

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

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER PROFESSIONNEL

Spécialité : Pharmacie industrielle

Intitulé du mémoire

**Formulation d'une poudre pour suspension à base
d'alginate et de chitosane : Application au traitement
du surpoids et prévention de l'obésité.**

Présenté par :

SAKRI Rachid
et OMARI Riadh

Encadré par :

Dr.HADJ SADOK Abdelkader
GHERRAK Fouzia

Le laboratoire d'affiliation : Laboratoire d'analyse fonctionnelle N°116

Année universitaire 2017/2018

DEDICASE

Je dédie ce modeste travail à :

Aux personnes dont on a bien aimé la présence dans ce jour, à nos parents nos frères et sœurs, et l'ensemble des membres de nos familles respectives, aux personnes qui nous ont le plus soutenu, Mme Amel Hamid sidi yekrlef et Mme Boulila Fouzia. ce travail dont le grand plaisir leur revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui nous ont toujours aidé et encouragé, qui ont été toujours à nos côtés, et qui nous ont accompagnés durant nos chemins d'études et d'études supérieures, nos aimables amis, collègues d'étude de Pharmacie industrielle promotion N°05 , et les membres du collectif Gowest.

REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la bénédiction pour accomplir ce modeste travail.

Nous remercions nos cher parents de nous avoir soutenu depuis toujours et jusqu'à aujourd'hui.

Nous tenons à présenter notre profonde gratitude à notre promoteur Mr HADJSADOK Abdelkader ; qui nous a apporté une aide précieuse pour l'accomplissement de ce mémoire.

Nous remercions également Mme GHERRAK Fouzia notre Co-promoteur d'abord pour sa confiance et pour son omni présence toute au long d'élaboration de ce travail.

Nous tenons à montrer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements envers Mme LARIBI Hassiba, Mr CHEKNANE Omar et Mme BELHADJI Linda pour leur aide sur le plan théorique et technique.

À la fin de ce travail, nous aimerons présenter nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à tous nos enseignants du Département de Génie de Procèdes pour la formation qu'on nous a accordée.

الملخص :

كان الهدف من هذا العمل تكوين نظام حبس معدي مكون من ألجينات الصوديوم و الشيتوزان بالضافة الى كاربوكسي ميثيل سليولوز الصوديوم دون الحاجة لمصدر للكالسيوم. وهذا بتشكيل وضعي للهلام داخل الوسط المعدي. أقيمت 15 تجربة بتراكيز مختلفة لألجينات الصوديوم و الشيتوزان كاربوكسي ميثيل سليولوز الصوديوم حيث تم تأكيد تكوين الهلام في سائل محاكي لسائل المعدي ذو درجة حموضة 1.2 وذلك بشكل جد سريع، تمت دراسة صلابة هذا الأخير بواسطة قياسات التقدم لمعلومات الحامضية و اللزوجة مما يدل على أن الهلام الذي تم تشكيله متوافق مع معامل تخزين يصل إلى 10^6

أظهرت النتائج أن التركيبة التي تحتوي على كمية قصوى من الألجينات و الشيتوزان مرتبطة بكمية ضئيلة من كاربوكسي ميثيل السليلوز تحتوي على الخصائص الضرورية للإحتباس بالمعدة ويمكن استخدامها كنظام للوقاية من السمنة وزيادة الوزن

الكلمات المفتاحية: السمنة، الإهتلام الموضوعي، ألجينات الصوديوم، الشيتوزان ، كاربوكسي ميثيل سلولوز الصوديوم اللزوجة.

Résumé:

Le but de ce travail était de former un système gastro-rétentif à base d'alginate de sodium qui, en présence de chitosane et de carboxyméthylcellulose sodique et sans source de calcium, peut subir une gélification in situ au contact du suc gastrique. Quinze essais avec différentes concentrations d'alginate de sodium, de chitosane et de carboxyméthylcellulose sodique ont été réalisés. La formation de gel in situ a été confirmée dans un fluide gastrique simulé à pH 1,2 avec une cinétique très rapide, et la rigidité de ce dernier a été étudiée par des mesures des paramètres viscoélastiques et cinétiques du pH qui ont montré que le gel formé était consistant avec un module de conservation allant jusqu'à 10^6 Pa.. Les résultats ont montré qu'une formulation avec une quantité maximale d'alginate et de chitosane associée à une quantité minimale de carboxyméthylcellulose avait les propriétés nécessaires à la rétention gastrique et pouvait être utilisée comme système de prévention de l'obésité et du surpoids.

Mots clés : obésité, gélification in-situ, alginate de sodium, chitosane, carboxyméthylcellulose de sodium, viscoélasticité,

Abstract

The aim of this work was to form a gastro-retentive system based on sodium alginate which, in the presence of chitosan and sodium carboxymethylcellulose without a source of calcium, is able to undergo gelation in situ during contact with gastric juice. Fifteen tests with different concentrations of sodium alginate, chitosan and sodium carboxymethylcellulose were carried out. Gel formation in situ was confirmed in a simulated gastric fluid at pH 1.2 with very fast kinetics, and the stiffness of the latter was studied by measurements of the viscoelastic parameters and kinetic of pH which showed that the gel formed was consistent with a storage modulus up to 10^{-6} Pa. The results showed that a formulation with a maximum amount of alginate and chitosan associated to a minimum amount of carboxymethylcellulose had the necessary properties for gastric retention and can be used as an anti-obesity and overweight prevention system.

Key words: obesity, in-situ gelation, Sodium alginate, chitosan, carboxymethylcellulose, viscoelasticity.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : GENERALITES.....	2
I.1 L'OBESITE ET LES MALADIES LIEES :	2
I.2.PHYSIOLOGIE DE SYSTEME DIGESTIF (L'ESTOMAC) :	4
I.3 LES MEDICATIONS ANTI-OBESITE :	7
CHAPITRE II :	10
II.1 HYDROGELS ET GELIFICATION IN SITU :	10
II.1.1 Définition d'un hydrogel :	10
II.1.2 Hydrogels chimiques et physiques :	10
II.1.3 Gélification in situ :	11
II.1.3.1 Mécanismes de formation d'hydrogels in situ :	11
II.2 BIOPOLYMERES ETUDIES :	12
II.2.1 Alginate de sodium :	12
II.2.1.1. Composition chimique :	12
II.2.1.2. Propriétés physico-chimiques :	13
II.2.2 Chitosane :	18
II.2.2.1 Le chitosane et la chitine :	18
II.2.2.2 Extraction du chitosane :	19
II.2.2.3 Propriétés physicochimique :	19
II.1.3.2 Les systèmes de gélification in situ à base de chitosane :	20
II.1.4 Historique sur les travaux à base d'alginate-chitosane :	22
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE.....	24
III.1. MATERIEL :	24
III.2 EXTRACTION DE LA CHITINE :	25
III.3 ESSAIS PRELIMINAIRES :	28
III.4 CARACTERISATION DES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES DU CHITOSANE :	29
III.5 PRE FORMULATION :	31
III.5.1 Description de matières premières utilisées :	31
III.6 FORMULATION :	32
III.6.1 Méthode des plans d'expériences :	32
III.6.1.3 Méthode de préparation de la suspension :	34
III.6.2 CARACTERISATION DE LA SUSPENSION ET DU GEL :	34

III.6.2.1 Caractérisation physico-chimique :.....	34
III.6.2.2 Caractérisation rhéologique :.....	35
III.6.3 LA GRANULATION DE LA POUDRE :.....	36
CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION.....	40
IV.1 RENDEMENT DE L'EXTRACTION :.....	40
IV.2. CARACTERISATION PHYSICO CHIMIQUE DE CHITOSANE :.....	41
IV.2.1 Aspect et identification :.....	41
IV.2.3. Détermination de la solubilité :.....	42
IV.2.4 Détermination du pKa et de degré désacétylation :.....	43
IV.3 RESULTAT DES ESSAIS PRELIMINAIRES DE LA GELIFICATION :.....	44
IV.4. LES RESULTATS DE CARACTERISATION :.....	46
IV.4.1 Caractérisation physico-chimique :.....	46
IV.4.2. Caractérisation rhéologique :.....	49
IV.5 MODELISATION EN SURFACE DE REPONSES DES RESULTATS :.....	51
IV.5.1Matrice de corrélation réponse-réponse :.....	53
IV.6 RESULTAT DE TEST DE DISPERSION AVANT ET APRES LA GRANULATION :.....	61
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	62
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	
APPENDICE A.....	
APPENDICE B.....	
APPENDICE C.....	

LISTE DE FIGURE

Figure I.1 les maladies liées à l'obésité	2
Figure I.2 Appareil digestif humain	5
Figure I.3 les différentes parties de l'estomac.....	6
Figure I.4 les étapes de séjour des aliments dans l'estomac.....	7
Figure II.1 : Monomères de la chaîne alginate.....	12
Figure II.2 : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.....	13
Figure II.3 : Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "egg-box"	14
Figure II.4 : Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box"	14
Figure II.5 : Rheogramme contrainte de cisaillement-vitesse de cisaillement pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations.....	15
Figure II.6 structure chimique de chitine et chitosane	18
Figure III.1 : Procédé d'extraction de la chitine et du chitosane	26
Figure III.2 : Procédé de la granulation humide.....	37
Figure III.3 : Mélangeur cubique à chute libre.	38
Figure III.3 montage d'un granulateur a voie humide	38
Figure IV.1 : schéma descriptif du rendement de l'extraction de chitine (sépia et crevette).	40
Figure IV.2 : schéma descriptif du rendement de l'extraction de chitosane (sépia et crevette).....	41
Figure IV.3: Comparaison entre deux spectres de bandes d'absorbances de chitosane extrait avec chitosane de référence	41
Figure IV.4 : Dosage pH métrique du chitosane.....	44
Figure IV.5 : Variation des deux modules, de conservation G' et de perte G'' , du gel en fonction de la déformation, $T=37^\circ$ des gels formés à base de Chitosane seule et d'alginate seul.....	45
Figure IV.6 : Photos des gels formés avec du chitosane de crevette (Essai1) et de Sépia (Essai 2). 45	45
Figure IV.7: Variation des deux modules, de conservation G' et de perte G'' , du gel en fonction de la déformation, $T=37^\circ$ des gels formés à base de Chitosane de crevette (essai 1) et de Sépia (Essai 2)	46
Figure IV.8 : Graphe représentant la cinétique de l'évolution du pH du milieu gastrique après la formation du gel.....	48
Figure IV.9 : Courbe d'écoulement typique de l'essai E04 ajustée par le modèle de Carreau. $T=20^\circ\text{C}$	50
Figure IV.10 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' d'un essai type du plan d'expérience, en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$	51
Figure IV.11 : Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des quatre modèles RSM.	54
Figure IV.12 : Représentation globale de la contribution de chaque terme des modèles RSM pour chaque réson	55
Figure IV.12 : Courbe Iso-réponse de l'évolution de la viscosité au taux de cisaillement nul en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. CMC Na minimale ..	58
Figure IV.13: courbe Iso-réponse de G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. CMC Na minimale	59
Figure IV.14 : Courbe Iso-réponse de l'évolution du temps de dispersion en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. CMC Na minimale.....	60

Figure IV.15 : Courbe Iso-réponse de l'évolution du volume expulsé par le gel en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du Chitosane. CMC Na minimale..... 61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.01 : Perte de poids moyenne selon la médication chez l'obèse morbide.....	9
Tableau II.01 : Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications (Vauchel, 2007)	16
Tableau III.1 : Description de matières premières utilisées.....	31
Tableau IV.1 : Teneur en eau du chitosane.....	42
Tableau IV.2 : Test de solubilité de la chitine désacétylée et du chitosane commercial.....	42
Tableau IV.3 : valeur des deux modules, de conservation G' et de perte G'' dans la région linéaire (LVE)	46
Tableau IV.4 Résultats des temps de dispersions	47
Tableau IV.5 Résultats des volumes exclus par les gels.	47
Tableau IV.6 : Valeurs des quatre paramètres rhéologique du modèle structural de Carreau pour tous les essais réalisés.....	50
Tableau IV 7 : : Matrice d'expériences du plan Box behken contenant différents niveaux des facteurs et les valeurs de toutes réponses en fonction du numéro de l'essai.	52
Tableau IV.9 : Valeur des paramètres caractéristiques de la suspension et du gel de la formule optimale.....	57
Tableau IV .10 : Tableau comparatif des temps de dispersion avant et après la granulation	61

LISTE DES ABREVIATIONS

pH : Potentiel hydrogène.

pKa : Indice de la constante d'acidité.

CMC : Carboxyleméthyl cellulose.

HPMC : Hydroxypropylméthylcellulose

RSM : Modélisation en surface de réponse.

DDA : Le degré de désacétylation.

MG : Mannuronique, guluronique.

w/v : poids/volume.

SGF : fluide gastrique simulé.

LVE : Linear viscoelastic

MLR : multilinear regression

IRTF : Infrarouge transformée de fourier

R² : coefficient de détermination

Q² : coefficient de prédiction

PVP : polyvinylpyrrolidone

LISTE DES SYMBOLES

Symboles	Désignations	Unité
η	Viscosité apparente	[Pa.s]
K	Temps de relaxation	[s-1]
P	Indice de loi de puissance.	Sans unité
η_0	Viscosité a un taux de cisaillement nul	[Pa.s]
η_∞	Viscosité a un taux de cisaillement infini	[Pa.s]
$\dot{\gamma}$	Vitesse de cisaillement	[s-1]
η_a	Viscosité apparente	[Pa.s]
G'	Module de conservation	[Pa]
G''	Module de perte ou de dissipation	[Pa]
τ_{seuil}	Contrainte de seuil	[Pa]
R^2	Coefficient de détermination	Sans unité
Q^2	Coefficient de prédiction	Sans unité

INTRODUCTION

L'obésité devient un problème de santé croissant. C'est un fardeau majeur pour les coûts des soins de santé parce qu'il est lié à de nombreuses maladies chroniques telles que le diabète de type 2, la pression artérielle élevée et les maladies cardiovasculaires. Le poids corporel est déterminé par une interaction complexe de facteurs génétiques, environnementaux et psychosociaux. L'obésité se produit lorsque la consommation d'énergie dépasse la dépense énergétique. La nourriture a un rôle crucial dans la gestion du poids

Les solutions existent mais il est difficile de les mettre en œuvre dans une société tournée vers l'image et le plaisir. En effet, la perte de poids est l'obsession du siècle surtout pour la population féminine mais il faudrait presque que cela ne demande aucun effort ; De multitudes de régimes font la une des magazines mais peuvent être dangereux pour la santé s'ils sont trop stricts, ils sont rarement poursuivis car trop contraignant.

Les compléments alimentaires pour perdre du poids sont également très nombreux mais leur efficacité est mise en question. En parallèle les médicaments soumis à une prescription médicale, ont vu leurs autorisations de mise sur le marché suspendu les uns après les autres en raison de leurs effets secondaires.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à une formulation composée de mélange de biopolymères ayant déjà fait preuve de leur vertu anti-obésité et, qui se présente sous forme de poudre à disperser dans l'eau formant ainsi une suspension à être administrée par voie orale.

Une fois cette suspension est en contact avec le suc gastrique, elle gélifie, grâce à l'effet du pH et forme un réseau tridimensionnelle interpénétré qui occupe un volume important dans l'estomac et stimule les mécanorécepteurs et, par conséquence, la sécrétion d'une hormone anorexigène induisant ainsi une sensation de satiété. Ce gel doit présenter une résistance mécanique suffisante contre les mouvements et la pression péristaltique de l'estomac, ce qui lui confère un long séjour gastrique et un ralentissement de la vidange gastrique.

Le présent document est scindé en deux grandes parties. La première est consacrée à la synthèse bibliographique nécessaire à la bonne compréhension de ce travail. Elle comporte deux chapitres :

Le premier chapitre est dédié à la maladie de l'anti-obésité, les facteurs causant cette maladie, les moyens de préventions et de traitement et leurs impacts sur le patient.

Le deuxième chapitre est dédié à l'étude des biopolymères étudiés, de leurs propriétés physicochimiques et applications dans de différents domaines.

La partie expérimentale de ce travail est présentée par deux chapitres, chapitre 3 et chapitre 4. Le troisième chapitre sera dédié aux études de pré formulation et de formulation proprement dite, nous décrirons les critères suivis qui nous ont permis d'aboutir à notre formule qualitative et quantitative, la démarche entreprise pour la mise en œuvre de la poudre suspension suivant la méthodologie des plans d'expériences ; aussi, les méthodes de caractérisation effectuées sur cette formule afin de faire ressortir une solution optimale seront décrites.

Le quatrième chapitre regroupera les résultats expérimentaux, leurs exploitations et interprétation.

Enfin, une conclusion et des perspectives seront apportées dans la dernière partie de ce mémoire. Nous rappellerons les principaux résultats obtenus, ainsi que les voies envisagées pour une suite d'études plus approfondie

CHAPITRE I : GENERALITES

I.1 L'OBESITE ET LES MALADIES LIEES :

L'obésité devient un problème de santé croissant. Elle est maintenant si courante au sein de la population mondiale qu'elle commence à remplacer la dénutrition et les maladies infectieuses. C'est un fardeau majeur pour ces coûts de soins. Elle est liée à de nombreuses maladies chroniques telles que le diabète type 2, la pression artérielle systémique, les maladies cardiovasculaires, la dyslipidémie, l'arthrose et de certains cancers et aux troubles du sommeil [1,2]. La figure I.1 ci-dessous résume un certain les maladies causées par l'obésité :

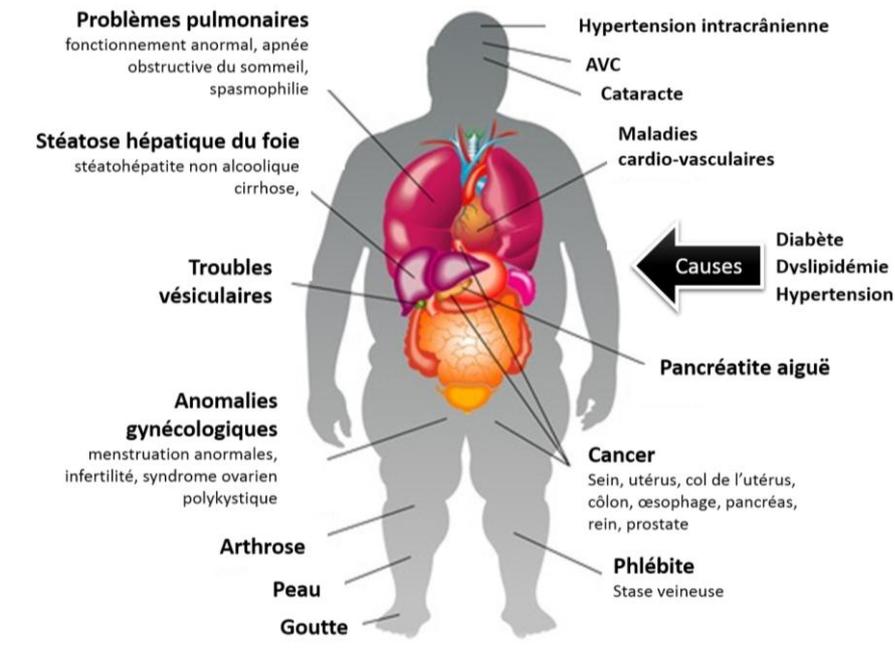


Figure I.1 les maladies liées à l'obésité. [1]

Le poids corporel est déterminé par une complexe interaction de facteurs génétiques, environnementaux et psychosociaux. L'obésité résulte quand l'apport énergétique dépasse la dépense énergétique. Elle est définie par un indice de masse corporelle IMC (poids divisé par le carré de la taille) de 30 kg m^{-2} ou plus.

L'obésité ne devrait plus être considérée simplement comme un problème esthétique affectant certaines personnes, mais comme une épidémie qui menace le bien-être global. [1,2]

I.1.1 l'obésité et le diabète de type 2 :

La distribution de la graisse corporelle influence le métabolisme du glucose par des mécanismes indépendants mais additifs. L'Augmentation de l'obésité du haut du corps est accompagnée d'une augmentation de la réponse en insuline ce qui pourrait à l'usure provoqué une résistance à l'insuline. [3]

I.1.2 l'obésité et les maladies cardiovasculaires :

Les effets de l'augmentation de la masse grasse corporelle sur le fonctionnement cardiovasculaire sont prévisibles. La consommation totale d'oxygène corporel est augmentée à la suite d'une masse de tissu élargie ainsi que les demandes oxydatives de tissu adipeux métaboliquement actif, et ceci est accompagné d'une augmentation absolue du débit cardiaque. La pression artérielle est en fonction du débit cardiaque et de la résistance vasculaire contre laquelle le sang est pompé. Un débit cardiaque élevé est fréquent avec une obésité modérée, mais pas tous les patients obèses ne sont hypertendus même si ça augmente considérablement leur chance de l'être et d'être touché de divers types de maladies cardiovasculaires. [3]

I.1.3 Les troubles respiratoires du sommeil causé par l'obésité :

Une quantité accrue de graisse dans la paroi thoracique et l'abdomen a un effet direct sur les propriétés mécaniques de la poitrine et le diaphragme et elle conduit à une altération des fonctions respiratoires, (pendant l'inspiration et l'expiration, et la réduction du volume pulmonaire). Tous ces changements sont exagérés et significatifs quand une personne obèse est à plat. Respiration irrégulière et des épisodes d'apnée occasionnels surviennent souvent chez les personnes endormies, mais l'obésité, avec son influence sur la mécanique respiratoire, augmente leur fréquence et peut entraîner une hypoxie sévère avec une provocation d'arythmies cardiaques. [3]

I.2.PHYSIOLOGIE DE SYSTEME DIGESTIF (L'ESTOMAC) :

I.2.1 système digestif :

Dans le tractus gastro-intestinal ou tube digestif, la nourriture est digérée afin de passer dans le milieu interne. Les aliments sont déglutis, mixés, scindés par la musculature du tube digestif en petites particules (digestion) lesquelles sont absorbées à travers la muqueuse intestinale (absorption) et passent dans la lymphe et le sang portal. L'absorption s'effectue par diffusion, au moyen de transporteurs et par endocytose

Les aliments solides sont tout d'abord broyés par les dents et mélangés à la salive qui est sécrétée par les glandes salivaires. Au cours de la déglutition, le bol alimentaire passe dans l'œsophage et parvient jusqu'à l'estomac où il subit l'action du suc gastrique .Le liquide alimentaire est alors appelé chyme. Le contenu stomacal passe à travers le sphincter pylorique dans le duodénum. A ce niveau, les sécrétions des cellules intestinales et les sucs digestifs du pancréas (suc pancréatique) et de la vésicule biliaire (bile) s'ajoutent au contenu intestinal [4] La figure I .2 suivante est un schéma reprisant l'appareil digestif :

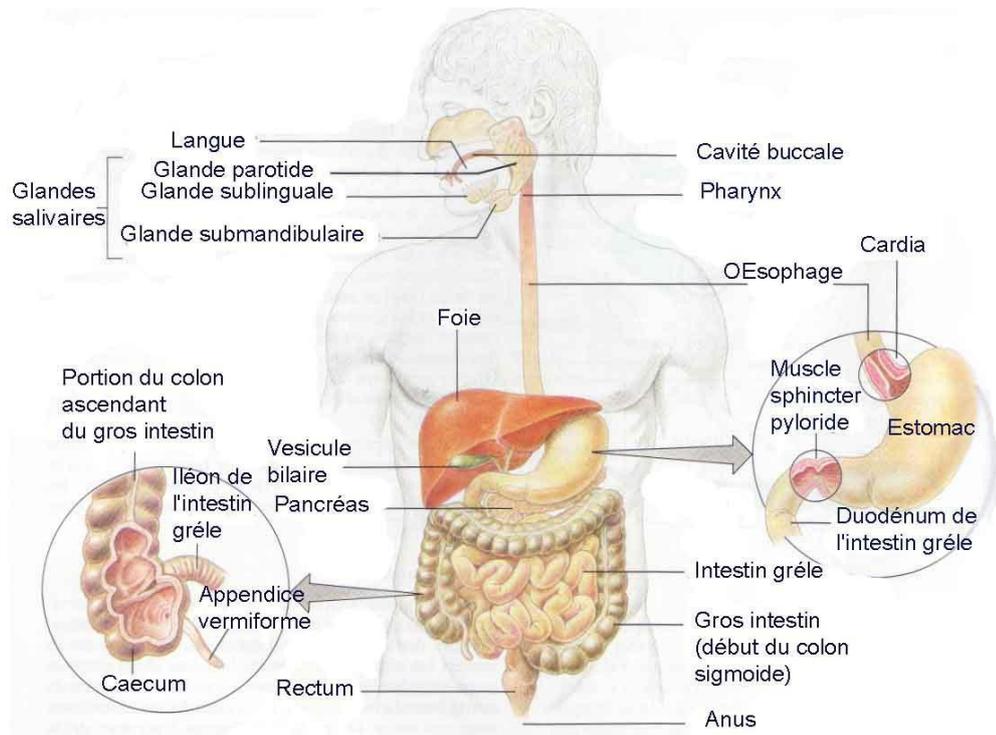


Figure I.2 Appareil digestif humain. [4]

I.2.2 Estomac : structure et motilité

L'œsophage débouche dans le fundus, situé au niveau du cardia, le fundus est lui-même suivi du corps et de l'antré. L'extrémité inférieure de l'estomac (pylore) s'abouche au duodénum, D'un point de vue fonctionnel, on fait une distinction entre l'estomac « proximal » et l'estomac « distal ». La taille de l'estomac dépend de son remplissage ; c'est surtout l'estomac « proximal » qui augmente de volume, sans que la pression ne soit importante. [4]

La figure I.3 suivante est un schéma qui montre les parties structurales l'estomac

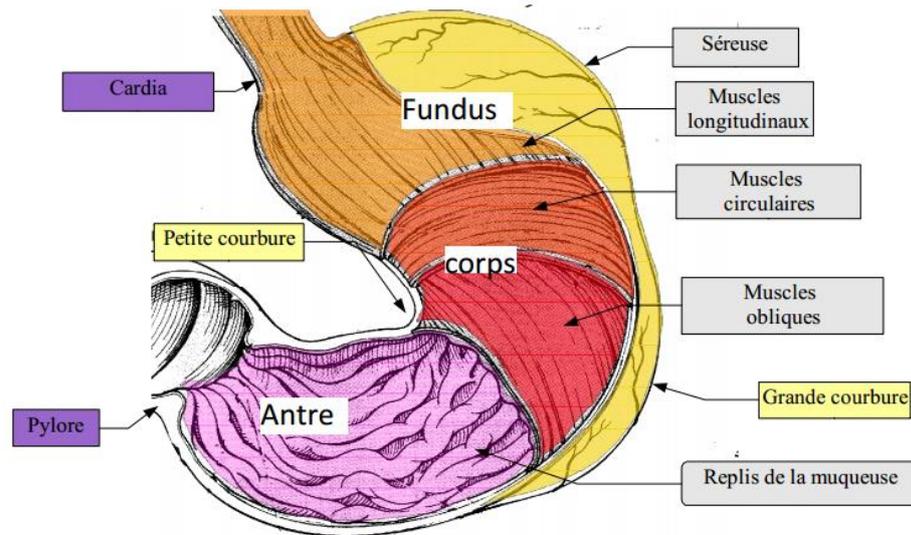


Figure I.3 les différentes parties de l'estomac. [4]

I.2.3 Les propriétés de milieux gastriques

La capacité gastrique de l'estomac, est d'environ 1600 cm³. (L'estomac peut se dilater pour contenir jusqu'à 4 L De nourriture). [5] La surface de l'estomac est parsemée de cryptes profondes et étroites. Au fond de ces cryptes, on peut observer les glandes gastriques qui contiennent trois types de cellules :

-Les cellules accessoires qui sécrètent le mucus.

-Les cellules principales qui fabriquent le pepsinogène (précurseur inactif de la pepsine). La pepsine est une enzyme dont le rôle est de détruire les grosses protéines qui constituent les aliments, en fragments plus petits. Elles contiennent également les cellules bordantes, qui sécrètent l'acide chlorhydrique (HCl). L'acide chlorhydrique amène le pH (acidité) du suc gastrique aux environs de 1, et le pH du contenu de l'estomac aux environs de 2 à 3,5. Ce taux d'acidité rend le milieu favorable à l'activation et à l'action de la pepsine. Enfin, l'acidité va permettre de débarrasser le bol alimentaire de la majeure partie des bactéries qui sont

ingérées. [6] Figure I.4 représente les différentes étapes de la digestion stomacale.

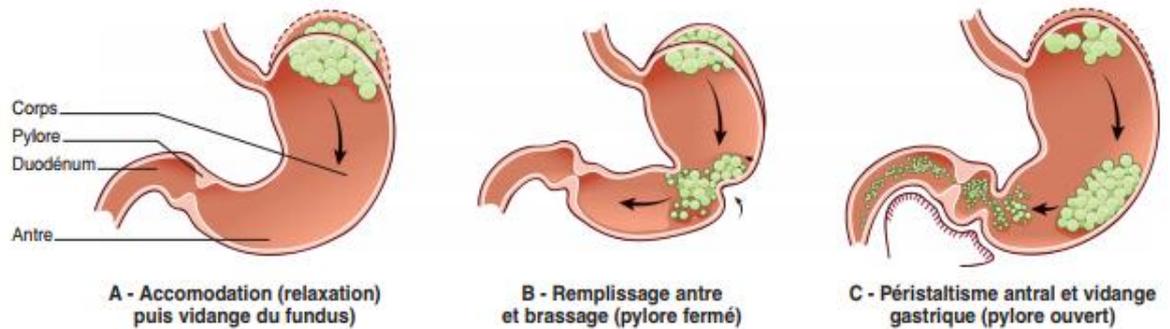


Figure I.4 les étapes de séjour des aliments dans l'estomac. [6]

La durée du séjour des aliments dans l'estomac, est fonction de leur consistance, mais également de la force de contraction (tonicité gastrique). Ce sont tout d'abord, les aliments liquides, qui sont éliminés en premier (10 à 20 min), Les aliments solides restent dans l'estomac jusqu'à ce qu'ils soient transformés en petites particules en suspension de 0,3 mm de diamètre environ, qui stagnent un long moment dans l'estomac. La durée moyenne du séjour du chyme dans l'estomac est d'environ 3 à 4 heures. Dans certains cas, elle peut aller jusqu'à 6 heures. [6]

I.3 LES MEDICATIONS ANTI-OBESITE :

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

- action centrale : elle se traduit par une modulation de l'appétit ;
- action périphérique : elle se traduit par une altération dans l'absorption des nutriments.

Pour obtenir des effets positifs sur la santé, la perte de poids devrait se chiffrer aux alentours de 5 à 10 % du poids corporel initial. Cette diminution est souvent amplifiée lorsqu'on combine un traitement pharmacologique aux interventions non pharmacologiques. [7]

I.3.1 Action centrale :

En général ses traitements sont destinés aux personnes obèses ou en surpoids avec des facteurs de risque mais ils ne dispensent bien évidemment pas ni des mesures diététiques ni de l'activité physique.

Exemples sur les médicaments d'action centrale :

a) La sibutramine

La sibutramine est un agent qui inhibe la recapture de la sérotonine (qui empêche la sécrétion de la ghréline «augmente l'appétit ! »). Et de la norépinéphrine. Chez les animaux, la sibutramine Diminue l'apport alimentaire et stimule la thermogénèse dans le tissu adipeux brun. Cette médication augmenterait aussi la satiété, la thermogénèse, la dépense énergétique et contribuerait ainsi à la perte de poids chez l'humain. Cette médication est absorbée au niveau du tube gastro-intestinal, et elle atteint son pic de concentration, dans le plasma, dans les deux premières heures. [8]

b) Le rimonabant

L'habilité de la cannabinoïde à augmenter la faim est reconnue depuis plusieurs centaines d'années. Un système endogène de neuromodulation impliqué dans le comportement alimentaire a mené au développement d'une nouvelle classe d'agents thérapeutiques, « les antagonistes des récepteurs cannabinoïdes de type 1(CB1) », pour le traitement de l'obésité et des troubles alimentaires. le récepteur CB1 qui est situé dans plusieurs parties du cerveau et dans une grande variété de tissus seront occupés par les endocannabinoïdes.

En 2008, le rimonabant a été retiré du marché par les fabricants, en raison de liens avec des troubles mentaux et d'effets secondaires inacceptables. [9]

I.3.2 Action périphérique :

Exemples sur les médicaments d'action périphérique :

a) L'orlistat

L'orlistat, un produit isolé de la bactérie de sol *Streptomyces toxytricini*, est un analogue stable de la lipstatine partiellement hydrogéné et synthétisé chimiquement.

L'orlistat est un puissant inhibiteur de la lipase gastro-intestinale (lipase pancréatique, lipase pancréatique carboxylée et lipase gastrique). De telles enzymes catalysent le déplacement hydrolytique des acides gras des triglycérides pour produire des acides gras libres et des monoglycérides, ce que l'orlistat empêche de faire en favorisant leur malabsorption. L'orlistat se lie de façon irréversible au site actif de la lipase par une attache covalente. [10] Le tableau I.01 résume le pourcentage de perte de poids, en fonction du traitement de médication utilisé.

Tableau I.01 : Perte de poids moyenne selon la médication chez l'obèse morbide. [10]

Médication	Parte de poids
Rimonbant	5 a 10 %(12 mois)
Sibutramine	5 a 7 %(6 mois)
Orlistat	2 a 3 %(3 mois)

CHAPITRE II :

II.1 HYDROGELS ET GELIFICATION IN SITU :

II.1.1 Définition d'un hydrogel :

En 1960, WICHTERIE ET LIM ont développé avec succès le premier hydrogel synthétique à base de poly (2-hydroxyéthyl méthacrylate) (PHEMA) pour son utilisation comme lentilles souples. Par la suite, de nouveaux hydrogels ont été développés pour de très larges applications, en particulier dans le secteur biomédical. [11]

Selon PEPPAS « Un gel est un réseau constitué de polymères hydrophiles capables de gonfler dans l'eau ou dans une solution aqueuse ». [12] D'autre part, GUENET suggère une définition très similaire « Un gel est un réseau constitué de chaînes polymères interconnectées et gonflées par un solvant dont la concentration est supérieure à 90 % ». [20] ALMDAL ET AL considèrent que le terme gel s'applique à un matériau à la fois déformable et élastique, et possédant des caractéristiques de l'état solide : contrairement aux liquides, il doit pouvoir garder sa forme sous son propre poids, le gel ne s'écoule pas. [13].

II.1.2 Hydrogels chimiques et physiques :

Les hydrogels chimiques sont formés par des liaisons covalentes, les unités de répétition ont des groupements fonctionnels pour former les nœuds ou points de réticulation en réagissant avec un agent réticulant. De par le caractère irréversible de la liaison covalente, ces hydrogels ne sont ni thermoréversibles, ni solvoréversibles. [50]

Par contre, les hydrogels physiques sont créés par des liaisons faibles et partiellement réversibles. La microstructure de l'hydrogel peut être stabilisée par plusieurs types d'interactions réversibles qui sont localisées sur des « zones de jonction », éventuellement multifonctionnelles, qui peuvent s'étendre sur une distance de 0.1 à 1 μm . Dans certains cas, les interactions réversibles sont de relativement haute énergie telles que les liaisons ioniques ou la chélation de métaux. Dans autres cas, les interactions sont de faible énergie comme les liaisons d'hydrogène ou Van de Waals, les interactions hydrophobes et de transfert de charge. Contrairement aux liaisons covalentes, ces liaisons ne sont pas stables car elles possèdent un temps de vie déterminé. Leur nombre et leur répartition spatiale fluctuent avec le temps et la température. [14]

II.1.3 Gélification in situ :

La formation des hydrogels in situ montrent habituellement une transition sol-gel sur le site in-situ, où ils sont administrés dans le corps, présentent des potentiels prometteurs pour des applications cliniques telles que les implants injectables, l'ingénierie tissulaire et la libération prolongée des médicaments. Le médicament / cellule peut être mélangé avec la solution aqueuse pour une administration commode, ensuite le dépôt de gel encapsulant le médicament / des cellules est formé in situ. [15]

II.1.3.1 Mécanismes de formation d'hydrogels in situ :

Les mécanismes impliqués dans la formation de gel in situ peuvent inclure les éléments suivants : la gélification en réponse à une variation de température ou de pH, la réticulation ionique ou covalente. [16]

Outre que les systèmes classiques mentionnés ci-dessus, des hydrogels réticulés par voie enzymatique sont apparus récemment comme système de gélification, qui peuvent être formé par des réactions de réticulations catalysées par des enzymes in situ. [17]

Le temps de séjour du gel devrait correspondre à sa fonction présumé, et en tenant compte du temps de sa formation et des facteurs qui pourrait le déstructuré. [18]

II.2 BIOPOLYMERES ETUDIES :

II.2.1 Alginate de sodium :

L'alginate de sodium est un polysaccharide de structure linéaire, biopolymère anionique, extrait des algues brunes, et il peut être produit par voie bactérienne. Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes (Macrocystis pyrifera récoltée aux Etats-Unis, Laminaria digitata, Laminaria hyperborea ou encore Ascophyllum nodosum récoltée en Europe)

L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec, couramment utilisé dans des applications biologiques notamment dans le domaine de l'encapsulation cellulaire et de la délivrance contrôlée de molécules à effet thérapeutique. Ce succès est dû notamment à son mode de gélification et à sa biocompatibilité largement démontrée dans la littérature. [19]

II.2.1.1. Composition chimique :

Les alginates sont des sels d'acide alginique, constitués de deux monomères saccharidiques de base : acide α – L – guluronique (G) et acide β – D – mannuronique (M), dont la séquence varie .La Figure II.1 représente la structure des deux monomères de l'alginate.

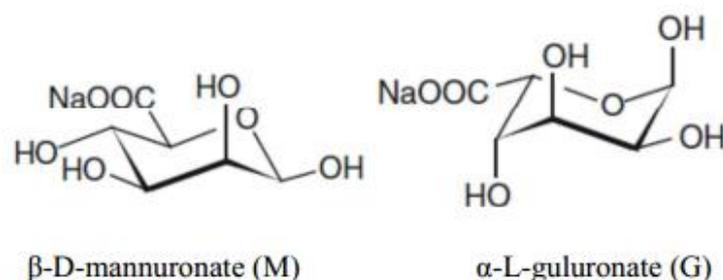


Figure II.1 : Monomères de la chaîne alginate. [19]

La séquence des différents blocs (M) et (G) dépend du type d'algue, de son âge ainsi que de la partie dont l'alginate est isolé. La saison de récolte affecte de même la composition en blocs et les séquences.

De plus, les alginates possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles comme le montre la figure II.2 ci-dessous. : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM) [49]

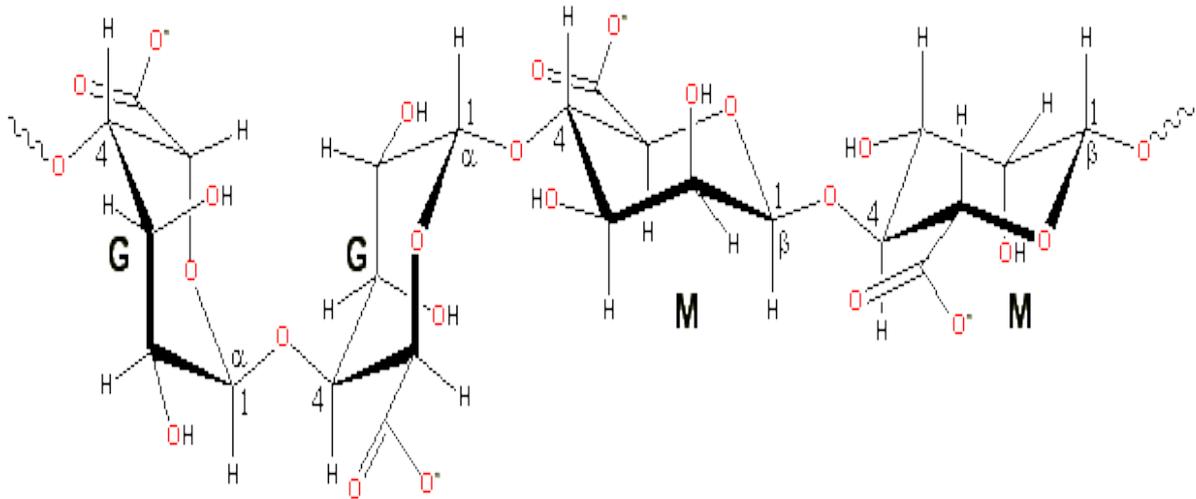


Figure II.2 : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.[49]

II.2.1.2. Propriétés physico-chimiques :

II.2.1.2.1. Solubilité :

L'alginate de sodium est pratiquement insoluble dans les mélanges d'éthanol (95%), d'éther, de chloroforme et d'éthanol / eau dans lesquels la teneur en éthanol est supérieur à 30%. En outre, pratiquement insoluble dans d'autres solvants organiques et solutions acides aqueuses dans lesquelles le pH est inférieur de 3. Lentement soluble dans l'eau, formant une solution colloïdale visqueuse [21]

II.2.1.2.2. Gélification :

La principale caractéristique de l'alginate est sa capacité à gélifier en présence de cations multivalents. Les sels d'alginate sont solubles dans l'eau et sont capables de

gélifier en présence de cations multivalents tels que les ions Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{2+} grâce à la formation d'une jonction impliquant plusieurs chaînes polysaccharidiques. Cette interaction est décrite par le modèle « egg-box » dans lequel chaque ion divalent peut interagir avec deux résidus G adjacents ou appartenant à deux chaînes opposées [49] La Figure II.3 représente la formation des réseaux Egg box de l'alginate et le Ca^{2+} .

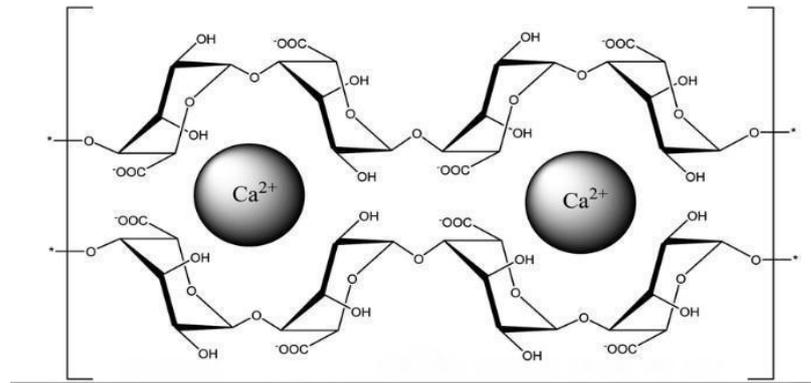


Figure II.3 : Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "egg-box".[49]

Le sel de cation divalent généralement utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium en raison de sa bonne solubilité en milieu aqueux et de la forte disponibilité en ions calcium qu'il apporte. Il a été montré que 90% des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium peuvent être facilement déplacés par les ions calciques. [49]

Cet enchaînement régulier de type « egg box » se reproduit périodiquement comme le montre la figure II.4 ci-dessous : il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou poly (M-G). [49]

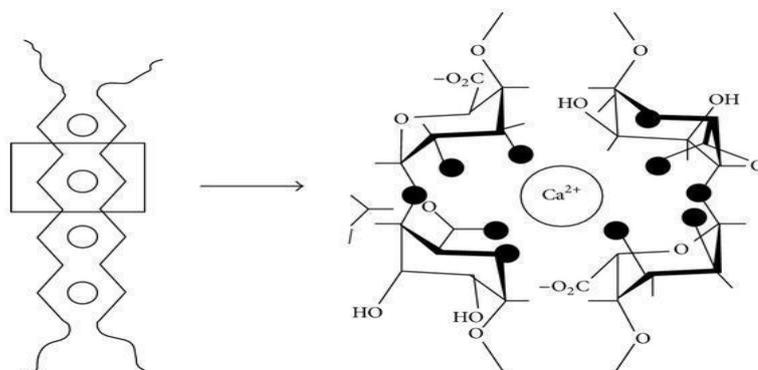


Figure II.4 : Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box".[49]

L'augmentation de la concentration de l'alginate, surtout s'il est de masse moléculaire élevée, induit une plus grande rigidité du gel. Enfin les conditions de gélification influent sur les propriétés mécaniques : il existe une relation entre la température et la rapidité de la gélification : une température basse est responsable d'une diminution de la diffusion du calcium d'où une gélification plus lente, une structure plus ordonnée et donc une plus grande cohésion [22]

II.2.1.2.3. Comportement rhéologique :

Les alginates ont en général un comportement quasi-Newtonien, même si des déviations peuvent être observées suivant plusieurs facteurs notamment (le type d'alginate, la concentration de la solution, la composition chimique de l'alginate, sa masse moléculaire moyenne, etc...). La Figure II.5 présente un exemple de rhéogramme pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations. On constate une dépendance linéaire dans tous les cas, traduisant un comportement Newtonien, excepté pour la concentration la plus élevée, pour laquelle on peut observer une légère déviation. [23]

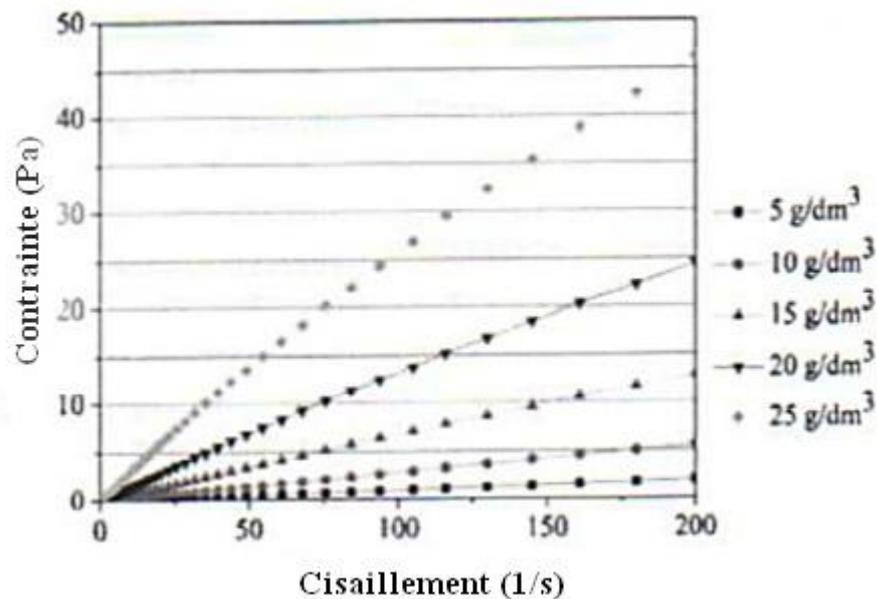


Figure II.5 : Rheogramme contrainte de cisaillement-vitesse de cisaillement pour des solutions d'alginate de sodium de différentes concentrations. [23]

II.2.1.3. Application de l'alginate de sodium :

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans les domaines de l'agroalimentaire et textile, pour laquelle environ 80% de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant, etc.

Le Tableau II.01 résume les différentes applications de l'alginate de sodium dans les différents domaines :

Tableau II.01 : Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications (Vauchel, 2007) [23]

Application	Rôle de l'alginate
Industrie textile (50%)	Epaississant pour les pâtes d'impression, Epaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405	Epaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
Industrie du papier (5%)	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Epaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
Industrie pharmaceutique (5%)	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire.

Divers (10%)	Epaississant dans les produits de beauté et pâtes à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Flocculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.
---------------------	--

II.2.1.3.1 Application anti-obésité :

Des chercheurs de l'université de Newcastle ont étudié les effets des alginates produits dans le varech (mélange d'algues), sur le métabolisme des graisses et plus précisément sur l'enzyme qui digère les graisses appelée lipase pancréatique. Leurs conclusions obtenues au laboratoire montrent que les alginates sont des inhibiteurs efficaces de la lipase pancréatique, ils pourraient bien contribuer à la gestion des problèmes de poids. [24]

Selon cette étude très préliminaire, les alginates pourraient se révéler de bons inhibiteurs de l'assimilation des graisses. Or, actuellement, précisent les auteurs, ils sont utilisés par l'industrie agro-alimentaire à des niveaux faibles. A des niveaux plus élevés et sous condition de ne pas altérer les aspects organoleptiques des aliments, ils pourraient être des agents prometteurs anti-prise de poids. Un résultat prometteur et intéressant, étant donné, encore une fois, le caractère naturel de ces composés. [24]

Dans un registre proche, une étude de 2012 avait également suggéré qu'un extrait d'algues nommé le « ProAlgaZyme » présentait un effet positif sur le bon cholestérol et prometteur pour la prévention et la régulation des maladies cardiovasculaires. [24]

II.2.2 Chitosane :

II.2.2.1 Le chitosane et la chitine :

Le chitosane, l'un des polymères multifonctionnels naturels, qui est considéré comme un composé utile dans la technologie médicale et pharmaceutique en raison de ses propriétés biologiques uniques et polyvalentes. [25]

C'est un polysaccharide qui a de fortes similarités avec la cellulose. Il est obtenu par N-désacétylation partielle de la molécule de chitine. Extraite des carapaces de crustacés tels que les crabes, les crevettes et d'os du sepia. [26]

La chitine, est largement répandue dans la nature. Dans le règne animal, la chitine est un élément structurel important des téguments de certains invertébrés ; elle n'existe que sous la forme de complexes avec des protéines et des minéraux. La production de chitine permet de valoriser les déchets de l'industrie agroalimentaire en évitant qu'ils soient rejetés à la mer, ce qui engendre des problèmes de pollution car les carcasses des arthropodes (crustacés, céphalopodes...) sont très résistantes à la biodégradation. [26] La différence entre la structure chimique de la chitine et le chitosane est illustrée dans la figure II.6

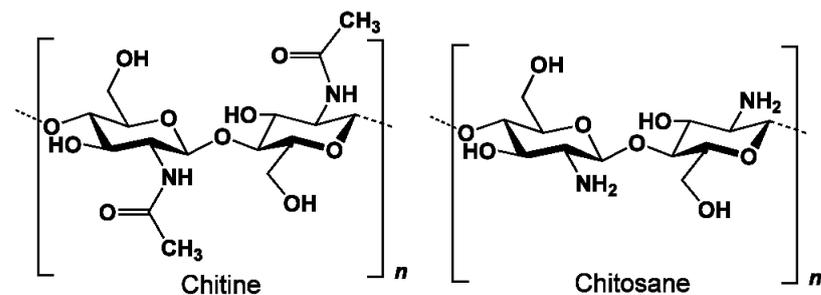


Figure II.6 structure chimique de chitine et chitosane . [26]

Leur structure chimique résulte de l'enchaînement d'unités de répétition N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en β, (1→4). (figure.II.7).

Le degré de désacétylation (DDA) va alors définir la proportion de groupements amines devant les groupements acétyles qui constituent les chaînes du chitosane.

Bien que le terme « chitosane » soit habituellement limité à toute chitine suffisamment N-déacétylée pour être soluble en milieu acide dilué, il n'existe pas de nomenclature officielle proposant la limite précise entre les deux termes. En conséquence, nous appellerons chitosane tout échantillon avec des degrés d'acétylation résiduels (DA) $\leq 30\%$. [27]

II.2.2.2 Extraction du chitosane :

Afin de préparer la chitine à partir des carapaces de crustacés de nombreuses méthodes ont été développées. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (déméralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment). [28]

II.2.2.3 Propriétés physicochimique :

II.2.2.3.1. Solubilité :

Le chitosane est soluble dans la plupart des solutions organiques acides (à l'exception remarquable de l'acide sulfurique) et notamment dans l'acide acétique dilué grâce à la protonation de ses fonctions amines, il est en effet insoluble dans l'eau et les solutions alcalines concentrés ou dilué. La valeur du DDA influence fortement la solubilité du chitosane. En général, on utilise du chitosane avec un DDA supérieur à 70 % pour augmenter sa solubilité. Celle-ci dépend également de la force ionique, du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire. Le chitosane se décompose par chauffage à partir de 185 °C sans fondre. [29]

II.2.2.3.2. Gélification :

Les premiers gels physiques dérivés de chitosane obtenus par acylation et sans agent réticulant ont été décrits par Hirano et al. [51] Ensuite, Moore et Roberts [52], étudient aussi l'acylation des fonctions amines du chitosane avec des anhydrides en milieu hydroalcoolique. Ces gels sont en fait des gels de chitine car la gélification s'effectue lorsque la réaction a atteint un degré de N-acylation critique d'environ 75- 80 %, il y a alors formation de liaisons hydrophobes et hydrogène utilisant notamment les séquences N-acylées. Dans ces conditions expérimentales, il a été démontré que le degré d'acétylation minimum pour la gélification est autour de 80%, indépendamment du degré d'acétylation initial du chitosane utilisé. [11]

II.1.3.2 Les systèmes de gélification in situ à base de chitosane :

Les hydrogels à base de chitosane se sont révélés très efficaces pour la délivrance de molécules biologiquement actives comme l'insuline, les facteurs de croissance et pour l'organisation des cellules et des tissus, grâce à la possibilité de créer un système multicouche. Il existe également de nombreux travaux sur les hydrogels in situ à base de chitosane qui peuvent être administrés par plusieurs méthodes, tel que l'administration oculaire ou nasale tout en protégeant les médicaments ou les cellules de l'environnement hostile. [30]

Selon le mécanisme de formation de gel, les systèmes de gélification in situ à base de chitosane peuvent être classés en deux catégories :

-système de réticulation covalent in situ.

-système séparation de phase in situ.

La séparation de phase in situ est une stratégie largement utilisée pour former un système de gélification in situ, qui peut être induite en changeant la solubilité du polymère par rapport à des changements de température, de pH ou par élimination de solvant. C'est une approche physique de réticulation pour former des hydrogels de chitosane en employant des forces de

liaisons secondaires telles que (la liaison d'hydrogène, l'interaction électrostatique, ou l'association hydrophobe). [31]

II.2.2.3.3. Comportement rhéologique :

L'étude a montré que les mesures de la rhéologie dynamique des solutions de chitosane dans l'acide acétique a révélé un comportement pseudoplastique non-newtonien du chitosane.

Le comportement de cisaillement était remarquable à des températures comprises entre 20 et 50 ° C. Les solutions de chitosane dans l'acide acétique se sont avérées obéir à l'équation d'ARRHENIUS. [32]

II.2.2.4 Utilisation dans le domaine pharmaceutique (anti-obésité) :

Le chitosane a fait l'objet d'études permanentes pour une utilisation dans un nombre de formulations pharmaceutiques tel que :

- Agent hémostatique ;
- Bactériostatique ;
- Spermicide ;
- amélioration du transit intestinal ;
- Membranes pour dialyse ;
- Réduction du taux de cholestérol ;
- Peaux artificielles ;
- Pansements ;

- Accélération de la cicatrisation des blessures ;
- Fils de suture chirurgicaux bio-résorbables.
- véhicule de médicaments (Capsules pour le relargage des médicaments). [29]

II.2.2.4.1 Application anti-obésité :

Le chitosane est utilisé dans les produits diététiques depuis longtemps au Japon car il est connu pour sa remarquable capacité de développer un gel protecteur dans l'estomac, en tant que complément alimentaire et pour ses présumées vertus amaigrissantes. [29]

Ces propriétés diététiques sont souvent évoquées mais, pour l'instant, non prouvées. Il pourrait également protéger contre le cancer du côlon. Il semble que le chitosane limite l'absorption de graisses mais ne fait pas perdre de poids, il en limiterait simplement l'apport. En conclusion, l'effet amaigrissant du chitosane demeure controversé et semble être lié aux conditions expérimentales (type de chitosane, habitudes alimentaires). [29]

II.1.4 Historique sur les travaux à base d'alginate-chitosane :

La combinaison de l'alginate de sodium et du chitosan a fait l'objet de plusieurs études et de nombreux systèmes ont été élaborés, en 1996 des billes à base de Chitosane/Alginate de calcium pour l'administration orale d'insuline. [33] Des travaux ont été faits sur des billes d'alginate traitées au chitosane utilisées pour un système à libération contrôlée. [34] aussi des hydrogels utilisés comme supports de culture cellulaire et matrices pour la libération contrôlée à base d'alginate et de chitosane, [35] et des systèmes multicouches pour contrôler la libération des médicaments ophtalmiques [36] et pour l'élaboration et caractérisation de fibres mixtes[37]

Récemment, des systèmes basés sur la gélification in situ alginate-chitosane sans source de Calcium avaient été élaborés. El Maghraby et al. [38], [39] ont utilisé cette combinaison pour contrôler la libération prolongée de Dextromethorphan et de Nateglinide.

Fondamentalement, le système à pH neutre est sous la forme d'une suspension de faible viscosité qui a la capacité de former un gel au pH gastrique. Belhadji et al ont utilisé ce système de gélification in-situ pour la libération prolongée de la ranitidine [40].

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODE

Dans ce chapitre nous présentons, en premier lieu, les différentes étapes d'extraction du chitosane ainsi que les méthodes de caractérisation physicochimiques du biopolymère. En second lieu, nous décrirons le procédé de formulation adopté et les matières premières utilisées pour la préparation des suspensions, ayant comme principales propriétés, la gélification in situ. Les différentes méthodes d'analyses effectuées sur les suspensions formulées seront décrites. Et enfin, nous exposerons, par ordre chronologique, les essais préliminaires qui ont été réalisés et qui ont servi comme plateforme, pour mener à bien la méthodologie expérimentale de la formulation.

III.1. MATERIEL :

III.1.1. Appareillages :

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

- Un agitateur magnétique muni d'un thermocouple (VELP SCIENTIFICA).
- pH mètre (MARTINI INSTRUMENTS M : 151, pH/ORP).
- Une étuve (MEMMERT).
- Un Rhéomètre (ANTON PAAR Modular compact rheometer MCR 302).
- Infrarouge à transformée de Fourier.
- Granulateur par voie humide échelle laboratoire (montage).
- Mélangeur sec échelle laboratoire (montage).

III.1.2. Réactifs et matières premières :

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

- Solution de HCl : 1,5M utilisée pour la déminéralisation de la carapace de crevette.
- Solution de NaOH : 1,25M, 50% utilisée pour la déprotéinisation de la carapace de crevette ainsi que pour la désacétylation de la chitine pour l'extraction du chitosane.
- Acétone : dont le rapport 1/10, utilisé pour l'élimination des résidus lipidiques.
- H₂O₂ : 0.3% dont un rapport 1/10, utilisé principalement dans le blanchiment de la chitine.
- Acide acétique : 1% pour la solubilité de chitosane.

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

- Alginate de sodium
- Chitosane (extrait de sépia et crevette)
- Carboxyméthylcellulose de Sodium
- Hydroxypropylméthylcellulose

III.2 EXTRACTION DE LA CHITINE :

Afin de préparer la chitine à partir des carapaces de crustacés de nombreuses méthodes ont été développées. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (déminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment).

III.2.1 Les étapes d'extraction de la chitine :

Le figure III.1 ci-dessous représente un schéma qui résumant toutes les étapes de l'extraction :

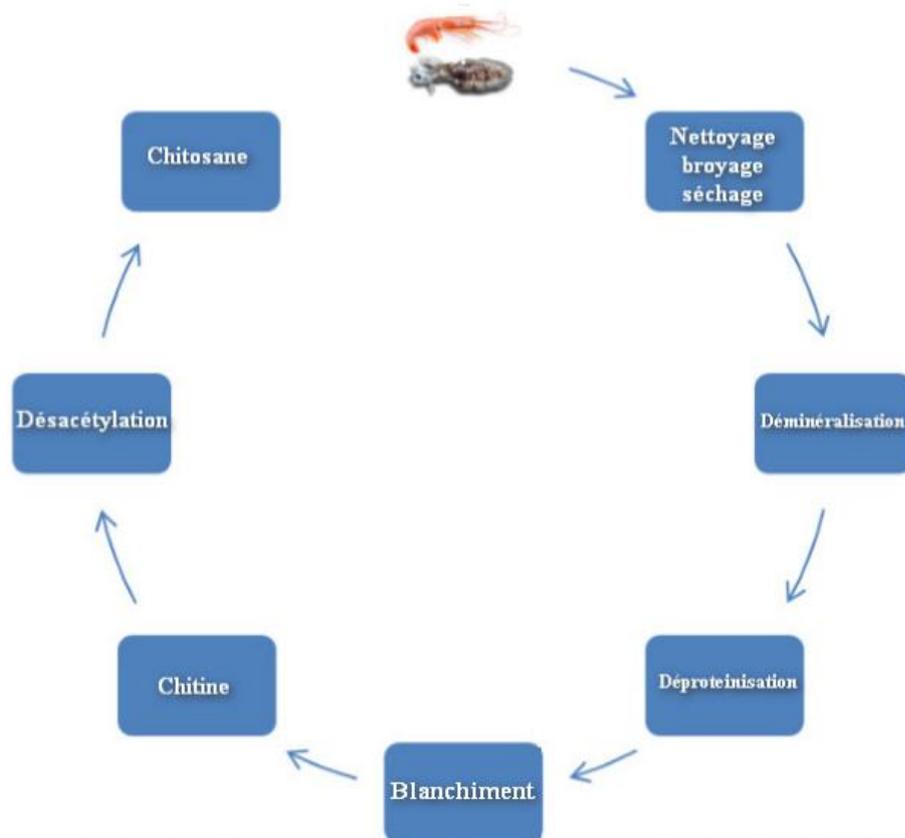


Figure III.1 : **Procédé d'extraction de la chitine et du chitosane**

a) La déminéralisation :

Elle est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique, les conditions les plus optimales sont (concentration de 1 à 10 mol/L, temps de 1 à 48 heures, température ambiante) lors de la réaction il y a une formation de mousse due au dégagement de CO₂ [28]



b) La déprotéinisation :

La chitine à l'état naturelle se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃ ou Na₃PO₄, de concentrations de 0,1 à 5 mol/L.

La solution d'hydroxyde de sodium (~10 % massique) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines, les conditions les plus optimales sont (concentration de 1 à 10 mol/L, temps de 0,5 à 72 heures, températures (65-100°C)). [28]

c) Le blanchiment :

La chitine obtenue à partir des ressources crustacées doit être décolorée après les traitements acide et alcalin. Le blanchiment est souvent réalisé par un traitement avec des agents oxydants (KMnO₄, SO₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₄ ou H₂O₂). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes.

Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane. On peut fabriquer la chitine quasiment blanche par l'extraction avec l'acétone et le séchage pendant 2 heures à la température ambiante, suivi par le blanchiment en utilisant une solution 0,315% d'hypochlorite de sodium pendant 5 minutes avec un rapport du solide au solvant (1 :10, w/v).[28]

d) La désacétylation :

En partant de la chitine, on peut également moduler à souhait le degré d'acétylation et la masse molaire du polymère, pour obtenir des chitosanes variés grâce à des hydrolyses basiques contrôlées. En jouant sur la durée du traitement alcalin et sur l'élévation de température, il est donc possible d'obtenir différents chitosanes à partir d'une même chitine, la désacétylation totale nécessite plusieurs étapes. L'échantillon étant soit lavé, soit dissous et reprecipité entre deux cycles. [28]

La désacétylation est généralement effectuée par le traitement avec la soude ou la Potasse concentrée (40-50 %) à une température ≥ 100 °C, pendant au moins 30 minutes pour enlever certains ou tous les groupements acétyle de la chitine. [28]

Il y a plusieurs facteurs essentiels qui affectent le rendement de désacétylation comme la température, la durée, la concentration d'alcalin, les traitements préalables pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, densité de la chitine et la taille des particules. Compte tenu de ces paramètres, l'objectif idéal de désacétylation est de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acides acétique, lactique, citrique,...). [41]

III.3 ESSAIS PRELIMINAIRES :

En premier temps, nous procédons à l'évaluation des propriétés gélifiantes de Chitosane extrait de deux sources qui sont : les carapaces de crevettes et les os de Sépia. Le Chitosane donnant un gel présentant la meilleure rigidité sera, par conséquent, utilisé dans la formule.

Les deux essais pour former des gels avec des quantités empiriques sont notés :

Essai 1 : alginate + chitosane extrait de crevette.

Essai 2 : alginate + chitosane extrait de sépia.

La mesure des deux modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la déformation va permettre de conclure sur le chitosane utilisé dans la formule.

III.4 CARACTERISATION DES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES DU CHITOSANE :

III.4.1 Aspect et indentification :

➤ Aspect :

Le chitosane se présente sous forme de poudre inodore, blanche ou crémeuse ou flocons. La formation de fibres est assez commune pendant la précipitation et le chitosane peut ressembler à du coton. [21]

➤ Indentification :

L'indentification se fait via la comparaison de spectre d'analyse infrarouge transformée de fourier (IRTF) du chitosane extrait avec un spectre IR d'un chitosane de référence, en tenant compte des bandes d'identification (1320 cm^{-1} pour la *N*- acétylglucosamine et 1420 cm^{-1} , qui convient à la comparaison des deux monomères) [42]

III.4.2 Teneur en eau :

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

$$\% \text{Humidité} = \frac{\text{poids de l'échantillon humide (g)} - \text{poids de l'échantillon sec (g)}}{\text{poids de l'échantillon humide (g)}} \times 100 \quad (1)$$

III.4.3 Test de solubilité :

Le chitosane obtenu est testé pour sa solubilité dans les milieux acide, basique et neutre. Selon NGAH ET FATINTHAN [53], le test de solubilité est réalisé dans 5 % (v / v) de l'acide acétique, 0.5 de NaOH et de l'eau distillée. On pèse environ 0,5 g du produit, on y ajoute 50ml de ses trois solutions séparément, et on les laisse sous agitation pendant 24 heures. [43]

III.4.4 Détermination du pKa et de degré de désacétylation :

Il s'agit du titrage acido-basique comme décrit par TOLIMATE [54]. La méthode consiste à dissoudre 0.2 g de chitosane dans 20 ml d'HCl (0.1M) et 25 ml d'eau distillée sous agitation pendant 30 min, puis, d'ajouter encore 25 ml d'eau distillée et sous agitation pendant 30 min jusqu'à dissolution totale du chitosane. On Titre avec une solution NaOH (0.1M) tout en introduisant la sonde du pH mètre dans la solution pour tracer la courbe $pH = f(V \text{ NaOH})$.

Le pKa est déterminé à partir de la courbe de dosage qui est égal au pH associé au point de demi-neutralisation. [44] On détermine le DD du chitosane par la méthode de titrage pH métrie, qui a été calculé à partir de la formule CZECHOWSKA – BISKUP [55] :

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

Avec :

m : masse du chitosane (g).

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

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

0.0042 : Coefficient résultats de la différence entre le poids moléculaire du monomère acétylé et la masse moléculaire désacétylé [44].

III.5 PRE FORMULATION :

On se propose la formulation d'une poudre pour suspension buvable constituée de deux biopolymères qui gélifient une fois dans le milieu gastrique (l'estomac). Il s'agit de la réalisation et de l'étude des paramètres rhéologiques d'un système de gélification in situ, Ce gel doit présenter une rigidité lui conférant une résistance aux pressions mécaniques de l'estomac et stimuler les récepteurs d'étirement gastrique par conséquent réduire la vitesse de vidange gastrique et induire une sensation de plénitude pour le patient.

Nous allons donc abordés, dans cette partie, les différentes étapes de mise en œuvre pour la formulation de la poudre pour suspension.

III.5.1 Description de matières premières utilisées :

Dans le tableau III.1 ci-dessous sont présentées les matières premières utilisées lors de la formulation de la poudre pour suspension :

Tableau III.1 : Description de matières premières utilisées

Constituants	Structure chimique	Aspect	Solubilité	Rôle
Alginate de sodium	$\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$	Poudre brune claire inodore	Soluble lentement dans l'eau	Agent stabilisant Agent gélifiant
Chitosane	$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5$	Poudre brune amorphe	Insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques Soluble dans le milieu acide	Agent de conservation Stabilisateur Antimicrobien Anti tumoraux Anticoagulants Bactériostatique

Carboxymethyl cellulose (CMC)	$C_8H_{15}NaO_8$	Poudre blanche jaunâtre hygroscopique	librement soluble dans l'eau	Agent désintégrant
-------------------------------	------------------	---------------------------------------	------------------------------	--------------------

III.6 FORMULATION:

La formulation recouvre l'ensemble des savoir-faire nécessaires au développement et à la fabrication d'un médicament caractérisé par sa valeur d'usage et répondant à des caractéristiques préétablies. [45] Elle permet également de fixer la composition qualitative et quantitative, ainsi que de définir le mode de fabrication et de choisir le conditionnement. [46]. Pour arriver à une formulation optimale de notre poudre pour suspension buvable, nous faisons appel au plan d'expérience via le logiciel (Modde 6.0) qui va nous permettre :

- d'arriver rapidement aux meilleurs résultats possibles,
- éviter de réaliser des expériences inutiles,
- obtenir la meilleure précision possible sur les résultats,
- permettre d'avancer à coup sûr,
- établir la modélisation du phénomène étudié,
- découvrir la solution optimale.

III.6.1 Méthode des plans d'expériences :

L'objectif du travail étant de connaître avec précision les effets des trois facteurs sur les propriétés physico-chimiques et rhéologiques notamment la viscosité des suspensions ainsi que la rigidité et l'homogénéité du gel formé in-situ.

On se propose d'approcher cet objectif par la méthode des plans d'expérience avec une stratégie de Modélisation en Surface de Réponse, RSM. On opte pour un plan factoriel fractionnaire de type box Benhken, sachant qu'il satisfait aux critères sur le plan statistique. Ce plan propose 15 essais dont trois de répétabilité qui se situent au centre de gravité. Le

modèle polynomial correspondant est de type quadratique avec interaction d'ordre 1, d'écriture :

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 \quad (3)$$

Y_i : représente la i ème réponse.

a_i : représente le i ème coefficient du modèle.

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

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

X_2 : est associée à la concentration en chitosane.

X_3 : est associée à la concentration en CMC

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

Tableau III.2 : Matrice d'expériences.

Exp No	ALGINATE	CHITOSANE	CMC
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

III.6.1.3 Méthode de préparation de la suspension :

Il s'agit de préparer un mélange physique des deux biopolymères (alginate+chitosane) et ajouter la carboxyméthylcellulose sodique afin d'homogénéiser tous les constituants de la poudre, la poudre est ensuite dispersée dans 150 mL d'eau et le temps de dispersion est apprécié pour chaque essai.

III.6.2 CARACTERISATION DE LA SUSPENSION ET DU GEL :

III.6.2.1 Caractérisation physico-chimique :

➤ Temps de dispersion de la poudre :

C'est le temps nécessaire pour l'hydrolyse de la poudre, pour avoir une dispersion homogène et buvable pour le patient.

On détermine le temps de dispersion en dispersant une quantité de poudre dans 150mL d'eau avec une agitation modérée jusqu'à avoir une dispersion homogène

➤ Test de gélification et volume exclus du gel :

Ce test a pour but de mettre en évidence la formation du gel dans un milieu gastrique similaire. La suspension est introduite dans un bécher de (250mL de 6-7cm de diamètre) contenant 150ml de fluide gastrique simulé (SGF) à pH de 1.2 en maintenant la Température à 37 °C. [42]

Les gels formés sont séparés du liquide restant par des compresses stériles et le volume expulsé par celui-ci est déterminé comme étant la différence entre le volume totale avant gélification et le volume occupé par le gel.

➤ **L'évolution de pH en milieu gastrique :**

Pour évaluer l'évolution de pH en milieu gastrique en présence du gel et voir son effet sur le milieu, on doit faire une étude cinétique de pH de milieu gastrique après l'incorporation de la suspension et pendant un temps de séjour de 40mn.

On plonge la sonde de pH dans le SGF dès l'incorporation de notre suspension et on relève l'évolution de pH en fonction du temps.

III.6.2.2 Caractérisation rhéologique :

III.6.2.2.1 Caractérisation rhéologique de la suspension :

Toutes les analyses rhéologiques ont été effectuées sur un rhéomètre à contrainte et déformation imposées de marque MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Germany). La géométrie utilisée est de type cône-plan avec $\phi = 60 \text{ mm}$ et une conicité de 01 degré. Les résultats expérimentaux sont traités par un logiciel Rheoplus US200

Dans le cas des suspensions nous nous sommes limités à l'analyse des courbes d'écoulement des suspensions en régime continu. Ce type d'analyse permet de faire ressortir des paramètres caractéristiques qui sont susceptibles de refléter l'état mécanique des suspensions sous cisaillement variable et cela de l'état de repos auquel cas les suspensions sont dans un état optimal de structuration à l'état extrême de sollicitation auquel cas ces dispersions sont complètement déstructurées.

Le protocole opératoire adopté est le suivant : on met quelques ml de la suspension dans le système de mesure cône-plan du rhéomètre à 20°C, on impose alors une rampe croissante en vitesse de cisaillement de $0,001\text{s}^{-1}$ à 1000s^{-1} .

Les courbes d'écoulements pour les suspensions sont données en termes de viscosité de cisaillement apparente, η_{app} (Pa. s) en fonction de la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ (s^{-1})

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

III.6.2.2.2 Caractérisation rhéologique du gel :

La rigidité du gel formé et sa résistance mécanique dans le milieu gastrique est évaluée, par la détermination de ses propriétés viscoélastiques qui se traduisent par les module élastique (ou de conservation) G' et le module visqueux (de perte) G'' . En appliquant une rampe de déformation oscillatoire qui imite le mouvement vibratoire et les contractions de l'estomac. Le protocole opératoire adopté pour les gels qui ont été formés in-situ, consiste à travailler en mode d'oscillation, en régime dynamique, avec une fréquence de 1Hz. Ce mode imite le mouvement péristaltique de contraction de l'estomac. On impose alors une déformation de 0,01% à 1000% en rampe logarithmique et on mesure les deux modules de conservation, G' et de perte G'' . Ainsi le point gel qui représente le point d'intersection des deux courbes G' et G'' peut être identifié. Ce point correspond à la fin du régime viscoélastique linéaire et le début du comportement plastique irréversible. La valeur de la contrainte, en ce point, représente alors la contrainte seuil. La température est maintenue à 37°C conditions de température dans l'estomac.

Les paramètres rhéologiques : module élastique G' , module de perte G'' et la contrainte τ au point de gel, ont été retenus comme caractéristiques de la rigidité du gel formé.

III.6.3 LA GRANULATION DE LA POUDRE :

Le procédé de granulation permet d'assembler de fines particules solides, dispersées, afin de former des particules de plus grosses tailles, appelées granulés. Cette opération permet entre autres de faciliter la manutention, une augmentation de porosité qui améliore la dispersion de notre poudre, d'obtenir une meilleure homogénéité, également une meilleure coulabilité. Dans notre cas on a opté pour la granulation humide, une des deux méthodes existantes,

"grâce à la bonne résistance de notre mélange de poudre à la chaleur (au séchage), et à la non-solubilité de nos composants dans l'alcool (solvant de la solution liante) ". [47]

III.6.3.1 Principe de la granulation par voie humide :

Afin d'améliorer le temps de dispersion de la poudre et augmenter la stabilité du mélange physique avec une prévention du phénomène de ségrégation, une étape de granulation est nécessaire sur l'optimum.

Un liquide, très souvent une solution aqueuse d'un liant adéquat (hydroxypropylméthylcellulose (HPMC), polyvinylpyrrolidone (PVP)), est utilisée pour assurer les liens préliminaires entre les particules et aucune compression n'est appliquée. [47] La figure III.2 montre les étapes de la granulation humide.

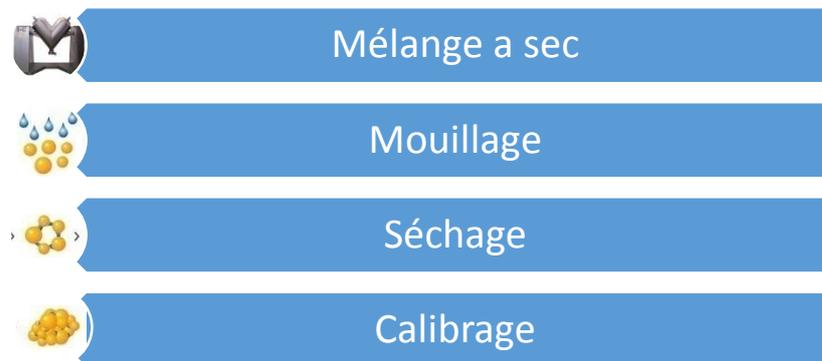


Figure III.2 : Procédé de la granulation humide.

Le mélange physique est réalisé dans un mélangeur cubique à chute libre qui est un montage fait sur mesure et qui est réalisé par nous et pour les besoins de notre recherche (figure III.3) destiné à l'échelle laboratoire, le temps de mélange nécessaire à l'homogénéisation de la poudre a été optimisé pour 10 mn.

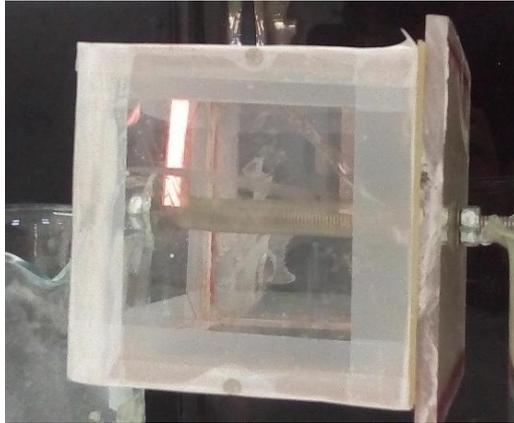


Figure III.3 : Mélangeur cubique à chute libre.

L'étape de mouillage est ensuite réalisée dans un granulateur à l'échelle laboratoire qui a une capacité de 100g comme le montre la figure III.4 ci-dessous.



Figure III.3 montage d'un granulateur a voie humide

III.6.3.2 Les paramètres à optimiser pour une bonne granulation :

- Le volume de la solution liante :
Le volume nécessaire à la granulation est déterminé en variant la masse de la poudre et de déterminer un rapport entre chaque masse et volume consommé.

$$\text{Ratio} = \frac{V (\text{solution liante})}{m (\text{du mélange de poudre})} \quad (4)$$

- L'optimisation de la concentration du liant : en variant la concentration dans la marge d'utilisation de notre liant.
- Le temps et la température du séchage : en fonction des températures de dégradation des composants du mélange de poudre, et la température d'évaporation de la solution de mouillage.

Les temps de dispersion avant et après granulation sont comparés.

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1 RENDEMENT DE L'EXTRACTION :

IV.1.1. Rendement de la chitine :

Après la réalisation des trois étapes principales de l'extraction : la déminéralisation, la déprotéinisation, et le blanchiment pour l'obtention de la chitine, le rendement massique a été trouvé égal à (38,64% pour la crevette) et (22,33% pour la sepie)

Le rendement des étapes de de déprotéinisation et déminéralisation pour les deux sources est illustré dans la figure IV.1 ci-dessous :



Figure IV.1 : schéma descriptif du rendement de l'extraction de chitine (sépie et crevette).

IV.1.2. Rendement du chitosane « désacétylation » :

Le chitosane a été obtenu suite à la désacétylation de la chitine, par une solution NaOH (40%). La substance se présente sous forme d'une poudre de couleur légèrement brune claire et blanche pour le sépia, et le rendement massique a été trouvé égal à (62,54% pour la crevette) et (55,9% pour la sépie). La figure IV.2 ci-dessous illustre le rendement de la désacétylation :

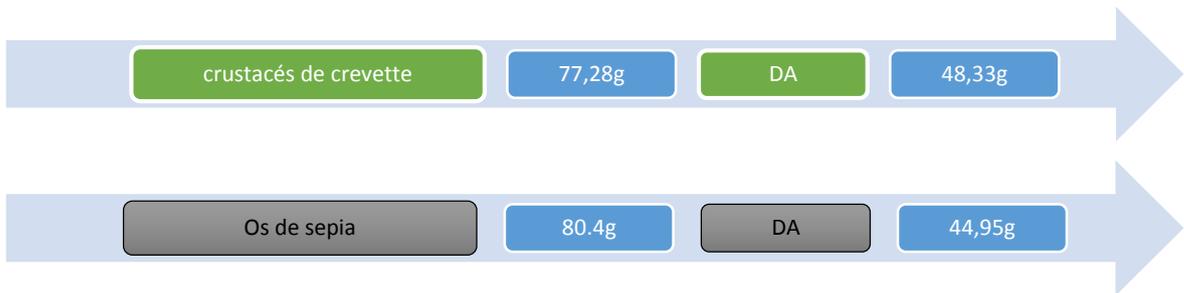


Figure IV.2 : schéma descriptif du rendement de l'extraction de chitosane (sépie et crevette).

IV.2. CARACTERISATION PHYSICO CHIMIQUE DE CHITOSANE :

IV.2.1 Aspect et identification :

La poudre obtenue est de couleur blanche, inodore, rugueuse et assez cohésive. Sur la figure IV.1 est illustré les deux spectres IRTF du chitosane extrait et celui de référence. La majorité des bandes d'absorption ont de maximum d'absorbance dans les mêmes longueurs d'onde des bandes d'identifications 1320 cm^{-1} pour la N- acétylglucosamine et 1420 cm^{-1} , qui convient à la comparaison des deux monomères.

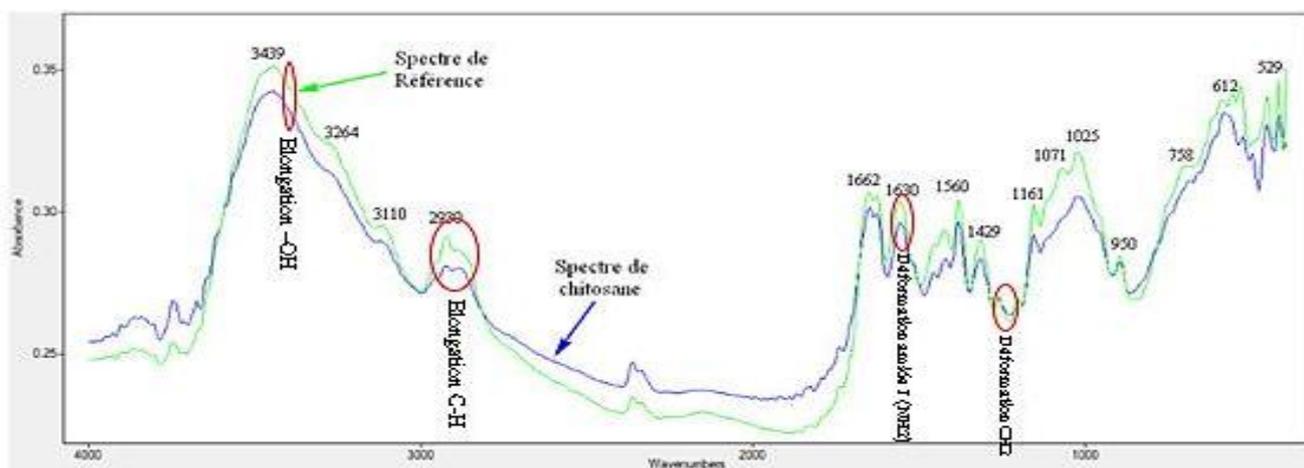


Figure IV.3: Comparaison entre deux spectres de bandes d'absorbances de chitosane extrait avec chitosane de référence.[56]

D'après le graphe on peut noter qu'il y a une présence de pics d'absorption, dans les longueurs d'ondes correspondant aux bandes d'identification telle que (1320 cm^{-1} pour la *N*-acétylglucosamine et la 1420 cm^{-1} , qui convient à la comparaison des deux monomères).

IV.2.2 Teneur en eau :

Le résultat obtenu de la teneur en eau du chitosane se résume dans le tableau IV.1 suivant :

Tableau IV.1 : Teneur en eau du chitosane.

Essai 1	3,47%
Essai 2	6,76%
Essai 3	5,3%
Moyenne	5,18%

IV.2.3. Détermination de la solubilité :

L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la substance dans le milieu acide qui conditionne la gélification in-situ de la suspension et assurer sa non solubilité dans le milieu neutre afin d'éviter toute interaction, avant administration. Les solubilités du chitosane commercial et le chitosane préparé au laboratoire sont présentées sur le tableau IV.2.

Tableau IV.2 : Test de solubilité de la chitine désacétylée et du chitosane commercial.

Solution	Chitosane extrait	Chitosane commerciale
----------	-------------------	-----------------------

Acide acétique	Soluble	Soluble
Eau	Insoluble	Insoluble
NaOH	Insoluble	Insoluble

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

IV.2.4 Détermination du pKa et de degré désacétylation :

Les résultats de cette analyse se traduisent par une courbe qui exprime la sensibilité du pH de la solution à la variation du volume du titrant NaOH, figure (IV.4). Ainsi on peut repérer deux zones distinctes sur la courbe. Le pKa est égal au pH qui correspond au point de demi neutralisation .Ceci permet de déterminer graphiquement le pKa à partir du premier point d'inflexion (situé entre V1 et V2). Dans notre cas la valeur du pKa est égale à 6,6 qu'est très proche des valeurs théoriques du pKa du chitosane situées entre 6,3 et 6,7.

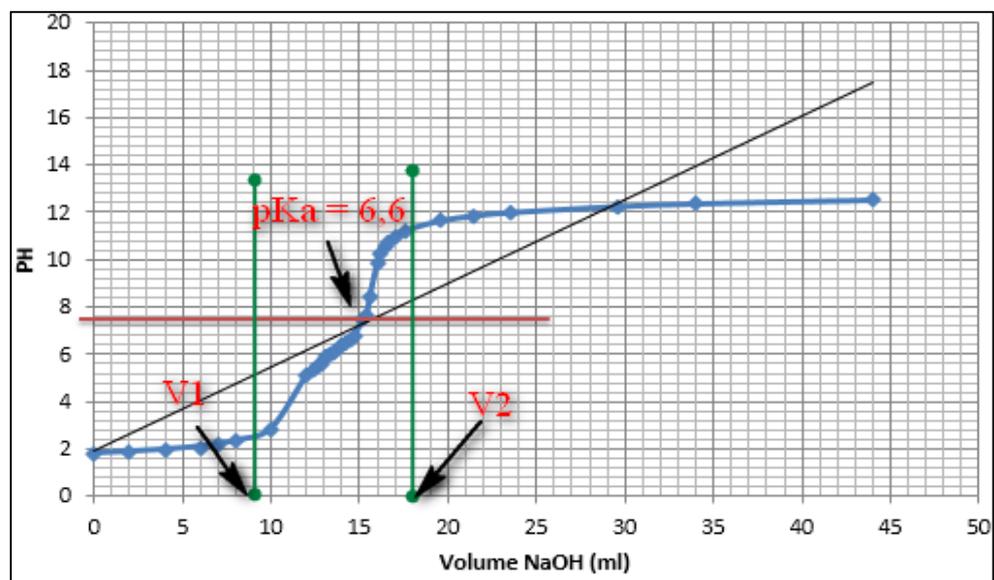


Figure IV.4 : Dosage pH métrique du chitosane.

➤ Mesure de degré de désacétylation :

D'après le graphe de dosage pH métrique du chitosane on a :

V1= 9, V2= 18, m= 0,2 g

$$DDA \% = 2,03 \frac{18-9}{0,2+0,0042(18-9)} = 76,83 \% \quad (2)$$

Cette valeur nous indique qu'il y a 76,83% du chitosane et restant le 23,17% de la chitine, ce résultat est faible comparant au chitosane commerciaux, et sachant que nous appellerons chitosane tout échantillon avec des degrés désacétylation (DDA) $\geq 70\%$.

IV.3 RESULTAT DES ESSAIS PRELIMINAIRES DE LA GELIFICATION :

- **comparaison entre le gel a base du Chitosane extrait de sépia seul et celui à base de l'alginate de sodium seul avec l'essai 2**

Nous avons évalué dans un premier temps le comportement rhéologique de l'alginate de sodium et du chitosane dans le milieu acide, la figure IV.5 montre l'évolution des modules de conservation et de perte notés respectivement G' et G'' en fonction de la déformation :

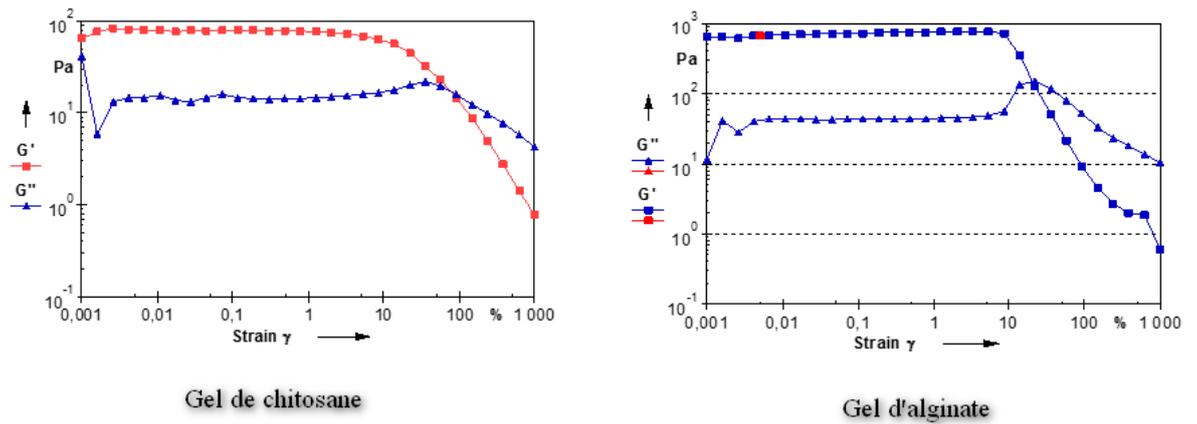


Figure IV.5 : Variation des deux modules, de conservation G' et de perte G'' , du gel en fonction de la déformation, $T=37^\circ$ des gels formés à base de Chitosane seule et d'alginate seul

Dans un pH acide, les groupement carboxylate (COO^-) présents dans les monomères mannuroniques (pKa 3,38) et guluroniques (pKa 3,65) de l'alginate se protone et transforme en acide alginique (COOH) et se présente ainsi sous forme non ionisé, le gel formé par des liaison hydrogène est faible.[48]

- **Comparaison entre le gel du chitosane extrait de crevette avec l'alginate de sodium et le gel du chitosane extrait de sépia avec l'alginate de sodium.**

La figure IV.6 représente une photo des gels formé à base d'alginate et de chitosane extrait de carapaces de crevettes (Essai 1) et d'alginate de sodium + chitosane extrait de sépia (Essai2)



Essai 1



Essai 2

Figure IV.6 : Photos des gels formés avec du chitosane de crevette (Essai1) et de Sépia (Essai 2)

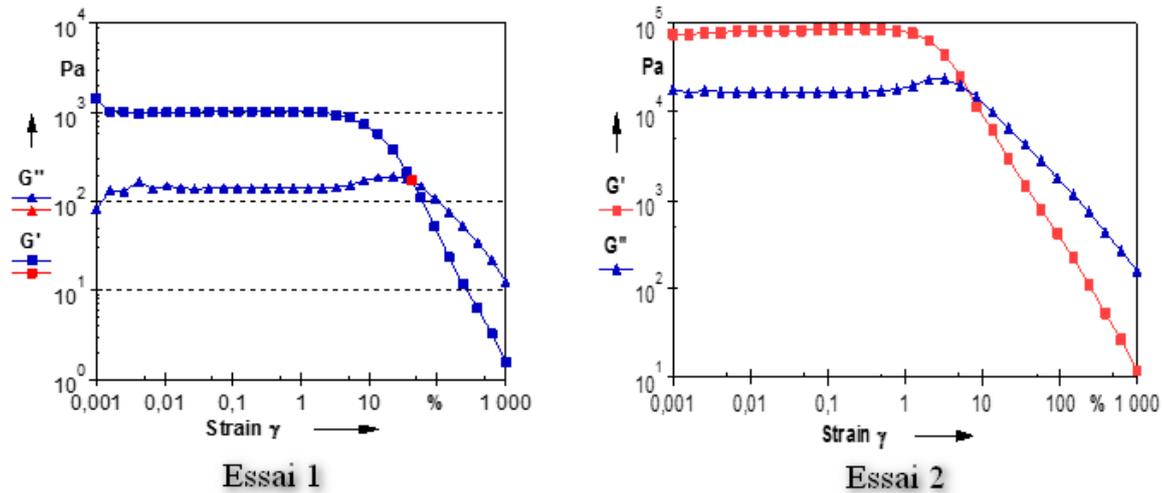


Figure IV.7: Variation des deux modules, de conservation G' et de perte G'' , du gel en fonction de la déformation, $T=37^\circ$ des gels formés à base de Chitosane de crevette (essai 1) et de Sépia (Essai 2)

Tableau IV.3 : valeur des deux modules, de conservation G' et de perte G'' dans la région linéaire (LVE)

Essai 1		Essai 2	
G' (Pa)	G'' (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)
1040	164	8500	1380

Au regard des valeurs des modules de conservation et de perte des deux gels, le chitosane issu de sépia a la capacité de former un gel meilleur que celui issu des crustacés de la crevette

IV.4. LES RESULTATS DE CARACTERISATION :

IV.4.1 Caractérisation physico-chimique :

- Temps de dispersion de la poudre :

Les temps de dispersion de différentes suspensions sont représentés sur le tableau IV.4, et il apparaît clairement que ce temps est sensible aux essais de formulations, auquel cas les trois excipients varient. Un temps de dispersion le plus petit, sera considéré une cible à atteindre pour une meilleure qualité du produit.

Tableau IV.4 Résultats des temps de dispersions

Suspension	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Temps (mn)	4,5	4	2,2	5	3,5	2,25	2,5	1,5	4,49	2,18	0,45	4,4	3	2	4,16

➤ **Les volumes exclus par les gels :**

Les volumes des différents essais sont représentés sur le tableau IV.5. Il semblerait que ce volume est également sensible à la variation de la concentration des trois biopolymères. Nous considérons qu'un volume minimal expulsé du gel, permettrait d'avoir un emprisonnement maximal du volume restant dans le gel et par la même une meilleure homogénéité. Aussi, notre objectif est de minimiser cette caractéristique.

Tableau IV.5 Résultats des volumes exclus par les gels.

Gel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Volume (ml)	130	142	153	110	125	161	90	163	195	118	200	138	163	200	105

➤ **L'évolution de pH en milieu gastrique :**

Après incorporation de la suspension dans le milieu gastrique (SGF), on fait le suivi de l'évolution du pH en fonction du temps pendant 30 min. La figure IV.8 suivante montre la cinétique d'évolution de pH d'un essai, à noter que le même profil a été observé pour l'ensemble des essais sans excéder une valeur de pH égal à 4.

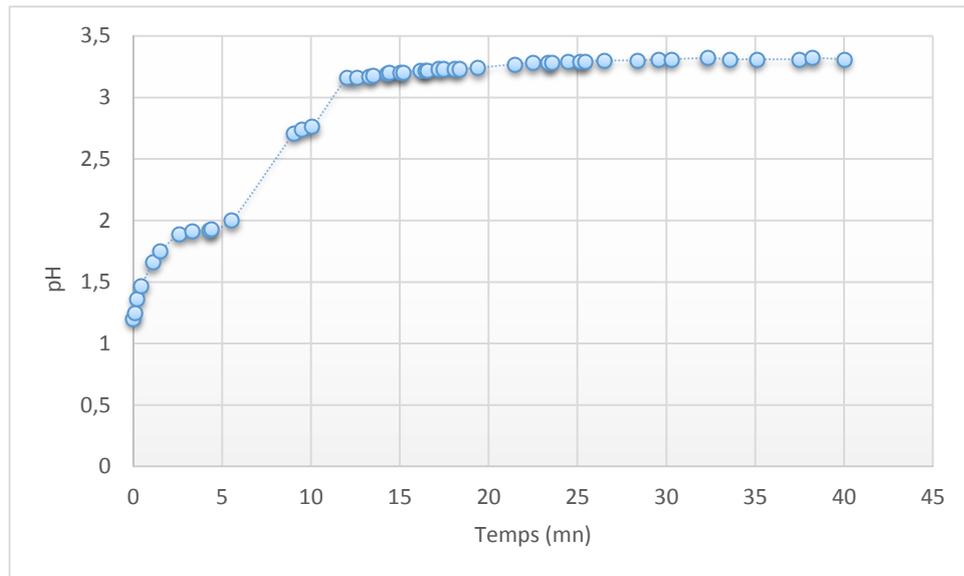


Figure IV.8 : Graphe représentant la cinétique de l'évolution du pH du milieu gastrique après la formation du gel.

On remarque une augmentation du pH du milieu gastrique, ceci est dû à la protonation des molécules de chitosane et d'alginate qui provoque une alcalinisation de la phase continue sans excéder une valeur de pH égal à 4.

Cela nous permet d'expliquer la nature des interactions entre les biopolymères par rapport à l'état d'ionisation dont ils existent.

La formation du gel résulte des interactions non ioniques, auquel cas l'alginate de sodium se trouverait dans sa forme acide (acide alginique) et le chitosane serait complètement solubilisé avec un caractère cationique. Les interactions qui sont mises en jeu sont telles que les liaisons covalentes, les ponts d'hydrogènes et les interactions hydrophobes qui contribuent à la formation d'un réseau tridimensionnel.

IV.4.2. Caractérisation rhéologique :

IV.4.2.1 Comportement rhéologique des suspensions reconstituées :

Comportement rhéologique des suspensions reconstituées :

Nous avons utilisé trois modèles rhéologiques pour ajuster les courbes d'écoulement des suspensions. Le premier modèle utilisé est le modèle de Cross d'écriture :

$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{1 + (K\dot{\gamma})^P}$ (4) qui n'était pas satisfaisant en terme d'explication de la variance, R^2 très faible.

Le deuxième modèle est celui de Carreau-Yassuda d'écriture, $\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{[1 + (K\dot{\gamma})^P]^{\frac{1-n}{P}}}$ (5), avec un coefficient de détermination proche de 1, en revanche, les valeurs des paramètres calculées, issues des méthodes d'optimisation non linéaire, par le logiciel STATISTICA, avaient plus une tendance mathématique que physique avec des valeurs des fois négatives, notamment celles des paramètres K et η_{∞} .

Enfin le modèle de Carreau d'écriture : $\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (K\dot{\gamma})^2)^P}$ (6) qui offre des résultats plus intéressants avec un coefficient de détermination proche de 1, et qui propose des valeurs physiques exploitables pour les deux régions newtoniennes et la zone rhéofluidifiante. Cependant, on remarque que la deuxième région newtonienne n'était pas toujours visible pour les différents essais (Voir annexe B).

La figure IV.9 suivante montre une courbe typique des courbes d'écoulements des suspensions réalisées, exprimant la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement, $\eta_{app} = f(\dot{\gamma})$ ajusté par le modèle structural de Carreau.

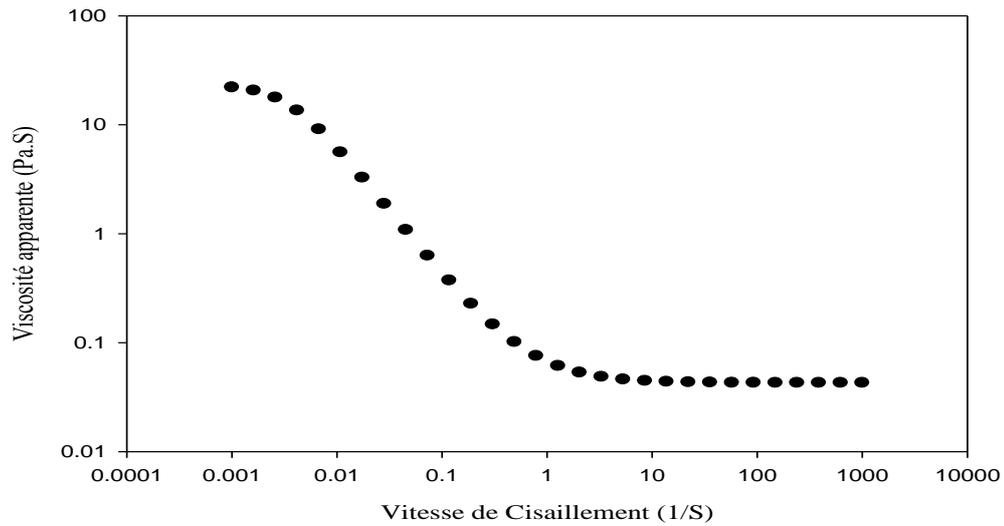


Figure IV.9 : Courbe d'écoulement typique de l'essai E04 ajustée par le modèle de Carreau. T=20°C

Nous avons, donc, opté pour le modèle de carreau dont les paramètres sont regroupés dans le tableau IV.6 suivant :

Tableau IV.6 : Valeurs des quatre paramètres rhéologique du modèle structural de Carreau pour tous les essais réalisés.

Essai N°	η_{∞} (Pa. s)	η_0 (Pa.s)	K	P
1	0.058789	27.12236	795.9099	0.470820
2	0.101570	43.81656	713.1305	0.489193
3	0.043723	14.77805	419.7752	0.515500
4	0.307470	571.3892	2137.055	0.416990
5	0.092014	17.43699	844.1891	0.477281
6	0.042893	23.17323	-286.740	0.604467
7	0.147858	160.1183	699.834	0.461470
8	0.024778	36.65400	849.3299	0.460118
9	0.042677	16.18916	-784.253	0.468428
10	0.047460	42.87824	-622.673	0.547701
11	0.043719	14.78510	-420.283	0.515369
12	0.025803	69.39114	-216.646	0.510521
13	0.195327	8.698384	462.8397	0.461905
14	0.055720	37.36250	297.7140	0.447602
15	0.020704	9.131153	-267.677	0.546798

IV.4.2.2 Comportement viscoélastique des gels :

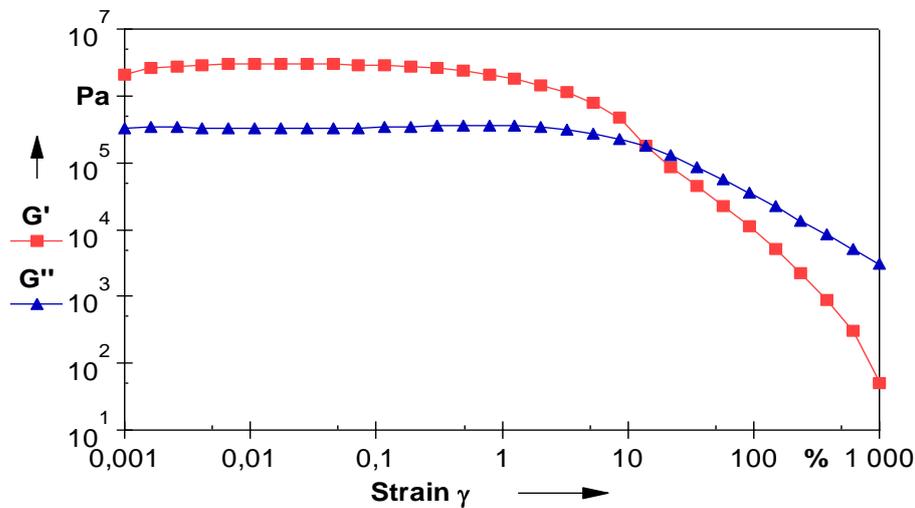


Figure IV.10 : Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' , d'un essai type du plan d'expérience, en fonction de la déformation. $T=37^\circ\text{C}$

La Figure IV.10 illustre l'évolution typique des deux modules G' et G'' , d'un des gels du plan d'expériences, en fonction de la déformation. Dans le domaine du LVE, on remarque que $G' > G''$ avec une valeur de G' de l'ordre de 10^6 . Donc les gels exhibent le comportement d'un solide viscoélastique. Hors LVE, G' commence à diminuer pour intercepter G'' au point de gel ($G' = G''$). Au-delà de ce point, G'' devient supérieur à G' . En conséquence, le comportement viscoélastique cède la place au comportement d'un liquide à déformation plastique qui n'est récupérable que partiellement.

IV.5 MODELISATION EN SURFACE DE REPONSES DES RESULTATS :

La modélisation en surface de réponses consiste en fait à calculer les coefficients des différents polynômes de réponses par la méthode MLR (Régression Multi-Linéaire), en s'appuyant sur les résultats des différentes analyses effectuées sur les suspensions (courbe d'écoulement) et les gels (viscoélasticité et volume expulsé). Sur le Tableau IV.7 sont consignées les valeurs de ces réponses en fonction du numéro des essais de la matrice d'expériences.

Avant d'entreprendre la phase de modélisation, il est intéressant de remarquer que les valeurs associées au paramètre P du paramètre de Carreau, sont quasiment insensibles à la variation des trois facteurs ; elles fluctuent aux alentours de 0,5. Aussi, ce paramètre ne sera pas concerné par le traitement de la modélisation, vu qu'il ne présente pas de tendance apparente.

Tableau IV 7 : : Matrice d'expériences du plan Box behken contenant différents niveaux des facteurs et les valeurs de toutes réponses en fonction du numéro de l'essai.

Exp P No	Facteurs			Paramètres de Carreau caractéristiques du comportement visqueux de la suspension à 20°C				Paramètres du comportement viscoélastique du gel à 37°C		Temps de dispersion de la poudre	Volume occupé par le gel (mL)
	X_1	X_2	X_3	η_∞ (Pa.s)	η_0 Pa.s)	K	P	G'_{LVE} (KPa)	G''_{LVE} (KPa)		Volume exclus du gel (mL)
1	-1	-1	0	0,06	27,12	795,91	0,47	19,8	4,23	4,5	130
2	1	-1	0	0,10	43,82	713,13	0,49	2870	331	4	142
3	-1	1	0	0,04	14,78	419,78	0,52	126	23,1	2,2	153
4	1	1	0	0,31	571,39	137,05	0,42	17,9	5,2	5	110
5	-1	0	-1	0,09	17,44	844,19	0,48	32,7	7,35	3,5	125
6	1	0	-1	0,04	23,17	-286,74	0,60	68,8	13,2	2,25	161
7	-1	0	1	0,15	160,12	699,83	0,46	1,78	0,28	2,5	90
8	1	0	1	0,02	36,65	849,33	0,46	9,56	2,18	1,5	163
9	0	-1	-1	0,04	16,19	-784,25	0,47	1570	170	4,49	195
10	0	1	-1	0,05	42,88	-622,67	0,55	20,1	4,9	2,18	118

11	0	-1	1	0,04	14,79	- 420,28	0,52	8,32	1,7	0,45	200
12	0	1	1	0,03	69,39	- 216,65	0,51	1,12	0,207	4,4	138
13	0	0	0	0,20	8,70	462,84	0,46	38,7	8,7	3	163
14	0	0	0	0,06	37,36	297,71	0,45	0,479	0,226	2	200
15	0	0	0	0,02	9,13	- 267,68	0,55	2550	350	4,16	105

IV.5.1 Matrice de corrélation réponse-réponse :

Afin de ne traiter que les réponses significativement indépendantes, on procède à l'élimination des réponses qui sont dépendantes identifiées à partir de l'évaluation des corrélations potentielles obtenues suite à l'analyse du couplage deux à deux de leur tendance expérimentale. Le tableau IV.4 regroupe les valeurs des corrélations réponse-réponse.

Tableau IV.4 : Matrice de corrélation entre-réponses.

	G'	G''	Temps dispersion de	Volume expulsé par le gel	η_{∞}	η_0	K
G'	1	0,99	0,51	0,008	0,053	-0,11	0,24
G''	0,99	1	0,51	-0,019	-0,03	-0,13	0,21
Temps dispersion de	0,51	0,51	1	0,26	-0,24	-0,30	-0,11
Volume	0,008	-0,019	0,26	1	-0,19	-0,002	0,007
η_{∞}	0,0053	-0,03	-0,24	-0,19	1	0,91	0,74
η_0	-0,11	-0,13	-0,30	-0,0025	0,91	1	0,87
K	0,24	0,21	-0,11	0,0074	0,74	0,87	1

On remarque une forte corrélation entre le module de conservation et celui de perte et entre la viscosité au repos et celle à l'infini ainsi que l'indice K.

Ainsi, les réponses retenues pour la suite de l'investigation seront : G' , η_0 , le volume expulsé par le gel et le temps de dispersion.

La dernière phase d'investigation, avant la sélection des réponses à retenir, est d'évaluer la qualité des modèles de RSM au sens statistique, suite à l'identification de leurs paramètres par la méthode MLR. Cette qualité est conditionnée par l'évaluation de quatre paramètres, à savoir le coefficient de détermination (R^2) qui mesure le pourcentage de la variation de la réponse expliquée par le modèle, le coefficient de prédiction (Q^2) qui mesure le pourcentage de la puissance prédictive du modèle (lorsque $Q^2 \geq 0.7$, le modèle aurait une bonne capacité de prédiction et les erreurs de prédiction seront faibles). Le troisième paramètre est caractéristique de la validité du modèle MLR (Model Validity) ; lorsque sa valeur est supérieure à 25%, l'erreur du modèle est dans la même plage que l'erreur pure et donc le modèle est intéressant est exploitable. Le dernier paramètre (Reproductibility) mesure la variation de la réponse dans les mêmes conditions (erreur pure) par rapport à la variation totale de la réponse.

La figure IV.11 suivant illustre l'évaluation de ces 4 paramètres par rapport aux réponses retenues il apparait clairement que ces derniers sont satisfaisants et permettent une exploitation crédible de résultats.

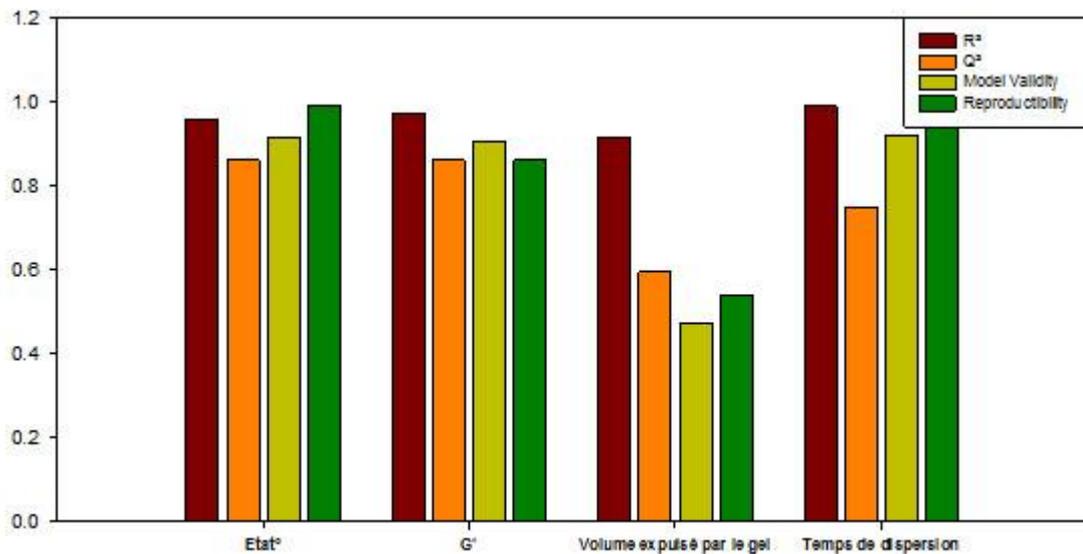


Figure IV.11 : Histogramme illustrant les valeurs des quatre indicateurs de la qualité au sens statistique des quatre modèles RSM.

Pour bien illustrer la contribution de chaque facteur par son degré d'effet, nous représentons le graphique ci-dessous, figure IV.12 représentant une vue globale sur les effets linéaires, non linéaires et celui des interactions des facteurs :

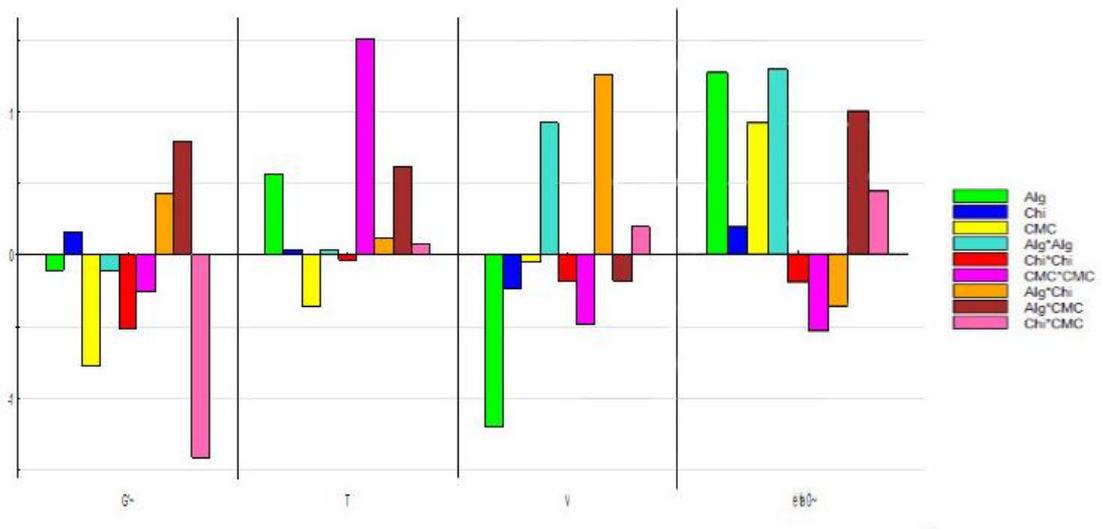


Figure IV.12 : Représentation globale de la contribution de chaque terme des modèles RSM pour chaque réponse

Il apparaît ainsi :

Pour la η_0 :

L'effet propre de l'alginate de Na et l'interaction entre celle-ci et la CMC conditionne les viscosités les plus élevés, le chitosane dans ce cas n'a aucun effet vu qu'il est insoluble et se présente sous forme de particules insolubles.

Pour G' :

On cherche à avoir un gel présentant une bonne rigidité afin de résister aux contraintes présentes dans le milieu gastrique sans pour autant expulser une quantité importante du milieu liquide SGF. On remarque que les effets propres du chitosane et d'alginate de Na sont insignifiants. La CMC de Na a un effet plutôt négatif ce qui est plausible car ce biopolymère cellulosique ne forme pas de gel mais juste produit des liquides plus visqueux avec

l'accroissement de la concentration. D'ailleurs, cet excipient a été introduit dans cette formulation pour ses caractéristiques dispersantes de la suspension.

Pour ce qui des interactions, celle qui nous semble la plus intéressante, d'ordre 01, est entre le chitosane et l'alginate de sodium. Elle est positive et semble être responsable de la formation du gel in-situ. Ceci peut être dû à la formation de deux réseaux interpénétrés où l'alginate de sodium se transforme en acide alginique dans le milieu acide, et ayant le poids moléculaire le plus grand ($1.18 \cdot 10^6 \text{ g/mole}$), constitue le réseau principal. A l'inverse, l'interaction CMC-chitosane, est négative et paraît être relativement puissante. Ceci peut laisser penser, par la présence des groupements cationiques du chitosane et des groupements anioniques du CMC, la formation de complexes compactes ou de coagulât qui ne contribuent pas à la formation du gel mais qui puisent dans la source des contre-ions des groupements cationiques des macromolécules du chitosane. La troisième interaction entre l'alginate et la CMC est positive et est aussi importante dans la formation du gel. Ceci est probablement dû à l'emprisonnement du liquide très visqueux de la CMC dans les mailles du réseau formé par les macromolécules de l'acide alginique ce qui va accroître la rigidité du gel.

Pour le temps de dispersion :

Il apparaît clairement que la CMC possède un effet positif tandis que son terme quadratique impose un effet non monotone. En revanche, l'alginate de Na influence négativement sur la dispersion, ce qui est très plausible, vue sa solubilité dans le milieu aqueux, lors de constitution de la suspension et donc va rendre la dispersion plus difficile.

On trouve aussi que les autres facteurs n'ont aucun effet sur la dispersion de la poudre, ce qui confirme le pouvoir dispersant exclusif de la CMC dans la formule.

Pour le volume du liquide expulsé :

Le volume du liquide expulsé est d'importance primordial, car il conditionne l'homogénéité du gel, un volume expulsé important peut traduire deux cas :

- Soit le gel est trop rigide et le système devient compact et donc expulse le liquide, par exsudation. En conséquence, le gel se présenterait sous forme d'entités non homogènes très consistantes qui probablement ne satisferait pas l'effet de satiété espéré, mais pourrait générer des problèmes de douleur ou de mal-confort au niveau de l'estomac.
- Le deuxième cas, c'est lorsque le gel est faible et donc n'a pas la capacité d'emprisonner un maximum de volume du liquide gastrique. En conséquent peut se séparer facilement de son liquide et être vidangé rapidement de l'estomac pour passer dans les intestins.

Ici c'est l'alginate qui a un effet propre positif et le plus important, son terme quadratique explique son effet non monotone. Son interaction avec le chitosane agit négativement sur l'homogénéité du gel formé, étant donné l'augmentation du volume du liquide expulsé. Ceci montre qu'un bon gel obtenu par le système alginate – chitosane doit obéir une rigidité satisfaisante mais avec un minimum de volume du SGF expulsé. Les effets des autres facteurs sont négligeables voire nuls.

Afin d'exploiter le logiciel par rapport à l'optimisation, on exécute son module « Optimizer » qui propose un optimum, les constantes de pondération sont fixées en accordant plus l'importance au G' et au Volume expulsé, le tableau IV.9 ci-dessus illustre les domaines proposés :

Tableau IV.9 : Valeur des paramètres caractéristiques de la suspension et du gel de la formule optimale

Alginate	Chitosane	CMC	Storage Modulus	Temps de dispersion	Volume expulsé par le gel
0	1	-1	3.55848e+006	4.2908	108.298

On remarque bien que les valeurs de l'optimum proposées par le logiciel correspondent à une valeur moyenne d'alginate de Na associé à un maximum Chitosane et un minimum de CMC. Afin d'appréhender l'évolution des réponses dans le cas d'une quantité minimale de

la CMC Na, on se propose de représenter les contours iso-réponses qui illustrent l'effet simultané des deux facteurs, à savoir l'alginate et le chitosane sur l'ensemble des réponses :

La figure IV.12 suivante montre comment évoluent les valeurs de la viscosité au taux de cisaillement nul de la suspension, en fonction de la variation concomitante de l'alginate de sodium et du chitosane. On rappelle que la quantité de la CMC a été fixée à sa valeur minimale. Il apparaît que c'est l'alginate de sodium qui conditionne la variation de cette viscosité, étant donné un gradient des contours quasi-parallèle à l'axe de cet excipient.

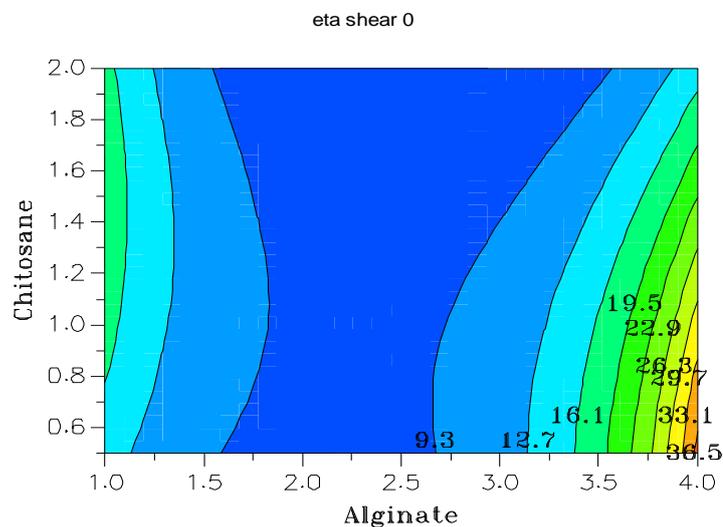


Figure IV .12 : Courbe Iso-réponse de l'évolution de la viscosité au taux de cisaillement nul en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. CMC Na minimale

A noter que les valeurs de viscosité sont de l'ordre de 10^1 Pa.s, en échelle logarithmique, ce qui correspond à 10000 fois la viscosité dynamique de l'eau, cela confère à la suspension une stabilité contre la sédimentation par effet hydrodynamique, des particules dispersées du chitosane.

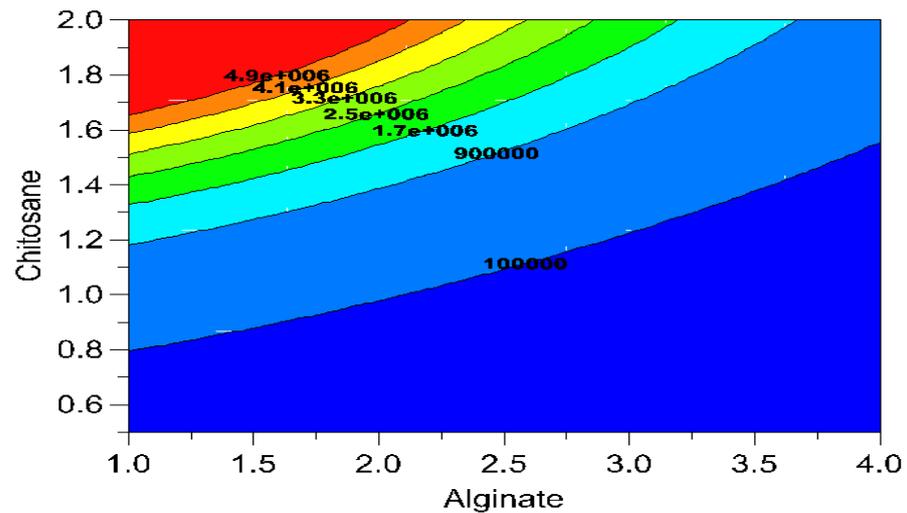


Figure IV.13: courbe Iso-réponse de G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. CMC Na minimale

Sur la figure IV.13 est illustré les contours iso- G' en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. La CMC Na est fixée à son niveau bas. Aussi, il semblerait que l'accroissement de la rigidité du gel est dû à un effet antagoniste de la variation de la concentration des deux espèces de biopolymère. Une augmentation de G' nécessite une diminution de l'alginate avec une augmentation du chitosane. Il faut, tout de même souligner que ce ne sont pas les gels les plus fort qui sont les meilleurs, vue qu'ils expulsent une quantité plus importante du SGF et donc leur texture n'est pas de qualité et n'occuperaient certainement pas tout l'espace visé et souhaité dans l'estomac.

La figure IV.14 montre l'évolution des contours Iso-réponse de l'évolution du temps de dispersion en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. Au regard de ces contours, il ressort une variation aléatoire des contours iso avec des valeurs du temps de dispersion aux alentours de 4mn. Ceci dénote, l'effet absent des deux facteurs, ce qui est assez normal, vue que la quantité de la CMC a été fixée à sa valeur minimale et que c'est celle-ci qui a l'influence exclusive sur ce temps de dispersion.

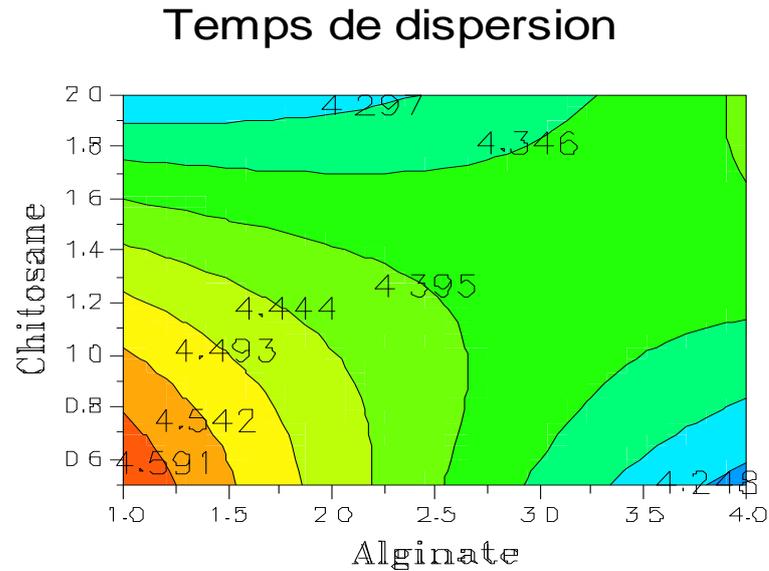


Figure IV.14 : Courbe Iso-réponse de l'évolution du temps de dispersion en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du chitosane. CMC Na minimale.

Le volume expulsé par le gel, représenté sous forme de contours iso-réponse, figure IV.15, est minimale, aux alentours de 100ml, lorsque l'alginate est maximal et le chitosane est à son niveau bas. C'est dans cette zone que l'on retrouve les gels les plus homogènes correspondant à ceux relativement faibles (de l'ordre de 10^5 Pa) qui est 100 fois plus important de que celui de l'acide alginique. A vrai dire, le gradient des contours iso-volume du liquide SGF est quasiment conditionné par la variation de la concentration de l'alginate de sodium et à un degré moindre par le chitosane : Plus on augmente l'alginate et plus on diminue le chitosane, on peut obtenir des gels avec une phase environnante du SGF moindre.

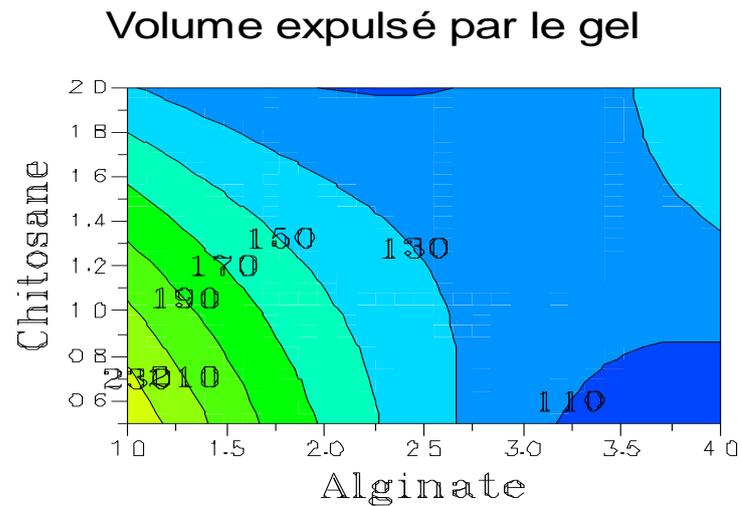


Figure IV.15 : Courbe Iso-réponse de l'évolution du volume expulsé par le gel en fonction de la variation simultanée de l'alginate de sodium et du Chitosane. CMC Na minimale

IV.6 RESULTAT DE TEST DE DISPERSION AVANT ET APRES LA GRANULATION :

Tableau IV .10 : Tableau comparatif des temps de dispersion avant et après la granulation

	Avant	Après
Temps de dispersion	4min et 23 secs	50 secs

On note une amélioration de temps de dispersion d'un taux de 80,99% après la granulation grâce à l'augmentation de volume des pores inter-particules qui favorisent la pénétration de la solution à l'intérieurs de grains et ce qui facilite leurs dispersions.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le principal objectif de ce travail était de formuler un complément alimentaire contre le surpoids et pour la prévention de l'obésité, proposé comme alternative à ceux déjà existant sur le marché, et qui ont prouvé leur défektivité voire dangerosité pour certains.

Le mode d'action de notre système proposé repose sur l'occupation physique de l'espace stomacal et la retardation du processus de la vidange gastrique, à l'aide d'un gel qui se forme une fois dans le milieu gastrique et qui résiste aux pressions mécaniques provoquées par l'estomac, la forme galénique qui a été adoptée est une poudre (ou granulés) pour suspension buvable, constituée principalement de deux biopolymères (le chitosane et l'alginate de sodium) qui forment un gel de renforcement une fois dans le milieu gastrique provoqué par des interactions synergiques, et qui augmenteraient la rigidité du gel de base qui repose sur la formation de deux réseaux interpénétrés où l'alginate de sodium se transforme en acide alginique dans le milieu acide qui constitue le réseau principal", le chitosane formerait un réseau imbriqué et la carboxyméthylcellulose de sodium bien qu'elle soit introduite en tant qu'agent désintégrant contribue dans la gélification en étant un liquide très visqueux encapsulé ou emprisonné dans les mailles du double réseau interpénétré.

Nous avons utilisé un chitosane de deux provenances différentes, (os de sépia et carapace de crevettes) qui nous a permis de conclure quant à l'utilisation de ce dernier.

La méthode des plans d'expérience qui avait pour objectif une modélisation en surface de réponse avec un plan factoriel fractionnaire de type box Behnken avec 15 essais était entreprise afin d'évaluer les effets des trois facteurs et de tirer certaines réponses cibles pour la suite de l'investigation notamment, l'écoulement des suspensions, la viscoélasticité du gel formé et le temps de dispersion et les volumes exclus par les gels ainsi que la cinétique du pH du milieu gastrique proche du gel.

Une étude de modélisation RSM approfondie par le logiciel Modde 6 a montré que l'utilisation de l'agent dispersant a impliqué des interactions inattendues et celles-ci n'étaient pas toujours positives entre les trois biopolymères. L'exploitation de son module « Optimizer » nous a permis de tirer une formule optimale qui correspond à un maximum de chitosane associé à des quantités moyennes d'alginate et minimales de CMC de Na

donnant des gels ayant les propriétés nécessaires pour la rétention gastrique et à l'application comme système contre l'obésité.

En dépit des résultats obtenus, ce travail est loin d'être achevé. Il serait intéressant de faire, une étude comparative poussée entre les deux chitosanes d'origine des crustacés de crevettes et celui du sépia, la détermination des propriétés mécaniques de la poudre en effectuant les tests d'écoulement et de tassement pour avoir une idée sur l'écoulement de la poudre.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Jean ULYSSE, Nutrition et santé, Supplément au bulletin de l'APBG " biologie géologie " n°3, 2000.
- [2] Erik MILLSTONE et Tim Lang, L'Atlas de l'alimentation dans le monde, Autrement, 2003 .
- [3] Caroline RHEAUME M.D., Ph. D., MCCM Patrice BRASSARD, Ph. D, Le diabète de type 2 et l'obésité: un lien incontournable.
- [4] Stefan SILBERNAGL, Atlas De Poche De Physiologie 3em édition 1998. Livre d'Agamemnon Despopoulos , page 206.
- [5] JOHNSON, GEORGE B. Holt Biology: Visualizing Life. Orlando: Holt, Rinehart & Winston, 1994, page 769.
- [6] SARL COLL Vulgaris-medical (créer en 2000) ; encyclopédie médicale, Estomac (généralités) : symptômes, [en ligne] disponible sur : < <https://www.vulgaris-medical.com> (consulter le 30 nov 2017).
- [7] Sara CROTEAU B.Sc et Paul POIRIER MD, Ph.D. Les traitements pharmacologiques pour la perte de poids chez l'obèse morbide, le clinicien octobre 2007.
- [8] Reisler G, et al. Sibutramine as an adjuvant therapy in adolescents suffering from morbid obesity. Canadian Medical Association Journal. 2006.
- [9] VAN GEEL LF, ET COLL. LANCET, rimonabant médicament anti-obésité 2005.
- [10] Paquet C, et al. Les traitements pharmacologiques pour la perte de poids chez l'obèse morbide. le clinicien. 2001. 79p.
- [11] Rocio NOHEMI Rivas ARAIZA, Hydrogels physiques de chitosane sous forme de macro-fibres creuses et multi-membranaires : mise en œuvre et étude microstructurale.

- [12] Peppas, N. In *Hydrogels in Medicine and Pharmacy: Fundamentals* Peppas, N. A., Ed.; 1986; Vol. Vol. 1.
- [13] Almdal, K.; Dyre, J.; Hvidt, S. et al. *Polymer Gels and Networks* .1993. 1 (1), 5- 17p.
- [14] Domard, A.; Vachoud, L. *Chitin and Chitosan in Life Science*; Kodansha Sci. Ltd: Tokyo, 2001; 12-19p.
- [15] Fakhari A, Subramony JA. Engineered in-situ depot-forming hydrogels for intratumoral drug delivery. *J Control Release*. 2015. 220:465-75p.
- [16] Matanovic MR, Kristl J, Grabnar PA. Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *Int J Pharm*.2014. 472:262-75p.
- [17] Teixeira LSM, Feijen J, van Blitterswijk CA et al. Enzyme-catalyzed crosslinkable hydrogels: Emerging strategies for tissue engineering. *Biomaterials*. 2012;33:1281-90p.
- [18] Gandhi A, Paul A, Sen SO et al. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015. 10:99-107p.
- [19] MJAHER, H. Caractérisation physico-chimique des films multicouches de polyélectrolytes à base de polysaccharides en vue d'applications dans le domaine de biomatériaux, thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2009. pp. 22-29.
- [20] Guenet, J. M. *Thermoreversible gelation of polymers and biopolymers*; 2 ed.; Academic Press: London, 1992; p 280.
- [21] *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 6th Ed. 2009.
- [22] Emilie VINCENT , les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingenierie application à la construction d'un biomatériau , thèse de doctorat en pharmacie. 02 juillet 2010 ,15-46.
- [23] MOKRANI nadir. preparation et etude du comportement de membranes biopolymeres alginate de sodium/chitosane , magister en: Génie des Polymères,Chimie physique des polymères. 2012/2013.

- [24] Matthew D. WILCOX, Iain A. BROWNLEE, J. Craig RICHARDSON, Peter W. DETTMAR, and JEFFREY P. Pearson Food Chemistry March, The modulation of pancreatic lipase activity by alginates, 2014.
- [25] Emilia SZYMAŃSKA and Katarzyna WINNICKA, Stability of Chitosan, A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications, marine drugs 1 April 2015.
- [26] SHAHIDI ET ABUZAYTOUN, Chitin, Chitosan, and Co-Products: Chemistry, Production, Applications, and Health Effects, 2005.
- [27] Aurélie BORNET et P.-L. TEISSEDREL , Intérêt de l'utilisation de chitine, chitosane et de leurs dérivés en œnologie ,Seng, 1988. 06p
- [28] M. S. HOSSAIN, Production and characterization of chitosan from shrimp waste, A. Iqbal Department of Food Technology & Rural Industries, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh-2202, Bangladesh. 06.2014. 04-06 pp.
- [29] DJELAD Amal, Chitine et chitosane : du biopolymère à l'application Couverture Presses Univ. Franche-Comté 2009.
- [30] eixeira LS, Feijen J, van Blitterswijk CA, et al. Enzyme-catalyzed crosslinkable hydrogels: emerging strategies for tissue engineering. Biomaterials. 2012. 33:1281-90p.
- [31] Chenite A, Chaput C, Wang D, et al. Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. Biomaterials. 2000. 21:2155-61p.
- [32] Esam A. EL-HEFIAN et al, Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies. Department of Chemistry, University of Malaya, 50603 Kuala Lumpur- MALAYSIA 26.01.2009 48p
- [33] Hari PR, Chandy TC, Chandra PS. Chitosan/calcium–alginate beads for oral delivery of insulin. Applied polymer science .14 March 1996.
- [34] Kofuji K, Miyamoto E, Kawashima S, et al. U.S. Properties of an alginate gel bead containing a chitosan-drug salt. National Library of Medicine. mars 2004.
- [35] Willi P, Chandra P. Chitosan and Alginate Wound Dressings. Division of Biosurface Technology, Biomedical Technology Wing Sree Chitra Tirunal Institute for Medical Sciences & Technology Poojappura. janvier 2004.
- [36] Hauch KD, Xiao D, Zhang M, et al. Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering.National Library of Medicine. juin 2005

- [37] Dumont MD. Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate / Chitosane. Matériaux. Université de Lyon, 2016. Français.
- [38] Gonzalez-Rodriguez, M. L. ; Holgado, M. A. ; Sanchez-Lafuente, et al . microencapsulation of hemoglobin in chitosan-coated alginate microspheres prepared by emulsification/internal gelation. American Association of Pharmaceutical Scientists. 2002, 232,225P.
- [39] El Maghraby GM, Elsisi AE, Elmeshad GA. Elmeshad, development of liquid oral sustained release formulations of nateglinide: in vitro and in vivo evaluation. J Drug Del Sci Technol. 2015;29:70–77
- [40] Linda Belhadjia, Abdelkader HadjSadoka and Nadji Moulai-Mostefa Design and characterization of calcium-free in-situ gel formulation based on sodium alginate and chitosan; DRUG DEVELOPMENT AND INDUSTRIAL PHARMACY, 2018VOL.44,NO.4,662–66
- [41] BENGUEDDACH ABD, doctorat : préparation des matériaux composites chitosane-zeolithes. Application dans l'adsorption du cuivre. Université d'Oran 1. 2010-2011.
- [42] Sawssen Hajji et al. Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources.2014. 2-5 pp.
- [43] Linda LP, Visco élasticité et structure de gels a base de chitosane - Relations avec les propriétés diffusionnelles de macromolécules dans ces biogels, thèse de doctorat de l'université paris 7, 17 juin 2005.
- [44] Rabiul Rh, Murshid MI, Tarun K. Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan and Their effect on the Release Behavior of Essential Oil from Chitosan and Chitosan-Gelatin Complex Microcapsules. Advanced Engineering Applications, Vol.2. April 2013 4-12p.
- [45] Aubry JM, Schorsch GS. Formulation Présentation général. Techniques de l'ingénieur. 10 déc. 1999. 208p
- [46] Denine RD.Pharmacie Galénique. Office des publications universitaires Alger. 2008.
- [47] Saleh KS, Guigon PG. Mise en œuvre des poudres- Granulation humide : bases et théorie. Techniques de l'ingénieur.10 sept. 2009.

- [48] Draget KI, Skjåk Braek G, Smidsrød O. Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydr Polym.* 1994;25:31 –38.
- [49] JORGENSEN, t. e., m. SLETMOEN, k. i. DRAGET and b. t. STOKKE. « Influence of oligogulonates on alginate gelation, kinetics, and polymer organization », *Biomacromolecules*, 2007. 2388-2397.
- [50] Ross-Murphy, S. B. Physical gelation of synthetic and biological macromolecules. In *Polymer Gels; Fundamentals and Biomedical Applications*; D.DeRossi, K. K., Y. Osada and A. Yamauchi, Ed.; Plenum Press: New York, 1991; 21-40p.
- [51] Hirano et al. Novel N-unsaturated fatty acyl and N-trimethylacetyl derivatives of chitosan. Department of Agricultural Biochemistry and Biotechnology, Tottori University, Tottori 680, Japan. Available online 27 January 2000.
- [52] Graham K. Moore, George A.F. Roberts. Reactions of chitosan: 4. Preparation of organosoluble derivatives of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* Volume 4, Issue 4, June 1982, pp 246-249
- [53] Wan Ngah, W.S., and Fatinthan, S. 2010, *J. Environ. Manag.*, 91, 958.
- [54] Tolimate A, et al. The influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. *Polymer.*, (2000) 41:2463- 2469.
- [55] CZECHOWSKA R, et al. Determination of degree of deacetylation of chitosan - Comparison of methods *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*. January 2012. 5-20p
- [56] Sawssen Hajji et al. Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. *International Journal of Biological Macromolecules*. Laboratory of Solid State, Faculty of Science, University of Sfax, B.P. 802, 3018 Sfax, Tunisia 2014. 05p

APPENDICE A

PHOTO DES GELS FORMES



GEL 1



GEL 2



GEL 3



GEL 4



GEL 5



GEL 6



GEL 7



GEL 8



GEL 9



GEL 10



GEL 11



GEL 12



GEL 13



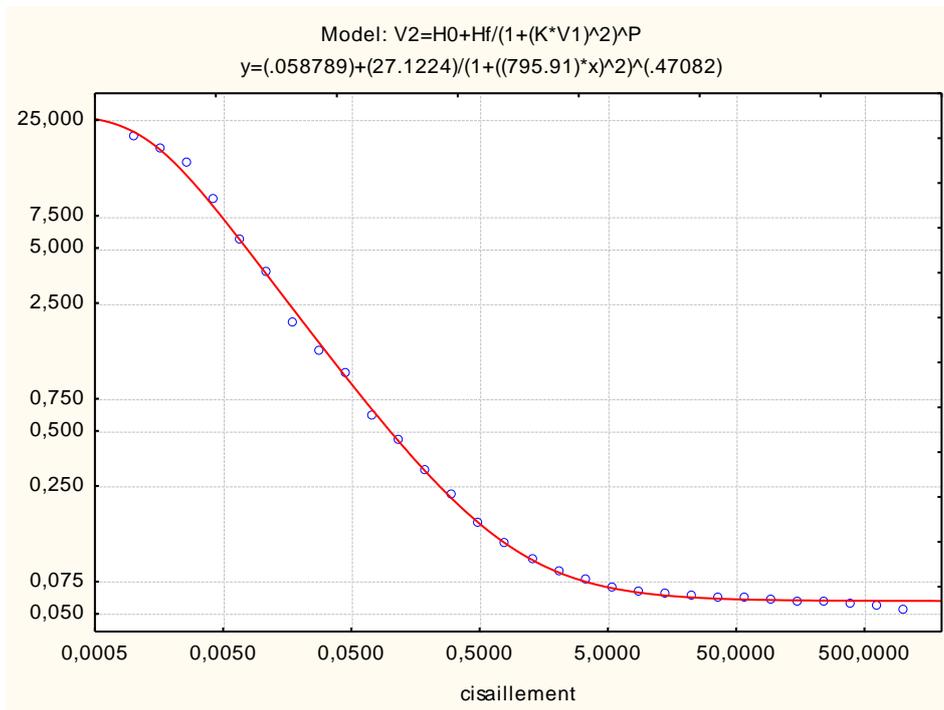
GEL 14



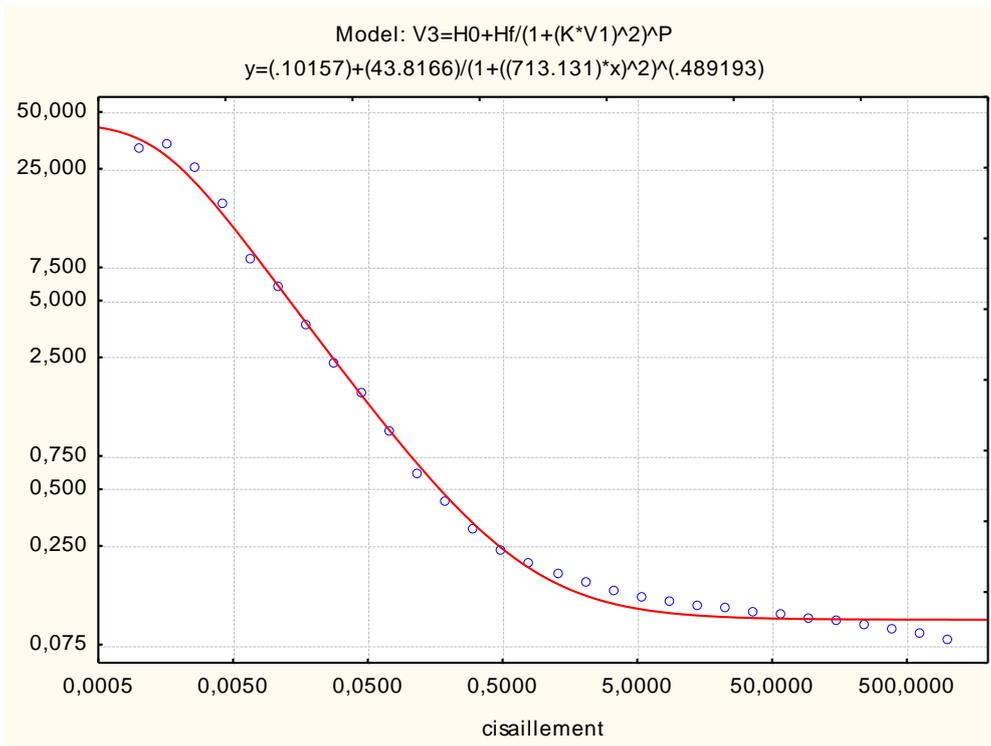
GEL 15

APPENDICE B

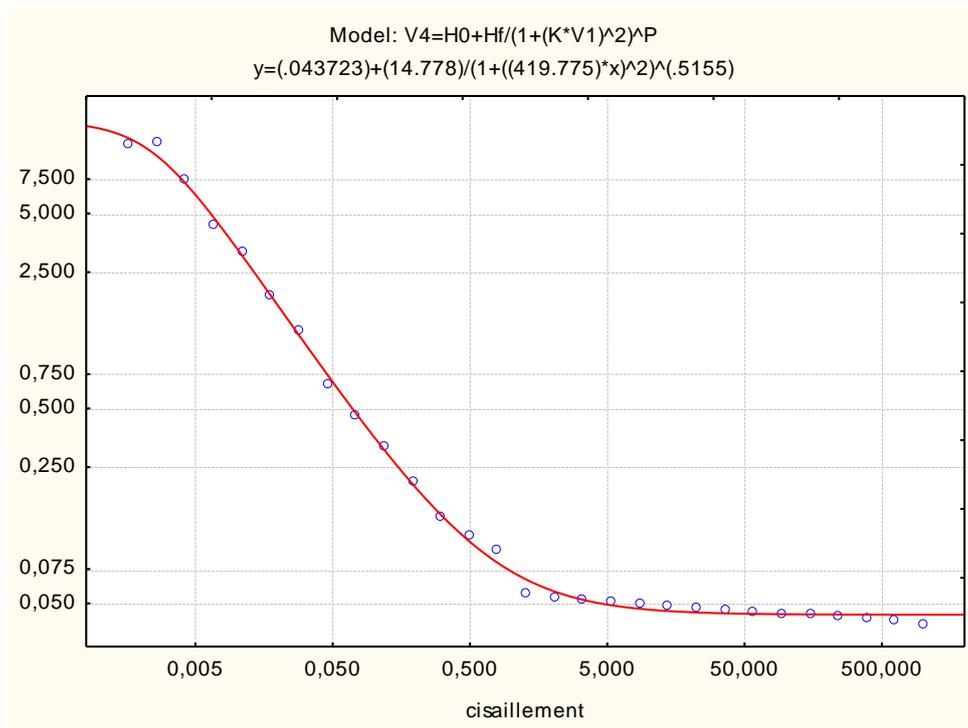
LES COURBES D'ÉCOULEMENT



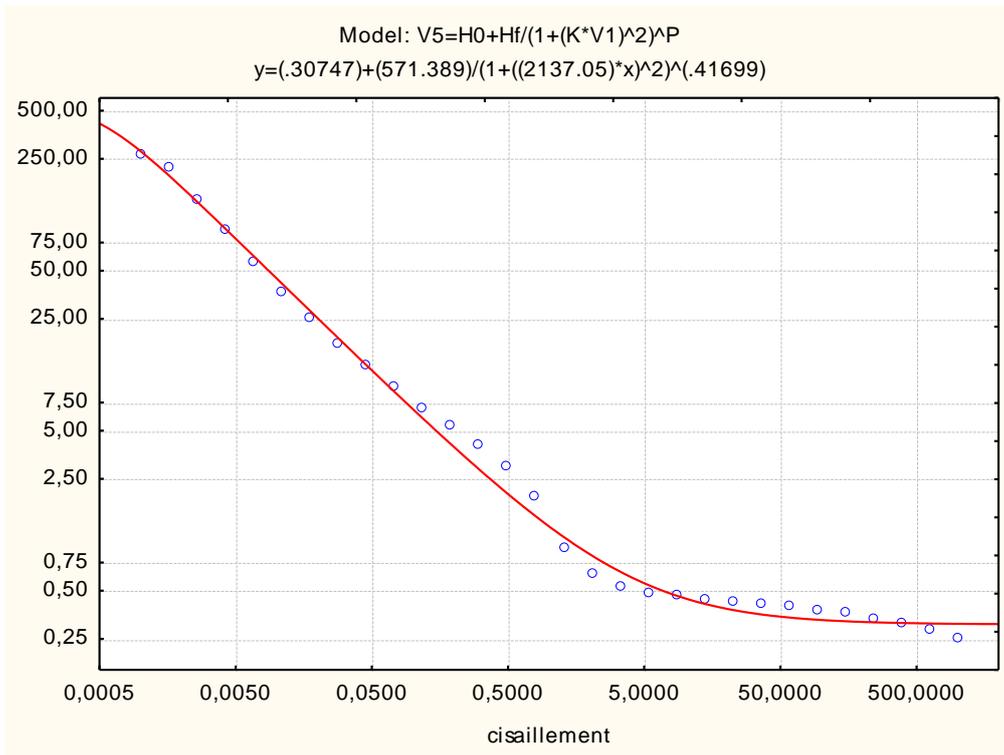
Courbe d'écoulement de l'essai N°1



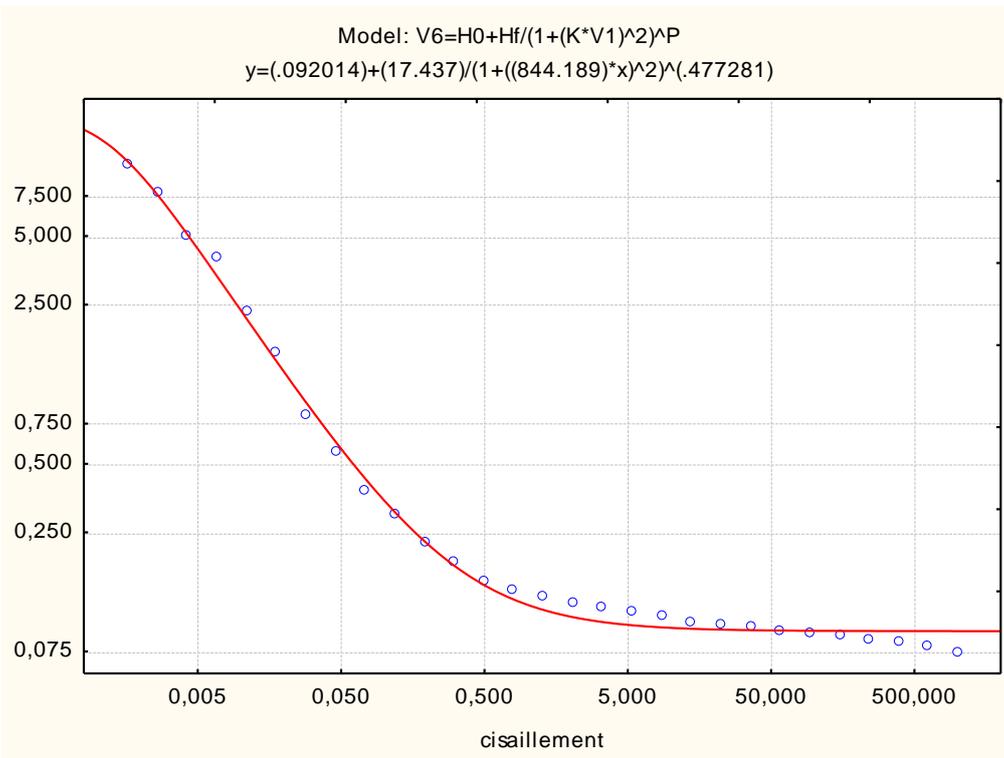
Courbe d'écoulement de l'essai N°2



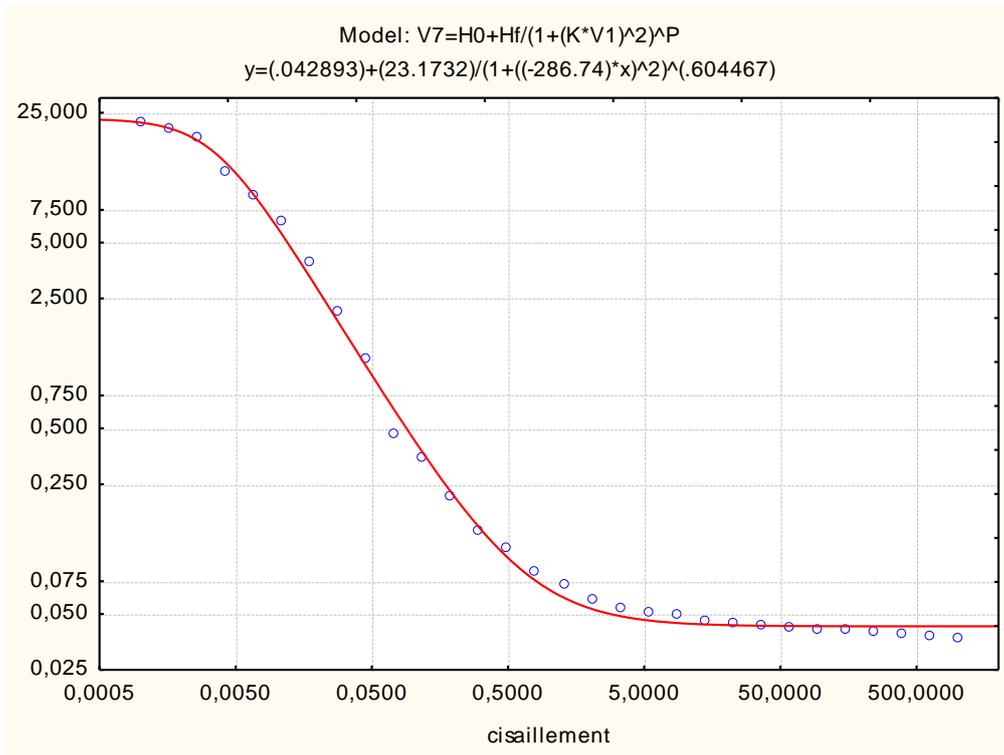
Courbe d'écoulement de l'essai N°3



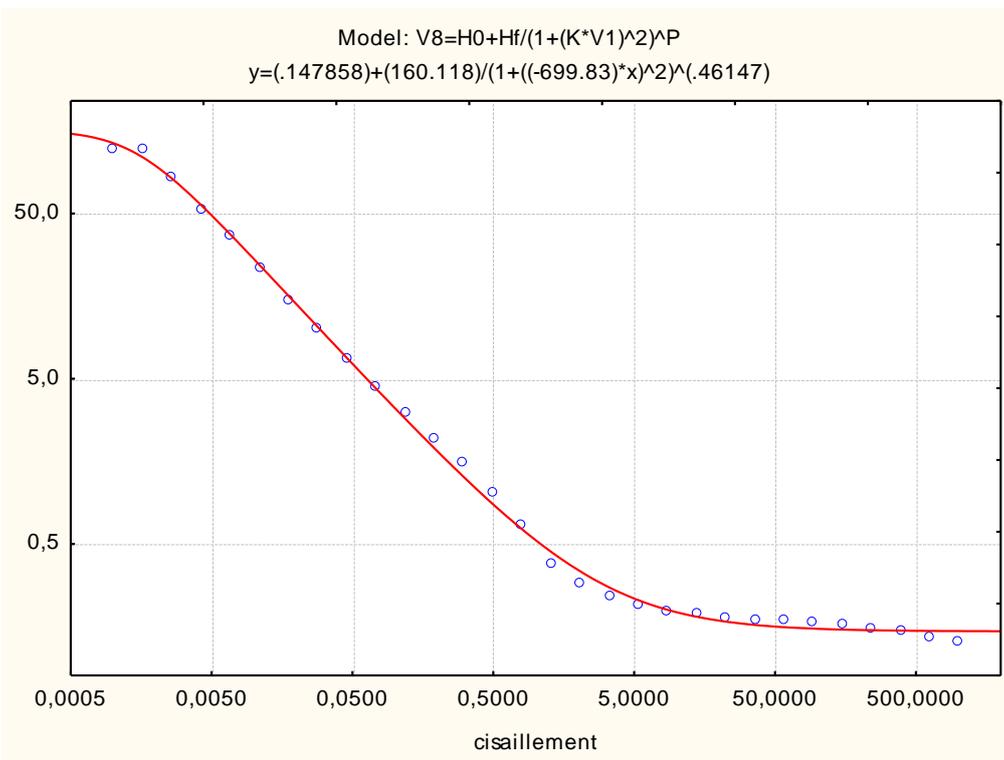
Courbe d'écoulement de l'essai N°4



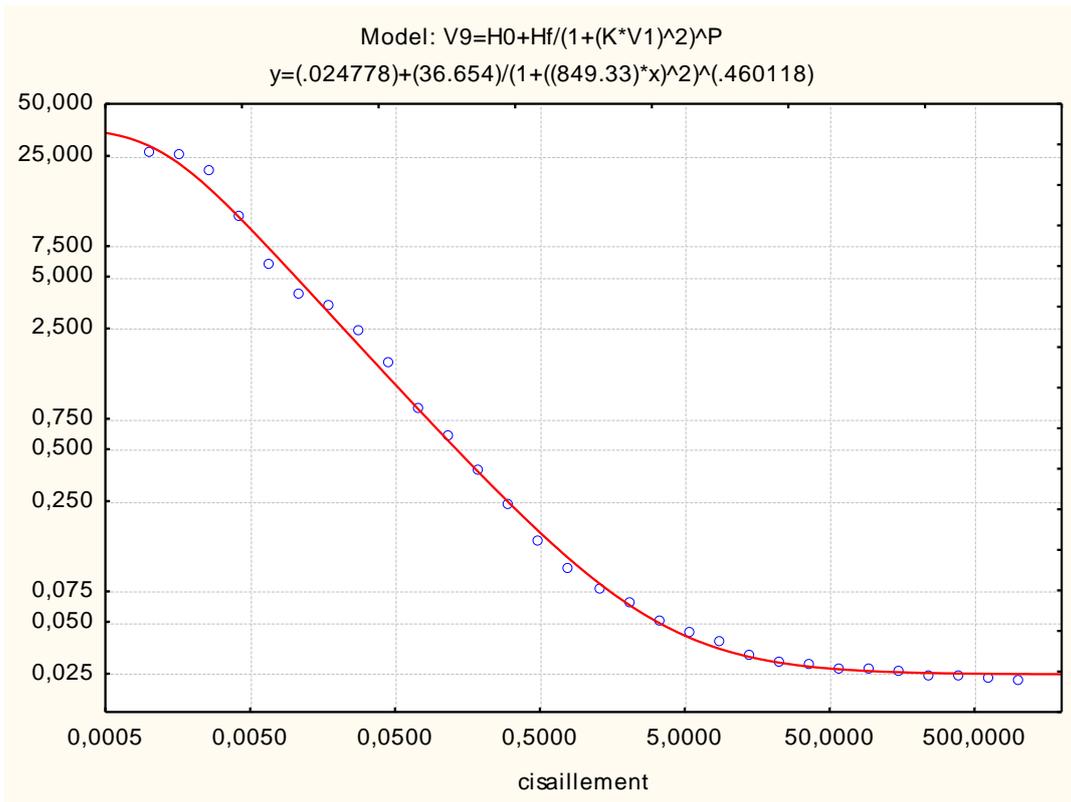
Courbe d'écoulement de l'essai N°5



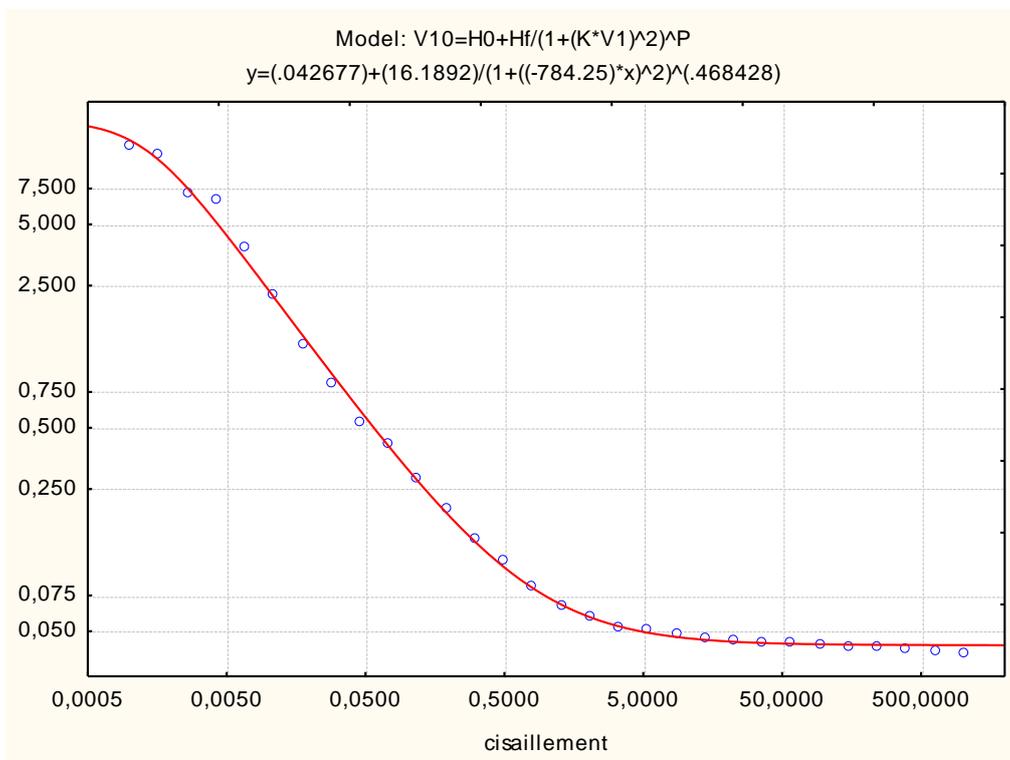
Courbe d'écoulement de l'essai N°6



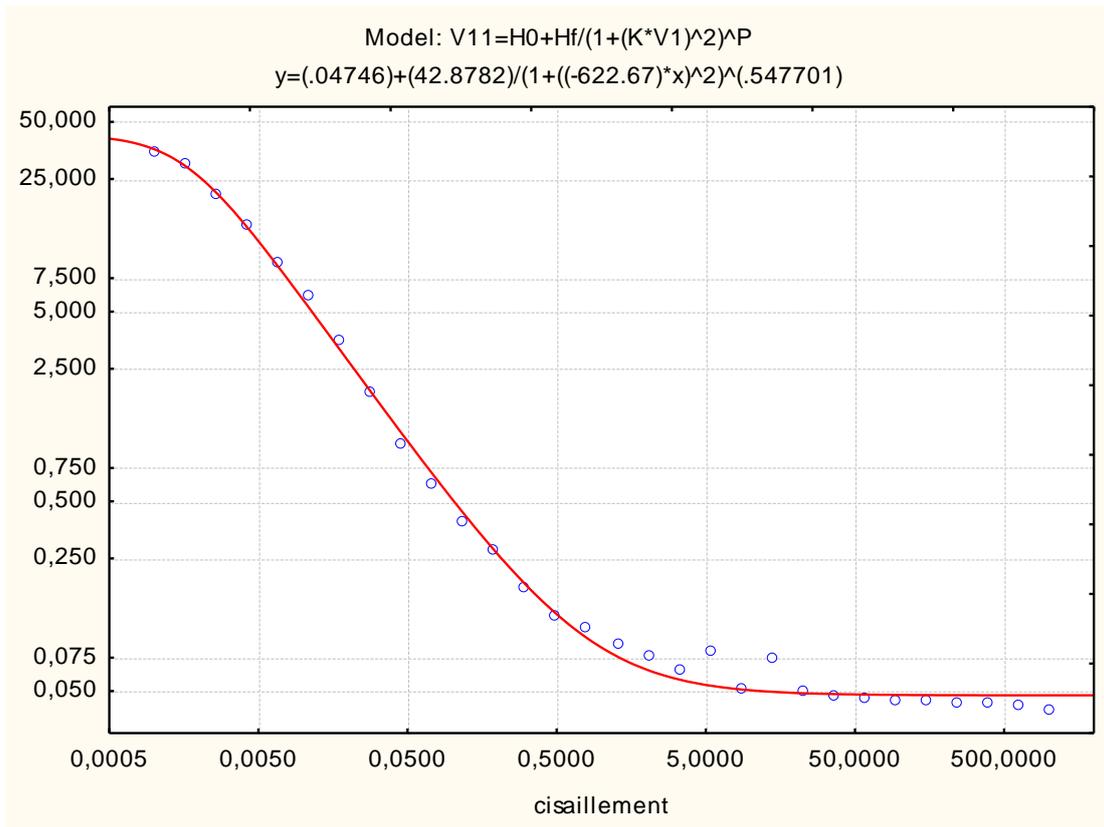
Courbe d'écoulement de l'essai N°7



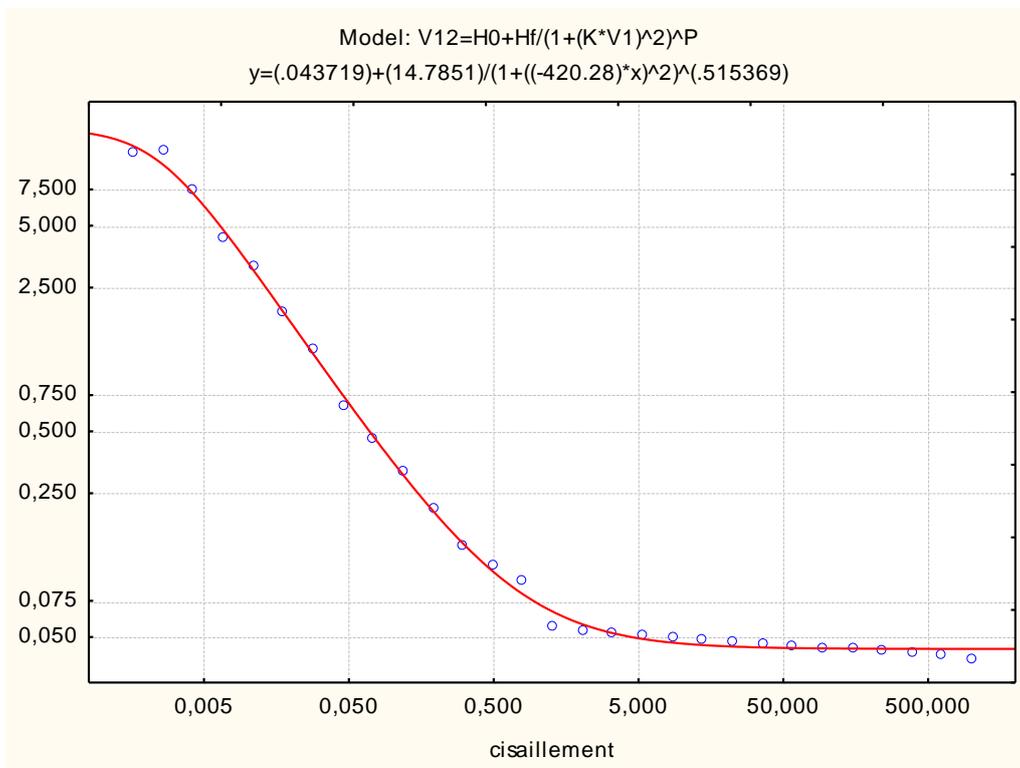
Courbe d'écoulement de l'essai N°8



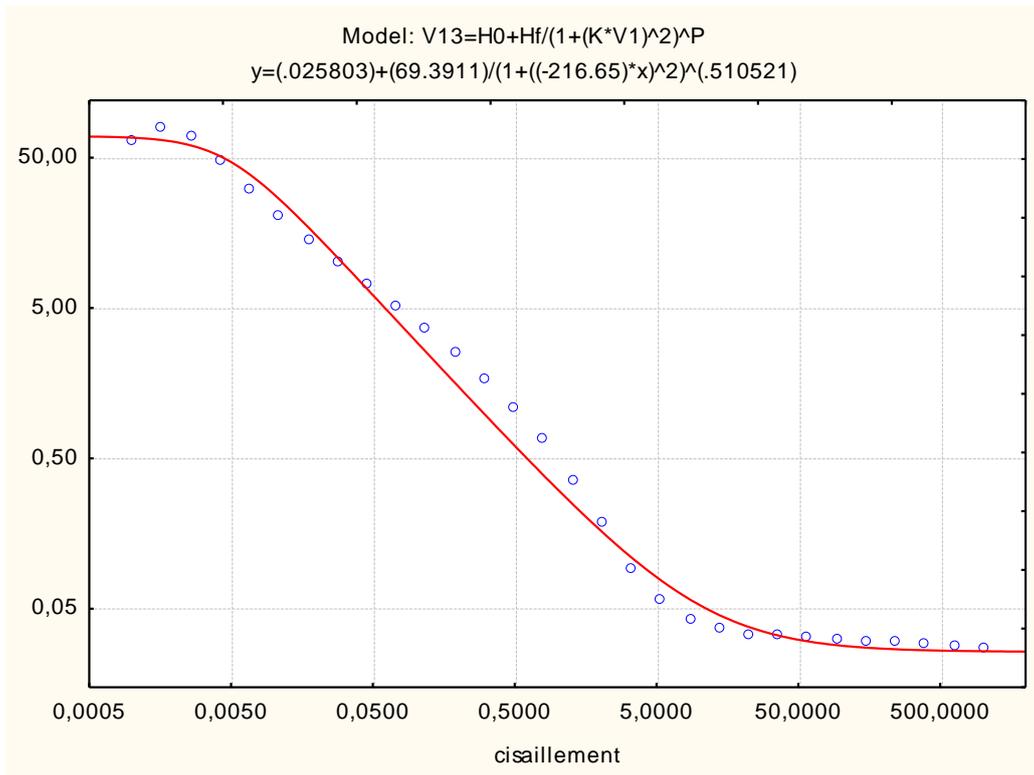
Courbe d'écoulement de l'essai N°9



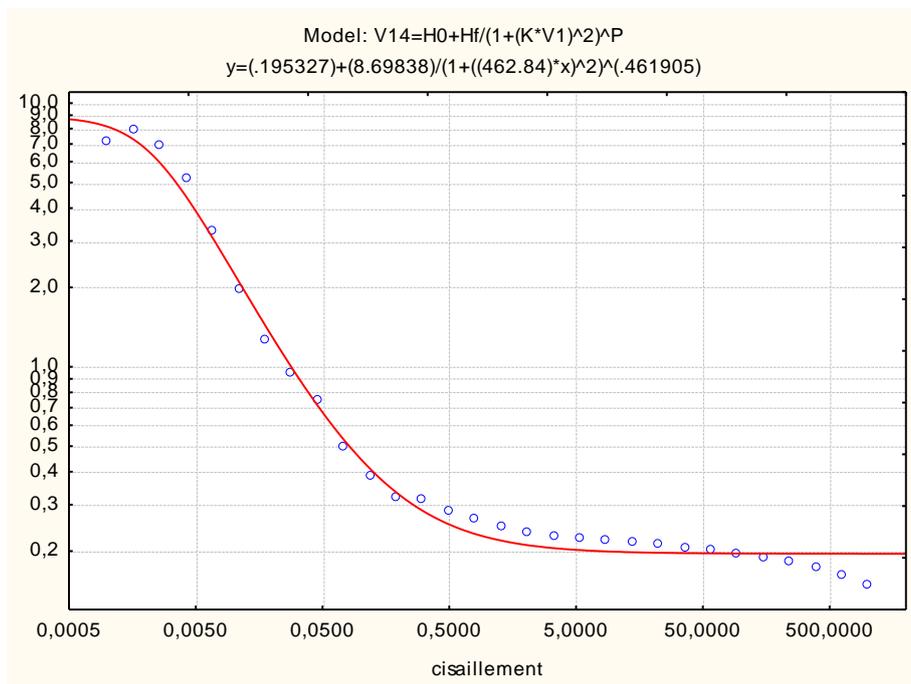
Courbe d'écoulement de l'essai N°10



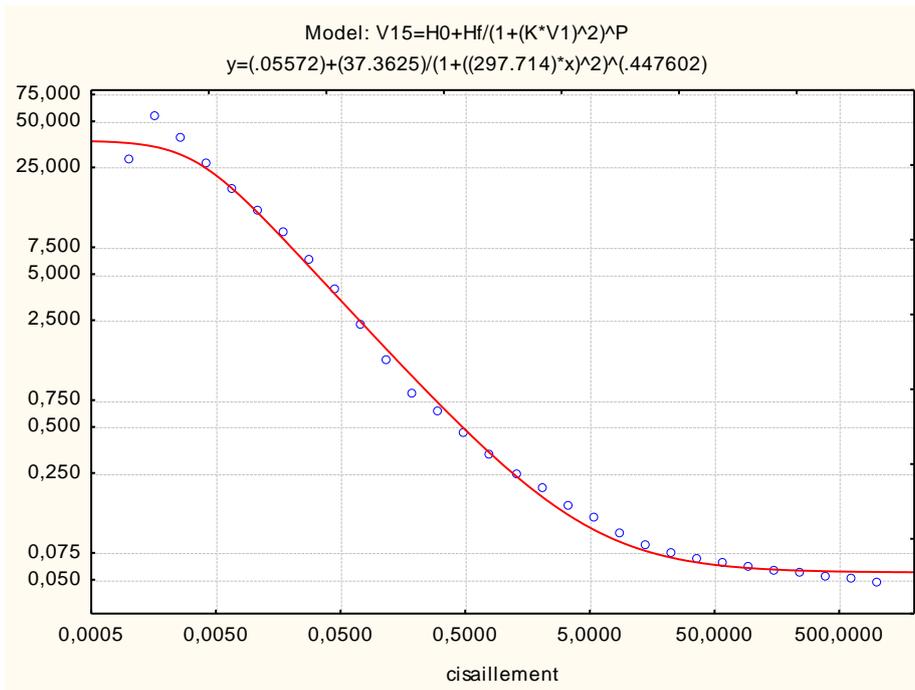
Courbe d'écoulement de l'essai N°11



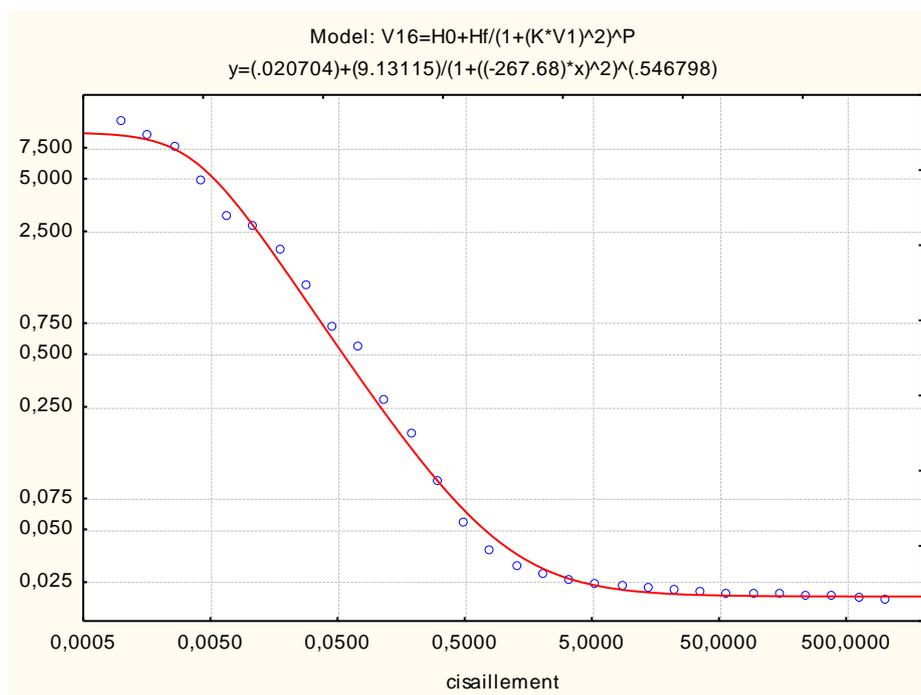
Courbe d'écoulement de l'essai N°12



Courbe d'écoulement de l'essai N°13



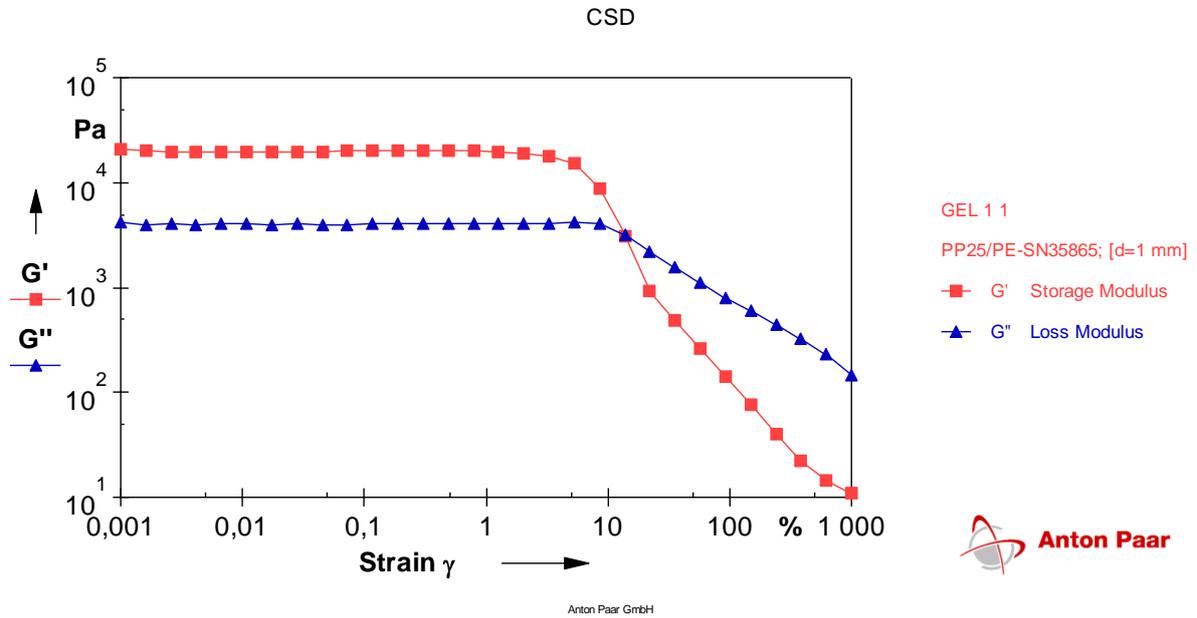
Courbe d'écoulement de l'essai N°14



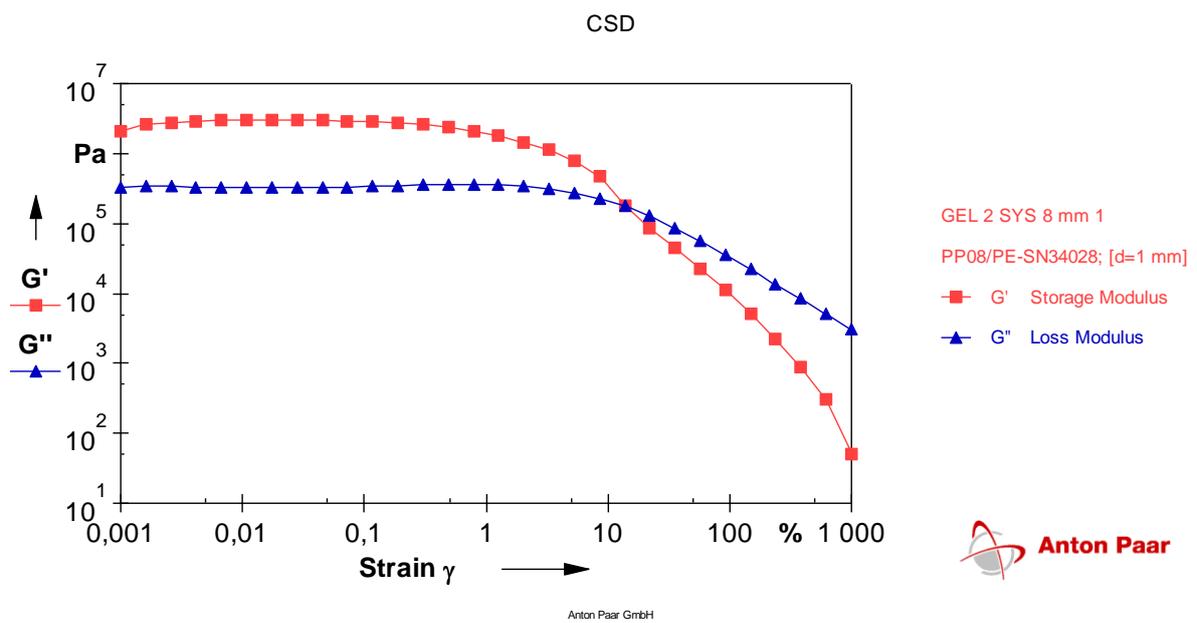
Courbe d'écoulement de l'essai N°15

APPENDICE C

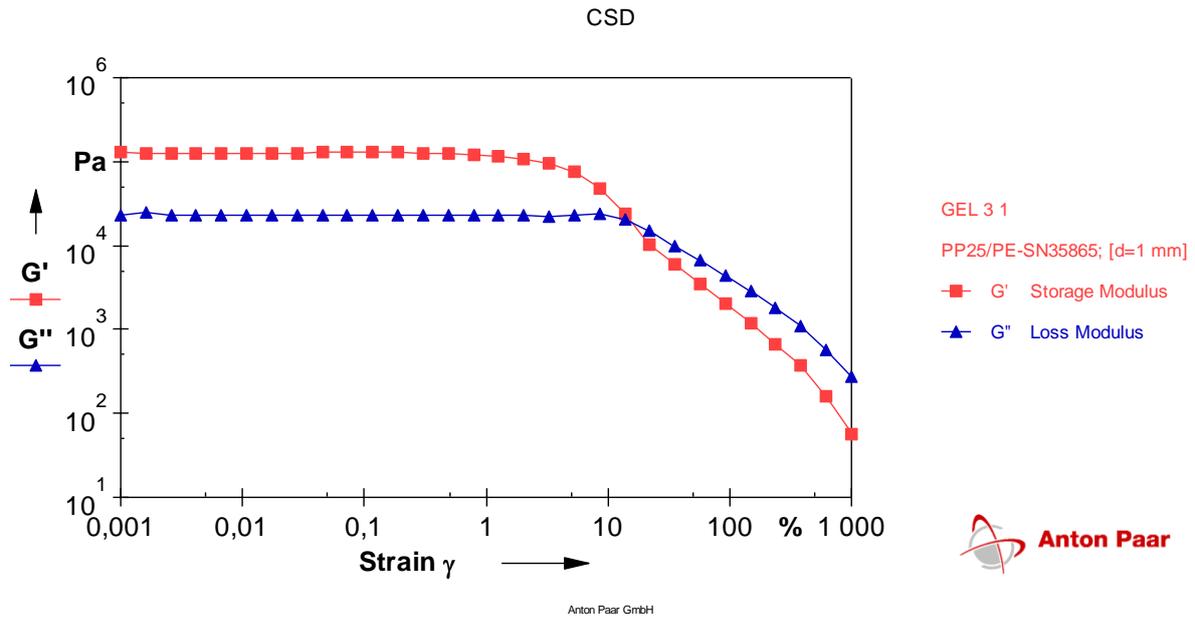
COMPORTEMENT VISCOELASTIQUE DES GELS



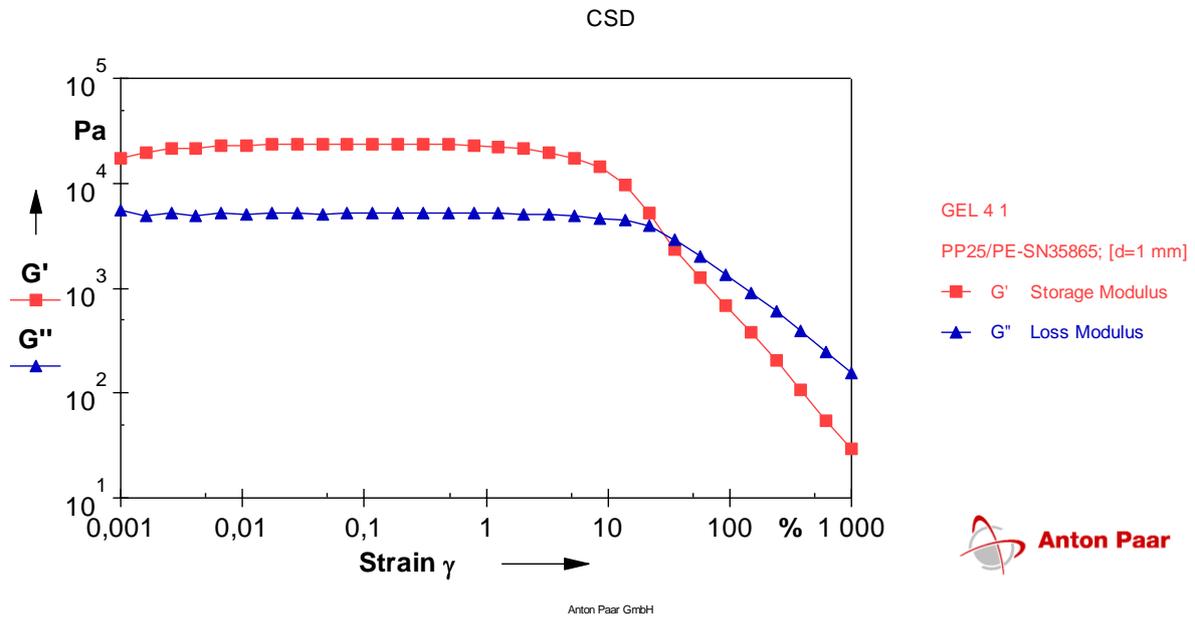
Comportement viscoélastique de l'essai N°1



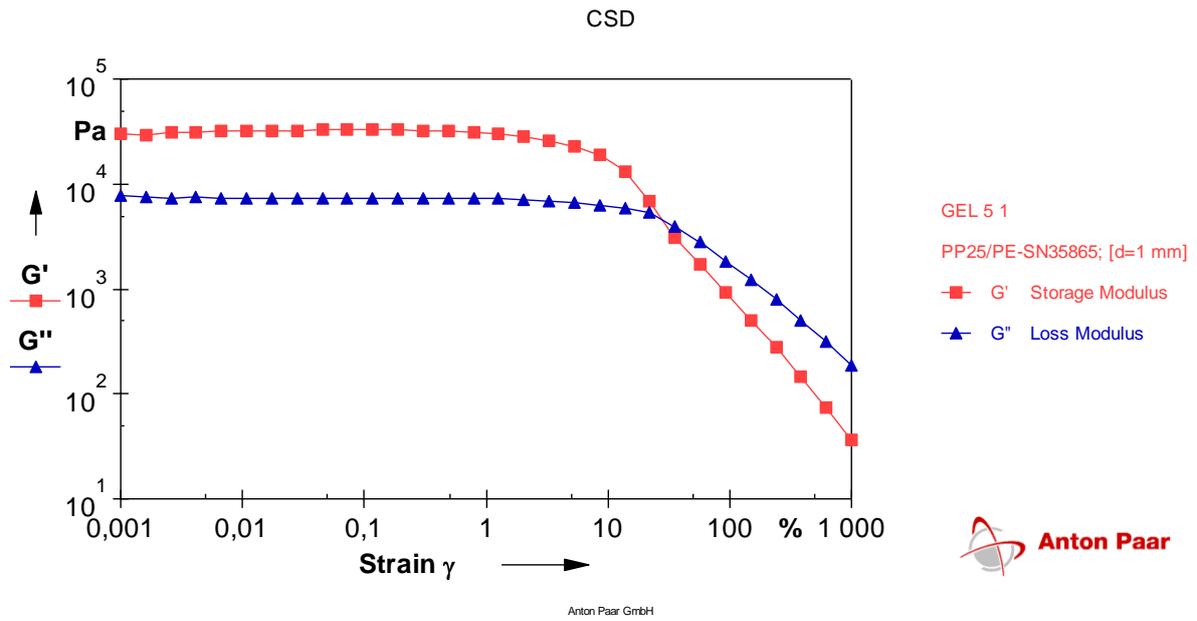
Comportement viscoélastique de l'essai N°2



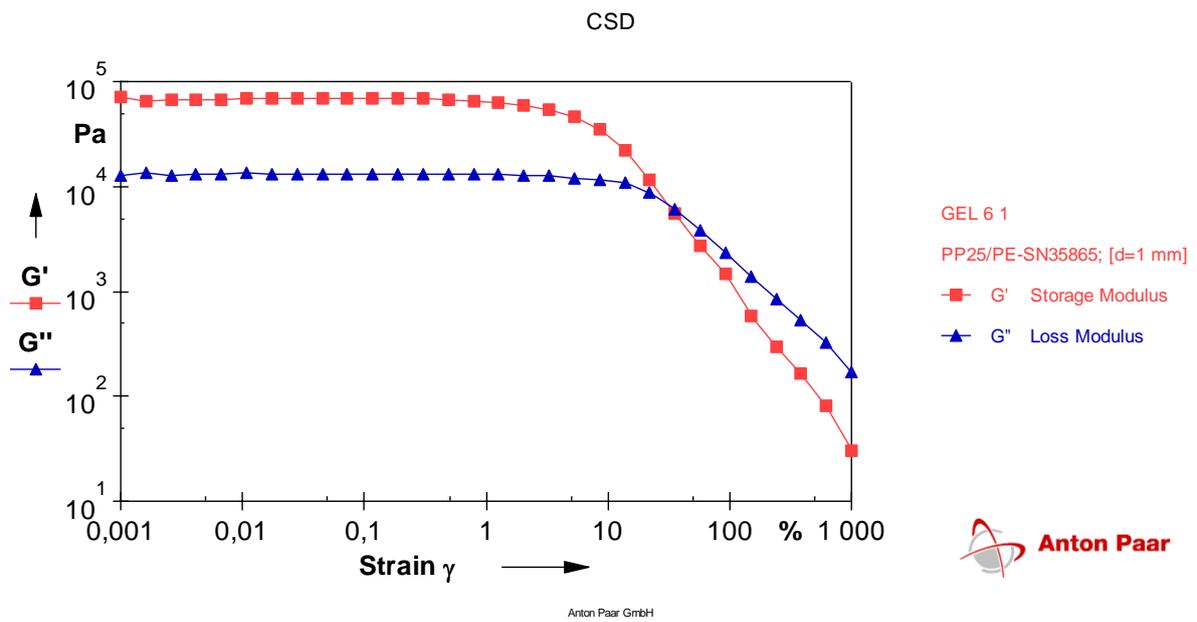
Comportement viscoélastique de l'essai N°3



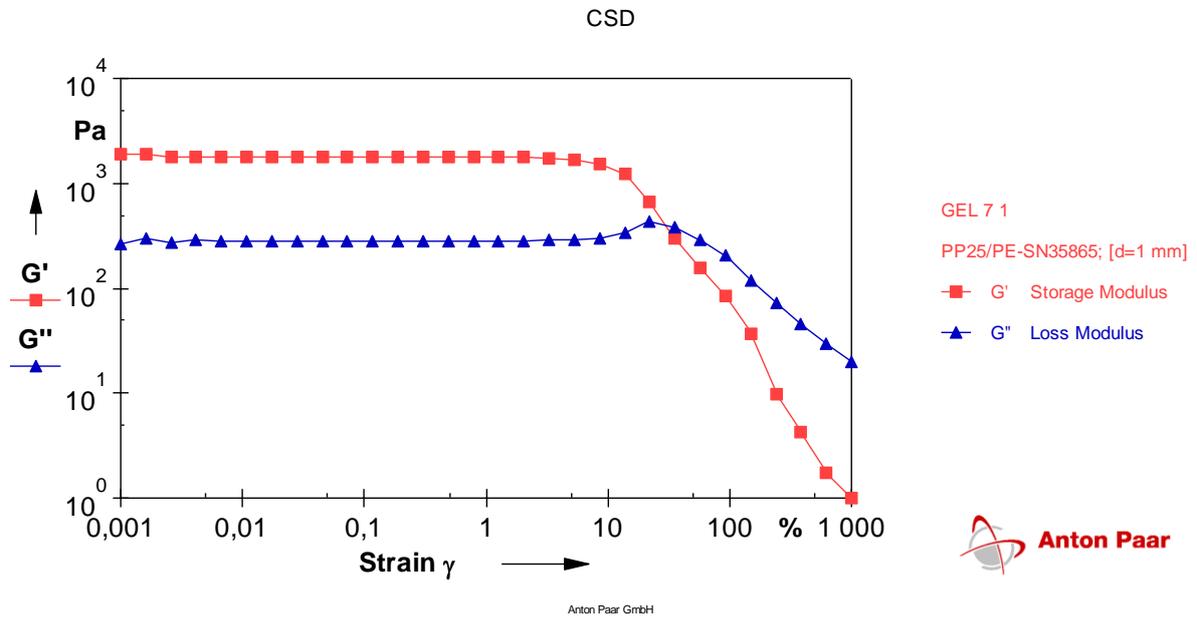
Comportement viscoélastique de l'essai N°4



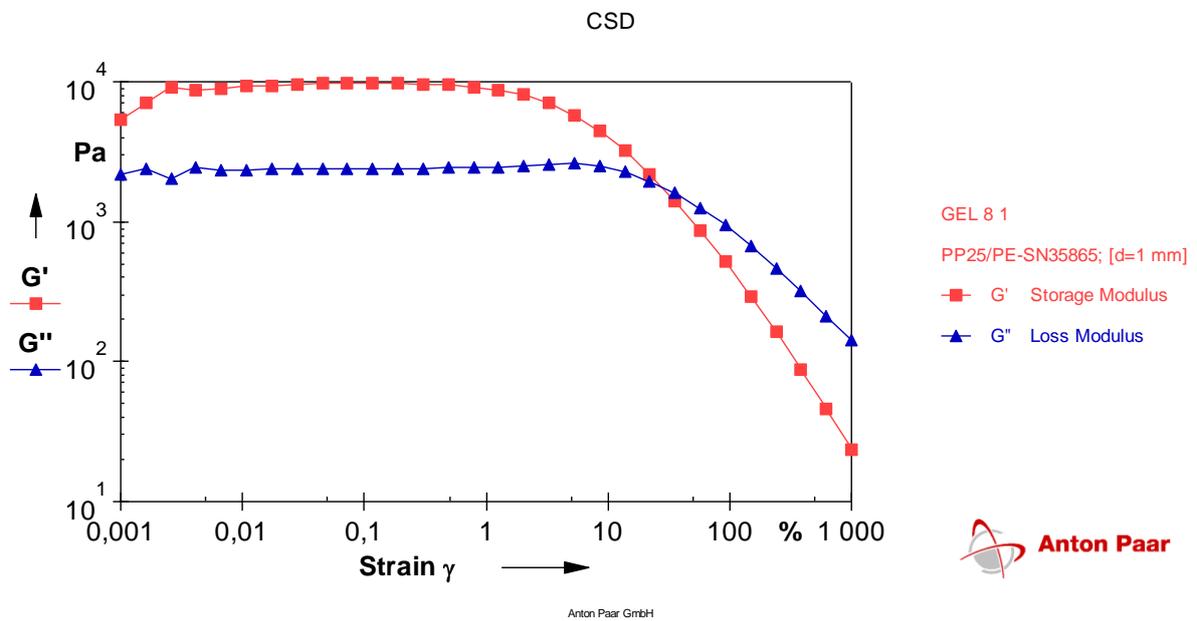
Comportement viscoélastique de l'essai N°5



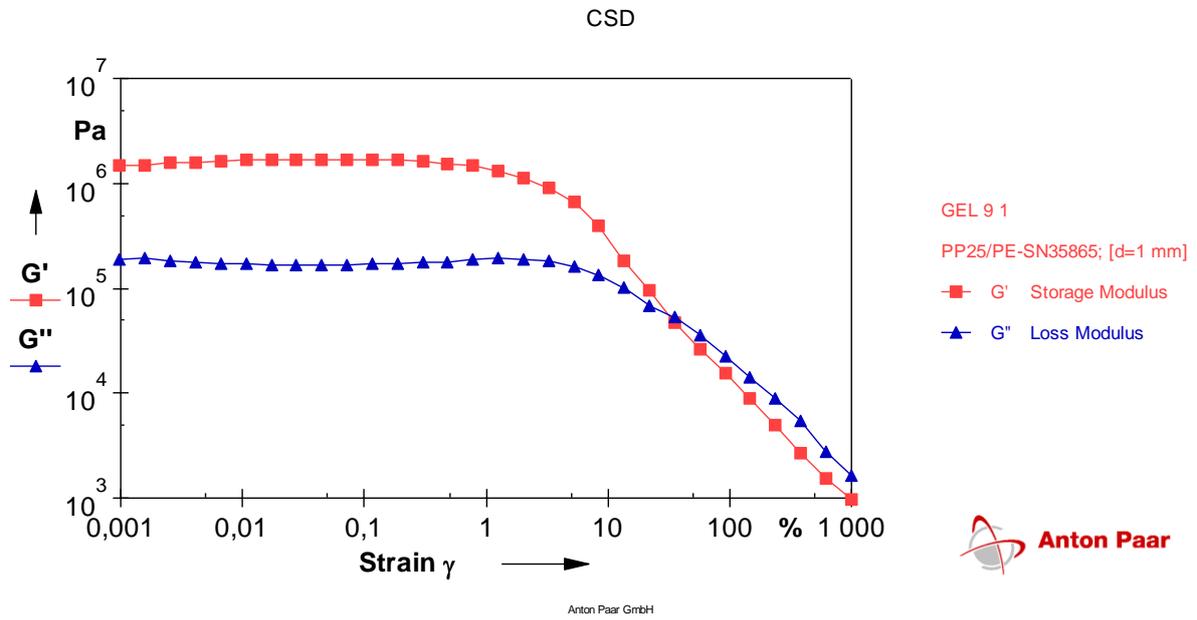
Comportement viscoélastique de l'essai N°6



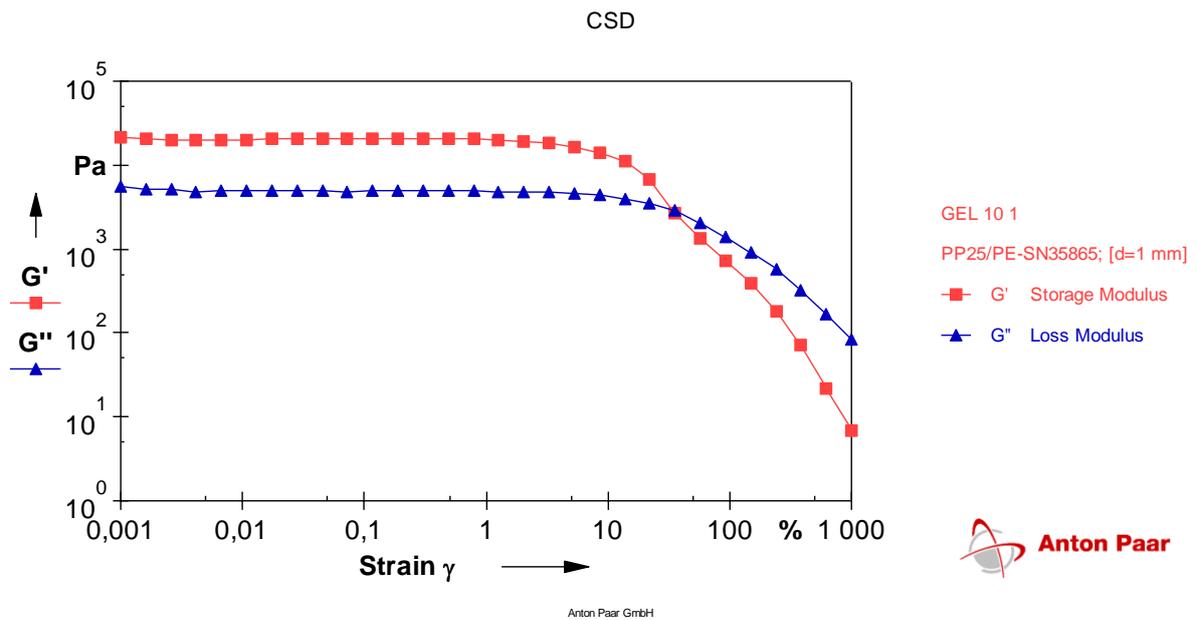
Comportement viscoélastique de l'essai N°7



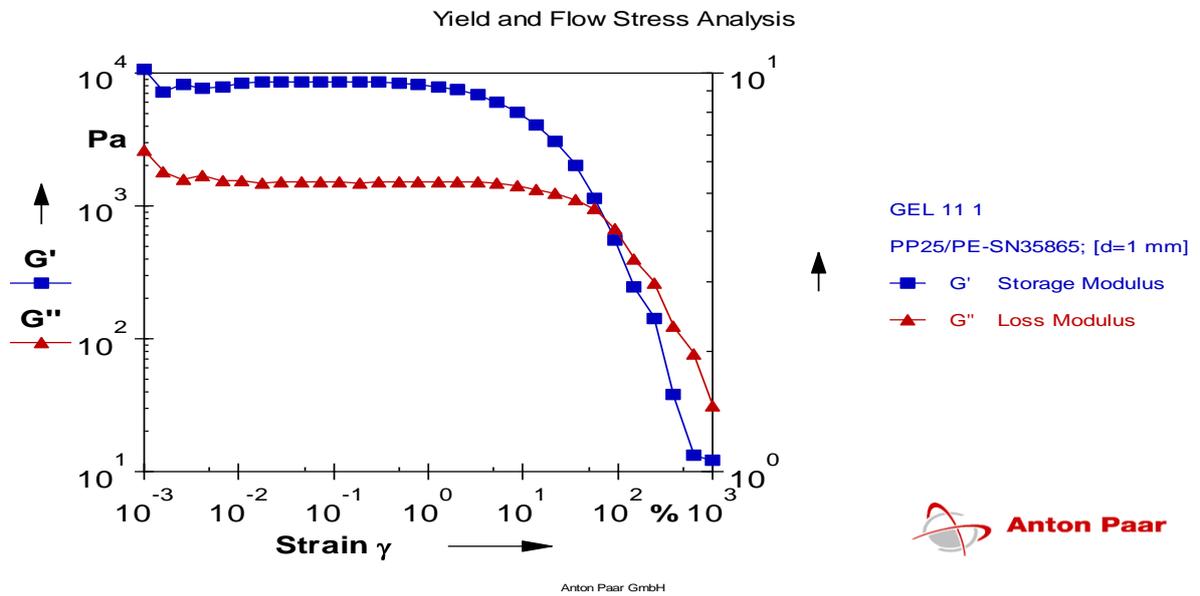
Comportement viscoélastique de l'essai N°8



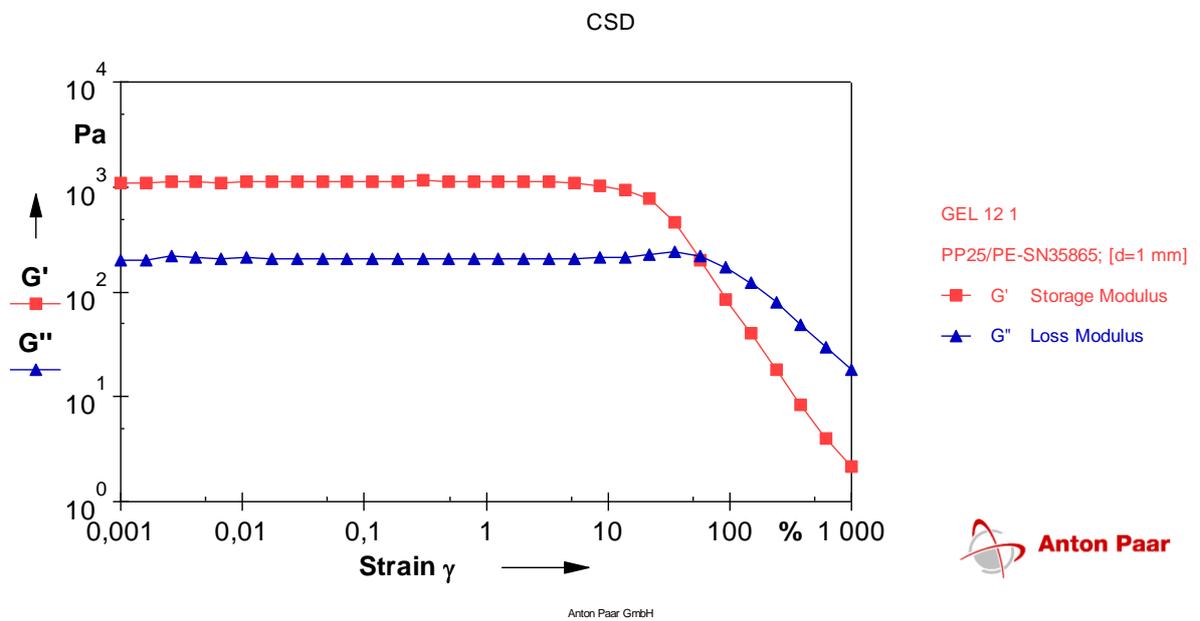
Comportement viscoélastique de l'essai N°9



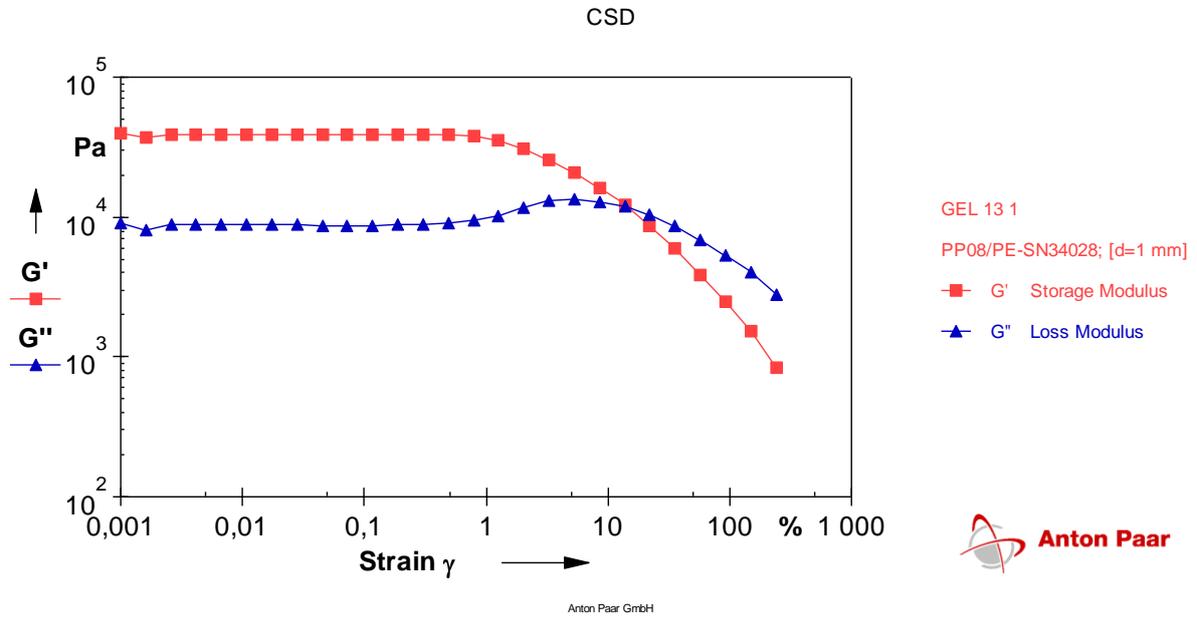
Comportement viscoélastique de l'essai N°10



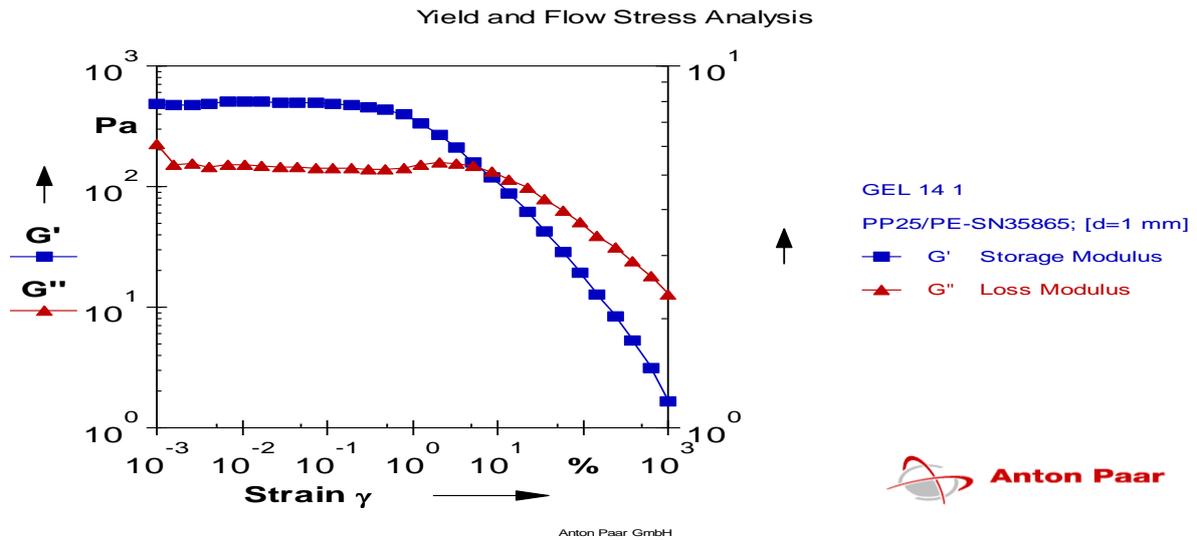
Comportement viscoélastique de l'essai N°11



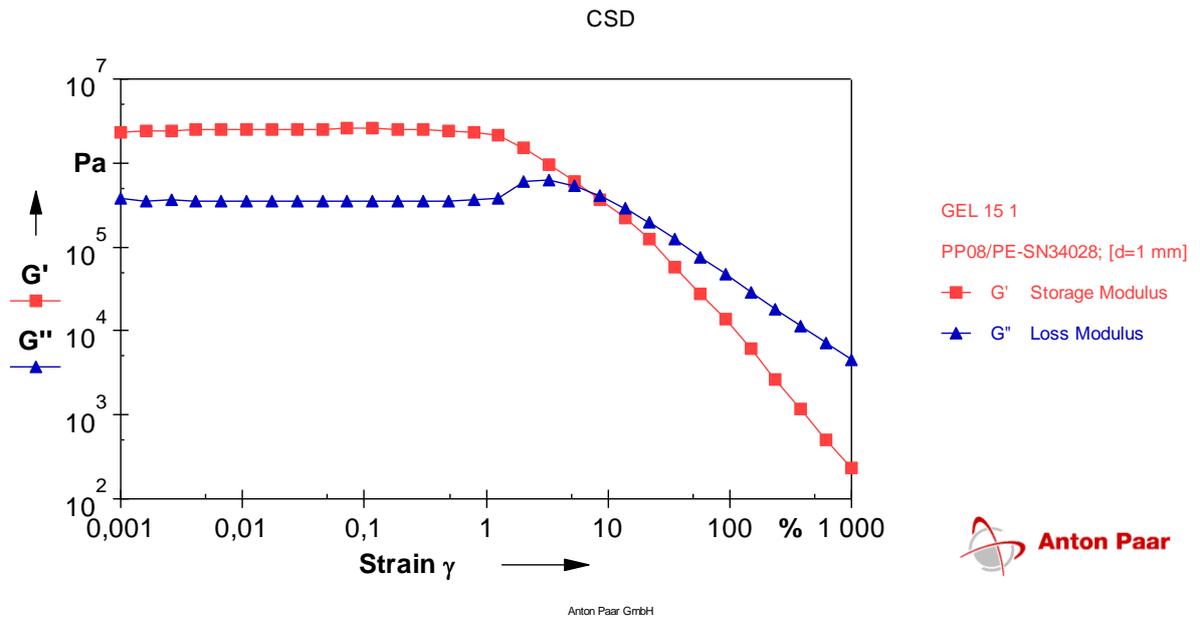
Comportement viscoélastique de l'essai N°12



Comportement viscoélastique de l'essai N°13



Comportement viscoélastique de l'essai N°14



Comportement viscoélastique de l'essai N°15

