application d'hydrogel**

- **Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments**

L'une des applications importantes des hydrogels est leur utilisation en médecine pour contrôler la libération de molécules bioactives. Le système de libération doit pouvoir contrôler la libération du soluté dans le temps. Parmi les biomatériaux disponibles, les hydrogels possèdent un ensemble de propriétés qui les rendent idéaux pour cette application, car la diffusion des molécules actives peut être contrôlée. Le choix du matériau et du réseau d'hydrogel contrôlera la libération du médicament de la matrice. Le tableau répertorie les principaux critères à prendre en compte lors de la fabrication d'hydrogels avant utilisation. [35]

Les hydrogels biodégradables sont favorisés dans la plupart des applications médicales car ils se dégradent relativement rapidement dans des conditions relativement douces, évitant ainsi une intervention chirurgicale supplémentaire pour retirer les implants d'hydrogel non dégradables [35].

Les systèmes de distribution contrôlée de médicaments à base d'hydrogels peuvent être utilisés pour une application orale, oculaire, sous-cutanée ou épidermique. L'administration de médicaments par voie orale est la méthode la plus utilisée. Cela permet délivrer les substances dans quatre sites spécifiques majeurs : la bouche, l'estomac, l'intestin grêle et le colon. Les propriétés d'adhésion spécifique des hydrogels permettent d'augmenter la concentration locale en médicament et augmentent son absorption dans le corps [35] .

### **I.4. Les nanocomposites à matrices biopolymères**

Au cours des 20 dernières années, une attention très particulière a été portée sur la synthèse de nanocomposites à matrice polymère. Ils constituent une classe de matériaux émergente aux propriétés prometteuses [36] notamment en termes de propriétés mécaniques, propriétés barrières, stabilité thermique, matériaux à module d'élasticité élevé.[37] Ceci est dû essentiellement à la très grande surface d'interaction entre la matrice biopolymère et à la morphologie de l'ensemble.

Parmi les différents nanorenforts décrits, une attention particulière a été portée aux argiles pour l'élaboration de composites. Les argiles se trouvent être l'un des renforts idéals pour les biopolymères et ce, essentiellement grâce à la surface de contact très élevée des argiles dispersées. [37]

#### **I .4.1.Les argiles**

L'argile est un matériau naturel dérivé des roches sédimentaires. Le terme "argile" recouvre plusieurs concepts différents, selon la discipline concernée. Les géologues considèrent tous les minéraux de très petite taille (2 à 4  $\mu\text{m}$  ) comme des argiles, les ingénieurs civils s'intéressent davantage aux propriétés plastiques quelle que soit leur taille, et enfin les minéralogistes se réfèrent à un minéral connu pour ses cristaux minéraux caractérisés par une structure.[38]

Les minéraux argileux avec une structure en feuille sont des silicates en couches, un matériau composé d'oxygène et de silicium qui forme des tétraèdres  $\text{SiO}_4$ . Il existe également des métaux tels que le magnésium, l'aluminium ou le fer. [38]

L'incorporation de silicates lamellaires dans la matrice de biopolymère est connue depuis plus de 50 ans. En effet, l'une des premières études systématiques sur l'interaction entre une argile minérale et une macromolécule remonte à 1949, lorsque Bower décrit l'absorption d'ADN par la montmorillonite. [38]

##### **I .4.1.1. La bentonite**

La bentonite est une pierre tendre, cassante, très lisse au toucher, blanche, grise ou légèrement bleutée. C'est un sol qui gonfle d'eau. Il est principalement composé d'un minéral argileux appelé montmorillonite, dont la structure est encore mal connue. [39]



Figure I .11 : Argile de bentonite

##### **I .4.2. Capacité d'échange cationique d'argile**

La capacité d'échange cationique d'une argile résulte de la substitution isomorphe des atomes d'aluminium de la couche octaédrique par des atomes de

Mg<sup>2+</sup> et Fe<sup>3+</sup> et de la substitution de Si<sup>4+</sup> par Al<sup>3+</sup> dans la couche tétraédrique induisant un déficit en charge du feuillet qui est compensé par la présence des cations compensateurs. [40]

### I.4.3. Capacité de gonflement d'argile

L'une des propriétés les plus remarquables de la bentonite est sa capacité à gonfler de manière significative dans l'eau pour former une substance collante et semblable à un gel. Le gonflement de la bentonite est principalement dû à l'absorption d'eau par la structure moléculaire, qui se produit entre les couches et s'étale les unes par rapport aux autres.[41]

### I.4.4. Structure des nanocomposites

Suivant la méthode utilisée pour la préparation des nanocomposites à base de Polymère–argile et la nature des composés utilisés (l'argile organiquement modifiée ou non, cation organique et biopolymère), il est possible d'obtenir principalement trois types de nanocomposites différents [42]

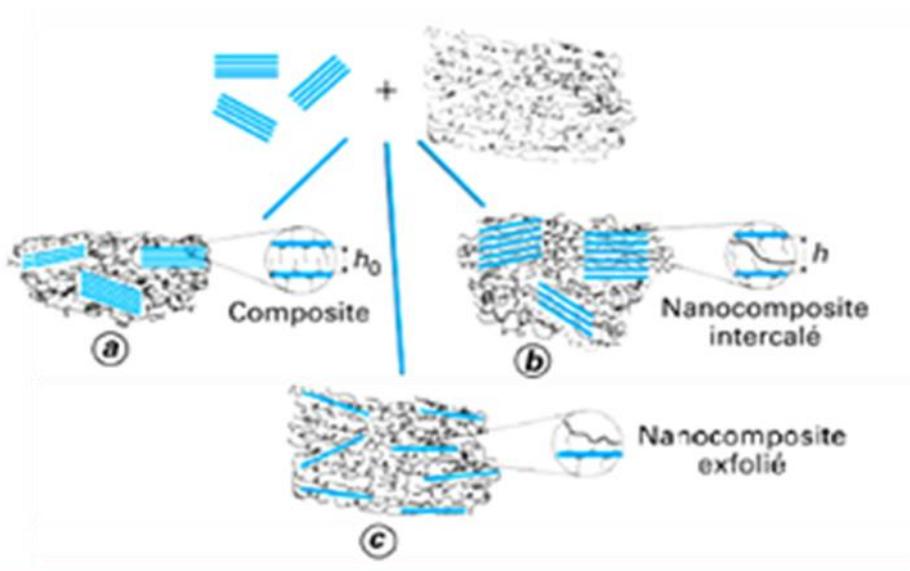


Figure I . 12: Nanocomposites à base de biopolymère structure

#### I.4.4.1. Les microcomposites

L'argile reste dans son état agrégé et le biopolymère ne peut s'intercaler entre les couches de silicates. Une séparation en phases distinctes a lieu conduisant à un système immiscible avec une faible attraction physique entre les composants

organiques et inorganiques. Les propriétés mécaniques du système global sont mauvaises. [43]

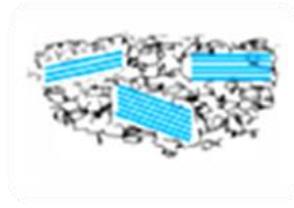


Figure I. 13 : Structure d'un microcomposite

#### **I .4.4.2. Les nanocomposites intercalés**

Dans ce cas, l'argile est dispersée sous forme d'empilements de plaquettes plus ou moins interconnectées appelés tactoïdes . Les chaînes de biopolymère pénètrent entre les feuillets d'argile provoquant une extension de l'espace interfoliaire . Une structure multicouche ordonnée est obtenue avec une alternance ente les couches de biopolymère et les couches inorganiques. [44]

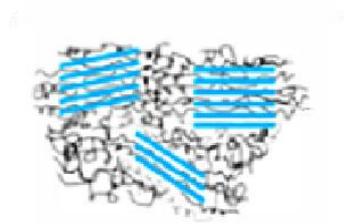


Figure I. 14 : Structure de nanocomposite intercalé

#### **I .4.4.3. Les nanocomposites exfoliés**

Dans ce type de composite, les feuillets d'argile sont bien séparés entre eux et uniformément dispersés dans la matrice biopolymère. [45]

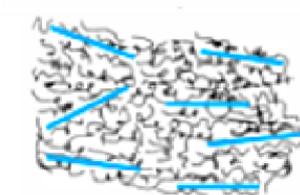


Figure 1.15: Structure de nanocomposite exfolié

## I.4.5. Préparation des nanocomposites

Il existe plusieurs méthodes pour préparer des nanocomposites à base de biopolymère-argile, principalement, la polymérisation in-situ, le mélange en solution, le mélange à l'état fondu.

### I.4.5.1. Mélange à l'état fondu

C'est la méthode de préparation des nanocomposites biopolymères préférée par le monde industriel. Elle repose sur le mélange de la matrice polymère à l'état fondu avec l'argile modifiée ou non. Si la compatibilité entre la matrice biopolymère et la surface des feuillets d'argile est bonne, les chaînes de biopolymère peuvent pénétrer dans l'espace interfoliaire et former un composite intercalé. [42]

Le grand intérêt de cette méthode est la non utilisation de solvant et de permettre l'utilisation des techniques de mise en œuvre classiques des biopolymères. [42]

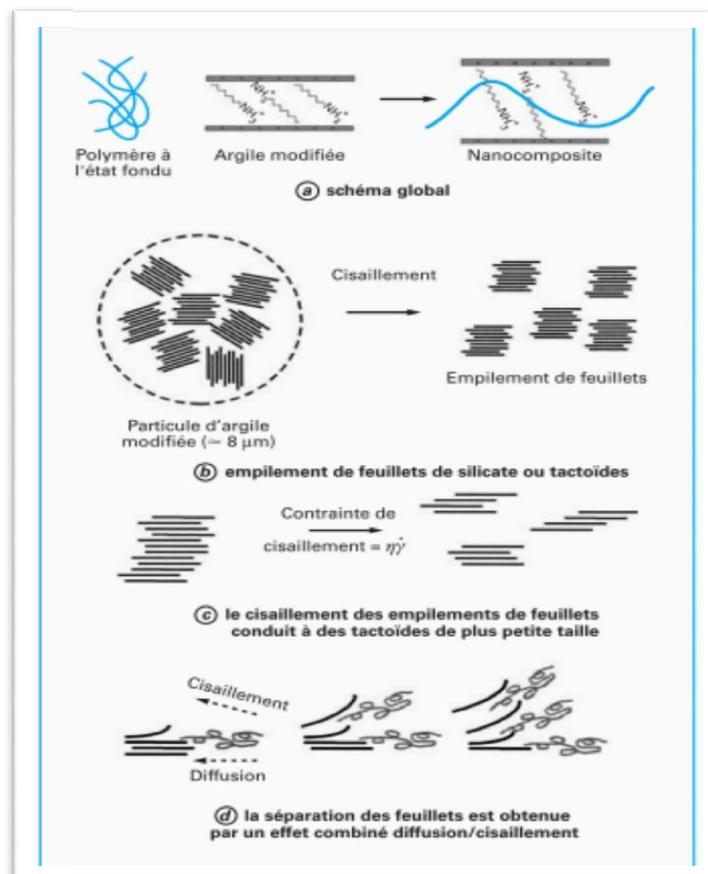


Figure 1.16: Schéma de l'élaboration de nanocomposites par mélange à l'état fondu.

### I. 4.5.2. Polymérisation in-situ

La polymérisation in-situ est la première méthode utilisée pour la synthèse de nanocomposites à base de polyamide 6. Elle est largement utilisée pour la préparation de nanocomposites biopolymères. Le procédé se fait comme suit :

L'argile est gonflée par le monomère ce qui permet l'entrée de ce dernier à l'intérieur des galeries d'argile puis la polymérisation est amorcée à l'intérieur des galeries de l'argile comme le montre la figure (1.17) [46]

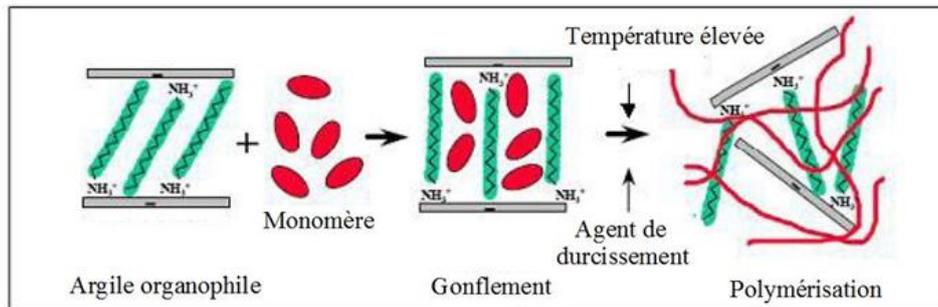


Figure 1.17 : Formation de nanocomposite par polymérisation in-situ

### I .4.5.3. Mélange en solution

Les feuillets de l'argile sont exfoliés en monocouches en utilisant un solvant dans lequel le biopolymère est soluble Cette méthode a été très largement utilisée pour la préparation de nanocomposites intercalés dans le cas des biopolymères hydrosolubles comme le poly(alcool vinylique).[47]

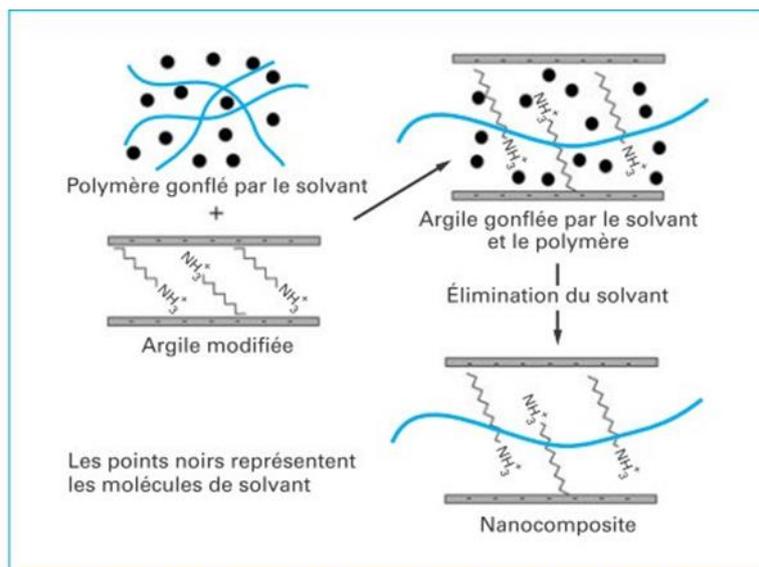


Figure1.18 : Schéma de l'élaboration de nanocomposites par mélange en solution

## **I.4.6. Propriétés des nanocomposites**

### **✓ Propriété thermique**

Les principales améliorations recherchées par l'incorporation de charges inorganiques, telles que les argiles ou les oxydes, à des biopolymères sont les stabilités thermiques et la tenue au feu. [48]

### **✓ Propriété barrière**

L'incorporation de charges inorganiques aux biopolymères est apparue prometteuse en matière de propriétés barrières aux gaz et aux fluides. [49]

## **I.4.7. Les applications des nanocomposites**

Les matériaux nanocomposites biopolymères présentent souvent des propriétés supérieures par rapport aux composites classiques, telles que la résistance, la rigidité, la stabilité thermique et à l'oxydation, les propriétés barrières, ainsi qu'un comportement retardateur de flamme. [50]

Le fait que ces propriétés soient accessibles pour des taux de renforts faibles, constitue aussi un avantage appréciable : ces matériaux sont souvent plus légers que les composés classiques ce qui les rends compétitifs pour des applications spécifiques. [51]

De plus, les systèmes possédant des propriétés thermodynamiques de mélange favorables, permettent d'incorporer les organoargiles en dernière étape de la fabrication du biopolymère (extrusion, injection, moulage par compression). Ces nanocomposites à base de biopolymère sont ainsi adaptables à la majorité des techniques de mise en forme usuelles ce qui est un point positif pour leur commercialisation [52]

## **I.5. La libération prolongée de principe actif**

Pour les galénistes modernes, un médicament (constitué d'un ou plusieurs principes actifs et d'excipients) est un système de délivrance de principe actif (drug delivery system des anglo-saxons) qui suit la procédure classique du système LADMER [53, 54]. Dans le traitement, une libération rapide de la substance active est généralement nécessaire pour obtenir un effet thérapeutique en peu de temps et pour soulager rapidement le patient. A cet effet, des formes à libération conventionnelle ou accélérée sont sélectionnées. Cependant, dans certains cas, une libération prolongée ou une libération différée du principe actif

peut être souhaitable afin de prolonger la durée de l'effet thérapeutique. Dans ce contexte, les formes à libération prolongée ont été développés [55, 56, 57].

### **I .5.1. Intérêts et limites des formes à libération prolongée**

Ces formes galéniques ne doivent pas toujours être combinées en une seule fois et présentent plusieurs avantages par rapport aux formes galéniques conventionnelles [57].

- **Avantage**

1. Réduire le nombre de doses quotidiennes, ce qui permet de gagner du temps en milieu hospitalier, de simplifier le patient, de réduire le risque d'application de dose incorrecte et d'améliorer l'observance du patient.
2. Réduire ou même éliminer les effets secondaires indésirables causés par la libération rapide de médicaments à haute concentration au niveau du site d'administration ou d'absorption.
3. Pour les principes actifs à demi-vie relativement courte, les taux sanguins efficaces sont maintenus plus longtemps, permettant par exemple un traitement continu, même la nuit, sans réveiller le patient, pour une libération prolongée pendant la nuit.
4. d'absorption, de biotransformation ou d'élimination varient généralement d'un individu à l'autre. [58,59]

### **I .5.2.Système LADMER et prolongation de l'action**

Pour expliquer l'essor du développement des formes galéniques à libération prolongée, il faut d'abord revenir sur le devenir d'un médicament après administration dans l'organisme, en le définissant comme une succession de phénomènes que subit une forme galénique médicamenteuse après son action. Introduite dans l'organisme [60].

### **I .5.3. Les formes à libération prolongée « les matrices »**

Ils sont conçus pour prolonger l'action des molécules à courte demi-vie ou pour réduire les effets indésirables des concentrations plasmatiques maximales importantes et précoces. Ces formes sont essentiellement représentées par des matrices [61].

"Une matrice est un support composé d'excipients physiologiquement tolérés, plus ou moins inertes, qui ne se désagrègent pas et forment un réseau pour capter le médicament". La matrice a des tubules dans lesquels l'ingrédient actif est capturé.

La libération du principe actif hors de la matrice se déroule en trois phases :

- Pénétration des liquides digestifs dans les canalicules de la matrice,
- Dissolution du principe actif par les liquides digestifs,
- Diffusion de la solution de principe actif de l'intérieur de la matrice vers la surface du compartiment médicamenteux [62].

Selon la nature du support et le mécanisme de libération, on distingue :

### **I.5.3.1 .Les matrices inertes**

Elles sont constituées d'un support indéformable qui sera totalement éliminé dans les selles après dissolution et diffusion du principe actif [63].

Elles assurent une libération prolongée grâce à leur structure poreuse (figure I.19) (matrice insoluble) et un mécanisme quasiment influencé aux variables physiologiques

En fonction de la nature de l'excipient, on distingue :

- Les matrices minérales : composées d'un excipient minéral.
- Les matrices plastiques : composées d'un polymère thermoplastique [64].

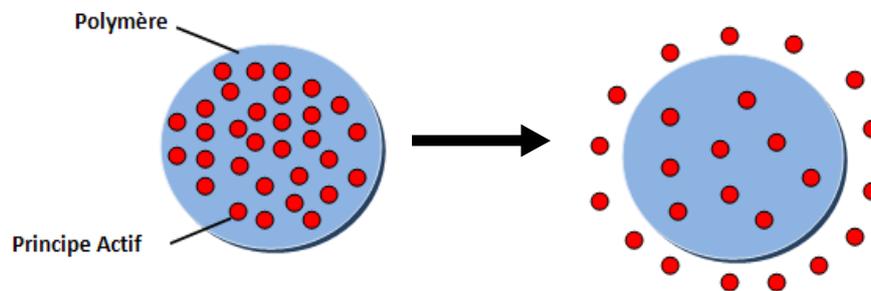


Figure 1.19 : Schéma de la libération à partir d'une matrice inerte

### **I .5.3.2. Les matrices hydrophiles**

Elles ont la propriété de se gonfler en s'hydratant avec les sucs digestifs. L'excipient utilisé est un polymère hydrophile qui gonfle au contact de l'eau et forme une barrière de gel empêchant la libération rapide du principe actif [64]

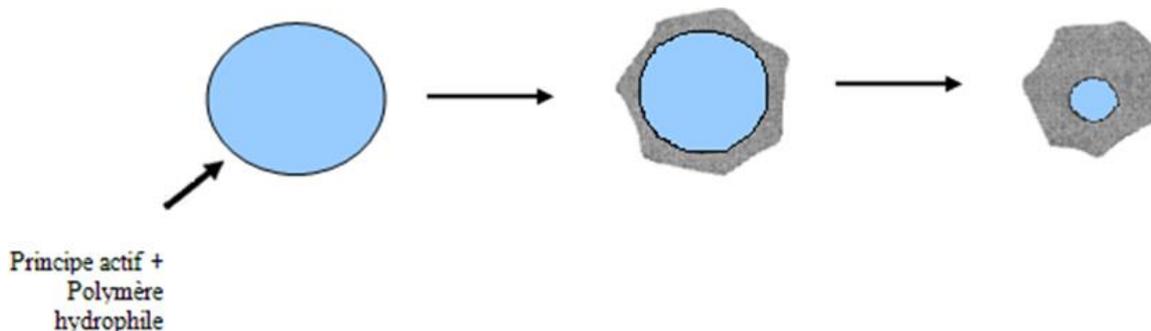


Figure 1.20 : Schéma de la libération à partir d'une matrice hydrophile

### I .5.3.3.Les matrices érodables

Elles ont la particularité de s'éroder lors de leur transit dans le tractus gastro-intestinal sous l'action d'enzymes ou du pH. Nous distinguons :

- Matrice lipidique ou hydrophobe : constituée de corps gras (glycérides, acides, alcools gras, cire ... ) lentement érodés par la lipase pancréatique.
- Les matrices polymériques : composées par un polymère de solubilité pH dépendante (acétophtalate de cellulose, phtalate de l'hydroxypropylméthylcellulose, sels minéraux insolubles polyvinylpyrrolidone, acétate de vinyle).

La libération résulte à la fois de l'érosion se produisant à la surface du comprimé et de diffusion du principe actif à l'extérieur de la matrice.

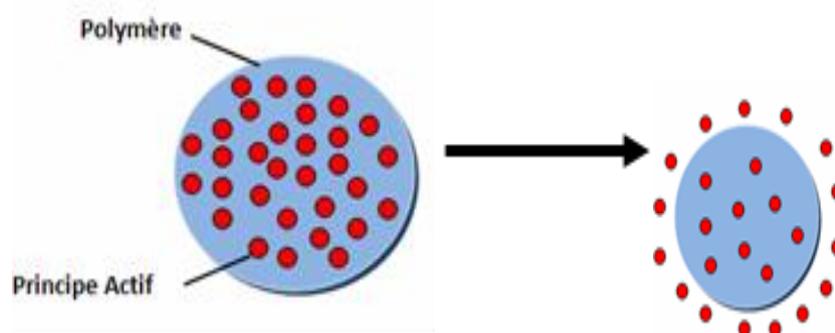


Figure1.21 : Schéma de la libération à partir d'une matrice érodable

## I .6. La metformine

### I .6.1. Généralité sur la metformine

La Metformine est actuellement la seule représentante disponible de la classe des biguanides. Elle a été découverte en 1922. Cependant, son vrai développement thérapeutique n'a commencé quand 1957. En effet, la Phénformine a été

rapidement interdite car responsable de cas mortels d'acidose lactique et d'une surmortalité cardiaque aux Etats-Unis. Elle a donc été retirée du marché (Travaux de l'University Group Diabetes Program).[66]

La connaissance de la physiopathologie du diabète de type 2 a mis en exergue le rôle central de l'insulino-résistance et de l'hyperinsulinisme. Cette problématique de l'insulino-résistance est à l'origine du regain d'intérêt des scientifiques américains pour la Metformine. Aussi, 37 ans après sa mise sur le marché en France, la molécule reçoit son approbation par la Food and Drug Administration (FDA) et pénètre le marché américain. La Metformine occupe une place majeure et fondamentale dans la prise en charge thérapeutique du diabète de type 2.[66]

Elle répond à la formule suivante :

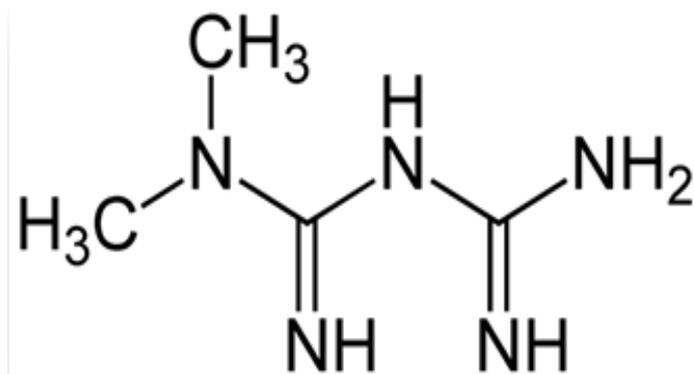


Figure1.22 : La formule chimique de la metformine

## I.6.2. Données pharmacocinétiques

Il s'agit d'une base faible très polaire et extrêmement soluble dans l'eau.

Elle est absorbée au niveau de l'intestin grêle provoquant un pic de concentration une à deux heures après une prise per os. Sa biodisponibilité est de 50 à 60 % . [67]

## I .6.3.Propriétés pharmacodynamiques

### ➤ Effet normoglycémiant

L'effet normoglycémiant de la Metformine résulte principalement d'une diminution de la production hépatique de glucose par une inhibition de la néoglucogénèse et par une action sur la glucose-6-phosphatase. [67]

En plus de cette action sur le foie, qui se traduit principalement par une diminution de la glycémie à jeun, la Metformine potentialise aussi l'effet de l'insuline sur la

captation musculaire du glucose. Il y a une augmentation de son stockage sous forme de glycogène sans affecter son métabolisme oxydatif.[67]

La Metformine est donc essentiellement normoglycémiante. Elle est théoriquement sans effet si la glycémie n'est pas élevée. [66]

➤ **Effet sur le poids**

Chez les obèses, la metformine favorise une réduction pondérale modeste ou une stabilisation pondérale, contrairement au gain pondéral associé à l'insuline ou au traitement par sulfonylurées. [68]

➤ **Effets indésirables**

Les troubles digestifs : Sont cités dans le Vidal, nombre d'effets sur l'appareil digestif dont les plus fréquents sont [67] : ballonnement abdominal, nausées, vomissements, Diarrhées, inappétence.

Ces troubles dose-dépendants, sont souvent transitoires et parfois atténués par un changement de préparation pharmaceutique. On peut évaluer à 5% la proportion de patients présentant une intolérance durable à la Metformine conduisant à son arrêt. [69]. La prévention de ces troubles repose essentiellement sur l'augmentation très progressive de la posologie et la prise du médicament au milieu du repas.

Réactions allergiques : Elles sont très rares (rash, prurit, urticaire).

## *Chapitre II : matériels et méthodes*

## II.1. L'objectif de cette étude

L'objectif de cette étude est de préparer un hydrogel à base de pectine extraite à partir des écorces d'oranges et cela pour étudier la libération prolongée d'un principe actif antidiabétique « la metformine ».

### II.1 Matériels

#### a. Matériel végétal

Les écorces d'oranges utilisées dans cette étude ont été récoltées durant les mois de Mars et avril 2022, dans la région de Boufarik wilaya de Blida.

#### b. Produits chimiques utilisés

Tableau II.1 : les Produits chimiques utilisés dans notre étude :

Réactifs et solvants	La formule	Pureté	Masse molaire (g/mol)	Les pictogrammes
Acide chlorhydrique	HCl	37-38,5 %.	36 ,45	 
Ethanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	99%	46,06	 
Hydroxyde de sodium	NaOH	98-100 %	40	
Aide sulfurique	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	95 %	98,07	
Alpha-naphtol	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O	95-98 %	144,17	
: chlorure de calcium	CaCl <sub>2</sub>	99%	110,98	

## II.2. Protocole expérimentale

### II.2.1. Préparation de la matière végétale

- Laver les oranges très bien avec l'eau, ensuite brossées afin d'éliminer les traces de poussière, puis séparer les écorces d'orange et découper les en petits morceaux.
- Sécher les écores d'oranges dans une étuve à 40°C pendant 48 heures.

- Broyer les écorces d'oranges séchées jusqu'à 'obtenir une poudre fine. La poudre obtenue a été conservée dans une boîte hermétique jusqu'à utilisation.

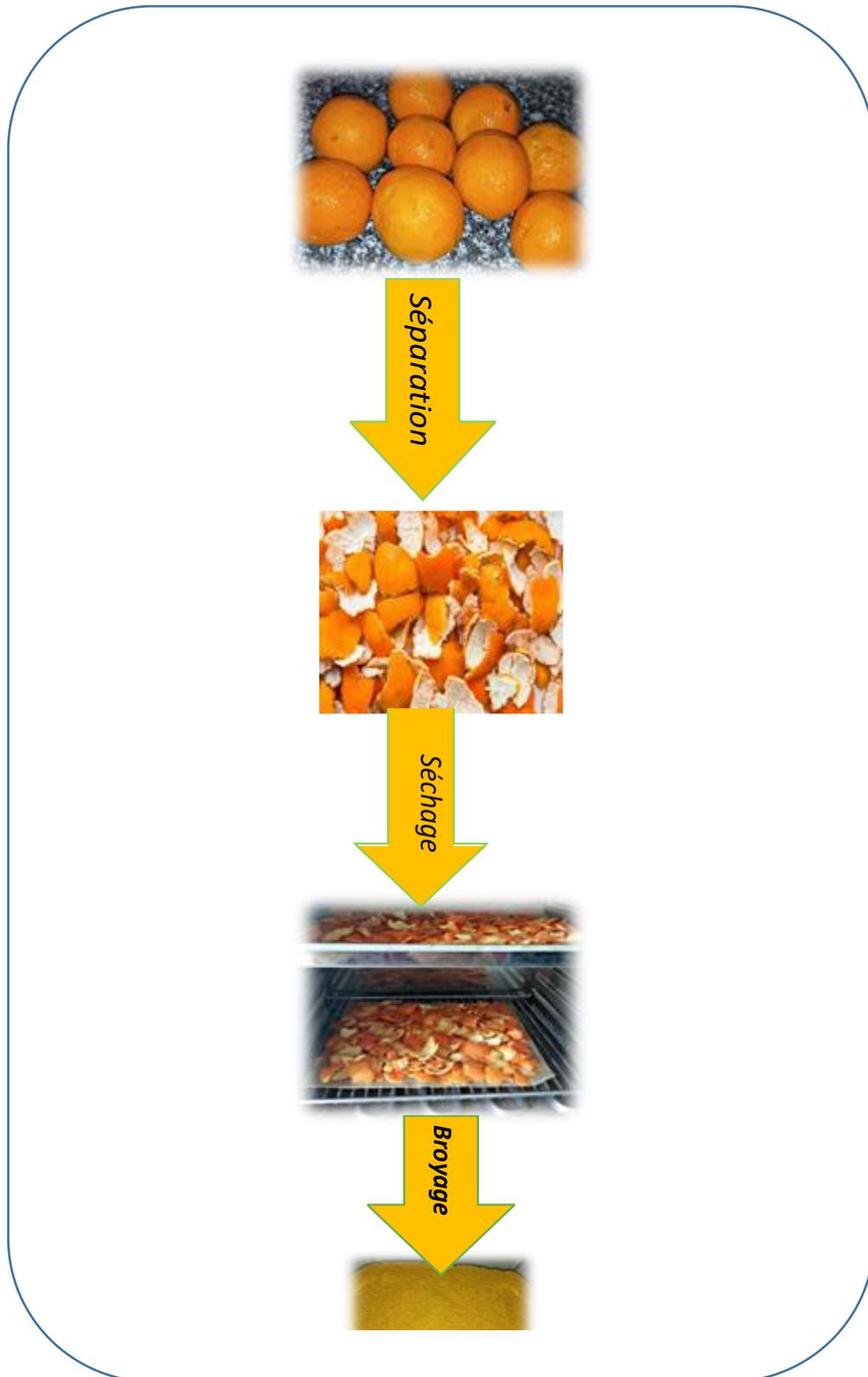


Figure II. 1 : les étapes pour la préparation de poudre des écorces d'orange

## II.2.2. Optimisation de l'extraction des pectines

Afin de rechercher les meilleures conditions de l'extraction de pectine, on a varié quelques paramètres tels que le PH, le temps (min), et la température (°C) .

Toutes les valeurs de pH ont été mesurées par un pH- Étalonné par deux solution l'une acide et l'autre basique.

L'extraction des pectines est effectuée sous reflux dans un milieu acide. Dans un ballon Bicol d'une capacité de 250mL, introduire 4g de poudre d'écorce d'orange dans 100mL d'eau, acidifié avec HCl (0.1M)

Le système baigne dans un cristalliseur rempli par l'huile végétale, et le tout est chauffée à une température précise sous agitation pendant un temps spécifique. Plonger un thermomètre électronique à l'intérieure du ballon pour relever la température de mélange.

Le montage d'extraction adopté est illustré dans la figure ci-dessous.

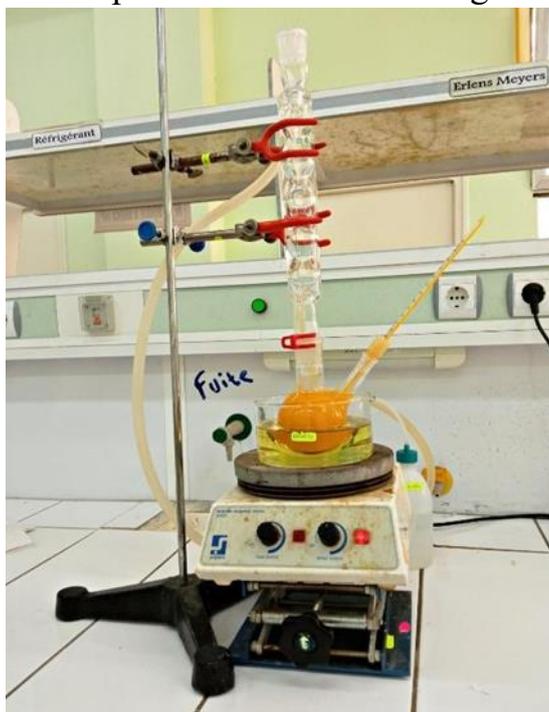


Figure II.2: Montage d'extraction de la pectine

Après que l'extraction soit terminée, filtrer sous vide et à chaud le mélange obtenu, laisser le filtrat refroidir pour éviter la dégradation de pectine. Après, un volume d'éthanol équivalant au volume de celui-ci est ajouté. Agiter le mélange à 300tr /min pendant 20 min à une température ambiante. Isoler le gel obtenu par centrifugation à 4000 tours pendant 20 min. Mettre la pectine sous forme de gel obtenu sur une pochette plastique et ensuite sécher la dans une étuve à 40°C pendant 24heures pour éliminer toutes les traces de solvant (éthanol) .[70]

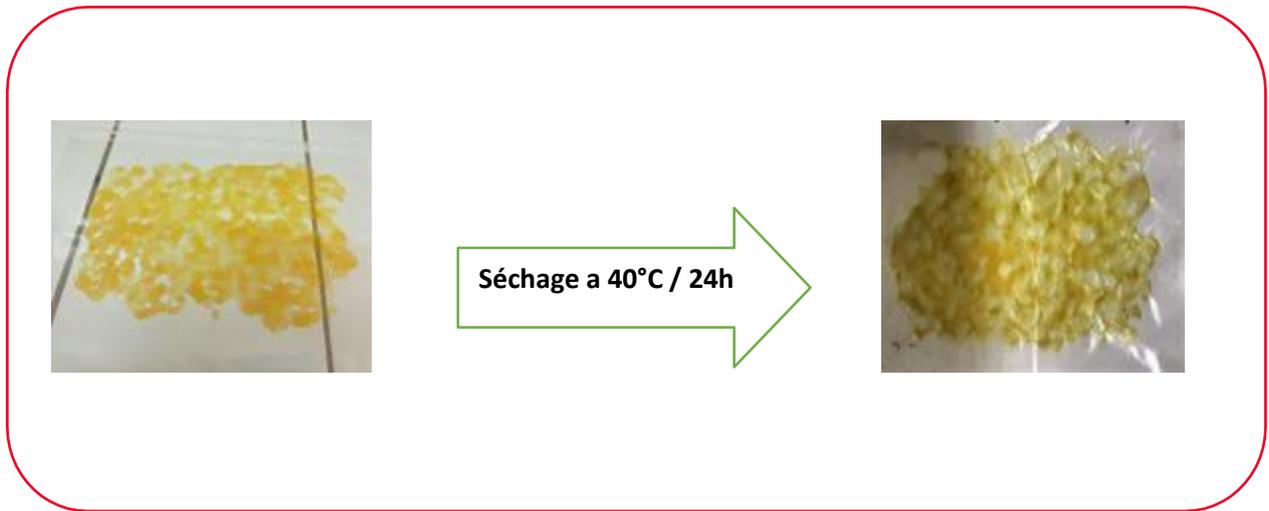


Figure II.3. : La pectine extraite avant et après le séchage

Le rendement d'extraction est calculé par la relation suivante :

$$R(\%) = \frac{\text{Poide de pectine obtenu}}{\text{Poide de poudre de l'écorce sèche}} \times 100 \dots \dots \dots (a)$$

#### II.2.2.1.L'effet de pH sur l'extraction de pectine

L'objectif est d'étudier l'influence et le rôle important du pH sur le rendement d'extraction, le degré d'estérification, la teneur en groupes méthoxy et le poids d'équivalence Dans cette étude on va faire plusieurs essais d'extraction en changeant les valeurs de pH de 1.5 à 3 et fixant les autres conditions (la température à 90°C, et le temps à 90 min). Tout cela est illustré au tableau suivant

Tableau II.2 : Les conditions d'extraction de la pectine à différents pH

Les essais	pH	Température(°C)	Temps (min)
1	1.5	90	90
2	2	90	90
3	2.5	90	90
4	3	90	90

### II.2.2.2 Effet de la température sur l'extraction de pectine

Le but de cette étude est de découvrir l'effet de la température sur l'extraction de pectine, en le changeant entre 70°C jusqu'à 90 °C et fixant le pH à 1.5 et le temps à 90 min

Les valeurs de température étudiées sont présentes dans le tableau suivant.

Tableau II.3 : Conditions d'extraction de la pectine à diverses températures.

Les essais	Le pH	Le temps (min)	La température(°C)
1	1.5	90	90
2	1.5	90	80
3	1.5	90	70

### II.2.2.3. Effet de temps sur l'extraction de pectine

L'étude de l'influence de cette condition sur l'extraction est effectuée en variant le temps et en maintenant la température, et le pH constant (pH=1.5, T°=90).

Les valeurs de temps étudiées sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau II.4 : Les conditions d'extraction de la pectine à différent temps

Les essais	Le pH	La température (°C)	Les temps (min)
1	1.5	90	50
2	1.5	90	60
3	1.5	90	70
4	1.5	90	90

### II.2.3. Caractérisation chimique de pectine

Après l'optimisation, tous les produits préparés ont été retenus pour les caractérisations chimiques, notamment le degré d'estérification, la teneur en méthoxy,

#### II.2.3.1 Degré d'estérification (DE)

- Principe

Le degré d'estérification est un paramètre très important pour connaître la nature des pectines (hautement ou faiblement méthylée), et par conséquent mettre en valeur ses différentes caractéristiques telles que les conditions de gélification. Il est déterminé par la méthode de titrage décrite dans le mode opératoire suivant [71]

- Mode opératoire

Peser 0.2 g de pectine séchée et y ajouter 5 ml d'éthanol. On prépare une solution mère, en ajoutant 20 mL d'eau. Ensuite on laisse agiter pendant 2 heures jusqu'à ce que la pectine soit complètement dissoute. Après la dissolution préparer une solution fille diluée 10 fois .titrer le mélange avec une solution de l'hydroxyde de sodium (0,1M), puis ajouter quelques gouttes de phénophtaléine. Arrêter le titrage lorsque la solution devient rose, ce volume est noté comme un volume initial ( $v_i$ )[71]

On ajoute 20 mL de NaOH (0,1M) sous agitation et laissait reposer pendant 15 min. Ajouter 10 ml de HCl (0,1) jusqu'à ce que la couleur rose disparaisse complètement. Un deuxième titrage sera effectuer par NaOH jusqu'à ce qu'une légère coloration rose apparaisse, ce volume sera noter comme volume final ( $v_f$ )[71]

Le DE est calculé par la formule suivante :

$$DE(\%) = \frac{V_f}{V_f + V_i} \times 100 \dots (b)$$

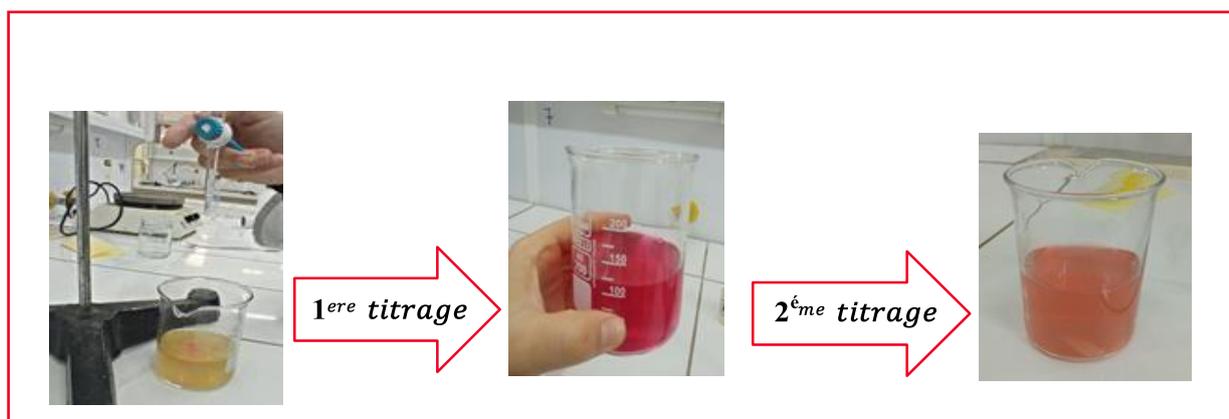


Figure II.4 : Titrage de degré d'estérification.

### II.2.3.2. La teneur en méthoxy (MeO)

La teneur en méthoxy dépend du degré d'estérification. Le nombre de groupes méthoxy dans l'acide polygalacturonique [71], peut-être calculé à partir du DE par l'équation (c) :

$$MeO(\%) = \frac{100DE \times 31}{176 + DE \times 14} \dots (c)$$

31 : C'est le poids moléculaire du méthoxy.

176 : c'est le poids moléculaire d'unité répétitive de galacturonique

### II.2.3.2. Test de Molisch

- Principe

Le test de Molisch ou test alpha-naphtol est un test chimique sensible et très rapide qui détecte la présence de tous les hydrates de carbone (glucide) dans un analyte. Si la réaction est positive l'addition d'acide sulfurique permet la formation d'une coloration violet ou rouge violacée.[72]

- Mode opératoire

Dans un tube à essai introduire 2 ml de la solution de pectine dissoute dans l'eau et ajouté une petite quantité de réactif de Molisch ( $\alpha$ -naphtol dissout dans l'éthanol). Après ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré sur les parois de tube à essai incliné sans mélanger.

### II.2.4. Caractérisation physique de pectine

- Spectroscopie infrarouge (FT-IR-ATR)

La spectroscopie infrarouge est une méthode efficace, simple et très rapide. Son principe repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules organiques et inorganiques dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire. Cette absorption correspond spécifiquement aux liaisons présentes dans la molécule. Avec un spectromètre, cette absorption du rayonnement infrarouge par le matériau de l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde ( $\lambda$ ).[73]



Figure II.5 : Photo représentant le spectrophotomètre ATR-FTIR.

## II.2.5. Dissolution de pectine

### Essai 1

Dans un bécher, introduire 0.25g de pectine dans 20mL d'eau distillé puis agiter et chauffé à une température qui ne dépasse pas 60°C jusqu'à la dissolution complète de pectine

### Essai 2

Dans un bécher dissoudre une quantité de 0.25g de pectine dans 15ml d'eau sous agitation et chauffage sans dépasser le 60°C jusqu'à la dissolution complète de pectine

## II.2.6.Synthèse de la pectine FM

A la fin d'extraction et le calcul du degré de méthylation « DM>50 », nous avons découvert que la nature de la pectine extraite est hautement méthylée HM, ce qui impossible de former un hydrogel sans faire un traitement par l'hydroxyde de sodium « NaOH »

Le but de traitement par NaOH c'est pour changer le type de la pectine extraite de hautement à faiblement méthylée pour la formation d'un hydrogel à base de cette pectine

### Mode opératoire

- Préparation de solution de NaOH (0.1M) :

Dans une fiole de 250 ml on introduire 1g de NaOH et compléter par l'eau distillé jusqu'à le trait de jauge

- On prendre les deux solutions de pectines dissoutes et nous les ajoutons goutte a goutte la solution de NaOH (0.1M) jusqu'à un pH égal à 10

## II.2.7. Formation de l'hydrogel

Après la dissolution totale et le traitement par NaOH de notre pectine on a ajouté une quantité de metformine (principe actif) sous agitation, puis ont versé goutte à goutte de  $CaCl_2$  (2M) à l'aide d'une burette graduée jusqu'à la formation d'un hydrogel.

## Mode opératoire :

### Essai 1

On a ajouté 500 mg de metformine (principe actif) dans la solution de pectine dissoute et agiter, puis ont versé goutte à goutte de  $CaCl_2$  (2M) jusqu'à la formation d'hydrogel. Mettre l'hydrogel dans une boîte de pétri et laisser séché à l'air libre.

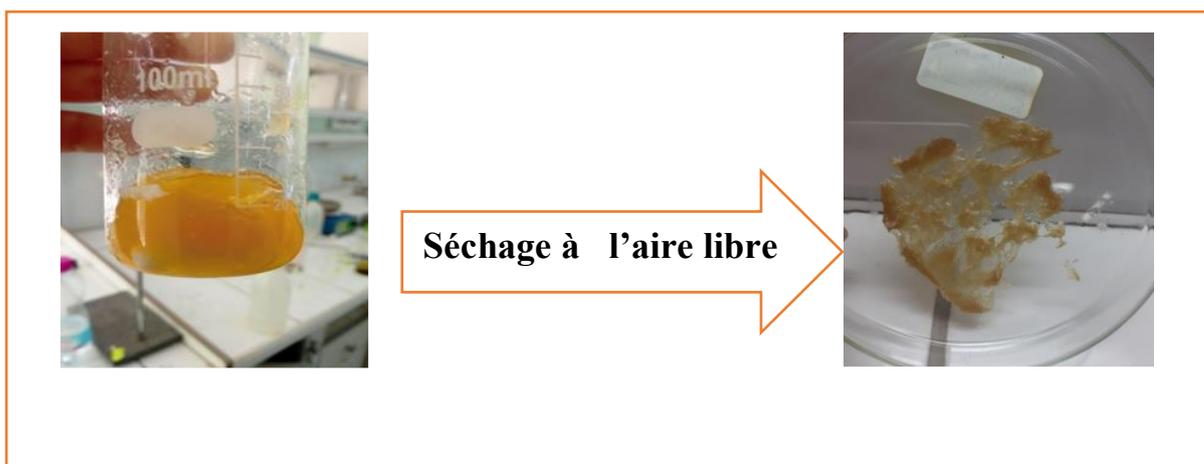


Figure II.6 : Une photo représentée l'hydrogel avant et après le séchage

### Essai 2

On a ajouté 500 mg de metformine (principe actif) et 10mg de la bentonite dans la solution de pectine dissoute sous agitation, puis ont versé goutte à goutte de  $CaCl_2$  (2M) jusqu'à la formation d'hydrogel. Mettre l'hydrogel dans une boîte de pétri et laisser séché à l'air libre.

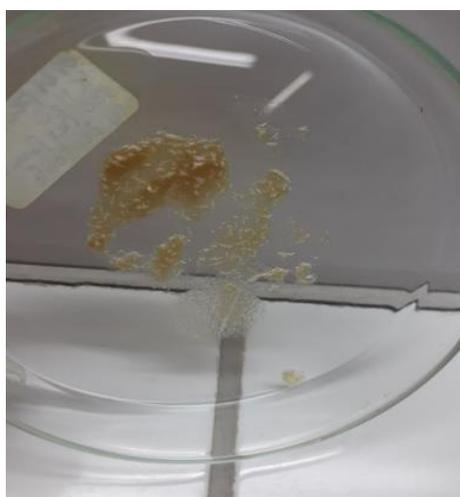


Figure II.7 : photo d'hydrogel qui contient la bentonite après le séchage

## **II.2.8. Courbe d'étalonnage de metformine**

. Dans notre cas, nous avons utilisé la gamme des longueurs d'ondes qui va de 300 à 200nm (proche-UV) et comprend la longueur d'onde de notre principe actif (metformine) qu'on a dosé suivant la loi de Beer-Lambert dont la concentration est proportionnelle à l'absorbance de ce dernier. Ainsi une courbe d'étalonnage a été tracée en mesurant, dans les mêmes conditions, plusieurs solutions étalons préparées à partir d'une solution mère

### **Mode opératoire**

- Préparation de la solution mère

Dans une fiole de 50mL, ajouter 0.5mg de la metformine puis ajouter l'eau jusqu'à le trait de jauge.

- Préparation des solutions filles

Préparer quatre solutions de concentration de 0.002, 0.004, 0.006 et 0.008 mg/mL dans des fioles de 20mL.

- Etalonner le spectrophotomètre UV par le blanc qui est l'eau distillé.
- Mesurer l'absorbance de chaque solution puis tracer le graphique  $A = f(C)$ .

## **II.2.9 La libération de principe actif (metformine)**

### **II.2.9.1. Préparation des solutions tampon**

- **Préparation de solution tampon pH=1.2 à base de HCl (0.06M)**

Dans 500 ml d'eau distillé on ajoute 4.15ml de solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0.1N

On ajuste le pH à l'aide d'un pH mètre étalonné a préalable à une température de 25°C jusqu'à la valeur de 1,2.

- **Préparation de solution tampon pH=6.8 à base de  $KH_2PO_4$  et NaOH**

Dans une fiole 500 ml on ajoute 3.3g de potassium dihydrogène et 0.43g de NaOH, puis compléter par l'eau distillé. Ajuste le pH à l'aide d'un pH mètre jusqu'à pH égal à 6.8

### **II.2.9.2. La libération de principe actif « metformine » (pH=1.2)**

Dans un bécher de capacité de 500ml verser 400ml de solution tampon de pH (1.2) mettez le bécher dans un cristalliseur rempli avec l'eau, sous chauffage, avec un thermomètre électronique relever la température à 37 C° (la température du corps), ensuite tromper une compresse qui contient de l'hydrogel 1 .

Laisser le pendant une heure et en fixant toujours la température à 37 C°. Après la fin de temps spécifique on à faire un prélèvement de solution et le diluer avec un système (1/10 ).

### **II.2.9.3 La libération de principe actif « metformine » (pH=6.8)**

Dans un bécher de capacité de 500ml verser 400ml de solution tampon de pH (6.8) mettez le bécher dans un cristalliseur rempli avec l'eau, sous chauffage, à l'aide thermomètre électronique relever la température à 37 C° (la température du corps) .Après, tromper une compresse qui contient de l'hydrogel 2 .

Laisser le pendant une heure et en fixant toujours la température à 37 C°. Après la fin de temps spécifique on à faire un prélèvement de solution et le diluer avec un système (1/10 ).

- **Caractérisation par UV**

Vu le manque de matériel au niveau de notre laboratoire, on n'a pas pu étudier la cinétique de libération prolongée de notre principe actif la metformine. Pour cette raison on a arrivé seulement à mesurer l'absorbance de principe actif après une libération d'une heure dans deux milieux physiologique, gastrique (ph=1.2) et intestinal (ph=6.8) à une longueur d'onde fixée à 233 nm, et montrer après cette mesure le milieu favorable pour la libération de metformine.

## *Chapitre III : résultats et discussions*

### III.1. Optimisation d'extraction de pectine

Dans notre étude nous avons fait plusieurs essais d'extraction de pectine en fonction de différentes conditions telles que le pH, la température, et le temps et voici les résultats obtenus.

#### III.1.1. Effet de pH

Nous avons travaillé dans les domaines de pH 1.5 jusqu'à 3 et dans le pH du milieu naturel (pH=4), à une température de 90°C pendant 90 min. Pour chaque essai de variation du pH, nous avons calculé le rendement d'extraction et les caractérisations chimiques telles que le degré d'estérification et la teneur en méthoxy.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant

Tableau III.1: Résultats des rendements d'extraction des pectines et ses caractéristiques chimiques en fonction de pH

Les essais	pH	Le rendement (%)	DE%	MeO%
1	1.5	18	20	53.47
2	2	12.75	25	54.32
3	2.5	9.25	33.33	55.71
4	3	10	40	56.83

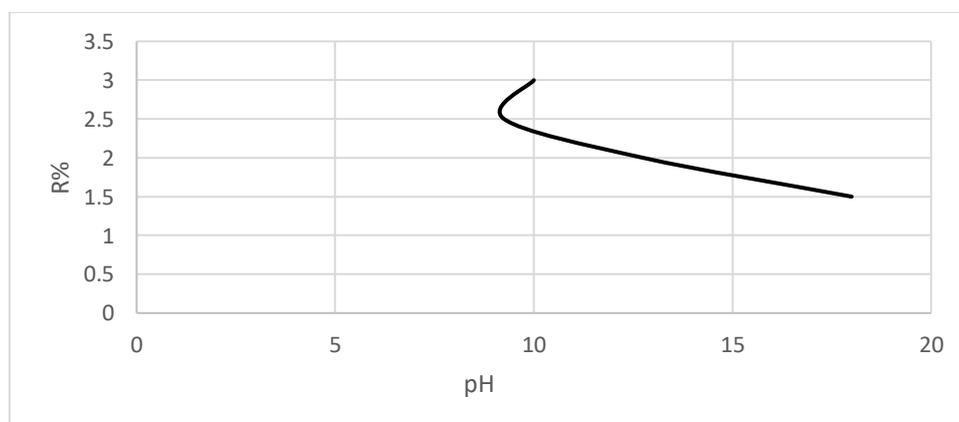


Figure III.1 : Evolution du rendement d'extraction en fonction de pH

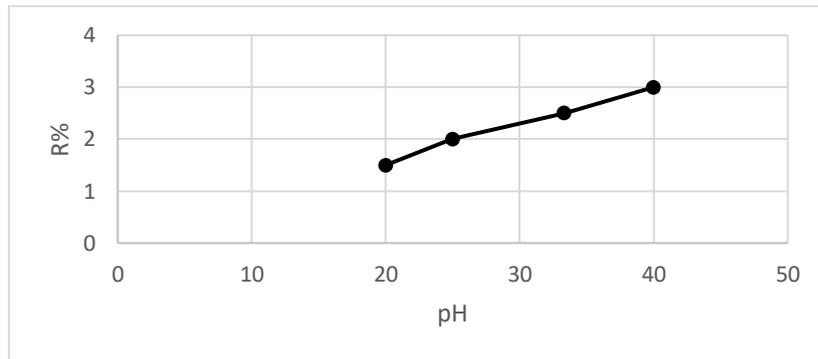


Figure III.2 : Evolution de degrés d'estérification en fonction des pH

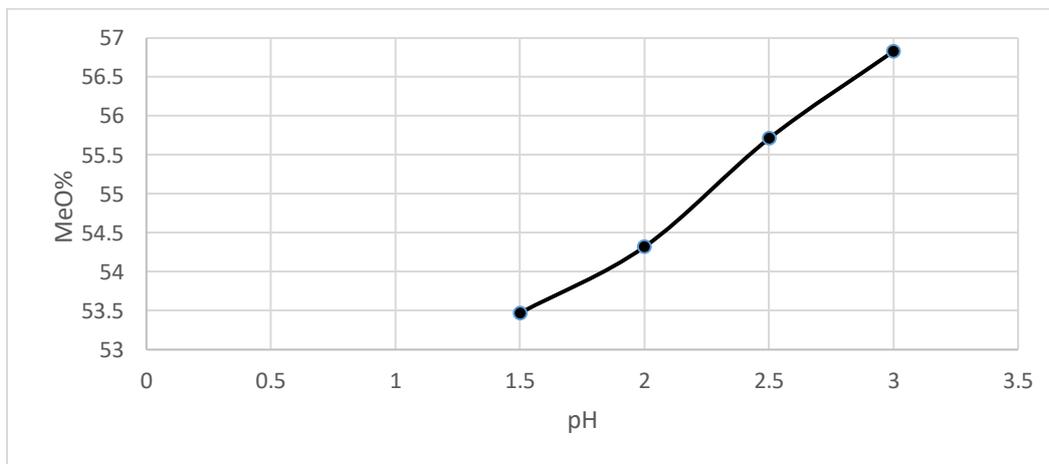


Figure III.3 : Evolution des MeO% en fonction de pH

D'après le tableau et les graphes on remarque que l'extraction est optimale pour un pH=1,5 avec un rendement de 18%, et il diminue par l'augmentation du pH du milieu de réaction jusqu'à 3.

Par contre, le degré d'estérification et le degré de méthylation augmentent lorsque le pH augmente. Et on constate que les valeurs des degrés de méthylation sont supérieures à 50 % (DM>50%) donc on conclut que les pectines extraites sont des pectines hautement méthyles

### III.1.2. Effet de température

Nous avons varié la température dans chaque essai pour voir son effet sur le rendement d'extraction ainsi le degré d'estérification et de méthylation

Les valeurs de température étudiées sont : 90°, 80°, 70 avec un temps égal à 90min, et le pH égal à 1.5. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau III.2 : Résultats des rendements et caractérisations chimiques des pectines en fonction de température °c.

Les essais	Température °C	Rendement%	DE%	MeO%
1	70	20.75	20	53.47
2	80	18	20	53.47
3	90	22.5	57.14	58.63

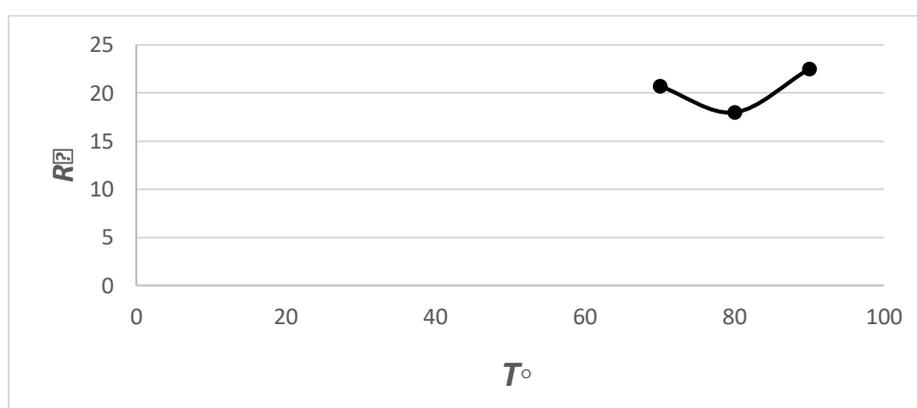


Figure III.4 : Evolution du rendement d'extraction en fonction de la température.

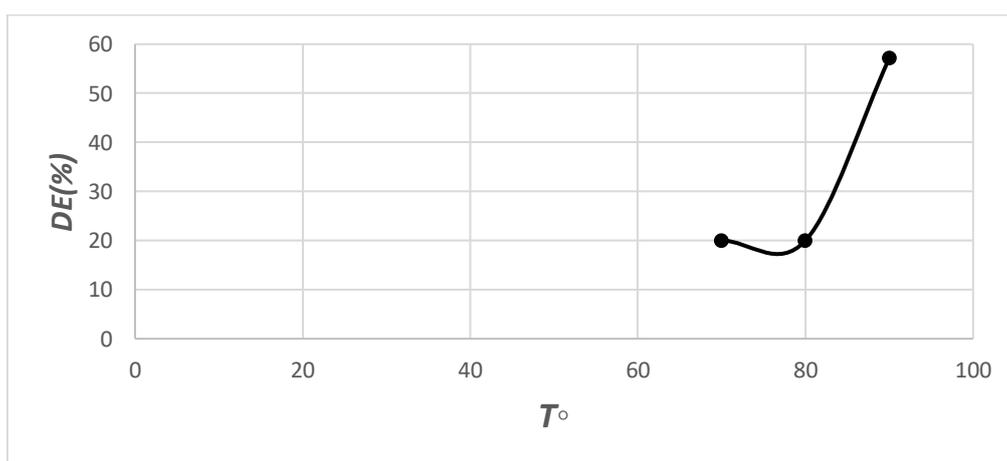


Figure III.5 : Evolution des DE% en fonction de la température

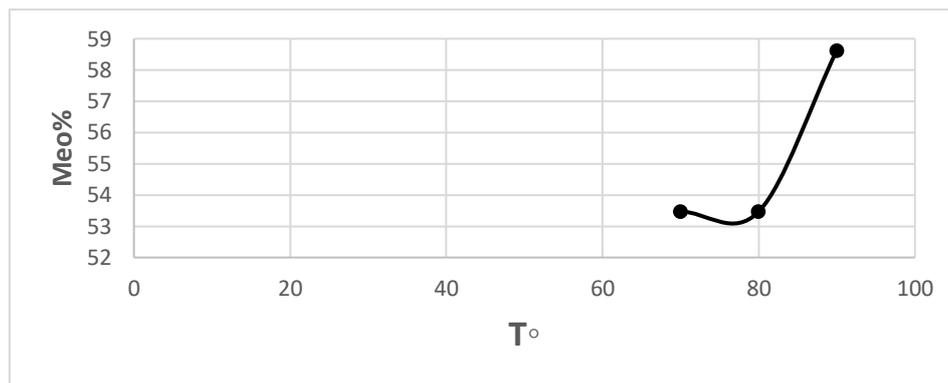


Figure III.6 : Evolution des MeO % en fonction de la température

D'après les graphes on constate que la température a une influence très faible sur le rendement d'extraction

Cependant le degré de méthylation et d'estérification augmente en même temps que la température augmente.

On conclut que la température a un effet sur le degré de méthylation et d'estérification mais ça n'a aucun impact important sur le rendement.

### III.1.3. Effet de temps

Nous avons fait d'autres essais d'extraction en changeant la durée chaque fois et en fixant les autres paramètres (pH= 1.5, T=90°C)

Après avoir calculé le rendement et le degré de méthylation et d'estérification nous avons trouvé les résultats présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau III.3 : Résultats des rendements et caractérisations chimiques en fonction

Les essais	Les temps (min)	Rendement %	DE %	MeO %
1	90	18.00	20.00	53.47
2	70	19.83	80.00	63.25
3	60	21.50	33.33	55.71
4	50	23.00	20.00	53.47
5	40	22.25	20.00	53.47

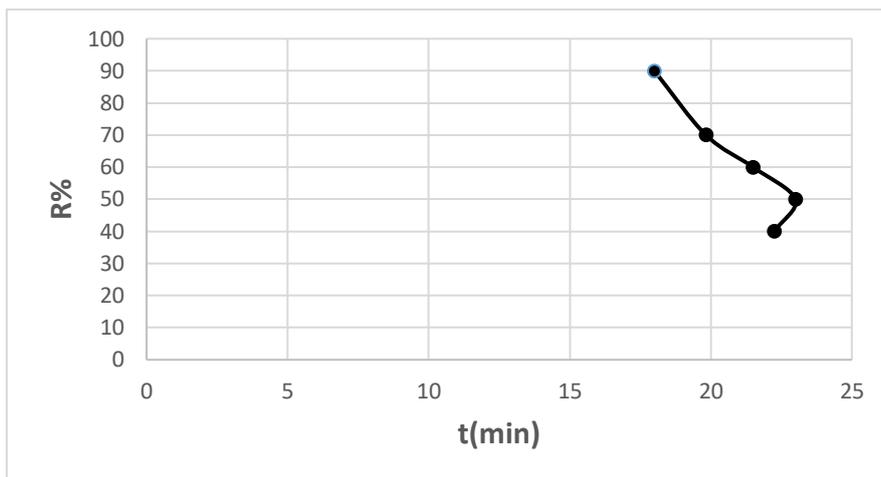


Figure III.7 : Variation des rendements en fonction des temps

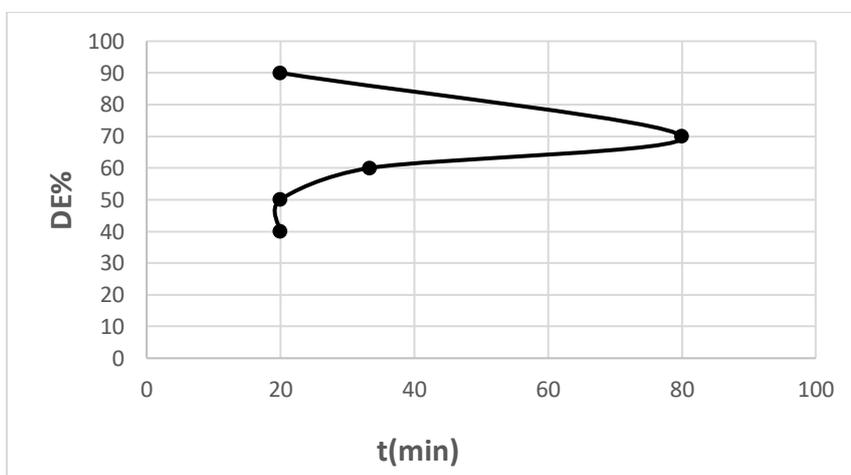


Figure III.8 : Variation des DE% en fonction des temps

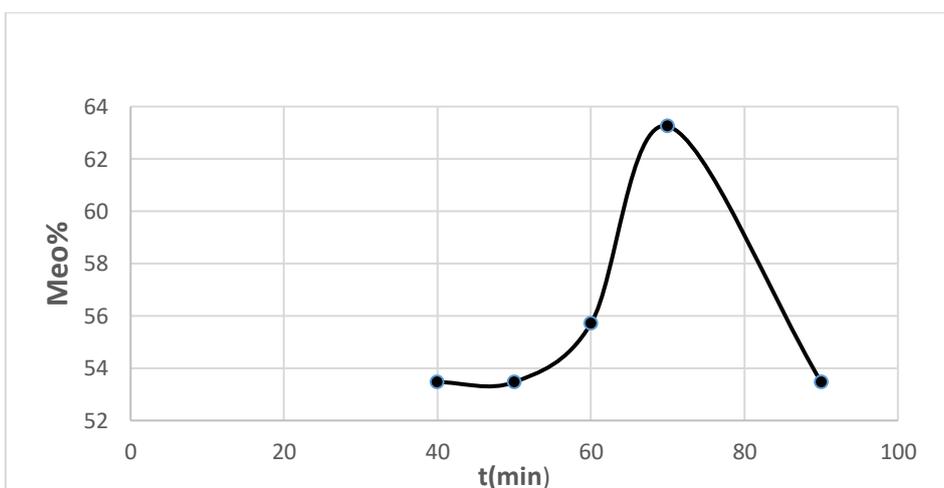


Figure III.9 : Variation des MeO(%) en fonction des temps.

D'après les graphes on remarque que le temps influence fortement sur les rendements d'extraction de pectine. . Le meilleur rendement a été obtenu après 50 min d'extraction avec une valeur de 23%. Puis il diminue en augmentant le temps réactionnel.

Cependant, les degrés d'estérification atteint un pourcentage de 80% à un temps égale à 70 min, et diminue jusqu'à 20% lors qu'on travaille à des temps inférieur de 70 min.

Ainsi que le degré de méthylation diminue en diminuant le temps

En fin à partir de l'étude d'effet du pH, la température et le temps dans l'extraction de pectine on peut dire d'une façon générale que les paramètres préférés pour l'extraction optimale sont un pH égal à 1.5 avec une température à 90 °C, et un temps de 50 min

### III.2. Le résultat de Caractérisation chimiques

#### Test molish

Le but du ce test est la mise en évidence de la présence de glucide dans notre analyte. On remarque l'apparition d'une coloration rouge violacée lorsque l'ajout de acide sulfurique concentrée. On conclut que le test est positif



Figure III 10: Test Molish positif (+)

### III.3. Le résultat de caractérisation physique

#### III.3.1 Spectroscopie infrarouge (FT-IR-ATR)

L'analyse infrarouge à Transfer de fourrier de polysaccharide pectine extraite a permis de révéler de manière qualitative la présence des groupes fonctionnels caractéristiques

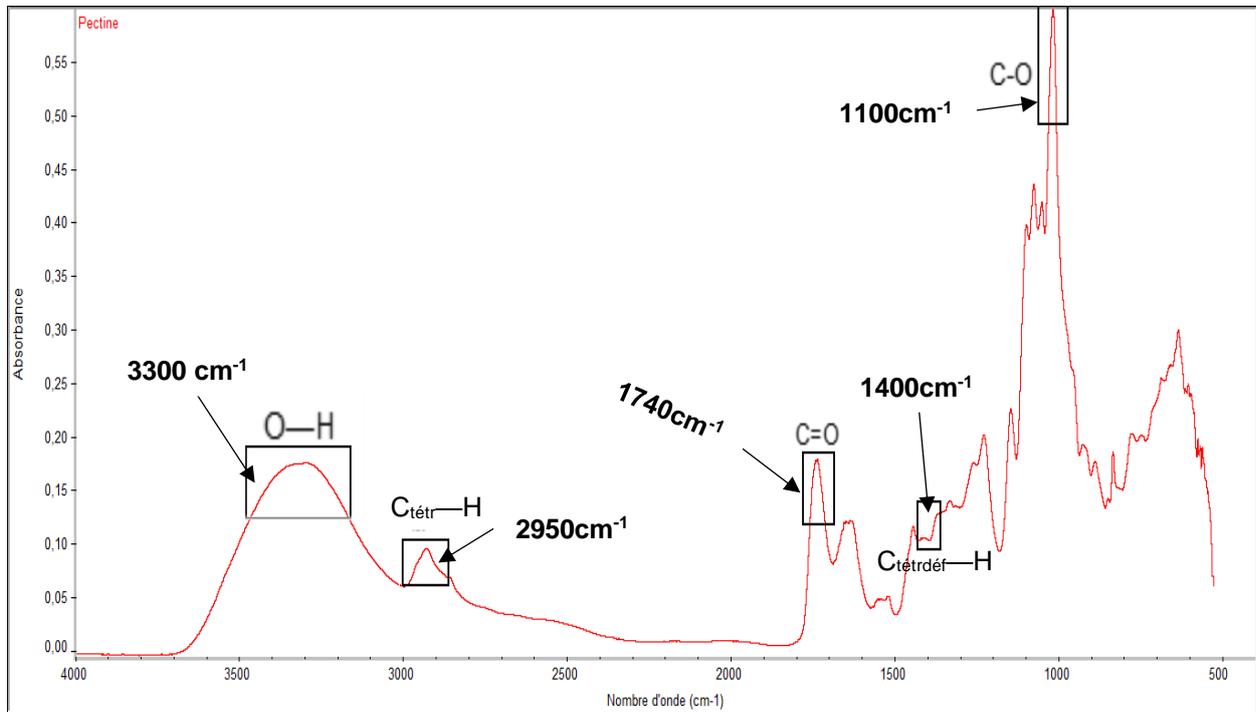


Figure III.11 : Spectre IR de la pectine extraite

D'après la figure (III.11) nous remarquons l'apparition d'une large bande entre  $3600 \text{ cm}^{-1}$  et  $3100 \text{ cm}^{-1}$  [74]

Cette zone représente la vibration d'élongation des groupements hydroxyles (O-H). [73]

Les bandes d'absorption à  $2950 \text{ cm}^{-1}$  et  $1400 \text{ cm}^{-1}$  représentent deux types de vibration (élongation et déformation de groupement méthyle C-H de l'acide galacturonique). [74]

Aussi un nouveau pic est observé à  $1740 \text{ cm}^{-1}$  il correspond à la liaison C=O de l'acide uronique, sous forme de sels d'acides (COO-).

Les deux absorptions autour  $1100$  et  $1000 \text{ cm}^{-1}$  correspondent à la vibration d'élongation des groupements latéraux C-OH et à la bande glucosidique C-O-C.

La bande observée à  $900\text{ cm}^{-1}$  est attribuée à la vibration de déformation angulaire  $\text{COO}^-$

### III.4. Courbe d'étalonnage

Nous avons fait un dosage de notre principe actif en suivant de la loi de Beer-Lambert. Ainsi une courbe d'étalonnage a été réalisée dans l'eau distillée pour des concentrations allant de 0 à 1.22 mg/ml

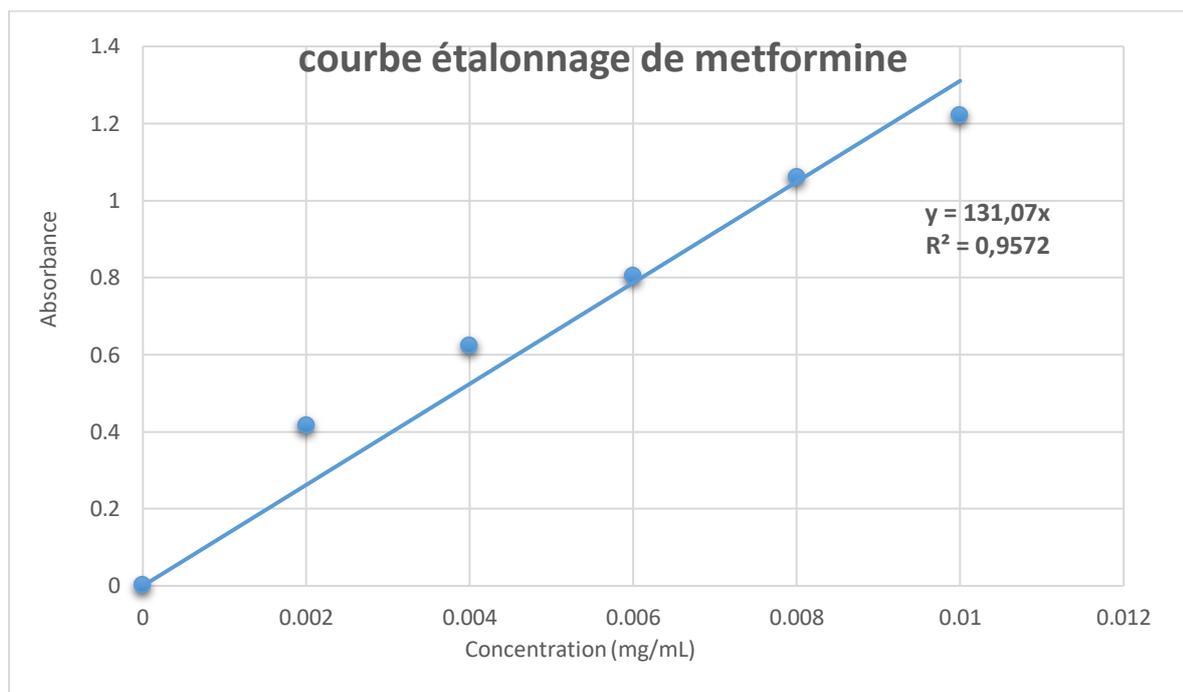


Figure III.12 : Courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration de metformine

### III.5. La libération de principe actif (metformine)

Pour étudier la cinétique de la libération de la metformine encapsulée par un hydrogel à base de pectine à deux doses différentes, les pH de désorption étudiés 1.2 et 6.8 ont été choisis en stimulant le pH de l'estomac et des intestins pour des personnes en bonne santé.

La libération de la metformine à 500mg dans des milieux à pH 1.2 et 6.8 à  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  est présentée dans les figures

- **La libération de principe actif (pH=1.2)**

Dans ce milieu la libération de la metformine de 500mg était d'environ 9.21% pendant une heure

D'où la metformine est libéré faiblement dans le milieu gastrique

- **La libération de principe actif (pH=6.8)**

Dans ce cas-là nous avons fait une libération de la metformine de 500mg à la présence d'une quantité d'argile égale à 10 mg pendant une heure pour étudier l'effet de l'argile dans la libération de metformine

La libération de la metformine de 500mg en cas d'ajoute l'argile était d'environ 27.30% pendant une heure

En conclut que l'argile accélère le processus de la libération prolongée de metformine. C'est à dire que la bentonite aide notre principe actif « metformine » à se libérer rapidement dans le milieu intestinal

### **III.6. Résultats d'absorbance par UV-visible**

On mesure une absorbance égale à 0.822 nm dans le milieu intestinal (pH 6.8) et une absorbance de 1.932 nm dans le milieu gastrique (pH=1.2)

D'après les valeurs d'absorbances mesuré par l'UV-visible on constate que la libération de la metformine est favorable dans le milieu intestinal

## CONCLUSION

L'objectif de ce travail était de produire un pilote à base de pectine pour la délivrance de médicament.

L'extraction de pectine a été réalisée par hydrolyse acide

Les conditions optimales de l'extraction pectine sont : pH= 1.5, T= 90°C et t= 50 min. Sous ces conditions, la valeur de la réponse (rendement de l'extraction) prédite par le modèle est de 23%

Les mesures de degré d'estérification indiquent que la pectine extrait est hautement méthylée,

L'analyse par spectroscopie infrarouge a permis, selon les études ciblées, d'identifier les groupements fonctionnels nouvellement formés par les positions et intensités des différentes bandes d'absorption présentes sur les différents spectres enregistrés.

Une confirmation de présence de pectine a été réalisée par un test de molish.

Le but de traitement par NaOH c'est pour changer le type de la pectine extraite de hautement à faiblement méthylée pour la formation d'un hydrogel à base de cette pectine

Un hydrogel à base de pectine a été formé à base d'une solution de chlorure de calcium.

On a obtenu une délivrance de 9.21% au bout d'une heure dans le milieu gastrique et 27.30% dans le milieu intestinal

Cette étude nous a permis de conclure que la libération favorable de la metformine était à un pH de 6.8 stimulant le ph des intestins.

## LES REFERENCES

1. Bringer, M. C., Dali, H., Hilaire, Ch., Orsini, Ph., Roels, A., Zuddas, D., (2004). Arbres à fruits et à fleurs. Hachette collection, page.58.59. ISBN 2-84634-304-7.
2. Warda, B. A. D. A. O. U. I., & Yasma, B. A. R. C. H. I. (2019). Analyse physicochimique et propriétés antioxydantes de jus de fruits (orange, citrons et cocktail) (Doctoral dissertation).
3. Bachès Bénédicte et Michel (2011). Agrumes : Comment les choisir et les cultiver facilement. Ed. Ulmer. 91-93.
4. Davies, F. S., & Albrigo, L. G. (1994). Citrus. Cab International.
5. Berlinet, C., Brat, P., & Ducruet, V. (2008). Quality of orange juice in barrier packaging material. Packaging Technology and Science: An International Journal, 21(5), 279-286
6. Grohmann, K., Cameron, R. G., & Buslig, B. S. (1995). Fractionation and pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. Bioresource Technology, 54(2), 129-141.
7. Strano, M. C., Altieri, G., Admane, N., Genovese, F., & Di Renzo, G. C. (2017). Advance in citrus postharvest management: diseases, cold storage and quality evaluation. Citrus pathology, 10, 66518.
8. Kuljarachanan, T., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2009). Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. Food Chemistry, 113(4), 944-949.
9. Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D., & Singla, A. K. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. Phytotherapy Research, 15(8), 655-669.
10. Berset (2006). Antioxydant phénoliques- Structure, propriétés et sources végétales. In : Polyphénols en agroalimentaire. 264-290

11. Wang L.S et Stoner G.D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*. 269: 281-290.
12. Benavente-Garcia, O., & Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6185-6205.
13. Kimball A. D. (1999). Description of Citrus Fruit. In : *Citrus Processing*. 2ème édition: Aspen Publication, London: 7-37
14. Crandall, P. G., Braddock, R. J., & Rouse, A. H. (1978). Effect of drying on pectin made from lime and lemon pomace. *Journal of Food Science*, 43(6), 1680-1682.
15. Dennapa B., Kamonrad R. & Hataichanoke N., (2006). Extraction and Physicochemical Characteristics of Acid-Soluble Pectin from Raw Papaya (*Carica papaya*) Peel. *Chiang Mai J. Sci.*, 33 (1) : 129-135
16. Donato, L. (2004). Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques (Doctoral dissertation, ENSIA (AgroParisTech)).
17. Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review. *Polymers*, 10(7), 762.
18. Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., & Brnčić, S. R. (2016). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food chemistry*, 198, 93-100.
19. Akhtar, M., Dickinson, E., Mazoyer, J., & Langendorff, V. (2002). Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin. *Food Hydrocolloids*, 16(3), 249-256.
20. Michel B., (2002). Conservation par les sucres : confitures, gelées, fruits sur sucre. In : *Technologies de transformation des fruits*. Technique et documentation-Lavoisier (Ed). Paris, pp 421-425

21. Crandall, P. G., Braddock, R. J., & Rouse, A. H. (1978). Effect of drying on pectin made from lime and lemon pomace. *Journal of Food Science*, 43(6), 1680-1682.
22. BEN CHABANE, Celia. Optimisation de l'extraction de la pectine à partir d'écorce de citron en utilisant la méthodologie des surfaces de réponses. 2013. Thèse de doctorat. UMMTO
23. Da Silva, J. L., & Rao, M. A. (2006). 11 pectins: structure, functionality, and uses. *Food polysaccharides and their applications*, 353.
24. Ptichkina, N. M., Markina, O. A., & Romyantseva, G. N. (2008). Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food hydrocolloids*, 22(1), 192-195.
25. O'Neill A.M., Darvill A.G. & Albersheim P., (2001). Pectic Substances. *Encyclopedia of Life Sciences*, John Wiley & Sons (Ed), pp 1-11.
26. Pranati S., Rishabha M. ; «Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry– an overview». *Indian Journal of Natural Products and Resources* , (2011), 2(1), pp. 10-18.
27. Morris, G. A., Foster, T. J., & Harding, S. E. (2002). A hydrodynamic study of the depolymerisation of a highmethoxy pectin at elevated temperatures. *Carbohydrate polymers*, 48(4), 361-367.
- 28.] Kopeček, J. and Yang, J. (2007). Hydrogels as smart biomaterials. *Polymer International*, 56(9) :1078–1098
29. Wichterle, O. (1968). Reshaping a xerogel by mechanical removal and swelling to form a hydrogel contact lens, US Patent 3361858.
30. Nicolson, P. C., & Vogt, J. (2001). Soft contact lens polymers: an evolution. *Biomaterials*, 22(24), 3273-3283.
- 31.] Jen, A. C., Wake, M. C., and Mikos, A. G. (1996). Review : Hydrogels for cell immobilization. *Biotechnology and bioengineering*, 50(4) :357–64.

32. Augst, A. D., Kong, H. J., and Mooney, D. J. (2006). Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromolecular Bioscience*, 6(8) :623–633.
33. Anseth, K. S., Bowman, C. N., and Brannon-Peppas, L. (1996). Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, 17(17) :1647–1657.
34. Beverloo, W., Leniger, H., and van de Velde, J. (1961). The flow of granular solids through orifices. *Chemical Engineering Science*, 15(3-4) :260–269.
35. Bremond, N., Santanach-Carreras, E., Chu, L. Y., and Bibette, J. (2010). Formation of liquid-core capsules having a thin hydrogel membrane : liquid pearls. *Soft Matter*, 6(11) :2484–2488
36. R. Waché, M-H. Klopffer, E. Vinciguerra, S. Gonzalez. *Matériaux*. 2002.
37. S. Pavlidou, C. D. Papaspyrides. *Progress in Polymer Science* 33 2008 1119–1198.
38. P. Chavanne, 200 remèdes à l'argile, éditions First, dépôt légal : aout 2011, ISBN : 978-2-7540-3136-3.
39. Déribéré, M., & Esme, A. (1951). *La bentonite: les argiles colloïdales et leurs emplois*. Dunod.
40. Bilgiç, C. (2005). Investigation of the factors affecting organic cation adsorption on some silicate minerals. *Journal of Colloid and Interface Science*, 281(1), 33-38.
41. Shore J., Historical Development and classification of colorants & Dye structure and application properties (Chapters 1 & 3), in *Colorants and auxiliaries: Organic chemistry and application properties*. Vol.1: Colorants, Shore J., Ed., Society of Dyers and Colourists: Bradford
42. J-M. Gloaguen, J-M. Lefebvre. *Technique de l'Ingénieur. L'expertise technique et scientifique de référence*. N2615 2007
43. A. Panwar, V. Choudhary, D. K. Sharma. *Journal of Reinforced Plastics and Composites* 30(5) 2011 446–459

44. Y. Shin, D. Lee, K. Lee, K. Hyun Ahn, B. Kim. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 14 2008 515–519.
45. Varlot, K., Reynaud, E., Kloppfer, M. H., Vigier, G., & Varlet, J. (2001). Clay-reinforced polyamide: Preferential orientation of the montmorillonite sheets and the polyamide crystalline lamellae. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 39(12), 1360-1370.
46. Azeez, A. A., Rhee, K. Y., Park, S. J., & Hui, D. (2013). Epoxy clay nanocomposites—processing, properties and applications: A review. *Composites Part B: Engineering*, 45(1), 308-320.
47. Greenland, D. J. (1963). Adsorption of polyvinyl alcohols by montmorillonite. *Journal of Colloid Science*, 18(7), 647-664.
48. Salahuddin, N., Abo-El-Enein, S. A., Selim, A., & El-Dien, O. S. (2010). Synthesis and characterization of polyurethane/organo-montmorillonite nanocomposites. *Applied Clay Science*, 47(3-4), 242-248.
49. Sánchez-Jiménez, P. E., Pérez-Maqueda, L. A., Perejón, A., & Criado, J. M. (2012). Nanoclay nucleation effect in the thermal stabilization of a polymer nanocomposite: a kinetic mechanism change. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(21), 11797-11807.
50. Schmidt, D., Shah, D., & Giannelis, E. P. (2002). New advances in polymer/layered silicate nanocomposites. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 6(3), 205-212.
51. T. Yui, S. R. Uppili, T. Shimada, D. A. Tryk, H. Yoshida, H. Inoue. *Langmuir* 18 2002 -4232-4239
52. Takagi, S., Shimada, T., Eguchi, M., Yui, T., Yoshida, H., Tryk, D. A., & Inoue, H. (2002). High-density adsorption of cationic porphyrins on clay layer surfaces without aggregation: the size-matching effect. *Langmuir*, 18(6), 2265-2272.
53. H.A. Lachman et J.L. Kanig, " La théorie et la pratique de la pharmacie industrielle" ,3ème édition, Varghese. Maison d'édition Bombay, pp.430-456-171-195.

54. Oral étendu (produit à libérer), sanson, la tête, l'école de pharmacie et de sciences médicales, Université du Sud Australia, Adelaide, Aust Preeser (1999), 22 pp. 88-90
55. D.M. brahmankar et B. Jaiswal, " Un Traité biopharmaceutique et pharmacocinétique", Vallabh prakashan, (2002), pp.335-337
56. T.Y. Lee, J.R. Robinson, " Controlled- Release Drug-Delivery Systems", chapitre 47 en Remington, 20ème édition, La science et la pratique de la pharmacie, 1 pp. 903
57. R. Gendle et al., "Paramètres requises pour système à libération prolongée de médicaments", (2009), pp. 68-87
58. R.K. Khar et S.P. Vyas, "diffusion contrôlée de médicament", (2002), pp. 1-50.
59. D.M. Brahmancker et S.B. Jaiswal, "Biopharmaceutics and Pharmacokinetics", 1ère édition, Vallabh Prakashan, (1995), pp.347-352
60. H.W. Hui, J.R. Robinson et V.H.L. Lee. "Design and fabrication of oral controlled release drug delivery systems. In: Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications", Chapitre 9, 2 ème édition, New York: Marcel Dekker, (1987).
61. R. Denine, "Cours de pharmacie galénique", OPU, Alger, (2008), pp.233.
- 62.. Y. Cohen, "Initiation à la connaissance du médicament", 2 ème édition, Masson, Paris, (1995). pp.172
- 63.. A. Le Hir, "Pharmacie galénique : bonne pratiques de fabrication des médicaments", 8 ème édition, Masson, Paris, (2001), pp.251
64. Viana, M., Pillon, F., & Géniaux, H. (2017). Formes à libération prolongée, un conseil officinal s' impose. Actualités Pharmaceutiques, 56(569), 48-50.
65. K. Lawrence, W.Fung et M. Saltzman, "Polymeric implants for cancer chemotherapy", Drug Delivery Reviews, (1997), 26 pp.209-233

66. VANDERMOLEN D., RATTIS V., EVANS W., STOVALL D., KAUMA S.,NESTLER J. Metformin increases the ovulatory rate and pregnancy rate from clomiphene citrate in patients with polycystic ovary syndrome who are resistant to clomiphene citrate alone. *Fertility and Sterility*. 2001 ; N°75 : p. 310-315.
  
67. SCHEEN, A. (2013). Comment je traite... par metformine un patient diabétique avec insuffisance rénale modérée. *Revue Médicale de Liège*, 68(4).
  
68. BECKER S., DOSSUS L., KAAKS R. Obesity related hyperinsulinaemia and hyperglycaemia and cancer development. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2009 ; N°115 : p.86-96.
  
69. BOUCHOUCHA M., UZZAN B., COHEN R. Metformin and digestive disorders. *Diabetes and Metabolism*. 2011 ; N°37 : p. 90-96.
  
70. Kakoui, N., Nikzad, M., Ghoreyshi, A. A., & Mohammadi, M. Optimization of pectin extraction from sour orange and evaluation of the extracted pectin quality ", Faculty of Chemical Engineering, Noushirvani University of Technology, Babol, Iran, (2015).
  
71. Bochek, A.M., Zabivalova, N.M., and Petropavlovskii, G.A." Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid", *Russian Journal of Applied Chemistry*, (2001), 74, 796-799.
  
72. Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of phytology*, 3(12)
  
73. Sebaoui, O. (2018). Modélisation et optimisation de l'extraction de la pectine à partir du zeste de citron et de son utilisation dans l'encapsulation des composés phénoliques des margines de l'industrie oléicole (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
  
74. WU Y., CUI S. W., TANG J., Wang Q. & GU X. "Preparation, partial characterization and bioactivity of water-soluble polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds", *Carbohydrate polymers*, (2007), 70, 437-443.