REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité :
Chimie Pharmaceutique

Par :

BOUKARA KARIMA
BOUKHARI HAYET

Thème :

Caractérisation physico-chimique d'un hydrogel à base d'un biopolymère pour une application pharmaceutique

Soutenue publiquement le : 29 /05 /2019, Devant le jury composé de :

Dr. REBOUH SAMIA	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Présidente
Dr. GHARDAOUI DAHBIA	Grade : MAB	Etablissement : UYFM	Examinatrice
Dr. YAHOUM MADIHA M	Grade : MCB	Etablissement : UYFM	Promotrice
Dr. LEFNAOUI SONIA	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Co-promotrice

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Avant tout, on remercie, Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Nous souhaitons remercier chaleureusement notre promotrice Dr. Yahoum Madiha Melha, Maitre de conférences classe B à l'université de Médéa, pour Sa disponibilité, sa modestie, sa gentillesse et ses précieuses directives tout au long de la réalisation de ce travail nous a beaucoup impressionnés.

Je remercie également notre Co-promotrice Dr. LEFNAOUI Sonia,Maitre de conférences classe A à l'université de Médéa, pour le privilège qu'elle nous a fait en acceptant de co-diriger ce travail. Sa gentillesse, sa modestie, sa riche expérience et l'accueil cordial qu'elle nous a toujours réservé, et inspiré, une grande admiration à son égard.

Nos sincères remerciements vont à Dr. Ghardaoui, Maitre de conférences classe B à l'université de Médéa pour avoir accepté d'examiner ce travail.

On adresse également nos remerciement à Dr. Rebouh Samia, Maitre de Conférences classe A à l'université de Médéa pour avoir accepté de présider ce jury.

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

MERCI INFINIMENT.

Dédicace

Avec toute modestie, je dédie ce travail :

A mes parents, les deux êtres les plus chères à mon cœur, tout les mots du monde ne pourront décrire ma reconnaissance envers eux ; pour m'avoir soutenu ; encouragé et aidé dans ce qu'il y a de plus importants à mes yeux, j'espère être toujours à la hauteur de vos espérances.

Bien sûr, la vie n'aurait pas de goût sans eux, mes très chers frères et sœurs, et mes belles sœurs, que Dieu nous protège !

Mes chères neveux Djelloul, Younes et Rayane, que j'aime tant.

Aussi, je dédie ce mémoire à mon binôme Hayet et sa famille.

Sans oublier toute la promotion chimie pharmaceutique «2018 » et à toutes celles qui me sont chères Imene,Yasmine, Saada et Messaouda.

D'autre part, j'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants du Master 1 et 2 option chimie pharmaceutique qui m'ont enseignés, en particulier Dr. LEFNAOUI Sonia pour sa disponibilité et son amabilité et la confiance qu'elle m'a toujours témoignée.

A mes chers amis, M^{er} KiouaneTakieddine et M^{m} ^{e}Negabe Imene pour leurs encouragements constants ont toujours été pour moi les plus précieux.

A l'ensemble du personnel de la direction contrôle qualité de site de production Saidal de médéa, en particulier le département contrôle et inspection.

Karima

Dédicaces

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Les cinq années de maîtrise m'ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple.

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire" Ya Kayoum "

Je tiens à la fin de ce travail à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la foi et de m'avoir permis d'en arriver là.

A mes chers parents symbole de sacrifice, de tendresse et d'amour ;

Sont les moindres sentiments que je puisse vous témoigner. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi.

- *Je le dédie particulièrement à mon binome Karima*
- *A mes chers frères : Hichem, Adel, Ahmed et Haithem*
- *A mes adorables sœurs : Meriem, Khaoula, Maroua, Imen & Saada*
- *Toute ma famille en particulier ma puce Fati*
- *A mes très chers amis : Amina, Hala, Samah, Messaouda, Yasmine, Malika, Maria, Sara, Nadia, Imen, Khadidja, Ayoub, Chemssou, Sofiane, Abdessamie.*
- *A tous mes enseignants et mes amis de master spécialité Chimie Pharmaceutique avec lesquels j'ai passé trois années inoubliables.*

A tous ceux qui sont proches de mon cœur et dont je n'ai pas cité le nom.

Hayet

ملخص

الهدف من هذا العمل هو الكبسلة وفقا لعملية التهلم للمادة الفعالة (متفورمين الكلوروهيدرات) في مصفوفة بيوبوليمرية قابلة للتحلل من صمغ آلكزنتان. سمحت عملية التهلم بالحصول على كبسولات ذات حجم متوسط ملم 2.0655.وقد وصلت كفاءة الكبسلة93.11٪ في تركيز البيوبوليمر1.25٪ .دراسة الانتفاخ في الوسط المعدي (1.2 درجة الحموضة) والمعوي (6.8 درجة الحموضة) أظهرت معدل انتفاخ يصل إلى 29.8٪ في الوسط المعدي و٪360في الوسط المعوي.و في الوسط المائي212٪وأظهرت الدراسة الانحلال للمادة الفعالة من خلال الكبسولات انحلالا كاملا وخصوصا تلك التي أعدت بالصمغ كزنتان 1.25٪ في الوسط المعوي بعد 8ساعات حدا أقصى قيمته 90.4٪ .ولكنه لوحظ انحلال محدود وضئيل في الوسط المعدي (32.50٪) .وتبين النتائج التجريبية المتحصل عليها انحلال وفقا للإفراز المتواصل والتحرير الممدد للمادة الفعالة.

الكلمات المفتاحية: صمغ كزنتان،متفورمينالكلوروهيدرات،الكبسلة، التهلم ، التحرير الممدد.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'encapsulation selon le procédé de gélification d'un principe actif (chlorhydrate demetformine) dans une matrice polymérique biodégradable de gomme xanthane. Le procédé de gélification a permis l'obtention de microcapsules de tailles moyenne de 2.0655mm. Le taux d'encapsulation a atteint 93,11 % à une concentration de 1,25% en biopolymère. L'étude de la cinétique de gonflement des capsules dans les milieux gastrique (pH1,2) et intestinal (pH6,8) a donnée des taux de gonflement atteignant 29,8% dans le milieu gastrique et 360% dans le milieu intestinal et 212% dans l'eau distillée L'étude biopharmaceutique a montré une libération complète du chlorhydrate de metformine à partir des capsules, spécialement elles sont préparés à partir de gomme xanthane (1,25%), en milieu intestinal atteignant 90,4% après 8 heures. Cependant, une libération limitée et insignifiante a été observée dans le milieu gastrique avec un maximum observé de 32,50%. Les profils de dissolution montrent une cinétique de libération prolongée.

Mots clés : Gomme xanthane, Chlorhydrate de metformine, Encapsulation, Gélification, Libération prolongée.

Abstract

The aim of this work is encapsulation according to the process of gelation of an active ingredient (Metformin hydrochloride) in a biodegradable polymeric matrix of Xanthan Gum. The gelling process allowed obtaining beads with average sizes of 2.0655mm.Encapsulation efficiency has reached 93,11% at 1,25% biopolymer concentration. The swelling study in gastric (pH1.2) and intestinal (pH 6,8) medium showed a swelling rate reaching 29,8% in gastric medium and 360% in intestinal medium and 212% in water medium. The drug release studies showed a complete Metformin hydrochloriderelease from the beads, especially those prepared from Xanthan Gum(1,25%), in intestinal medium 90,00% after 8 hours. However, limited and insignificantdrug release was observed within the gastric medium (32,50%).The dissolution profiles show a sustained release kinetics.

Keywords: Xanthan Gum, hydrochloride de Metformin, An encapsulation, Gelling, Extended-Release.

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

TABLE DE MATIERE

LISTE DE FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

INTRODUCTION GENERALE 01

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE 03

I.1.INTRODUCTION 03

I.2. GENERALITES SUR LES POLYSACCHARIDES 04

I.2.1.Définition 04

I.2.2. Classification des polysaccharides 04

I.2.2.1. Classification des polysaccharides selon leurs structures 04

I.2.2.2. Classification des polysaccharides selon leurs sources 05

I.2.3.Dispersion des polysaccharides 06

I.3.LES GOMMES 08

I.3.1.Définition 08

I.3.2. Avantages et inconvénients 08

I.3.3.Classification 08

I.3.3.1. En fonction de la charge 09

I.3.3.2. En fonction de la source 09

I.3.4.Domaine d'application 09

I.4.GOMME XANTHANE 10

I.4.1.Historique 10

I.4.2. Définition 10

I.4.3.Structure de la gomme xanthane 11

I.4.4.Propriétés de la gomme xanthane 11

1.4.4.1. Propriétés physico-chimiques 11

1.4.5.Mode de fabrication de xanthane 13

I.4.6.Applications de la gomme xanthane 15

I.5.MICROENCAPSULATION 15

I.5.1.Définition de l'encapsulation 16

I.5.2.Types de microparticules 16
I.5.3.Avantage et intérêt de l'encapsulation 17
I.5.4.Paramètres influençant la microencapsulation 18
I.5.5.Classification des Procédés de microencapsulation 18
I.5.5.1.Procèdes physico-chimiques 20
I.5.5.2. Procédés chimiques 24
I.5.5.3. Procédés mécaniques 27
I.6.DOMAINE D'APPLICATION DE L'ENCAPSULATION 30
I.7.MECANISME DE LIBERATION CONTROLEE DES MEDICAMENTS 32
I.7.1.Système de libération par diffusion 32
I.7.2.Système de libération par gonflement suivi d'une diffusion 32
I.7.3. Système de libération par dégradation 33
I.8.MECANISME DE LIBERATION D'UU PRINCIPE ACTIF A PARTIR DES MICROPARTICULES 34
I.8.1. Systèmes à libération provoquée 35
I.8.2 Systèmes à libération contrôlée et prolongée 36
I.8.3.Paramètre influençant la libération d'un principe actif 36
I.9.PROFILS DE LIBERATION DE DIFFERENTS TYPES DE MICROPARTICULES 36
I.10.CONCLUSION 38
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALE 39
II.1.INTRODUCTION 39
II.2.MATERIEL ET PRODUITS UTILISES 39
II.2.1. Matériels 39
II.2.2.Produits chimiques utilisés 40
II.3.METHODES 40
II.3.1.Preformulation 40
II.3.1.1.Contrôle physicochimique de la Gomme xanthane 41
II.3.1.2.Contrôle physicochimique de principe actif Metformine chlorhydrate 45
II.3.1.3. Mesure de Conductivité des solutions de xanthane 47
II.3.1.4. Mesure de la viscosité des solutions de GX 47
II.3.1.5.Mesure du pH 47
II.3.1.6.Identification par FTIR du polymère et du principe actif 48

II.3.1.7.Détermination de la longueur d'onde optimale de la metformine 48
II.3.1.8. Détermination de la courbe d'étalonnage 49
II.3.2. Formulation et caractérisation des capsules 49
II.3.3. Caractérisation des capsules 51
II.3.3.1.Morphologie des capsules humides et sèches 51
II.3.3.2.Analyse granulométrique des capsules 51
II.3.3.3.Etude du gonflement des capsules 52
II.3.3.4.Détermination du Taux de Metformine chlorhydrate dans les capsules (Tau d'encapsulation) 53
II.3.3.5.Etude de la libération du principe actif à partir des capsules 53
II.4. CONCLUSION 55
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS 56
III.1.INTRODUCTION 56
III.2.RESULTATS DE L'IDENTIFICATION ET CONTROLEPHYSICOCHIMIQUE DELA GOMME XANTHANE 56
III.3.RESULTATS DE L'IDENTIFICATION ET CONTROLE PHYSICOCHIMIQUE DELA METFORMINE CHLORHYDRATE 57
III.4.MESURES DE CONDUCTIVITE 58
III.5.MESURES DE PH 59
III.6.MESURE DE VISCOSITE 60
III.7. IDENTIFICATION PAR FTIR 61
III.8.DETERMINATION DE LA LONGUEUR D'ONDE OPTIMALE 64
III.9.DETERMINATION DE LA COURBE D'ETALONNAGE 65
III.10. CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUES DES CAPSULES HUMIDES ET SECHES 67
III.10.1.ANALYSE GRANULOMETRIQUE DES CAPSULES 68
III.10.2.ETUDE DU GONFLEMENT DES CAPSULES 69
III.10.3.DETERMINATION DU TAUX D'ENCAPSULATION 73
III.10.4.ETUDE DE LA LIBERATION DU PRINCIPE ACTIF A PARTIR DES CAPSULES 74
III.11.CONCLUSION 77

CONCLUSION GENERALE 79

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Figure I.1. Types de liaisons rencontrées dans les polysaccharides

Figure I.2. Dispersion de poudres de polysaccharides dans une solution aqueuse

Figure I.3. Formule de l'unité monomériques de :**(a)**la gommeGuar, **(b)** la gomme de caroube et **(c)** la gomme d'acacia

Figure I.4. Formule moléculaire de l'unité monomérique de la gomme xanthane

Figure I.5. Aspect macroscopique de la gomme xanthane.

Figure I.6. Mode de fabrication de xanthane

Figure I.7. Représentation schématique d'une microsphère et microcapsule

Figure I.8. Principe de la coacervation simple :dispersion du principe actif dans la solution de polymère (a), formation des gouttelettes de coacervat (b), dépôt du coacervat (c), Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu (d),Solidification de l'enveloppe(e)

Figure I.9. Schéma du principe de microencapsulation par évaporation de solvant

Figure I.10. Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique

Figure I.11. Procédé d'encapsulation par polycondensation interraciale

Figure I.12. Gélification de gouttes schéma de principe

Figure I.13. Congélation de gouttes : schéma de principe

Figure I.14 : libération par diffusion.

Figure I.15 : libération par gonflement suivi d'une diffusion

Figure I.16 : La libération par dégradation

Figure I.17 : Schéma des deux différents types de libération pour les microparticules

Figure I.18. Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALE

Figure II.1. Structure chimique de Metformine chlorhydrate

Figure II.2. Schéma du dispositif pour la préparation des capsules.

Figure Error! No text of specified style in document.**.1** : Mesure de la taille des capsules par un pied à coulisse digital

Figure II .4. Test de dissolution SOTAX

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

Figure III.1.Résultats de mesure de la conductivité des solutions de GX en fonction de la concentration

Figure III.2. Résultats de mesure de pH des solutions de GX en fonction de la concentration.

Figure III.3. Résultats de mesure de viscosité en fonction de la concentration en GX.

Figure III.4. Spectre FTIR de la gomme xanthane (GX)

Figure III.5. Spectre FTIR de Metformine chlorhydrate

Figure III.6. Spectres d'absorption UV des solutions de Metformine chlorhydrate dans un milieu tampon pH1,2, dans un milieu tampon pH 6,8 et l'eau distillée

Figure III.7. Courbe d'étalonnage de Metformine chlorhydrate **dans l'**UV à λ =234 nm: **(a)** dans un milieu tampon pH 1.2, **(b)** dans un milieu tampon pH 6,8 **(c)** dans l'eau distillée

Figure III.8. Formes et aspect des capsules formulées à différentes concentration en gomme xanthane :**a ,b**: capsules à 0,5 % (p /v) sèche et humide respectivement **c, d**: capsules à 0,75 % (p /v) sèche et humide respectivement , **e ,f**: capsules à 1 % (p /v) sèche et humide respectivement, **g ,h**: capsules à 1,25 % (p /v) sèche et humide respectivement.

La figure III.9.Tailles des capsules (avant et après séchage).

Figure III.10. Cinétique de gonflement des capsules (pH1,2)

Figure III.11. Cinétique de gonflement des capsules (pH 6,8)

Figure III.12. Cinétique de gonflement des capsules (Eau distillée)

Figure III.13. Taux de gonflement final des capsules.

Figure III.14. Taux d'encapsulation du principe actif

Figure III .15. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH1.2.

Figure III .16. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH 6,8.

Figure III .17. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu l'eau distillée.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau I.1. Origine de quelques polysaccharides.

Tableau I.2. Quelques applications des gommes.

Tableau I.3. Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé

Tableau I.4. Application de la microencapsulation dans l'industrie

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES EXPERIMENTALE

Tableau II.1. Appareillage utilisé dans la caractérisation physico-chimique.

Tableau II.2. Produits et réactifs chimiques utilisés la partie expérimentale

Tableau II. 3. la pesée de matière en fonction de la nature de solubilité

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau III.1. Résultats de l'identification et contrôle physicochimique de biopolymère Gomme xanthane

Tableau III.2. Résultats de l'identification et contrôle physicochimique de Metformine chlorhydrate

Tableau III.3. Résultats des mesures de la conductivité des solutions d'GX

Tableau III.4. Résultats des mesures du pH des solutions de gomme xanthane

Tableau III.5. Résultats des mesures de la viscosité des solutions de gomme xanthane

Tableau III.6. Nombres d'ondes et groupements fonctionnels attribués à la metformine chlorhydrate.

Tableau III.7. Fréquences et groupements fonctionnels attribués à la gomme xanthane

Tableau III.8. Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du Metformine chlorhdrate

Tableau III.9 . Taille des capsules obtenues à différentes concentrations en gomme xanthane

CCM	Chromatographie couche mince
CPG	Chromatographie à haute performance phase gazeuse
C_0	Concentration initiale
C_n	Concentration non encapsulé
CV	Coefficient de variance
DO	Densité optique
FTIR	Fourier Transformed Infra Redspectroscopy
GX	Gomme xanthane
m_g	Masse des capsules à l'état gonflé
m_i	Masse des capsules à l'état initial
P	Poids
PA	Principe actif
V	Volume
R^2	Coefficients de corrélation
UV-Vis	Ultraviolet visible
λ	Longueur d'onde
δ	Déformation
ν_{as}	élongation asymétrique
ν_s	élongation symétrique

INTRODUCTION GENERALE

Le chlorhydrate de Metformine est un principe actif antidiabétique appartenant à la famille des biguanides**[1]**, administré en cas de diabète de type II en tant que régulateur du taux de sucre dans le sang, sans pour autant favoriser la sécrétion d'insuline, contrairement aux sulfamides hypoglycémiants.

Comme le chlorhydrate de Metformine est administré par voie orale, il subit une altération lors de son passage par l'œsophage et surtout lors du séjour dans l'estomac, où le pH est très acide avec en plus de la présence d'enzymes. En conséquence, la dose administrée diminue avant d'atteindre son site d'action. Ajouté à cela, il est caractérisé par un temps de demi-vie court d'environ 1,5 à 3h, nécessitant plusieurs administrations par jour ce qui influence négativement la bonne observance du traitement et donc son efficacité **[2].**Ces inconvénients majeurs font de la Metformine une bonne candidate pour la libération prolongée en utilisant une forme galénique adaptée.

De nos jours, un intérêt particulier est porté au contrôle de la vitesse et du site de libération des médicaments dans les différentes formes galéniques. La modification des technologies de libération doit être au profit du patient. Les mécanismes sont directement impliqués au pH du milieu ainsi qu'au temps de libération.

La microencapsulation est un procédé par lequel il est possible de produire des microparticules individualisées et constituées d'un matériau renfermant une matière active à raison de 5 à 90%w. Les buts de l'encapsulation peuvent être multiples : Elle permet d'immobiliser le principe actif, de le protéger du milieu extérieur, masquer une odeur ou bien encore permettre de contrôler, de déclencher et/ou de cibler sa libération **[3]**. La microencapsulation s'applique à de nombreux domaines tels que l'agroalimentaire, la pharmacie, les cosmétiques ou bien encore les catalyseurs. Selon les propriétés d'usages recherchées des microparticules, les techniques d'obtention peuvent varier. Les avantages de la microencapsulation sont sa grande efficacité d'action, son action longue durée, sa commodité d'utilisation, sa réactivité retardée, la protection du principe actif, la transformation de l'aspect de la substance (passage de l'état liquide à l'état solide), la possibilité de transporter un agent thérapeutique de façon sélective sur un site donné sans oublier le faible coût du procédé.

Les polysaccharides représentent la plus grande famille de matériaux utilisés comme agents d'encapsulation grâce à leurs diverses propriétés telles que leur biocompatibilité et biodégradabilité ainsi que leur faibletoxicité et leur pouvoir gélifiant.

Parmi les polysaccharides utilisés en tant qu'agents d'encapsulation, on peut citer l'alginate, l'agar, la pectine ou encore le chitosane et le kappa-carrageenan**[4]**.

Le développement d'un procédé d'encapsulation requiert une démarche complexe qui consiste à choisir un type de procédé, définir les matières premières utilisables, étudier leur formulation et le procédé d'encapsulation.Le présent travail avait ainsi pour principal objectif la formulation d'un système d'encapsulation de la Metformine chlorhydrate, à base de gomme xanthane qui est un polysaccharide d'origine microbienne. La méthode utilisée pour la mise au point de ce système est la gélification ionotropique en présence de chlorure d'aluminium comme agent de réticulation.

Ce mémoire a donc été structuré en trois parties principales.

La première partie ou le chapitre I, a été dédiée à une revue bibliographique, dans laquelle sont abordées, les différentes notions théoriques utiles, en passant par les polysaccharides, les gommes et en particulier, la gomme xanthane sans omettre la description des différentes techniques de microencapsulation.

La deuxième partie quant à elle a été consacrée au matériel et méthodes. Dans ce deuxième chapitre, on retrouve l'ensemble du matériel et équipement ainsique les méthodes utilisés pour la formulation des microcapsules et les différentes techniques employées pour leur caractérisation tels que : l'analyse infrarouge, la conductivité et la détermination des taux de gonflement et d'encapsulation ainsi que l'étude cinétique de libration du principe actif.

Une troisième partie, résultats et discussions renferme l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus à partir des tests physico-chimiques, ainsi que l'interprétation et la discussion de chaque résultat.

Finalement, la «Conclusion générale» conclut le travail par une récapitulation de l'ensemble des résultats présentés tout au long du document et par la présentation des perspectives de recherche.

CHAPITRE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.INTRODUCTION

Un polymère est une macromolécule formée de l'enchaînement covalent d'un très grand nombre d'unités de répétition qui dérivent d'un ou de plusieurs monomères. Plusieurs classifications de ces composés macromoléculaires peuvent être proposées selon leur origine, leur architecture et la structure chimique de leurs motifs ou encore le type de polymérisation.

Comme base de la classification selon l'origine on distingue : les polymères naturels (provenant d'une source végétale, animale ou minérale) qui sont des composés organiques formant la matière vivante (comme les polysaccharides les protéines, les acides nucléiques, la cellulose, la chitine) ou encore les polymères artificiels qui sont dérivés des polymères naturels, généralement obtenus par modification chimique de polymères naturels de façon à transformer certaines de leurs propriétés et enfin les polymères synthétiques obtenus par polymérisation de molécules monomères qui n'existent pas dans la nature.

Les polysaccharides sont des macromolécules de natures glucidiques très présentes chez tous les êtres vivants, comme c'est le cas de l'amidon, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines qu'on retrouve chez les végétaux ou comme le glycogène et l'acide hyaluronique chez les animaux. La chitine existe aussi chez les insectes et les crustacés; et dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) comme le xanthane, β- glucanes, les carraghénanes.

Le xanthane est un polysaccharide microbien obtenu par fermentation de sucre en présence de la bactérie *Xanthomonas campestris*. Du fait de ses propriétés rhéologiques particulières notamment, son pouvoir épaississant important et émulsifiant, le xanthane fut l'objet de nombreuses recherches.

L'objectif du présent chapitre consiste en, l'étude pour le moins exhaustive, de la famille des polysaccharides qui se compose de plusieurs classes. Une étude détaillée sera par la suite consacrée à la gomme xanthane, qui est le polysaccharide objet de notre étude ainsi que les différentes méthodes d'encapsulation des médicaments.

I.2. GENERALITES SUR LES POLYSACCHARIDES

I.2.1.Définition

Les polysaccharides sont des macromolécules composées essentiellement de résidus mono-saccharidiques liés par des liaisons de nature glucosidique de configuration α ou β **(Figure I.1)**. Les polysaccharides sont constitués de polymères de masses moléculaires très élevés, le nombre de monomères constituant un polymère pouvant varier au sein d'un même échantillon. Les polysaccharides forment un groupe hétérogène de polymères de compositions multiples et variées, et de longueurs différentes **[5]**.

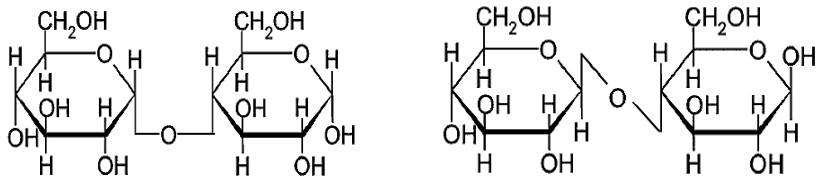


Figure I.1. Types de liaisons rencontrées dans les polysaccharides **[5].**

I.2.2. Classification des polysaccharides

Comme tous les polymères, les polysaccharides peuvent être classés selon plusieurs critères, notamment : leur structure et leur origine**.**

- Selon la structure : on distingue deux groupes : les homo-polysaccharides et les hétéro-polysaccharides.
- Selon la source : les polysaccharides se trouvent dans les bactéries, les algues, les champignons, les animaux et les végétaux **[6]**.

I.2.2.1. Classification des polysaccharides selon leurs structures

Les polysaccharides d'origine végétale sont les plus valorisés. On distingue les homo-polysaccharides et les hétéro-polysaccharides selon qu'ils présentent un ou plusieurs types d'unité mono-saccharidique:

a. Homo-polysaccharides

Les homo-polysaccharides sont des polysaccharides de structure linéaire, formés d'un seul type de monosaccharide. Ces molécules peuvent être classées en fonction de la nature de leur unité monosaccharide, comme par exemple ; les glucanes qui sont des polymères de glucose et les galactanes qui sont des polymères de galactose **[7].**

b. Hétéro-polysaccharides

Les hétéro-polysaccharides sont constitués de plusieurs unités d'oses (sucres) différents. Ce sont des molécules possédant une structure ramifiée et des poids moléculaires très élevés contenant au moins deux paires de monosaccharides **[8]**.

I.2.2.2. Classification des polysaccharides selon leurs sources

Les polysaccharides proviennent principalement des végétaux ou des sources animales, algales et bactériennes.

a. Polysaccharides d'origine animale

La forme la plus courante de polysaccharides d'origine animale est le glycogène, qui se compose d'une chaîne ramifiée de résidus de glucose**.** Il est stocké dans le foie et les muscles. C'est en effet une façon pratique, pour l'organisme, de mettre en réserve des surplus de glucose. Le glycogène accumulé dans le foie peut se défaire de nouveau en glucoses qui passent dans la circulation sanguine **[9].**

b. Polysaccharides d'origine végétale

Les parois des cellules végétales sont essentiellement composées de polysaccharides, expliquant la part majoritaire de ces molécules dans la biomasse. Les polysaccharides des végétaux sont divisés en deux groupes, selon leur fonction en : polysaccharides de structure et polysaccharides de réserve **[10].**

- **Polysaccharides de réserve** : c'est l'ensemble des molécules source d'énergie pour les êtres vivants comme principalement le glucose, sous forme d'amidon chez les végétaux et le glycogène chez les animaux **[11]**.
- **Polysaccharides structuraux :** ces carbohydrates participent à la formation des structures organiques, comme la cellulose qui participe à la structure des tissus de soutien chez les végétaux. Chez les animaux, c'est la chitine qui joue ce rôle **[12]**.

c. Polysaccharides d'origine microbienne

Les bactéries synthétisent plusieurs types de polysaccharides qui peuvent être classés en trois grands groupes selon leur localisation dans la cellule : le premier groupe rassemble les polysaccharides du cytosol, ils servent de source de carbone et d'énergie à la cellule. Le second groupe concerne les constituants de la paroi tels que les acides téichoïques et les peptidoglycanes quant au troisième groupe, lui réunit les polysaccharides élaborés par la cellule et secrétés dans le milieu (exo-polysaccharides) **[13]**.

d. Polysaccharides d'origine marine : extraits d'algues

Chez les algues il existe une grande variété d'unités saccharidiques, qu'elles soient neutres, acides ou aminées, mais seul un nombre restreint d'entre elle sera rencontré couramment dans les polysaccharides d'algue. Leurs monosaccharides sont généralement présents au sein de la chaîne polysaccharidique sous forme de pyranose ou cycle à 6 chainons **[13]**.

Tableau I.1. Origine de quelques polysaccharides **[14]**.

Origine des polysaccharides	Polysaccharides
Végétale	Amidon, Cellulose Pectine, Gomme Arabique.
Algale	Alginate, Agars Carraghénanes, Fucanes
Animale	Héparine, Chondritine, Glycogene, acide hyaluronique , chitine
Microbienne	Dextranes, Xanthane, Gellane , Curdlane

I.2.3.Dispersion des polysaccharides

Les polysaccharides ont une affinité pour l'eau du fait de la présence des fonctions hydroxyles. Lors de leur dispersion, ces molécules peuvent augmenter de volume jusqu'à 10 fois leur volume initial. Cette caractéristique leur confère des propriétés de rétention d'eau.

La dispersion des polysaccharides passe par une étape de gonflement des grains, suivie d'une solubilisation complète accompagnée de la structuration finale du mélange **(Figure I.2)**. Il est de ce fait nécessaire d'individualiser les grains de polysaccharides afin de faciliter le gonflement par hydratation avec les molécules d'eau. Pour cela, des agents dispersant peuvent être utilisés, ces derniers contribuent à isoler les grains les uns des autres et permettent d'éviter leur agglomération (formation de grumeaux) au contact de l'eau. La formation de grumeaux peut également être limitée en ajoutant lentement la poudre de polysaccharide dans un liquide soumis à une forte agitation.

La solubilité des polysaccharides dépend de leur structure moléculaire et de la présence de ramifications qui augmente leur solubilité. Les polysaccharides portant des charges électriques sont solubles sous forme saline, et deviennent insolubles sous forme acide **[15]**.

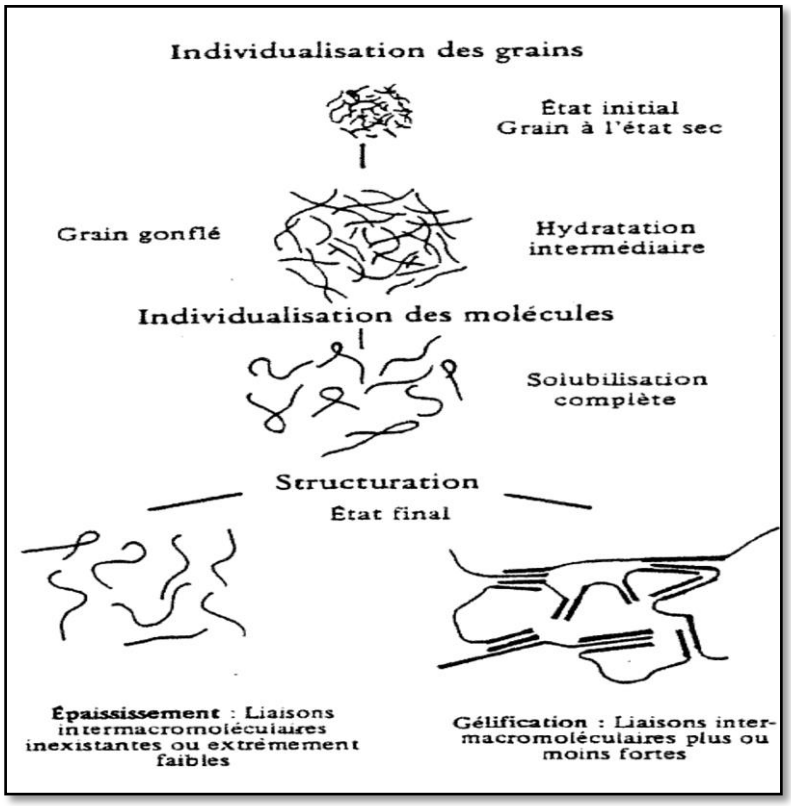


Figure I.2. Dispersion de poudres de polysaccharides dans une solution aqueuse **[15]**.

I.3. LES GOMMES

I.3.1. Définition

Les gommes sont des substances mucilagineuses et transparentes, provenant de l'exsudation naturelle ou provoquée de certains végétaux. Les gommes sont de nature glucidique (polysaccharides) produits pour la plupart par des plantes ou encore des microorganismes **[16]**.

I.3.2.Avantages et inconvénients

Les gommes présentent plusieurs avantages comme **[17]**:

1. **Biodégradabilité** : Naturellement produites par des organismes vivants, elles représentent vraiment une source renouvelable et n'ont pratiquement aucun impact sur l'environnement.
2. **Biocompatibilité** : Les gommes sont chimiquement des polysaccharides et ne présentent aucun effet négatif sur la santé.
3. Disponibilité et abondance.
4. Meilleure tolérance par les patients due à leurs faibles effets secondaires.
5. Obtention à partir de sources comestibles

Les gommes présentent aussi quelques inconvénients comme la contamination microbienne rapide et la variation des propriétés d'un lot à un autre en fonction de la source et du climat selon la localisation géographique **[18]**,

I.3.3.Classification

Les gommes sont présentes en grandes quantités dans une large variété de plantes, d'animaux, d'algues, de champignons et d'autres sources microbiennes, où elles remplissent un certain nombre de fonctions structurelles et métaboliques; les sources végétales fournissent les plus grandes quantités. Les différentes gommes disponibles peuvent être classées comme suit **[19]** :

1.3.3.1. En fonction de la charge

On distingue plusieurs types de gommes **[19]**

a. Gommes anioniques : Comme la Gomme Xanthane, la gomme Arabique, la Gomme Karaya, la gomme Tragacanthe (dragon) .

b. Gommes cationiques : telle que la gomme guar cationique.

c. Gommes non-ioniques : comme la gomme guar.

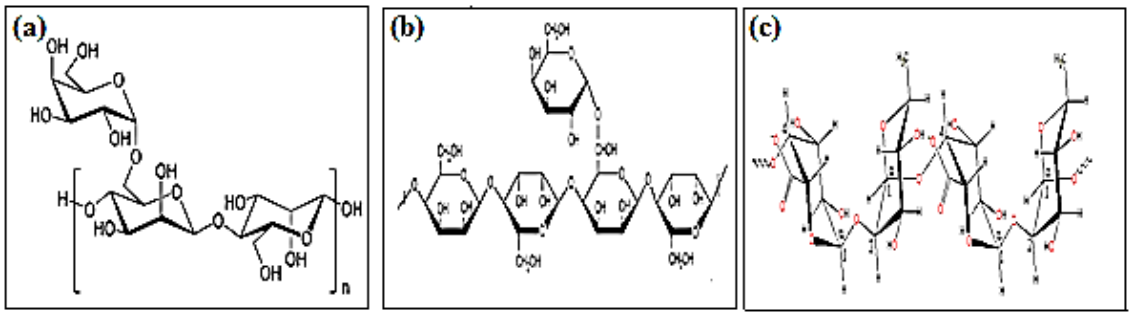


Figure I.3. Formule de l'unité monomériques de : **(a)** la gomme Guar , **(b)** la gomme de caroube et **(c)** la gomme d'acacia **[19]**

1.3.3.2. En fonction de la source

On distingue les gommes d'origine marine comme l'agar, les gommes d'origine végétale telles que : la gomme arabique, la gomme Ghatti, la gomme Karaya, la gomme Tragacanthe, la gomme Khaya et, la gomme d'Albizia, la gomme guar, et la gomme de mélèze ou encore d'origine microbienne telle que la Xanthane **[19].**

I.3.4.Domaines d'application

Les gommes trouvent des applications variées dans différents domaines et surtout dans l'industrie agroalimentaire, cosmétique ou pharmaceutique. Le tableau I.2, ci-après, illustre quelques exemples d'applications de certaines gommes.

Tableau I.2. Quelques applications des gommes.

Nom commun	Nom botanique	Application	Référence
Gomme guar	Cyamopsis Tetragonolobus	Agent liant, désintégrant, Emulsifiant stabilisant, laxatif.	**[20], [21], [22]**
Gomme d'Acacia	Acacia arabica	Agent liant dans les comprimés, agent de suspension, Emulsifiant et émollient.	**[23]**
Gomme Ghatti	Anogeissus Latifolia	Agent liant dans les comprimés, agent de suspension, Emulsifiant	**[24]**
Gomme Tragacanthe	Astragalus Gummifer	Agent de suspension, Emulsifiant et émollient.	**[25]**
Gomme Karaya	Sterculia urens	Agent de suspension, Emulsifiant, bioadhésif .	**[26], [27]**

I.4. GOMME XANTHANE

I.4.1. Historique

La gomme xanthane a été découverte par Allene Rosalind Jeanes du département américain de l'agriculture, lors de ses recherches sur les bio-polymères et leurs utilisations potentielles. Elle a été commercialisée dans les années soixante par l'entreprise Kelco Company sous la marque Kelzan. Depuis elle est acceptée comme un additif alimentaire sans danger pour la consommation par les États-Unis, le Canada et l'Europe **[28]**.

I.4.2.Définition

La gomme xanthane (GX) est un polysaccharide extracellulaire sécrété par le microorganisme *Xanthomonas Campestris.* C'est un bio-polymère hydrophile très soluble dans l'eau et confère un comportement pseudo-plastique à la solution. La GX est reconnue pour sa très grande stabilité sous différentes conditions de pH et de températures. Ce polysaccharide est résistant à la dégradation enzymatique.

Le xanthane est utilisé dans plusieurs sphères de fabrication industrielle surtout pour ses propriétés épaississantes et stabilisantes qui sont largement exploitées dans le domaine de formulation des émulsions.

I.4.3.Structure de la gomme xanthane

La gomme xanthane est un polyoside ramifié **(Figure I.4)**. Trois fonctions apparaissent sur les cycles de la chaîne latérale du motif :

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

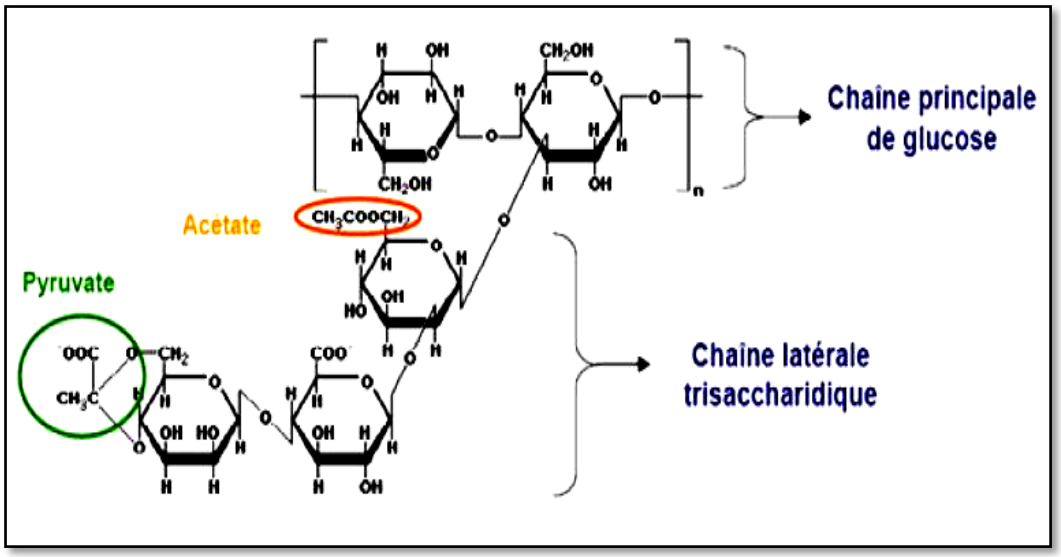


Figure I.4. Formule moléculaire de l'unité monomérique de la gomme xanthane **[29]**.

I.4.4.Propriétés de la gomme xanthane

I.4.4.1. Propriétés physico-chimiques

a. Aspect organoleptique

La gomme xanthane est une poudre fluide de couleur crème blanchâtre, inodore et insipide **(Figure I.5)**.



Figure I.5. Aspect macroscopique de la gomme xanthane.

c. Solubilité

La XG est hydrosoluble aussi bien à froid qu'à chaud et passe rapidement en solution dans l'eau (solutions aqueuses translucides et neutres) et dans le lait à température ordinaire. Par contre, la GX est insoluble dans la plupart des solvants organiques. Elle a un bon potentiel de rétention d'eau, même à de faibles concentrations **[30]** et permet aussi de limiter la synérèse par son action liante **[30].**

d. Rhéologie

Le xanthane est un polysaccharide anionique possédant un poids moléculaire variant entre 2-20 x 10^6 Da. La distribution du poids moléculaire de la GX dépend de l'association entre les chaînes de GX et aussi des conditions utilisées lors de sa production par la fermentation **[31].** La conformation adoptée par la molécule de GX influence ses diverses propriétés physico-chimiques. Lorsque la GX est sous la forme d'hélice, les chaînes latérales se trouvent rapprochées de la chaîne de glucose alors que sous la forme désordonnée, les chaînes latérales sont éloignées de la chaîne principale **[32].** Sa conformation subit une transition de la forme d'hélice (ordonnée) à pelote (désordonnée) à de faibles forces ioniques.

e. Viscosité

La viscosité de la solution de GX dépend non seulement de la concentration en GX et de la température mais aussi de la force ionique et du pH **[31].** La solution de GX présente une stabilité remarquable lors d'un chauffage. Bien que sa viscosité diminue lors du chauffage, elle récupère rapidement sa valeur après refroidissement. Cette

propriété est liée à la transition de la conformation de GX par la température de l'état ordonné à l'état désordonné lors du chauffage et de l'état désordonné à l'état ordonné lors du refroidissement **[32].**

L'effet du sel sur la viscosité de la GX dépend de la concentration en bio-polymère. À de faibles concentrations (≤ 0.3 %), l'ajout de sels conduit à une réduction légère de la viscosité. À des concentrations élevées en GX, l'ajout des sels augmente la viscosité, particulièrement pour le $CaCl_2$, et un gel est formé à une concentration en sel de 30 % **[33].** Les sels monovalents comme le chlorure de sodium induisent une diminution de la viscosité à faible concentration (≤ 0.25 %). Cependant, la viscosité augmente avec l'augmentation de la concentration en sel (≥ 0.5 %) due à la réduction de la charge et donc des forces répulsives entre les groupes chargés de la GX, favorisant la stabilisation de sa structure secondaire **[34].**

La viscosité de la solution de GX est très stable sur une large gamme de pH, ce qui montre la stabilité de l'état d'enchevêtrement des chaînes de GX dans la zone de pH comprise entre 4 et 10.

I.4.5.Mode de fabrication de xanthane

La gomme xanthane, avec un haut poids moléculaire, est obtenue par l'action fermentative d'une bactérie, la *Xanthomonas campestris,* sur un substrat hydrocarboné (exemple : amidon de maïs, glucose, saccharose). Le mélange obtenu est purifié avec de l'éthanol ou de l'isopropanol, séché et moulu **(Figure I.6)**.

La première étape de ce procédé consiste en la synthèse de la gomme par fermentation aérobie en milieu stérile et en présence de la bactérie *Xanthomonas campestris.* Le milieu de culture contient divers nutriments nécessaires au développement de la bactérie : des sels de magnésium, de potassium ou de calcium, des sources d'azote et de carbone (glucose, fructose ou amidon). La réaction se déroule à température et pH contrôlés (respectivement entre 28 et 32°C et entre 6,5 et 7,5) jusqu'à consommation totale du carbone **[35]**.

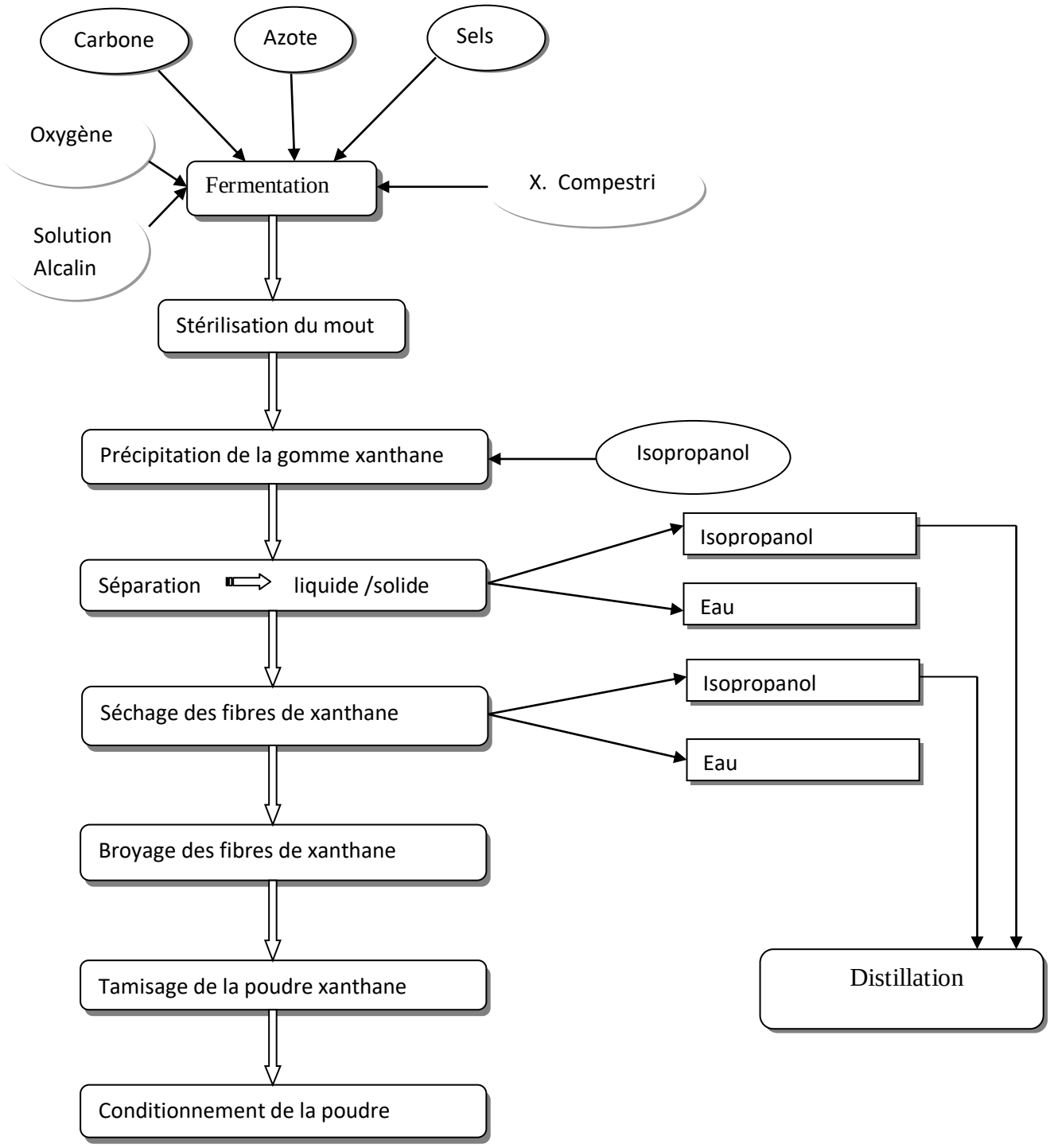


Figure I.6. Mode de fabrication de xanthane **[35]**

En fin de fermentation, le mout réactionnel contient, outre le xanthane, des cellules bactériennes, des protéines et des nutriments résiduels. Plusieurs étapes de purification sont alors nécessaires pour éliminer ces impuretés. En premier lieu, le mout est stérilise thermiquement (entre 80 et 130°C) pendant une dizaine de minutes afin de tuer les bactéries *Xanthomonas.* Après refroidissement du milieu, le xanthane est alors précipité dans de l'isopropanol. Les fibres sont ensuite récupérées par filtration ou centrifugation, séchées, broyées et tamisées, et la poudre finale obtenue conditionnée. L'isopropanol usage, provenant des étapes de précipitation et de séchage, est purifié par distillation et réinjecté dans le processus de production. Par ailleurs, suivant les applications visées, des traitements supplémentaires peuvent être effectués sur la gomme lors de la fermentation, du processus de purification et/ou après séchage. Le mout peut, par exemple, être chauffé en milieu basique afin d'ôter les fonctions acétate présentes dans le polymère, ou bien soumis a des étapes de purification plus poussées, dans le but d'éliminer toute trace de débris **[35].**

I.4.6.Applications de la gomme xanthane

Le principal domaine d'application du xanthane est l'agroalimentaire. Cette gomme est autorisée dans l'industrie alimentaire aux Etats-Unis depuis 1969, en France depuis 1974. De nombreuses industries exploitent les propriétés rhéologiques remarquables du xanthane. Il est utilisé comme épaississant dans l'agroalimentaire sous la dénomination E 415 (assaisonnements, sauces, crèmes, glaces). En cosmétique, il est présent dans les dentifrices, les crèmes ou les gels. L'industrie pétrolière l'utilise pour la récupération assistée du pétrole en tant qu'agent viscosifiant. Il est largement employé en pharmaceutique en tant qu'excipient entrant dans la formulation de différentes formes galéniques. Dans les formes à libération prolongée, la gomme xanthane a été utilisée comme agent de suspension dans les dispersions solide/liquide et en tant que stabilisant dans les émulsions **[36].** La liste des applications est encore longue (peintures, vernis, explosifs, etc…) et rend compte de l'importance de ce produit.

I.5.MICROENCAPSULATION

L'encapsulation est une science multidisciplinaire qui est en constante évolution. De nos jours, les capsules doivent être de plus en plus performantes et originales, que cela soit pour leur design mais aussi pour leur mode de libération.

L'industrie pharmaceutique a développé plusieurs matériaux de revêtement et beaucoup de méthodes d'encapsulation. Dans les années 30, plusieurs brevets ont été enregistrés au sujet de l'encapsulation des principes actifs, médicinaux et non médicinaux (antibiotiques, vitamines,…).

D'autres industries ont été intéressées, et le sont toujours par cette technique (alimentaire, photographique,…). En outres, l'industrie chimique avait développé de nouveaux polymères avec des applications potentielles dans la micro-encapsulation.

I.5.1.Définition de l'encapsulation

La micro-encapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation des microparticules individualisées constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. La micro-encapsulation permet aux principes actifs d'atteindre dans les meilleures conditions possibles les points cibles où leur efficacité sera maximale. Dans cette perspective de protection et d'aide à la vectorisation, la micro-encapsulation se présente comme une réponse à la fois logique et performante. Elle consiste à encapsuler à l'intérieur d'une enveloppe le contenu que l'on souhaite protéger et dont on veut maitriser la libération (principe actif) **[37].**

La micro-encapsulation, par son effet barrière, isole le produit actif du milieu environnant et le protège efficacement de tout facteur dégradant : radiation lumineuse ou thermique, agression chimique, incompatibilité avec d'autres produits **[37].** Les microparticules présentent une taille comprise entre 1 µm et 1 mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active.

I.5.2.Types de microparticules

Les microparticules peuvent se diviser en deux groupes distincts **(Figure I.7)** :

- ✓ **Les microcapsules**, c'est-à-dire des particules réservoir constituées d'un cœur de matière active liquide (plus ou moins visqueux) ou solide, entouré d'une écorce solide continue de matériau enrobant.

- ✓ **Les microsphère**s, c'est-à-dire des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active, à l'état de molécules de fines particules solides ou encore de gouttelette de solutions **[38].**

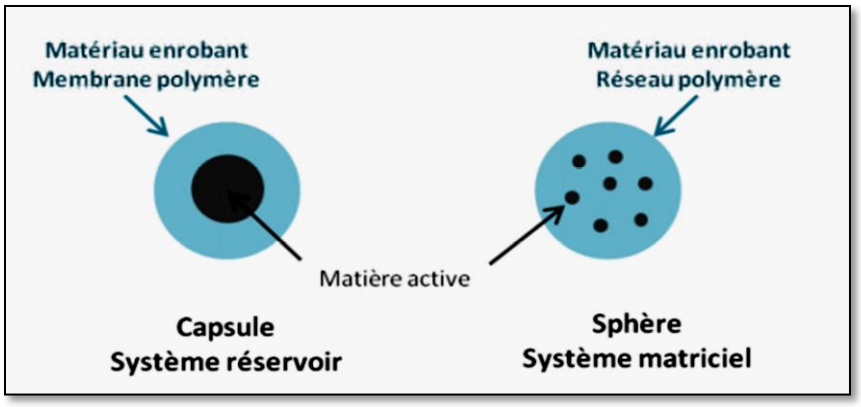


Figure I.7 : Représentation schématique d'une microsphère et microcapsule **[38].**

I.5.3.Avantage et intérêt de l'encapsulation

L'encapsulation présente d'innombrables avantages tels que **[39]:**

- Protection du principe actif (PA) encapsulé (humidité, chaleur, lumière, oxydation)
- Séparation de matériaux incompatibles
- Contrôle de l'écoulement des poudres
- Manipulation facilitée des PA toxiques
- Aide la dispersion dans l'eau de composés insolubles
- Protection de l'environnement
- Libération contrôlée (ou prolongée) des PA
- Ciblage notion de « **vecteurs »**
- Assurer la protection vis-à-vis de l'oxydation, de l'hydroscopie, de l'auteur de la lumière, de l'acidité et l'alcalinité, de l'évaporation **[39]**
- assurer aussi la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation.
- Réduction de la toxicité et l'irritation gastro-intestinale ;
- Diminution de la volatilité de plusieurs médicaments ;

- Modification dans le site d'absorption pour les médicaments qui ont la toxicité à pH inférieur ;
- Masquage des propriétés organoleptiques comme la couleur, le goût, l'odeur de la substance, et ainsi l'amélioration de la conformité du patient ;
- Conversion des composants actifs liquides en un pseudo-solide sec pour faciliter la manipulation et le stockage.

I.5.4. Paramètres influençant la micro-encapsulation

Avant de procéder à une micro-encapsulation, il faut tenir compte de plusieurs critères, tels que :

- La taille moyenne et la largeur de distribution granulométrique ;
- La teneur en matière actives ou taux d'encapsulation ;
- Les contraintes de stabilité au cours du stockage et au cours de la mise en œuvre ;
- La durée de conservation sous libération de matière active, ainsi que le milieu dans lequel les particules seront conservées ;
- Les conditions de libération et la cinétique de libération ;
- Les contraintes règlementaires liées au domaine d'application et au mode d'administration qui sont prescrites dans les règlementations nationales et internationales (Pharmacopée Européenne par exemple).

I.5.5. Classification des Procédés de micro-encapsulation

Il existe de nombreuses méthodes d'encapsulation **[40].** Pour produire des microparticules qui se différencient les unes des autres par des détails comme la solubilité du polymère formant la paroi, la taille des particules, l'épaisseur et la perméabilité de la paroi et les propriétés physiques.

Les procédés de micro-encapsulation sont variés, et il est nécessaire de les classer pour faire un choix approprié lorsque l'on doit résoudre un problème de formulation dans ce domaine. Les différentes méthodes de micro-encapsulation peuvent être classifiées selon différents critères**. [41].** proposent quatre manières différentes de classer les méthodes d'encapsulation :

- Les procédés peuvent être classés selon l'emploi ou non de solvant organique ; certaines techniques telles que la coacervation complexe utilisent des fluides supercritiques.
- La nature du milieu dispersant peut également servir de base à une classification ; il peut être liquide (polycondensation inter faciale, coacervation, …), gazeux (spray drying, enrobage en lit fluidisé, …), ou encore à l'état supercritique (séparation de phase, …).
- La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule peut également permettre de classifier les modes d'encapsulation : peuvent être utilisés des polymères préformés (coacervation, …), des lipides (spray congealing,…), ou encore des monomères (polycondensation inter faciale, polymérisation en milieu dispersé, …).
- Enfin, une dernière classification repose sur la nature du principe selon lequel est réalisée la micro-encapsulation : on distingue les procédés physico-chimiques des procédés chimiques et mécaniques.

Ces méthodes, sont récapitulées dans le tableau présenté ci-dessous selon la dernière classification présentée précédemment.

Tableau I.3: Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé **[37,42].**

Types de procédé	**Mode d'encapsulation**	**Gamme de tailles de microparticules obtenue**	**Type de produit Obtenu**
Procédés chimique	Polycondensation interraciale	2-2000 µm	**Microcapsules**
	Polymérisation interraciale	2-2000 µm	**Microcapsules**
	Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique		**Microsphères**
Procédés physicochimiques	Séparation de phases ou coacervation (simple ou complexe)	2-1200 µm	**Microcapsules Microsphères**

	Evaporation extraction de solvant	0.5-200 µm	**Microsphères**
	Gélification thermique d'émulsion (hot- melt)		**Microsphères**
Procédés mécanique	Nébulisation/Séchages (spray drying)	1-200 µm	**Microsphères**
	Gélification ou congélation de gouttes (prilling)	200-800 µm	**Microsphères**
	Enrobage en lit fluidisé (spray coating)	35-5000 µm	**Microcapsules**
	Extrusion/sophronisation	≥200 µm	**Microsphères**

Pour la suite de ce chapitre, c'est cette dernière classification qui sera observée. Trois principaux types de procédés peuvent être distingués:

- **Procédés physico-chimiques ;**
- **Procédés mécaniques ;**
- **Procédés chimique.**

I.5.5.1. Procèdes physico-chimiques

Ils sont basés sur la maîtrise des variations de solubilité et des conditions de précipitation des agents enrobant. Il s'agit par exemple de la précipitation contrôlée d'un non solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation simple), ou encore d'une variation de température et de pH de la solution (coacervation complexe). Ils peuvent être basés sur des changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobant (gélification thermique d'émulsions).

1. Coacervation

La coacervation consiste à provoquer la précipitation d'un polymère ou de plusieurs polymères par séparation de phase. On parle alors respectivement de coacervation simple ou complexe. La coacervation peut être provoquée par un changement des

conditions physicochimiques (pH, salinité …), par l'addition d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible, ou encore par la mise en contact de polymère de charges opposées. Elle peut être réalisée par exemple à partir d'une émulsion d'huile dans une solution aqueuse de polymères (un mélange de gélatine/gomme d'acacia par exemple), suivie d'une précipitation des coacervat (par acidification) à la surface des gouttelettes d'huile **[43].**

a. Coacervation Complexe *:* La formation de complexes est possible dans un système aqueux ayant deux polymères hydrophiles de charges opposées **[44].** Le procédé de formation de complexes peut être résumé comme suit :

- Un premier bio-polymère (généralement une protéine) est dissout dans l'eau,
- Le principe actif est mélangé à la solution de bio-polymère,
- L'ajout d'un deuxième bio-polymère de charge opposée entraîne la neutralisation des charges du premier bio-polymère et les complexes se forment.
- La formation de complexes diminue la solubilité des bio-polymères dans l'eau, entraînant une séparation de phases avec une phase riche en complexes de bio-polymères contenant l'ingrédient actif et une autre phase presque dépourvue de bio-polymère mais riche en solvant **[45].**Ce sont ces complexes qui forment la paroi des microcapsules après isolement.

Il faut rappeler que cette formation de coacervat est influencée par plusieurs conditions dont **[46]:**

- le pH ;
- la force ionique ;
- la concentration des polymères totaux ;
- la composition des polymères ;
- le rapport des deux polymères ;

b. Coacervation simple *:* Une coacervation simple **(Figure I.8)** peut se former avec un seul type de bio-polymère dans un solvant où le polymère n'est pas soluble ou par addition d'un composé (sels et alcools) ayant une affinité plus élevée pour l'eau **[44].**

De cette manière, ce composé entre en compétition avec le polymère en question. Lorsque les polymères perdent la couche d'eau associée à leurs chaînes, il y a formation de coacervat entre les différentes chaînes **[45, 47].**

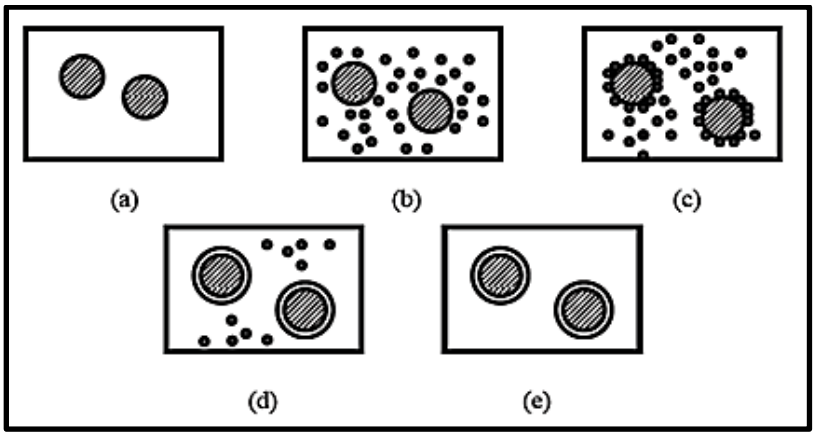


Figure I.8. Principe de la coacervation simple :dispersion du principe actif dans la solution de polymère (a), formation des gouttelettes de coacervat (b), dépôt du coacervat (c), Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu (d), Solidification de l'enveloppe(e).

2. Emulsion et évaporation-extraction de solvant

Ce procédé est basé sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase, sous forme de microsphères. Les polymères généralement hydrophobes sont tout d'abord dissous dans un solvant organique peu miscible avec l'eau comme le dichlorométhane. Puis, le principe actif est dissous ou dispersé dans la solution de polymère.

Le mélange est émulsifié dans un grand volume d'eau contenant des tensioactifs tels que l'alcool polyvinylique, afin d'obtenir une émulsion huile-dans-eau. L'évaporation du solvant après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente (**Figure I.9**).

Cette technique est à déconseiller si le principe actif est volatil ou possède une grande affinité pour la phase continue aqueuse.

L'extraction consiste, elle, à transférer l'émulsion dans un grand volume d'eau contenant ou non des surfactifs et permettant la diffusion rapide du solvant.

Après élimination du solvant, les particules sont lavées, collectées par filtration ou centrifugation puis séchées ou lyophilisées.

Le procédé choisi ainsi que sa vitesse de réalisation vont influencer les caractéristiques des microsphères obtenues. Une extraction de solvant, plus rapide que l'évaporation, peut par exemple, entraîner la formation de microsphères poreuses **[48].**

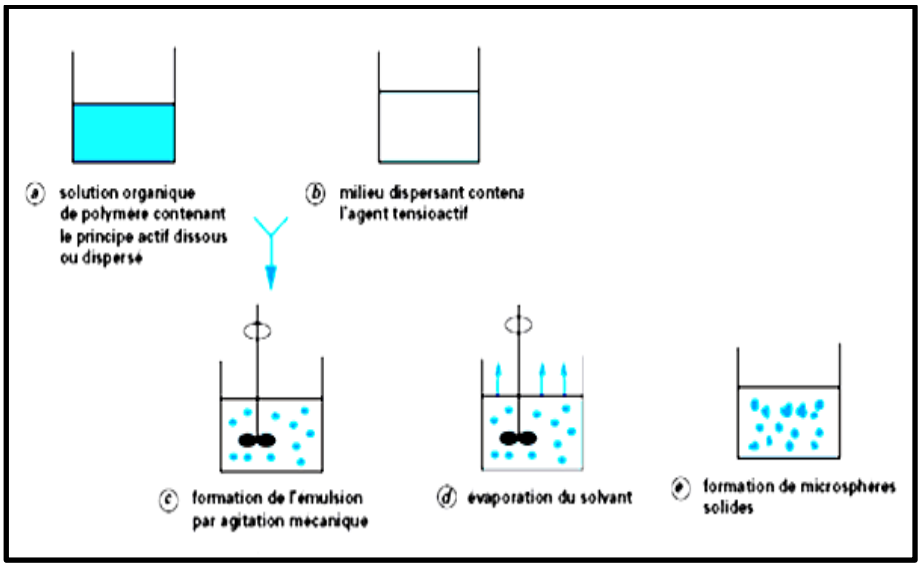


Figure I.9. Schéma du principe de micro-encapsulation par évaporation de solvant **[37]**

La méthode telle que décrite ci-dessus est appropriée dans le cas de molécules actives lipophiles. Deux types de modifications peuvent être apportés pour l'encapsulation de principes actifs polaires :

1. Premièrement, l'émulsion huile dans eau peut être remplacée par une émulsion huile dans huile, en utilisant, en phase interne, un solvant organique volatile (acétonitrile, acétone…) qui contient alors les polymères et la molécule active et, en phase continue, une huile non volatile et non miscible (minérale ou végétale) contenant un tensioactif de faible balance hydrophile lipophile (HLB).

2. L'autre possibilité est de former une émulsion multiple eau dans huile dans eau. La phase aqueuse contenant la molécule hydrophile est ajoutée à la phase organique volatile contenant les polymères sous très forte agitation (sonicateur, homogénéisateur haute pression…) pour former la première émulsion eau dans huile. Celle-ci est ensuite ajoutée sous faible agitation dans un grand volume d'eau contenant les tensioactifs.

Le solvant organique est évaporé ou extrait comme précédemment décrit et les microsphères, lavées, collectées et séchées ou lyophilisées.

Cette méthode dite de double émulsion permet d'obtenir de très forts rendements d'encapsulation de molécules hydrophiles telles que les protéines, par exemple. Elle nécessite cependant un contrôle strict, à toutes les étapes, de la température et de la viscosité de l'émulsion interne et n'est appropriée d'une poudre faible quantité de matière active à encapsuler **[49].**

3. Micro-encapsulation par gélification de gouttes : Gélification thermique « HOT MELT »

Le principe de ce procédé consiste à dissoudre ou disperser la matière active à encapsuler dans le matériau d'enrobage en fusion puis à émulsionner l'ensemble dans une phase dispersante à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant **(Figure I.10).** On utilise en général, pour le matériau d'enrobage, des lipides de bas point de fusion (cire de Carnauba, alcool cétylique…).Le milieu est ensuite refroidi brutalement afin de solidifier les particules obtenues. Ce procédé permet la micro-encapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles si l'on choisit une phase dispersante pour laquelle ces molécules ont peu d'affinité (huile de silicone et eau respectivement). Une technique similaire consiste à utiliser des polymères hydrophiles capables de former des gels lors du refroidissement (gélatine, agarose…) **[49].**

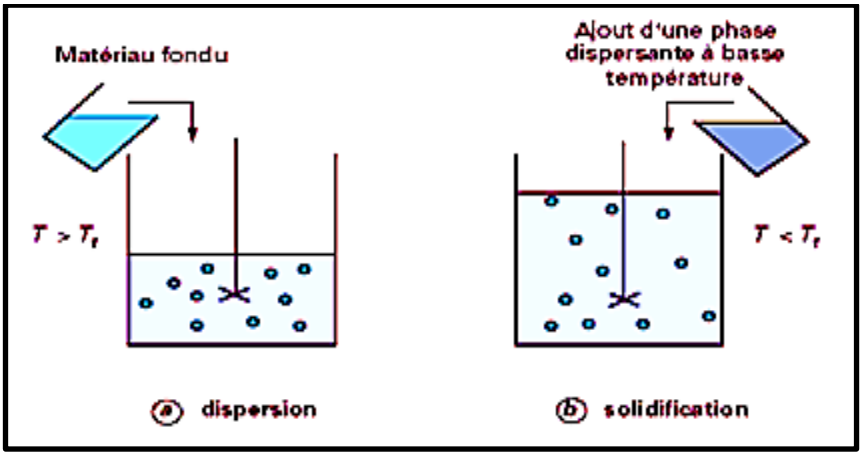


Figure I.10. Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique **[37]**

I.5.5.2.Procédés chimiques

1. Polycondensation inter faciale

Ce procédé qui appartient aux procédés chimiques d'encapsulation consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées. Dans le cas d'un principe actif lipophile, la première étape consiste à préparer une solution contenant cette molécule et un premier monomère dans un solvant organique puis de former une émulsion de cette phase organique dans une phase aqueuse contenant un tensioactif**. [49]**

On ajoute ensuite dans cette phase aqueuse, le second monomère hydrosoluble afin d'induire la réaction des deux monomères à l'interface huile/eau où ils auront diffusé (**Figure I.11**). Les monomères les plus couramment utilisés dans ce cas sont des chlorures d'acide ou des diisocyanates couplés à des diamines conduisant respectivement à des membranes de polyamide ou de polyurée.

Pour un principe actif hydrophile, on forme une émulsion inverse (eau/huile) dans un solvant de température d'ébullition élevée, à partir d'une solution aqueuse contenant le principe actif et le monomère hydrosoluble. Puis le monomère organo-soluble est ajouté dans la phase dispersante. **[49]**

La taille des microsphères obtenues est comprise entre 0,5 et 100 μm et dépend principalement de l'agitation du système, de la vitesse d'ajout des deux monomères et de la cinétique de diffusion. **[49]**

La formation et les caractéristiques de la membrane vont dépendre, elles aussi, de la nature et de la concentration en monomères, tensioactifs et solvants **[49].**

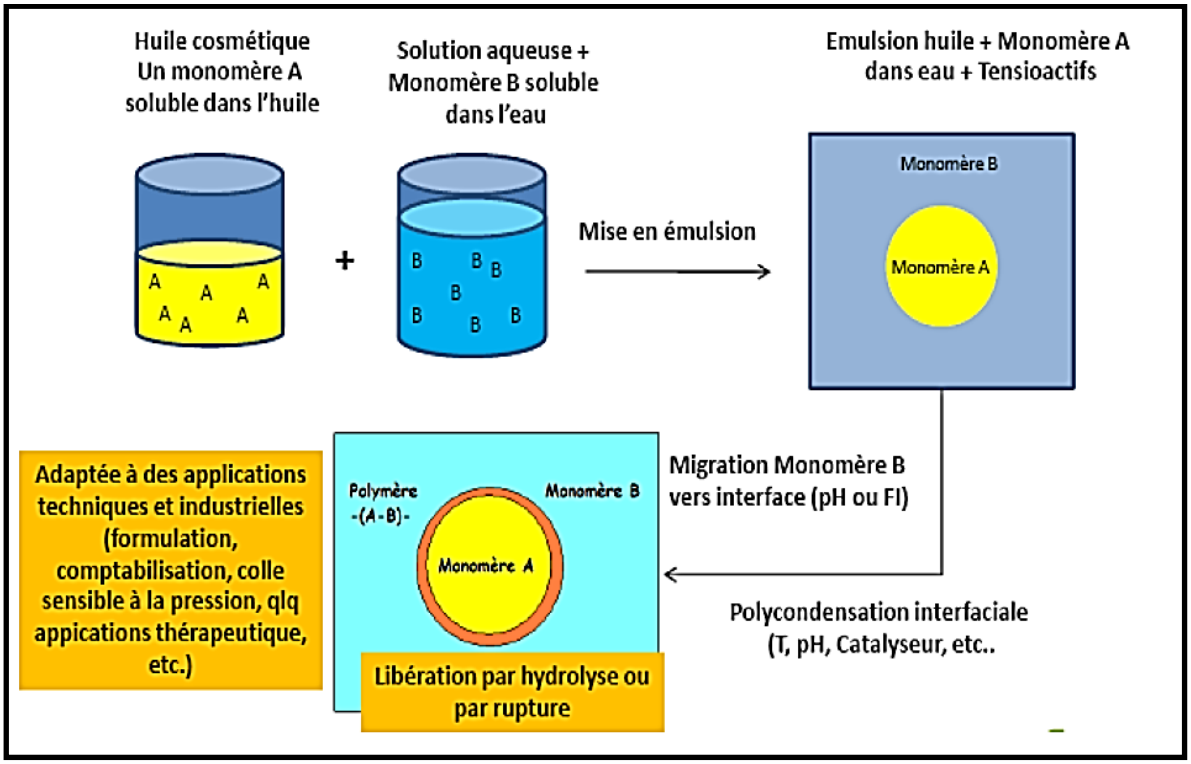


Figure I.11. Procédé d'encapsulation par polycondensation inter faciale **[49].**

2. Polymérisation en milieu dispersé

Ces procédés permettent la formation de microparticules à partir de monomères synthétiques du type acrylique, vinylique ou cyanoacrylate d'alkyle. Ils mettent en jeu une phase de formation des particules appelée nucléation suivie d'une phase de croissance donnant lieu à des particules de type matriciel **[49].**

Deux mécanismes principaux sont à distinguer :

a. La polymérisation en émulsion : Dans ce cas, une émulsion des monomères en phase aqueuse est réalisée avant la polymérisation, le principe actif étant préalablement solubilisé ou dispersé dans les monomères. La réaction de polymérisation radicalaire ou anionique selon les monomères utilisés s'initie respectivement par l'ajout d'un amorceur ou par simple contact avec la phase aqueuse. **[49]**

b. La polymérisation en dispersion : Dans ce cas, la nucléation se fait en phase homogène, les monomères et la matière active étant initialement solubilisés dans la phase continue. La croissance des oligomères suite à la polymérisation amorcée par

un initiateur, donne lieu à leur précipitation sous forme d'agrégats stabilisés par les tensioactifs présents dans la phase continue.

La technique de polymérisation en dispersion conduit à des particules de diamètre nettement supérieur à celui des particules obtenues par polymérisation en émulsion (respectivement 1 à 15 μm et 100 nm à5μm) **[49].**

I.5.5.3. Procédés mécaniques

1. Enrobage en lit d'air fluidisé : « spray-coating »

La première étape de cette technique de micro-encapsulation consiste à fluidiser une poudre des particules de principe actif (granulés, cristaux…) dans une colonne placée sous un courant d'air ascendant (chambre cylindrique verticale).

Cette fluidisation permet d'assurer un mélange constant des particules avec un transfert de chaleur optimal entre l'air et la surface des particules. Puis, une buse de pulvérisation placée au sommet ou à la base de la suspension fluide permet de disperser, sous forme de fines gouttelettes, le matériau enrobant à la surface des particules. Un enrobage continu et homogène s'obtient suite à des passages successifs et cycliques des particules dans la zone de pulvérisation et dans la zone d'expansion où a lieu le séchage.

La formation du film d'enrobage s'effectue au contact des particules après des étapes successives de mouillage, étalement puis séchage par évaporation du solvant contenant les gouttelettes de matériau enrobant. Celui-ci est constitué en général de solutions organiques ou dispersions aqueuses de polymères (dérivés cellulosiques ou acryliques) qui peuvent contenir des plastifiants afin de favoriser la formation du film d'enrobage à la température de séchage ainsi que des additifs (anti-mottant, lubrifiants…). Des corps gras ou des cires peuvent également être utilisés.

L'obtention d'un bon enrobage va dépendre à la fois des paramètres de pulvérisation (concentration de la formulation, débit, taille des gouttelettes) et des paramètres de séchage (volume d'air de fluidisation, température de l'air, degré d'humidité).

L'épaisseur des films d'enrobage déposés sur les particules est généralement comprise entre quelques micromètres et 20 μm et doit être suffisante pour masquer les défauts de surface **[49].**

2. Nébulisation-séchage « spray-drying »

La technique d'encapsulation par atomisation est la technique la plus utilisée dans l'industrie alimentaire **[46,50].**Grâce à ses nombreux avantages. Cette technique a été utilisée pour l'encapsulation des flaveurs pour la première fois dans les années trente avec de la gomme d'acacia comme matrice protectrice **[46].**

Cette technique comporte d'abord une étape de préparation de la dispersion d'ingrédients actifs dans une solution de bio-polymères protecteurs qui peuvent être de la maltodextrine, de l'amidon modifié, une gomme, ou une combinaison de bio-polymères **[51].** Ensuite, la dispersion est homogénéisée pour réduire la taille des particules, puis séchée par atomisation dans une chambre à air chaud soufflé **[51].**

La taille moyenne des microparticules obtenues par nébulisation-séchage est typiquement comprise entre environ 01µm et 200µm et le taux d'encapsulation est limité à environ 40% **[51].**

3. Gélification des gouttes

Cette technique est basée sur la formulation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique **[37].** Les gouttelettes formées par extrusion à travers une buse vibrante, sont réceptionnées dans une phase aqueuse gélifiante contenant un réticulant tel que le chlorure de calcium **[37].**Elles se transforment instantanément en des microparticules de gel sphérique, comme c'est le cas par exemple pour la gomme xanthane en présence de chlorure d'aluminium (**Figure I.12**).

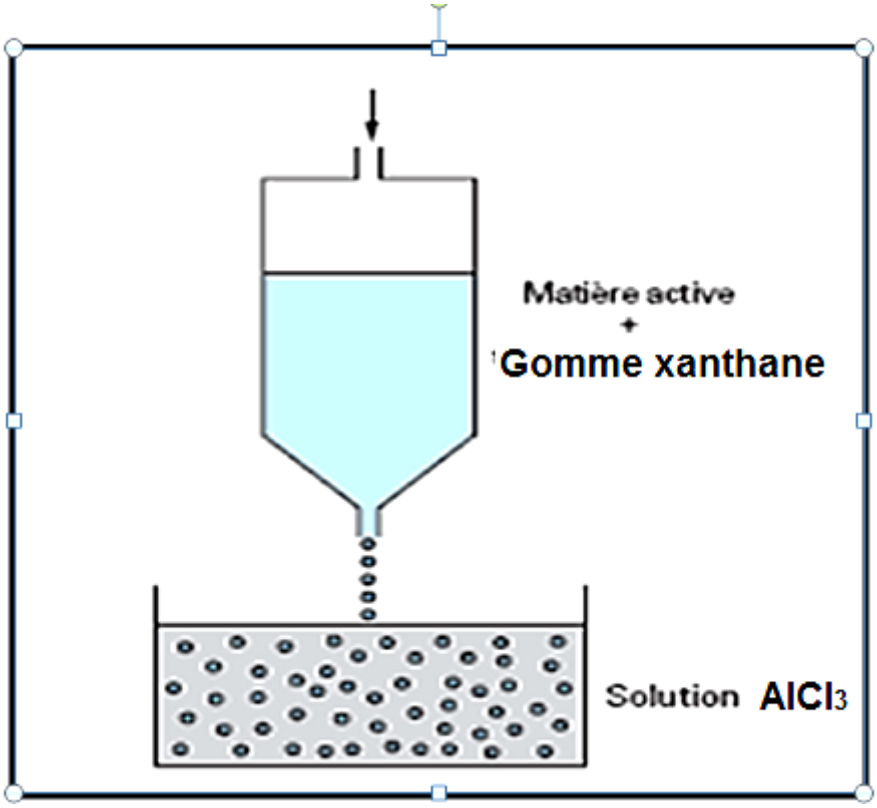


Figure I.12.Gélification de gouttes schéma de principe **[37].**

Les avantages de la méthode de gélification des gouttes :

- ✓ Technologie polyvalente : Production de structures solides (surtout lipidiques) ou liquides à partir de différents matériaux (gélatine, alginate , gomme xanthane, chitosane, cellulose) ; structures matricielles ou de type cœur-membrane).
- ✓ Microbilles uniformes : Forme sphérique, distribution étroite de la taille
- ✓ Taille des billes : Diamètres de 0,1 mm à 3 mm
- ✓ Rendement élevé : Peu de perte de matière
- ✓ Facilement évolutive : A partir d'une dizaine de grammes jusqu'à plusieurs centaines de kilogrammes par lot

4. Congélation des gouttes

Cette technique consiste à préparer un fond d'un matériau enrobant, généralement un corps dont le point de fusion est compris entre 50 et 120°C, dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme particulière solide, soit sous forme de

microgouttelettes d'émulsion inverse E/H **[37].** Cette préparation fondue et maintenue à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant et extrudée sous pression à travers une buse vibrante. Le jet fondu est sectionné sous forme de gouttelettes sphériques de taille uniforme **[37].**Ces gouttelettes se refroidissent dans le milieu de chute (air froid, azote…) (**Figure I.13**).

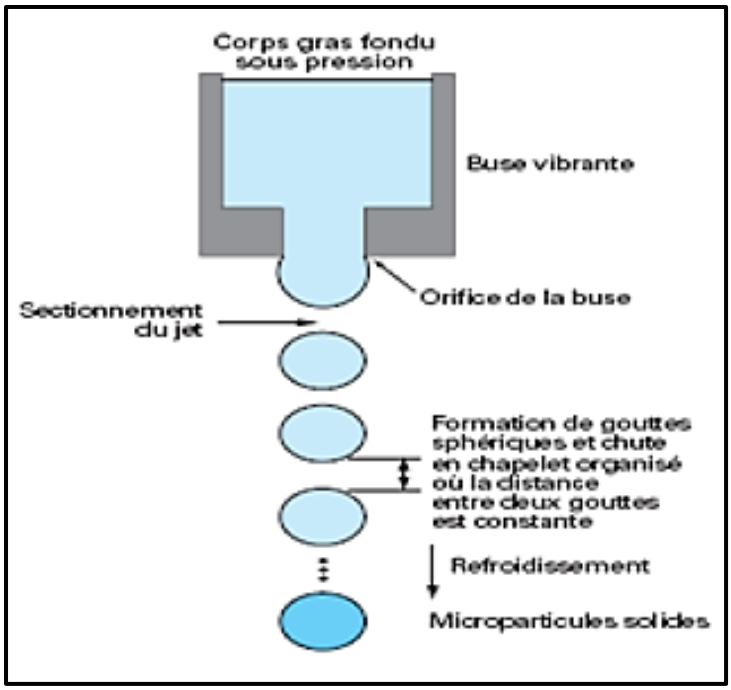


Figure I.13. Congélation de gouttes : schéma de principe **[37].**

I.6.DOMAINES D'APPLICATION DE L'ENCAPSULATION

La fabrication de capsules renfermant des colorants pour la préparation de papiers permettant la duplication sous faible pression, à la fin des années 1950, est la première application industrielle de la micro-encapsulation. Puis les recherches dans le domaine de l'encapsulation se sont intensifiées, afin de développer de nouvelles technologies d'encapsulation, d'encapsuler de nouveaux composés, et de proposer de nouveaux matériaux enveloppants, comme par exemple des polymères biocompatibles pour le domaine médical **[48].**

On trouve désormais des applications de la micro-encapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le tableau I.4 suivant, dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés **[42-43-52-53]**.

Tableau I.4: Application de la micro-encapsulation dans l'industrie **[42-43-52-53]**.

Domaine industriel	**Exemples de composés encapsulés**
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps…
Cosmétique	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser…
Alimentaire	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro organismes
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs hormones végétales…
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels
Chimie	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastiques, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants…
Détergent	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants…
Textile	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatiques, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques
Graphisme et impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles…
Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photo polymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants…
Electronique	Cristaux liquides, matériaux semi conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques…
Traitement des déchets	Microorganismes, substrats, détoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels à risques, déchets radioactifs…

I.7.MECANISME DE LIBERATION CONTROLEE DES MEDICAMENTS

Le mécanisme de libération le plus prépondérant est la diffusion, mais la biodégradation et le gonflement du polymère interviennent assez fréquemment dans ce type systèmes. Ceci élargie le champ des facteurs qui permettent le contrôle de la libération **[54]**

Il existe trois mécanismes primaires par lesquels les principes actifs peuvent être libérés d'un système de libération. **[54]**:

1. Libération par diffusion,
2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion,
3. Libération par dégradation.

I.7.1. Système de libération par diffusion

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération. La diffusion peut se produire à l'échelle macroscopique (à travers les pores de la matrice) ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaînes de polymères. L'exemple de systèmes de libération par diffusion est montré sur la figure I.14 qui montre que la diffusion se produit quand le principe actif passe de la matrice de polymère dans l'environnement externe **[54]**

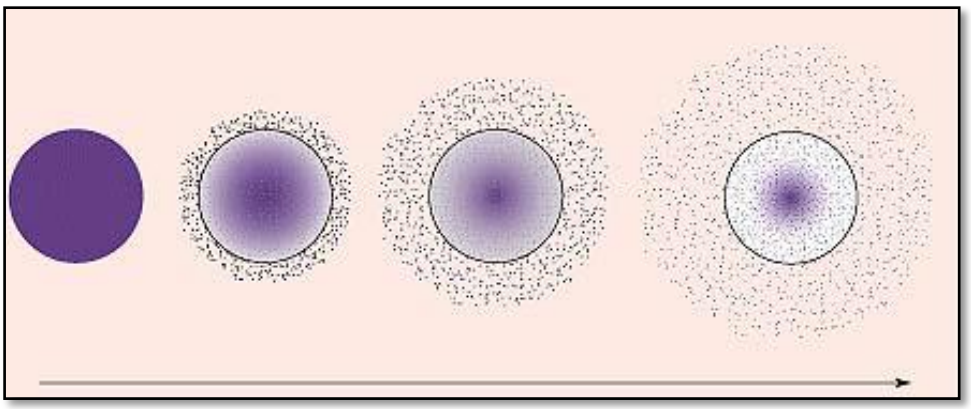


Figure I.14 : libération par diffusion **[54].**

I.7.2. Système de libération par gonflement suivi d'une diffusion

Pour ce type de système, la libération du principe actif est accomplie seulement quand le polymère gonfle. Puisque plusieurs polymères (sensible aux pH), potentiellement les plus utiles, gonflent aux valeurs élevées de pH et s'effondrent aux

basses valeurs, la libération de médicament se produit sur une augmentation du pH du milieu extérieur. De tels systèmes sont idéaux pour l'administration orale, dans laquelle le principe actif ne se libère pas au niveau de l'estomac (pH acide) mais plutôt aux valeurs élevées de pH dans l'intestin supérieur. La figure I.15 illustre les changements de base de la structure de ces systèmes sensibles **[55].**

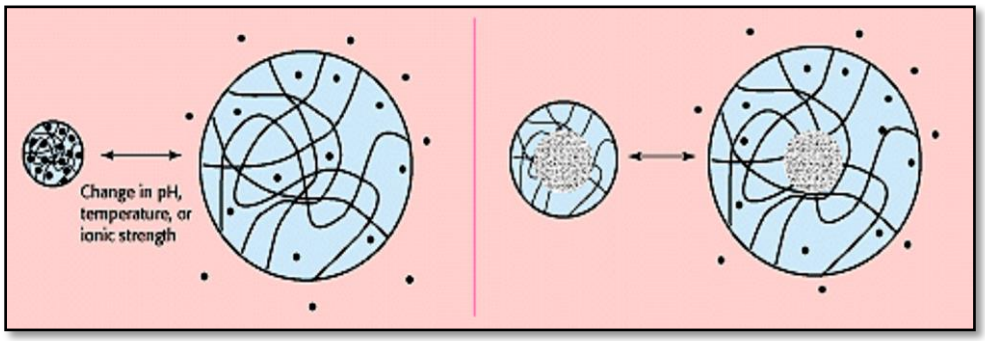


Figure I.15 : libération par gonflement suivi d'une diffusion **[55].**

I.7.3. Système de libération par dégradation

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faible biologiquement éliminable. Dans certains cas les produits de la dégradation entrent dans un processus métabolique **[54].**

La dégradation peut s'effectuer selon deux phénomènes **[54]:**

a. **Une hydrolyse en masse :** la dégradation est uniforme dans toute la matrice polymère).

b. **Une dégradation en surface :** Pour quelques polymères dégradables, notamment les poly anhydrides et les poly ortho esters , la dégradation se produit uniquement sur la surface des polymères, ayant pour résultat un taux de rejet proportionnel à la surface du système de la libération de principe actif.

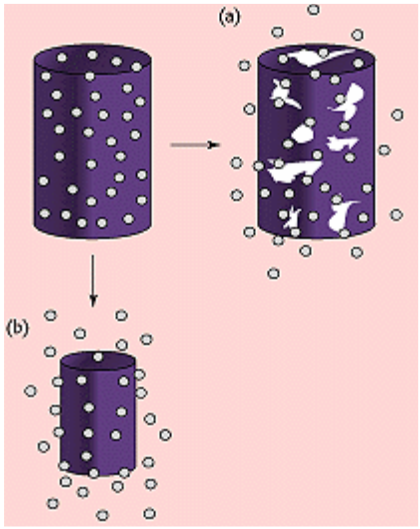


Figure I.16 : Libération par dégradation **[54]**

I.8.MECANISME DE LIBERATION D'UU PRINCIPE ACTIF A PARTIR DES MICROPARTICULES

Une particule se caractérise par sa taille et sa distribution de taille, sa forme, sa porosité, ses propriétés mécaniques et thermiques, sa tension de surface, sa mouillabilité, son potentiel zêta, son degré de gonflement de la surface **[56].**

Les propriétés dépendent du procédé d'encapsulation. Nous reviendrons sur l'influence de ces différents paramètres un peu plus loin.

Les principaux paramètres gouvernant les propriétés de ces systèmes sont :

- les paramètres du milieu extérieur : la température **[57],** le pH **[58],** l'humidité,
- les paramètres intrinsèques à la phase encapsulée : la solubilité, la température d'ébullition et de fusion.
- les paramètres intrinsèques a la membrane (ou matrice) : la structure chimique du polymère, a masse molaire **[59]** et sa cristallinité ainsi que l'épaisseur et la porosité de la membrane **[60].**

D'autre part, selon le procédé d'encapsulation et la morphologie de la particule, le taux d'encapsulation varie entre 20 et 35% pour les sphères et peut être supérieure à 85% dans le cas de capsules **[61].**

Le taux d'encapsulation (loading) est défini comme suit (Eq 1) :

$$L\ (\%) = \frac{m_{PAE}}{m_{part}} \qquad (1)$$

Avec $\boldsymbol{L}$: le taux d'encapsulation en (%). $\boldsymbol{m_{PAE}}$ et $\boldsymbol{m_{part}}$: la masse en (mg) de principe actif encapsulé et la masse totale de la particule, respectivement.

En fonction de leur application, il est possible de classer les particules en deux catégories : les systèmes a libération provoquée et les systèmes a libération contrôlée et prolongée **(Figure I.17).**

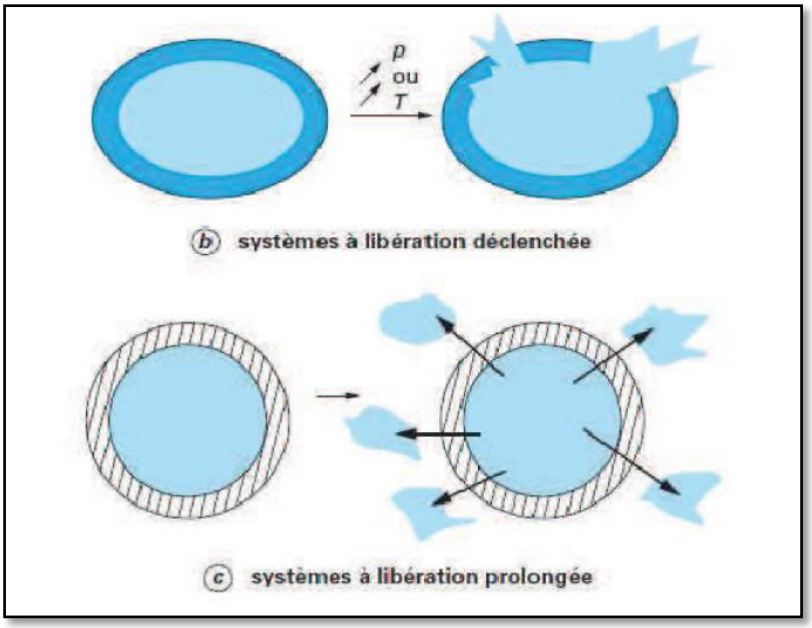


Figure I.17 : Schéma des deux différents types de libération pour les microparticules **[62].**

I.8.1. Systèmes à libération provoquée

Ce sont généralement des capsules dont le contenu est libéré brutalement par rupture de la membrane ayant une faible perméabilité. La rupture est déclenchée par une variation de température, de pH, une dégradation enzymatique de la membrane ou une pression mécanique ou osmotique **[62].**

1.8.2. Systèmes à libération contrôlée et prolongée

Dans ces systèmes, le principe actif est libéré par diffusion à travers la membrane en suivant les lois de Fick. Dans ce cas-la, la matrice ou la membrane est perméable **[63]** ou elle se dégrade, se dissout au cours du temps **[64]** (érosion, gonflement).

I.8.3. Paramètre influençant la libération d'un principe actif

Les profils de libération peuvent être très différents selon les caractéristiques de la particule telles que la morphologie (capsule ou sphère), la taille, la structure et l'épaisseur de la membrane ou de la matrice, la localisation du principe actif. Ils dépendent aussi du milieu environnant.

Il est à noter que les paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé sont :

- Solubilité du PA dans le milieu de libération et dans la membrane polymérique ;
- Taux d'encapsulation ;
- Interaction chimique entre le PA et polymère (qui doivent être minimisées) ;
- Caractéristique morphologiques du système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme)

I.9. PROFILS DE LIBERATION DE DIFFERENTS TYPES DE MICROPARTICULES

La diffusion du PA selon les modes de la cinétique de libération obéit à différentes allures (**Figure I.18**) **[37]**.

- **Profils A et D :** À partir des microcapsules, on peut obtenir des cinétiques de libération d'ordre 0 (profils A) ou d'ordre 1 (profils D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active. Les modèles d'ordre 0 et 1 sont ceux qui représentent le mieux les profils de la cinétique de libération du principe actif en fonction du temps pour les formes conventionnelles. L'équation qui régit cette libération est fondée essentiellement sur le modèle de diffusion de Fick décrit par l'égalité qui suit entre le terme de variable temps et le terme de variable spatiale.
- **Profil B** : Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale: soit la vitesse de libération est exagérément marquée en raison de la présence d'un excès de matière active dans la membrane (Effet de Burst).

- **Profil C** : À partir des microcapsules, on peut obtenir un temps de latence qui précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur.
- **Profil E** : À partir de microsphères, la cinétique de diffusion du principe actif à travers la matrice obéit à la loi d'Higuchi (profil E). Il montre, en utilisant le modèle planaire sous sa forme simplifiée, que la quantité de principe actif libère est directement proportionnelle a la racine carrée du temps.

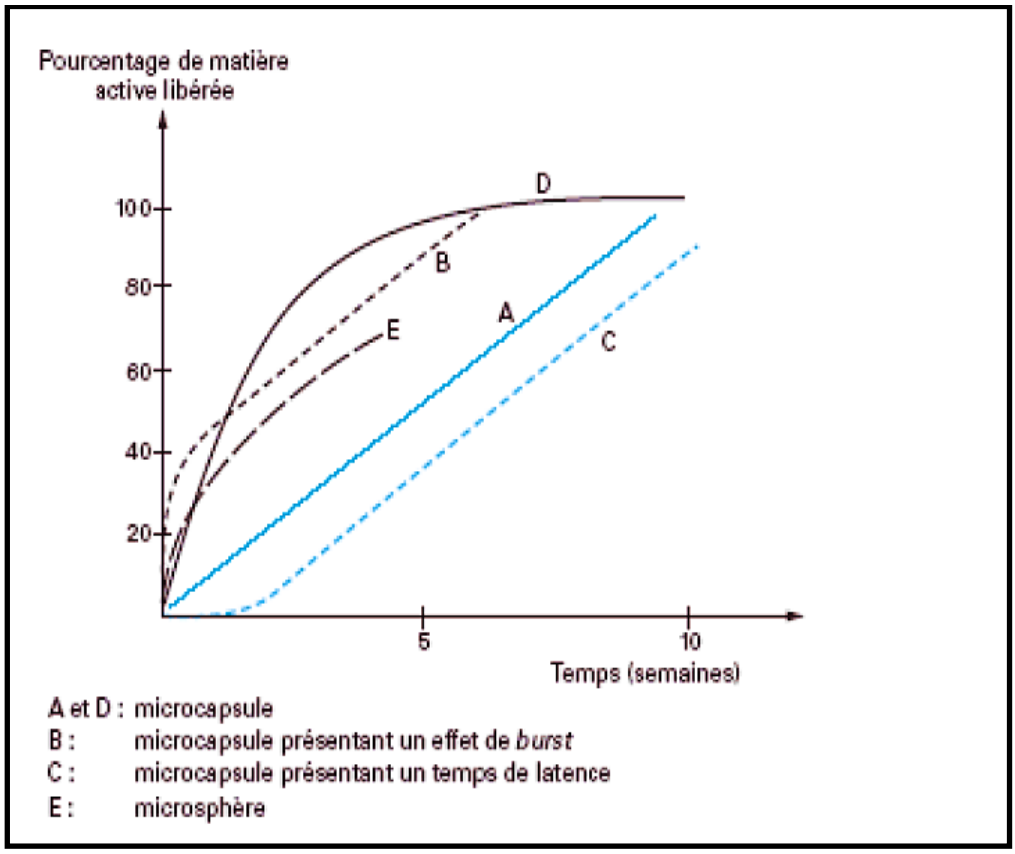


Figure I.18. Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules **[37]**

I.10.CONCLUSION

Les bio-polymères sont des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leur caractère biodégradable. La gomme xanthane est un bio-polymère doté de propriétés stabilisantes et viscosifiantes qui font de lui un polysaccharide très utilisé dans la formulation des systèmes dispersés tels que les émulsions, microcapsules et les suspensions.

Le présent chapitre a donc permis de résumer les notions théoriques importantes nécessaires à l'accomplissement de ce travail ainsi qu'une revue non exhaustive sur l'état de l'art. A commencer par les polysaccharides et les gommes en passant par le xanthane et ainsi que par l'encapsulation.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

II.1.INTRODUCTION

Le présent chapitre est dédié à la partie « matériel et méthodes », où sont récapitulés tous les modes opératoires de préparation et de caractérisation des microsphères.

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de contrôle qualité de la filiale Saidal de Médéa.

Dans le contexte où s'inscrit notre travail, nous avons tenté d'atteindre un objectif, qui consiste à appliquer le procédé de gélification d'un biopolymère, la gomme xanthane (GX) pour former des microsphères comportant la Metroformine chlorhydrate (MET) comme principe actif (PA).

A cette fin, la partie expérimentale a été subdivisée en deux (02) parties :

1. **Préformulation :** Cette partie du travail traite la caractérisation physico-chimique des matières premières utilisées à savoir le biopolymère : gomme xanthane (GX) et le principe actif : Metroformine chlorhydrate.
2. **Formulation et caractérisation des capsules :** cette partie du travail expérimental a pour objectif la mise au point de la méthode d'encapsulation du principe actif Metformine chlorhydrate par gomme xanthane (GX) et la caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des capsules obtenues.

II.2.MATERIEL ET PRODUITS UTILISES

II.2.1.Matériels

Le tableauII.1 ci–dessous, regroupe les différents appareils utilisés dans la partie pratique.

TableauII.1. Appareillage utilisé dans la caractérisation physico-chimique.

Matériels	**Marques**
Balance électrique	Metlertoledo
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	Scientifica
pH-mètre	Metrhom
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier(FTIR)	FTIR-Perkin Elmer
Spectrophotomètre UV visible	PerkinElmer Lambda 25
Dissolutest	Sotax
Viscosimètre	Brookfield
Conductimètre	WTW
Pieds à coulisse	AbsoluteDigimatic

II.2.2.Produits chimiques utilisés

Le tableau II.2, suivant représente l'ensemble des produits chimiques utilisés dans la réaction et pour la caractérisation.

Tableau II. 2. Produits et réactifs chimiques utilisés la partie expérimentale.

Produit	**Formule**	**Fournisseur**	**Pureté (%)**	**Masse Molaire (g/mol)**
Acide chlorhydrique	HCl	Riedel-de Haën	36.5 – 38	36.46
Dihydrogeno Phosphate de potassium	KH_2PO_4	Analarnormapur VWR	98.5–101	136.09
Chlorure d'Aluminium	$AlCl_3$	Riedel-de Haën	99	110.984
Chlorure de Sodium	NaCl	Analarnormapur VWR	99-105	58.44
Chlorure de potassium	KCl	Analarnormapur VWR	99.5	74.55
Acide phosphorique	H_3PO_4	PROLabo	85.0	98.00
Hydroxyde de sodium	NaOH	Panreac	98.0	40.00
Hydroxyde de baryum	BrOH	Analarnormapur VWR	99.0	171.34
Dinitrophényhydrazine	$C_6H_6N_4O_4$	Analarnormapur VWR	98.0	198.14
Acétate d'éthyle	$C_4H_8O_2$	Analarnormapur VWR	99.0	88.10
Carbonate de sodium	Na_2CO_3	Analarnormapur VWR	99.0	105.98
2-propanol	C_3H_8O	PROLabo	99.0	60.09
Acide trifluroacétique	CF_3COOH	Riedel-de Haën	98.8	114.02
Butanol	$C_4H_{10}O$	PROLabo	99.0	74.10
Acétone	C_3H_6O	Riedel-de Haën	99.5	58.07
Méthanol	CH_3OH	PROLabo	99.9	32.04
Diophénilamine	$C_{12}H_{11}N$	Riedel-de Haën	99.8	169.23
Acide formique	CH_2O_2	PROLabo	99.0	46.03
Acétonitrile	C_2H_3N	PROLabo	99.9	41.05

II.3.METHODES

On a utilisé dans notre contrôle de gomme xanthane et Metformine chlorhydrate comme référentielle la pharmacopée européenne 2017 édition N°9 **[65]** qui est un recueil de normes communes à l'échelle européen destinée au contrôle des médicaments à usage humain ou vétérinaire et des substances qui entrent dans leurs compositions..

II.3.1.Preformulation

Cette étape est considérée comme essentielle, elle doit être consacrée à une connaissance parfaite des matières premières utilisée (Metformine chlorhydrate et gomme xanthane). Avant d'entreprendre la mise au point des capsules, il est nécessaire de rassembler un certain nombre de données préalables qui constitueront les bases du développement et guideront les choix ultérieurs. Ces études d'orientation sont particulièrement importantes lors du développement des formes galéniques particulières car la libération du PA est liée autant à des paramètres d'ordre physiologique qu'à des paramètres physico-chimiques prédéterminés.

II.3.1.1. Contrôle physicochimique de la Gomme xanthane

Lecontrôle physico-chimique de GX a été réalisé par la détermination de différents paramètres en suivant la monographie décrite dans la pharmacopée européenne, comme suit :

a. **Aspect** : Poudre blanche ou blanc-jaune, à écoulement fluide.
b. **Solubilité** : Soluble dans l'eau en donnant une solution fortement visqueuse, pratiquement insoluble dans les solvants organiques.
c. **pH :**

- **Principe** :

Le pH est un paramètre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène ou hydronium d'une solution à examiner.

- **Mode opératoire** :

Mesurer le pH pour une solution de gomme xanthane à 10 g/l (1% p/v).Le résultat obtenu doit être compris entre **6.0** et **8.0.**

d. **Perte à la dessiccation** :

- **Principe :**

Détermination du taux d'humidité de la substancepar la méthode gravimétrique.

- **Mode opératoire :**

Déterminerà l'étuve la perte de poids d'1 g de gomme xanthaneà la température de 105°C pendant 2 heures et 30 minutes (**limite ≤ 15 %).**

$$\mathbf{Perteàladessication}(\%) = \frac{\mathbf{P_{final} - P_{initial}}}{\mathbf{P_{initial}}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{1})$$

e. Cendres totales

- **Principe :**

La détermination des cendres permet de mettre en évidence la présence des impuretés organiques et inorganiques.

- **Mode opératoire :**

Peser 1 g de la gomme xanthane dans un creuset vide préalablement pesé puis ajouter 1ml d'acide sulfurique, chauffer sur un bec bunsen jusqu'à carbonisation puis calciner au four à moufle de 600 à 800 °C.Enfin, mettre le creuset à refroidir dans un dessiccateur et peser le résidu. (**Limite : 6,5 – 16,0 %)**

$$\textbf{Cendre totale}\ (\%) = \frac{\mathbf{p_{final} - P_{initial}}}{\mathbf{poid_{total}}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{2})$$

f. Identifications chimiques :

A. Dans un ballon ; mettre 1 g de gomme xanthane puis ajouter 15 ml d'Acide chlorhydrique à 0,1 M. Fermer le ballon avec une boule de fermentation contenant une solution d'hydroxyde de baryum et chauffer avec précaution pendant 5 minutes. Il apparait une turbidité blanche dans la solution d'hydroxyde de baryum.

B. Placer dans un vase à précipiter de 400 ml, 300 ml d'eau distillée préalablement chauffée à 80 °C et maintenue sous agitation mécanique rapide. Ajouter au maximum d'agitation un mélange à sec de 1,5 g de gomme de caroube et 1,5 g de gomme xanthane, agiter jusqu'à la dissolution complète et poursuivre l'agitation pendant au moins 30 minutes sans laisser la température de l'eau descendre au des sous de 60 °C. Arrêter l'agitation et laisser reposer pendant 2 heures, lorsque la température descend au dessous de 40 °C il se forme un gel caoutchouc solide. Préparer de la même manière une solution témoin contenant 1 % de gomme xanthane sans gomme de caroube. Il n'y aura pas de formation de gel.

- **Dosage spectrométrie d'absorption UV-VIS**
- **Principe :**

La spectroscopie UV/Visible est un des outils les plus utilisés en analyse quantitative et qualitative. C'est une méthode rapide et précise. Les calculs des concentrations sont

basés sur l'application de la loi de BEER-LAMBERT qui relie l'absorption à la concentration des analytes en solution pour une longueur d'onde donnée.

- **Mode opératoire :**

Préparation de la solution à examiner de 120 mg de gomme xanthane(échantillon desséché) dans 20 ml d'eau distillée.

Préparation de la solution témoin de 45 mg d'acide pyruvique dans un ballon de 500 ml d'eau distillée et compléter avec le même solvant, introduire 10 ml de la solution à examiner dans un ballon à fond rond de 50 ml et ajouter 20 ml d'acide chlorhydrique à 0,1 M et peser. Puis chauffer à reflux dans un bain marie pendant 3 heures. Dans une ampoule à décanter mélanger 2 ml de la solution obtenu à 1 ml de dinitophénylhydrazine et laisser reposer 5 minutes puis ajouter 5 ml d'acétate d'éthyle. Agiter et laisser décanter puis recueillir la phase supérieure et agiter 3 fois avec 5 ml de solution de carbonate de sodium et réunir la phase aqueuse dans 50 ml et compléter avec de l'eau distillée. Traiter 10 ml de la solution témoin simultanément et de la même manière que la solution à examiner et faire l'analyse des deux solutions par spectrophotomètre UV-VIS et lire l'absorbance à une longueur d'onde de 375 nm en utilisant la solution de carbonate de sodium comme un blanc.

L'absorbance de la solution à examiner est supérieure à celle de la solution témoin.

Limite ≥ 1,5 % de groupe acétal de pyruvate

g. Détermination du 2-propanol parchromatographie à haute performance en phase gazeuse (CPG)

- **Principe :**

La CPG est une technique physique de séparation des composés répartis entre deux phases: phase stationnaire (fixe, ne se déplace pas)et phase mobile (se déplace).La séparation des solutés est basée sur la différence de leurs interactions avec les deux phases. C'est une méthode à la foisquantitative et qualitative.

- **Mode opératoire :**

Préparation de la solution étalon interne avec 0,5 g de 2-méthyle -2 propanol et compléter jusqu'au 500 ml avec de l'eau distillée.

Préparation de la solution à examiner avec 0,5 g de gomme xanthane dans un ballon rond de 1000 ml et y rajouter 200 ml d'eau distillée en plus d'1 ml de l'émulsion de dimiticone à 10 g/l dans la paraffine liquide. Boucher le ballon et agiter pendant 1 heure puis distiller environ 90 ml de cette préparation et ajouter au distillat 4 ml de la solution étalon interne et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à100 ml.

Préparation de la solution étalon avec une solution de 2-propanol de concentration 1 mg/ml. Prendre 4 ml de la solution précédente et 4 ml de la solution témoin interne et compléter jusqu'au 100 ml avec de l'eau distillée.

Conditions opératoires :

- ✓ Colonne de longueur 1,8 m et diamètre 4,0 mm
- ✓ Température de colonne 165 °C
- ✓ Température d'injecteur 200°C
- ✓ Température de détecteur 200°C
- ✓ Débit 30 ml/min
- ✓ Volume d'injection 5µl

Limite 2-propanol au maximum : 750 ppm

h. Autres polyosides : Chromatographie couche mince (CCM)

- **Principe :**

C'est les études des équilibres de concentration des composés présents entre deux phases, dont l'une est dite phase stationnaire et l'autre mobile. La phase mobile se déplace à travers la phase stationnaire par capillarité, entraînant à des vitesses différentes les constituants à séparer.

- **Mode opératoire**
  - Préparation de la solution à examiner

Dans un tube à centrifuger, introduire 10 mg de gomme xanthane et rajouter 1 ml d'acide trifluoroacétique à 230 g/l puis agiter énergiquement pour dissoudre le gel en formation.Boucher le tube et chauffer le mélange à 120 °C pendant 1 heure, centrifuger l'hydrolysat obtenu et transvaser avec précaution le surnageant limpide dans un ballon de 50 ml puis ajouter 10 ml d'eau distillée et évaporer, prendre le résidu dans 10 ml d'eau distillée et évaporer de nouveau puis laver 3 fois avec 20 ml de méthanol et

évaporer. Un film limpide qui ne présente pas l'odeur d'acide acétiqueest obtenu, auquel on rajoute 0,1 ml d'eau distillée et 1 ml de méthanol puis centrifuger pour séparer le précipité amorphe,reprendrele surnageant et si nécessaire compléter avec 1 ml de méthanol.

- Préparation de la solution témoin

Dissoudre 10 mg de glucose et 10 mg de mannose dans 2 ml d'eau distillée puis compléter à 10 ml avec le méthanol.

Conditions opératoires :

- ✓ Phase mobile :solution de phosphate monosodique à 16 g/l,butanol, acétone (10/40/50)(v /v/v)
- ✓ Plaque : plaque de gel de silice.
- ✓ Dépôt 5 µl sur une bande.
- ✓ Développement sur un parcourt de 15 Cm

Détection : Pulvériser une solution préparée en dissolvant 0,5 g de diphénilamine dans 25 ml de méthanol additionné 0,5 ml d'aniline et 2,5 ml d'acide phosphorique. Chauffer à 120 °C pendant 5 minutes et examiner à la lumière de jour.

Le chromatogramme présente dans ces tierces médianes 2 bandes brun-gris nettement séparé dues au glucose et au mannose.

II.3.1.2.Contrôle physicochimique deprincipe actif Metformine chlorhydrate

a. Définition et classe thérapeutique

Le chlorhydrate de metformine est une molécule qui fait partie des biguanides,provenant du lilas français (*Galegaofficinalis*), une plante utilisée en médecine populaire depuis plusieurs siècles **[66, 67]**.

Le chlorhydrate de metformine (chlorhydrate de 1,1diméthylbiguanide) administré par voieorale est un agent anti hyperglycémiant, qui augmente la sensibilité hépatique et périphérique àl'insuline, inhibant ainsi la néoglucogenèse hépatique et augmente l'absorption périphérique de glucose **[68, 69]**.

Le chlorhydrate de metformine ou Chlorhydrate de 1,1-diméthyle-biguanide, est un composé ayant une masse moléculaire de 165,6 g/mol, issu de la condensation de deux

molécules de guanidine (formule brute est : $C_4H_{12}ClN_5$) avec élimination d'ammoniac, comme représenté sur la figure (II.1).

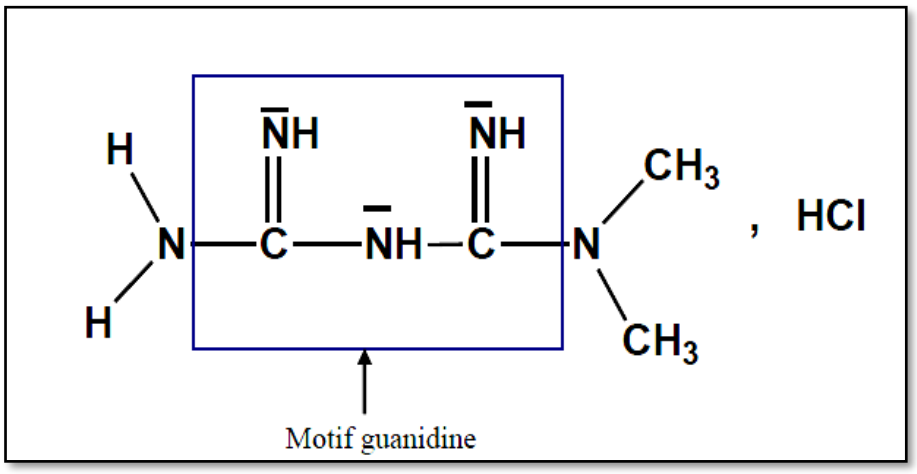


Figure II.1 : Structure chimique de la Metformine chlorhydrate.

b. Tests de caractérisation de la Metformine

a) **Aspect :** Cristaux blancs ou sensiblement blancs.

b) **Solubilité :** Facilement soluble dans l'eau, Peu soluble dans l'alcool, Pratiquement insoluble dans l'acétone et dans le chlorure de méthylène.

c) **Identification** : par point de fusion (222 – 226) °C

d) **Perte à la dessiccation :**

e) Déterminer à l'étuve à 105 °C pendant 5 heures sur 1 g de Metformine chlorydrate. **Limite ≤ 0,5 %**

f) **Cendre totales** :

La détermination des cendres permet de mettre en évidence la présence des impuretés organiques et inorganiques. La calcination se fait sur 1 g de Metformine chlorhydrate. **Limite : ≤ 0,1 %**

g) Dosage : par potentiométrie

➢ **Principe :**

Un dosage potentiométrique permet d'évaluer passivement le potentiel d'une solution entre deux électrodes où l'une est appelée électrode de référence et l'autre de travail.

- **Mode opératoire :**

Dissoudre 0,100 g de Metrofomine chlorhydrate dans 4 ml d'acide formique anhydre R et ajouter 80 ml d'acétonitrile. Effectuer le titrage immédiatement par l'acide perchlorique à 0,1 M. Déterminer le point de fin de titrage par la méthode potentiométrique.1ml d'acide perchlorique 0,1 M correspond à 16,56 mg de $C_4H_{12}ClN_5$.
Limite(98,5 -101,0)%

II.3.1.3.Mesure de Conductivité des solutions de xanthane

- **Principe**

La conductivité d'une solution exprimela capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce passage du courant électrique s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique produit par un courant alternatif**.**

- **Mode opératoire**

Des solutions de différentes concentrations de gomme xanthane ont été préparées (0.5%, 0,75%, 1% et 1,25 %). Les conductivités de ces solutions ont été mesurées à l'aide d'un conductimètre.

II.3.1.4.Mesure de la viscosité des solutions de GX

- **Principe**

On peut définir la viscosité d'une solution polymérique comme une mesure de son aptitude à résister à l'écoulement.

La viscosité d'une solution dépend essentiellement du volume hydrodynamique des chaines polymères. Ainsi, elle varie fortement en fonction de la longueur moyenne des chaines (masse molaire) et des conditions opératoires (solvant, température, force ionique) qui ont une influence à la fois sur la conformation et la flexibilité des chaines.

- **Mode opératoire**

Les mesures de la viscosité des solutions de xanthane à différentes concentrations (0,5% /0,75 % / 1 % et 1,25 %) ont été réalisées à l'aide d'un viscosimètre rotatif, de tige SP3 à température ambiante, à une vitesse de cisaillement de 60 tr/min. Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction de différentes concentrations de xanthane.

II.3.1.5.Mesure du pH

Des solutions de différentes concentrations de gomme xanthane ont été préparées (0.5%, 0,75%, 1% et 1,25 %). Le pH de ces solutions a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre.

II.3.1.6. Identification par FTIR du polymère et du principe actif

- **Principe**

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Redspectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé.

Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau **[70]**.Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise **[70]**. Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} (2.5 – 25 μm) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifsen infrarouge grâce à la Théorie des Groupes **[70]**.

- **Mode opératoire :**

Les spectres FTIR ont été obtenus pour des pastillesà base de KBr contenant l'échantillon à examiner. Pour produire les pastilles, l'échantillon est broyée en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse) Perkin-Elmer. Des pastilles translucides ont été obtenues.On réalise ce mode opératoire sur le biopolymére et le principe actif ainsi que sur leur mélange.Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}

II.3.1.7.Détermination de la longueur d'onde optimalede la metformine

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λmax, correspondant à l'absorption du principe actif Metformine dans différents milieux de dissolution. Pour la détermination de λmax, des solutions à 0.1 mg/ml de metformineont été préparées dans les tampons à pH 1,2 et à pH 6,8 et l'eau distillée.

II.3.1.8. Détermination de la courbe d'étalonnage

Les courbes d'étalonnage représentent la variation de la densité optique en fonction de la concentration de la solution DO = f(c). Pour la metformine, les mesures de densité optique pour des solutions dont la concentration varie entre 0,006 mg/ml à 0,03 mg/ml ont été réalisées dans les trois solutions tampons différentes qui sont le tampon gastrique pH 1,2 et le tampon intestinal pH 6,8 et le milieu neutre l'eau distillée.

1. Préparation du tampon à pH 6,8

Le tampon à pH 6,8 est un tampon phosphate qui se compose de phosphate mono potassique et de soude (50 ml de KH_2PO_4 à 0,2 N + 22,4 ml de NaOH à 0,2 N) dans 200 ml d'eau distillée.

2. Préparation de tampon à pH 1,2

Le tampon pH 1,2 se compose de chlorure de potassium et d'acide chlorhydrique (50 ml de KCl à 0,2 N + 85 ml d' HCl à 0,2 N) dans 200 ml d'eau distillée.

II.3.2.Formulation et caractérisation des capsules

La formulation est l'art de sélectionner qualitativement et quantitativement les principes actifs et les excipients (nature chimique, état physique, caractères organoleptiques)en fonction de la forme galénique et des opérations pharmaceutiques y conduisant.

Un produit formulé est obtenu par association et mélange de diverses matières premièresd'origine synthétique ou naturelle parmi lesquelles on distingue généralement les matières actives qui remplissent la fonction principale recherchée et les auxiliaires de formulation quiassurent les fonctions secondaires, facilitent la préparation ou la mise en œuvre du produitcommercial, ou prolongent sa durée de vie.

- **Principe :**

Le principe consiste à faire tomber goutte à goutte la solution polymérique de gomme xanthane dans un bain où est réalisée la gélification des gouttes. Une solution de 0.5 % à 1,25 % de gomme xanthane est mélangée au principe actif à encapsuler, le mélange ainsi obtenu est extrudé goutte à goutte dans une solution de $AlCl_3$ à 5%.Les capsules obtenus sont laissés dans la solution de $AlCl_3$ pendant 1heure, puis filtrées et lavées avec de l'eau distillée de volume déterminé et enfin laissées sécher à l'air libre. En général, les capsules formées sont sphériques et de taille homogène. Leur taille peut varier selon l'évolution de la technique de 100µm à 300µm.

- **Mode opératoire**

- Peser une masse de gomme xanthane sur une balance analytique de précision et la faire dissoudre dans 100ml de NaCl à 0.1M afin d'obtenir des concentrations en biopolymère allant de 0.5% à 1,25%.
- Mettre le mélange sous agitation magnétiqueà 500 tr/min jusqu'à dissolution complète du bio polymère.
- Introduire 1g de Metformine chlorhydrate dans le mélange de biopolymère sous agitation magnétiqueà 500 tr/min à température ambiante pendant 1 heure.
- Remplir une seringue de 10 ml par la solution précédente et la faire passer goutte à goutte à travers l'orifice d'une seringue de diamètre 0.8 mm à une distance de 5cm d'un cristallisoir à une vitesse de 0.5 ml/min.
- Les capsules formées sont recueillies directement dans un cristallisoir contenant une solution d'AlCl3 à 5% sous agitation magnétique à 100 tr/min pendant 1heure.
- Filtrer les capsules forméessur papier filtre Wattman (0.45µm).
- Laver les capsules à l'eau distillée trois fois afin d'éliminer les résidus de sels de la surface.
- Des capsules sont préparées à blanc comme un placebo (sans Metformine chlorhydrate) en parallèle pour compléter la caractérisation.
- Laisser sécher les capsules à l'air libre pendant 24 heures.

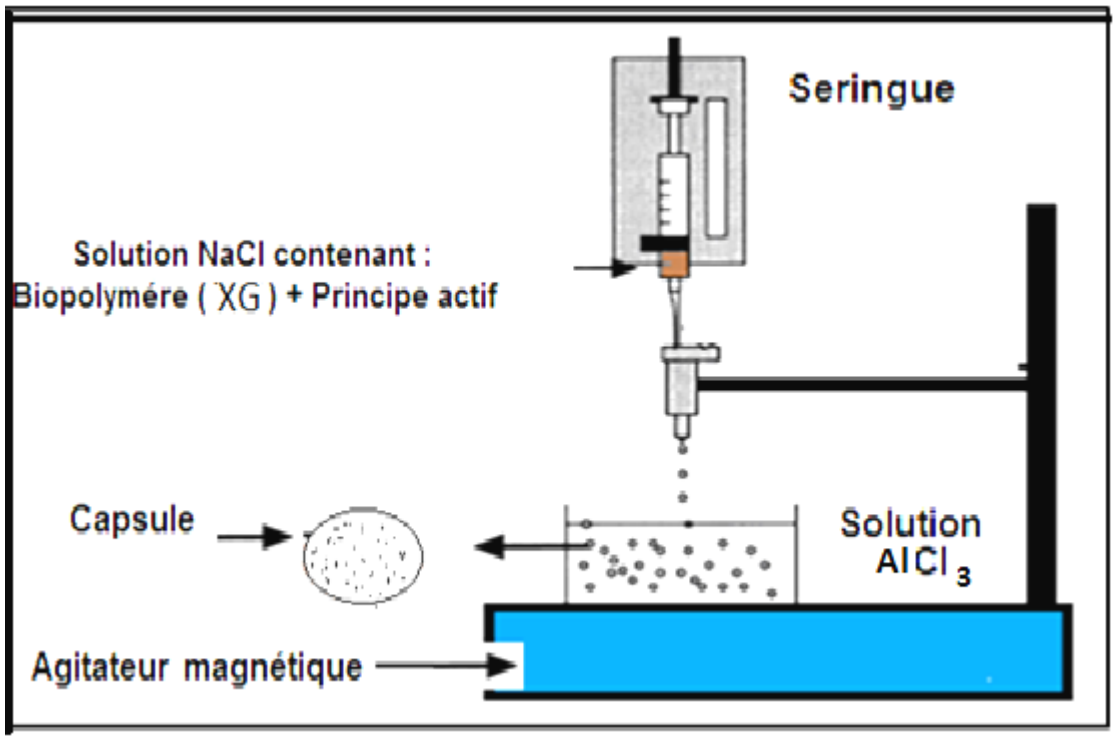


Figure II.2. Schéma du dispositif pour la préparation des capsules.

II.3.3.Caractérisation des capsules

II.3.3.1.Morphologie des capsules humides et sèches

Les capsules obtenue ont une forme sphérique à l'état humide, mais après séchage les capsules sont dépourvue d'eau et s'allonge légèrement. Dès qu'on les remet dans un milieu aqueux, les capsules regonflent et reprennent leurs formes initiales.

II.3.3.2.Analyse granulométrique des capsules

La taille des capsules obtenues est mesurée par un pied à coulisse digital ayant une précision de 0.001mm. Un choix au hasard detrois (03) séries de capsules contenant 20 capsules à chaque analyseest réalisé. Une analyse statistique de la moyenne et du coefficient de variation sont effectués sur chaque série d'analyse effectuée.

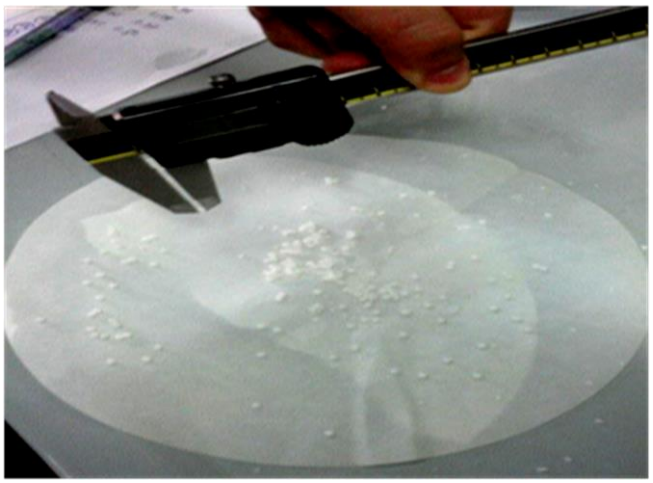


Figure Error! No text of specified style in document.**..1** : Mesure de la taille des capsules par un pied à coulisse digital

II.3.3.3.Etude du gonflement des capsules

- **Principe**

L'étude du gonflement permet d'établir la cinétique de pénétration du milieu de dissolution dans les capsules. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation de volume au cours du temps. L'analyse de la cinétique de gonflement est basée sur la gravimétrie. Cette méthode consiste à mesurer la quantité de liquide absorbée par les capsules en fonction du temps jusqu'à l'équilibre. Les capsules sont pesées puis immergées dans le milieu de dissolution étudié. Trois milieux de dissolution sont testés :

Milieu 1 : solution tampon pH 1,2 ;

Milieu 2 : solution tampon pH 6,8 ;

Milieu 3 : eau distillée.

- **Mode opératoire**

- Peser environ 50mg de capsules sèche sur une balance analytique de précision ;
- Incorporer les capsules soigneusement dans 25ml du milieu de dissolution ;
- A des intervalles de temps réguliers, les capsules sont retirées du milieu de dissolution, posées sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide ;
- Peser les capsules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Les taux de gonflement sontcalculéspar la formule suivante :

$$\textbf{Taux de gonflement}\ (\%) = \frac{\mathbf{m_g - m_i}}{\mathbf{m_i}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{3})$$

Où m_i est la masse des capsules à l'état initial (au temps t_0) et, m_g est la masse des capsules à l'état gonflé (au temps t).

II.3.3.4.Détermination du Taux de Metformine chlorhydrate dans les capsules (Taux d'encapsulation)

- **Principe**

Détermination de la quantité de principe actif (Metformine chlorhydrate) introduite dans les capsules est calculée par dosage spectrophotométrie UV-Vis

- **Mode opératoire**

Les taux d'encapsulation sont calculés par dosage indirect de la quantité de Metformine chlorhydrate non encapsulée présente dans le filtrat récupéré après la filtration de formulation des capsules, à la longueur d'onde de 234 nm. Ils sont calculés par la formulesuivante:

$$\textbf{Taux d'encapsulation}\ (\%) = \frac{\mathbf{C_n - C_0}}{\mathbf{C_0}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{4})$$

Avec C_0 : Concentration initiale de chlorhydrate de Metformine et C_n: Concentration de chlorhydrate de Metformine non encapsulé

II.3.3.5.Etude de la libération du principe actif à partir des capsules

- **Principe**

Dans le cadre de cette étude, l'objectif est d'améliorer la biodisponibilité duChlorhydrate de Metformine afin de retarder sa vitesse de libération par rapport la forme comprimés ou gélules.

Afin de suivre la libération d'un principe actif, l'étude de la libération dans desmilieux physiologiques simulés est indispensable. Plusieurs paramètres peuvent influencer lalibération du PA, à savoir :

- Le pH du milieu de dissolution ;
- La nature du polymère ; et

- La taille des microparticules.

Cette partie a pour but l'étude de la cinétique *in vitro* des microcapsules du polymère contenant le chlorhydrate de Metformine et la comparaison entre leurs profils de libération par rapport à celui du chlorhydrate de Metformine seul.

Afin de suivre la mise en œuvre de l'essai de dissolution, le dissolu-test est l'approche la plus recommandée pour valider l'effet retard [4].La cinétique de libération est réalisée pour le chlorhydrate de Metformine seul et pour les formulations poudres des microcapsules obtenues, dans trois milieux physiologiques, le premier simulé au milieu gastrique [pH=1,2] et le second au milieu intestin [pH=6,8], le troisième milieu neutre l'eau distillée.

Le choix de l'appareillage est déterminé par les caractéristiques physicochimiques de la forme pharmaceutique. On choisira l'appareil à panier pour la réalisation de nos essais, étant donné qu'il offre une meilleure libération du principe actif lors de sa diffusion à partir des capsules et ce dans toutes les directions.

Toutes les parties de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes et n'adsorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement.

Il est préférable d'utiliser un appareil en verre qui permette l'observation de la préparation à examiner et de l'élément d'agitation pendant l'essai.

Ce test permet d'obtenir les profils de dissolution traduisant la quantité de principe actif libérée en fonction du temps.

- **Mode opératoire**

Le test de dissolution in vitro de Metformine chlorhydrate est réalisé selon les recommandations dela British pharmacopée **[70]** .L'essai est réalisé dans un godet de 900 ml de milieu de dissolution (pH 1,2 et pH 6,8 et l'eau distillée).Pendant cet essai le dissolutest est réglé à une température de 37 ± 0,5 °C et une agitation de 100 tr/minutes. Introduire 100 mg de microcapsules dans le panier et le placer dans le dissolutest sous agitationpendantun intervalle de temps bien déterminé. Prélever 10 ml de milieu de dissolution et filtrer immédiatement d'un filtre seringue de porosité 0,45 µm puis remplacer le même volume prélevéavec le milieu de dissolution pour la reconstitution du volume totale du godet. Les échantillons obtenus sont analysés par spectrophotométrie UV-VIS.

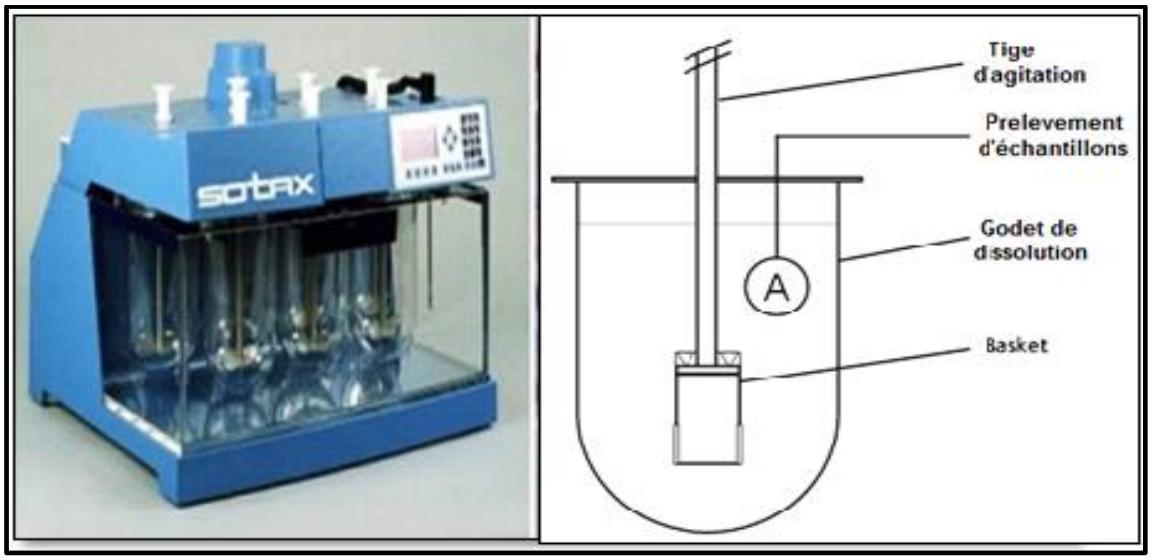


Figure II .4. Test de dissolution SOTAX

II.4. CONCLUSION

Dans ce chapitre, on a présenté le matériel et les produits utilisés dans les parties préformulation et formulation. Ainsi, toutes les méthodes de caractérisation physico-chimiquedubiopolymèreet du principe actif ont été décrites en détailles. Les résultats obtenus seront présentés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1.INTRODUCTION

L'objectif du présent chapitre est de récapituler et d'interpréter les différents résultats obtenus à l'issue de l'étude expérimentale où différents contrôles physico-chimiques tels que la spectroscopie FTIR, la conductivité, la viscosité, le pH et le dosage ont été réalisés. Ces résultats ont été comparés par rapport aux limites d'acceptation décrites dans la pharmacopée européenne 2017 éditions N°9.

III.2.RESULTATS DE L'IDENTIFICATION ET CONTROLE PHYSICOCHIMIQUE DE LA GOMME XANTHANE

Les résultats de l'identification et contrôle physico-chimique de la gomme xanthane sont rapportés dans le tableau III.1, suivant :

Tableau III.1 : Résultats de l'identification et contrôle physicochimique de biopolymère Gomme xanthane

Paramètres	**Résultats**	**Limites d'acceptation selon la pharmacopée européenne**
Caractères		
Aspect	Poudre blanc-jaune à écoulement fluide	Poudre blanche ou blanc -jaune à écoulement fluide
Solubilité	Soluble dans l'eau en donnant une solution fortement visqueuse, pratiquement insoluble dans les solvants organiques	Soluble dans l'eau en donnant une solution fortement visqueuse, pratiquement insoluble dans les solvants organiques
Identification		
A. Chimique	Il apparait une turbidité blanche dans une solution d'hydroxyde de baryaum	Il apparait une turbidité blanche dans une solution d'hydroxyde de baryaum
B. chimique	Formation d'un gel caoutchouteux lorsque la température descend au dessous de 40 °C, ce pendant ne se forme pas de gel en cas de préparation d'une solution témoin contenant 1 % de gomme xanthane	Formation d'un gel caoutchouteux lorsque la température descend au dessous de 40 °C, ce pendant ne se forme pas de gel en cas de préparation d'une solution

	sans gomme caroube	témoin contenant 1 % de gomme xanthane sans gomme caroube
Essais		
pH	6,81	6,0 à 8,0
Perte à la dessiccation	7,72 %	≤ 15 %
Cendres total	7,09 %	6,5 % à 16,5 %
2-Propanol (CPG)	conforme	≤ 750 ppm
Autres polyosides (CCM)	Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présentes 2 bandes correspondant aux bandes dues au glucose et au mannose dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin. Il peut en outre présenter 1 bande rougeâtre et 2 bandes gris-bleu de faible intensité juste au –dessus de la ligne de dépôt.1 ou 2 bandes gris-bleu peuvent également être visible dans le quart supérieur du chromatogramme aucune autres bandes n'est détectés	Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présentes 2 bandes correspondant aux bandes dues au glucose et au mannose dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin. Il peut en outre présenter 1 bande rougeâtre et 2 bandes gris-bleu de faible intensité juste au –dessus de la ligne de dépôt.1 ou 2 bandes gris-bleu peuvent également être visible dans le quart supérieur du chromatogramme aucune autres bandes n'est détectés
Dosage (UV-VIS)	3,62 % en Sba	≥ 1,5 % de groupe acétal de pyruvate (substance desséchée)

III.3.RESULTATS DE L'IDENTIFICATION ET CONTROLE PHYSICOCHIMIQUE DE LA METFORMINE CHLORHYDRATE

Les résultats de l'identification et contrôle physico-chimique de la Metformine chlorhydrate sont rapportés dans le tableau III.2, ci-après :

Tableau III.2: Résultats de l'identification et contrôle physicochimique de la Metformine chlorhydrate.

Paramètres	**Résultats**	**Limites d'acceptation selon la pharmacopée européenne**
Caractères		
Aspect	Cristaux blanc ou sensiblement blanc	Cristaux blanc ou sensiblement blanc
Solubilité	Facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, pratiquement insoluble dans l'acétone et chlorure de méthylène	Facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, pratiquement insoluble dans l'acétone et chlorure de méthylène
Identification		
Point de fusion	224 °C	222 °C à 226 °C
Essais		
Perte à la dessiccation	0,3 %	≤ 0,5 %
Cendre total	0,08 %	≤ 0,1 %
Dosage par potentiométrie	99,9 %	98,5 % à 101,0 %

III.4.MESURES DE CONDUCTIVITE

Les résultats des mesures de la u des solutions de xanthane sont représentés dans le tableau **III.3.**

Tableau III.3 : Résultats des mesures de la conductivité des solutions d'GX

Concentration en GX en % (p/v)	0.5	0,75	1	1,25
Conductivité (mS / Cm)	10,28	10,34	10,47	10,60

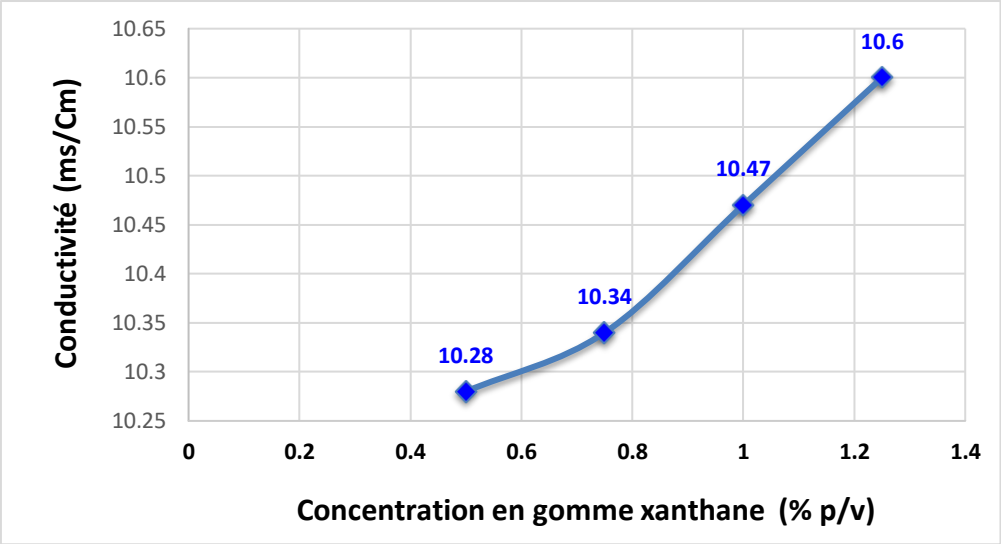


Figure III.1. Résultats de mesure de la conductivité des solutions de GX en fonction de la concentration.

La figure III.1 représente les résultats de mesure de la conductivité en fonction de la concentration des solutions de la gomme xanthane.

Ces résultats ont montré que la conductivité du xanthane augmente avec la concentration due à l'accroissement de charges libres dans le milieu.

III.5.Mesures de pH

Les valeurs de pH obtenues sont représentées dans le tableau :

Tableau III.4. Résultats des mesures du pH des solutions de gomme xanthane

Concentration en GX en % (p/v)	0,5	0,75	1	1,25
pH	6,71	6,79	7,02	7,13

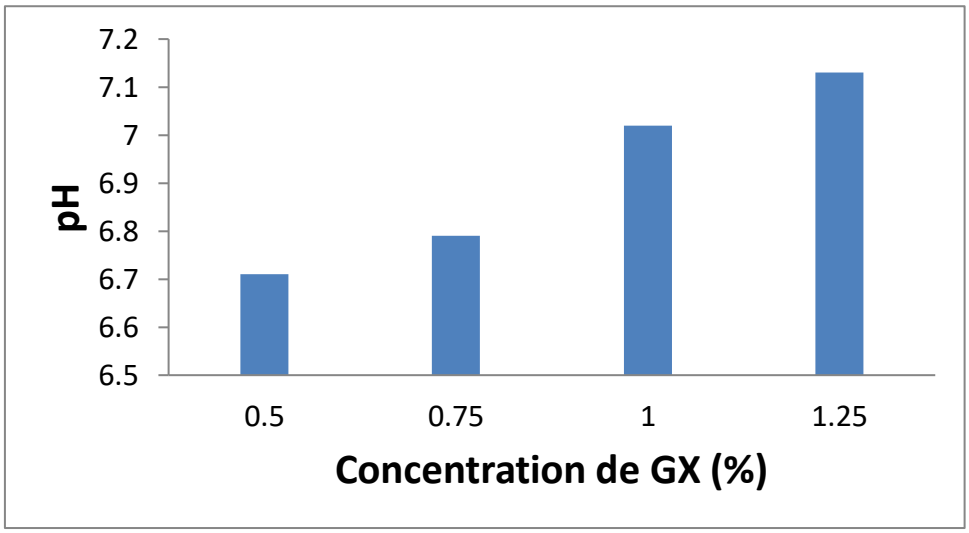


Figure III.2. Résultats de mesure de pH des solutions de GX en fonction de la concentration.

La figure III.2 représente les résultats de mesure de pH en fonction de la concentration des solutions de gomme xanthane.

On remarque, d'après les résultats obtenus, que les valeurs de pH des solutions de gomme xanthane varient entre 6,71 et 7,13, avec une légère augmentation en fonction de l'augmentation de la concentration en gomme xanthane.

III.6.MESURE DE VISCOSITE

Les résultats des mesures de la viscosité des solutions gomme xanthane sont représentés dans le tableau III.5.

Tableau III.5. Résultats des mesures de la viscosité des solutions de gomme xanthane

Concentration en gomme xanthane en % (p/v)	0.5	0,75	1	1,25
Viscosité x 200 (Pa.s)	12	17,5	20	27

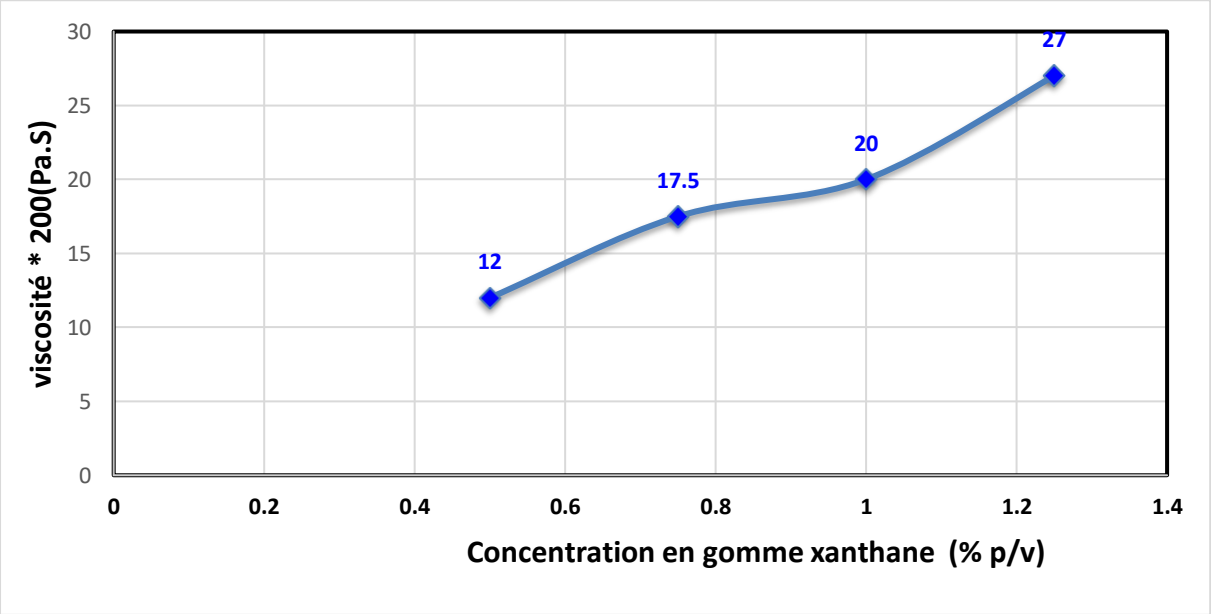


Figure III.3. Résultats de mesure de viscosité en fonction de la concentration en GX.

La figure III.3, représente les résultats de mesure de viscosité en fonction de la concentration des solutions de gomme xanthane.

Les résultats obtenus montrent que la viscosité apparente augmente en fonction de la concentration. Ces résultats nous ont conduits à limiter l'utilisation de gomme xanthane à des concentrations allant de 1,25 % (p/v) car au-delà de cette concentration, la solution xanthane devient hautement visqueuse et donc l'obtention de capsules dans notre travail antérieur se révélera impossible. En effet, à l'extrusion de la solution de gomme xanthane au travers une seringue à des concentrations supérieure à 1.5 % est difficilement réalisable.

III.7.IDENTIFICATION PAR FTIR

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1}.Les résultats sont donnés par les figure III.4 et figure III.5 respectivement pour la gomme xanthane et la Metformine chlorhydrate.

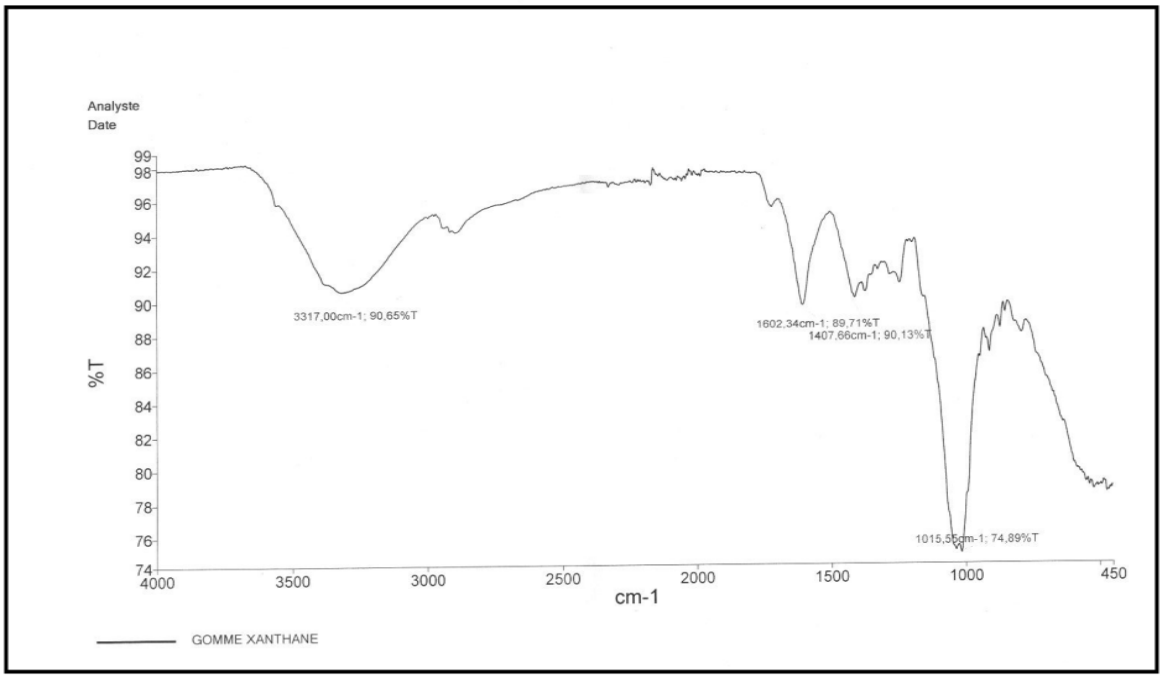


Figure Error! No text of specified style in document**..4 :** Spectre FTIR de la gomme xanthane (GX)

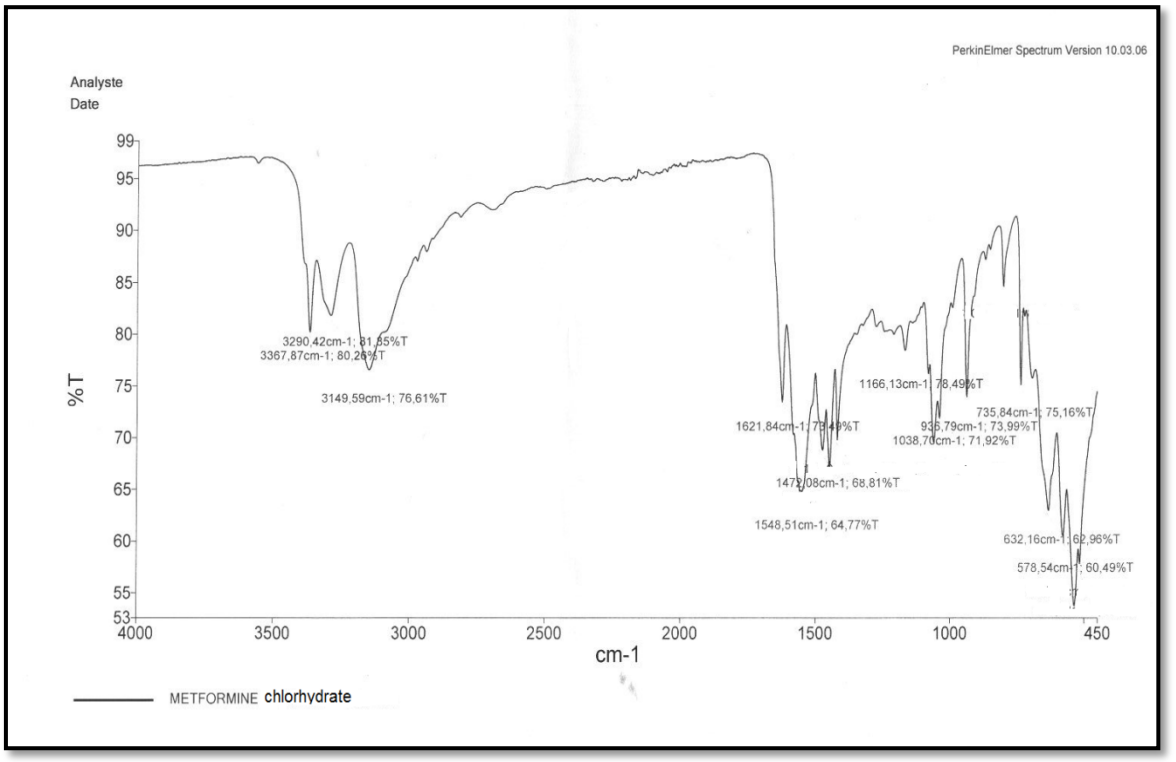


Figure Error! No text of specified style in document**..5 :** Spectre FTIR de Metformine chlorhydrate

Le tableau (III.6) résume les pics caractéristiques de la Meformine chlorhydrate ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes.

Tableau III.6 : Nombres d'ondes et groupements fonctionnels attribués à la metformine chlorhydrate.

Nombre d'onde (cm^{-1})	**Attribution des groupements fonctionnels**
578,54	(C-Cl)
632,16	(C-Cl)
735,84	δ (C-H) du groupement CH_3
936,79	ν (C-N-C) d'une amine secondaire décalée par l'effet mésomère + M donneur de l'azote.
1038,79	ν (C-N) non conjuguée des amines 1,2 ou 3ème aliphatique.
1166,13	ν (C-N) non conjuguée des amines 1,2 ou 3ème aliphatique.
1472,08	$\delta_{déf}$ (C-H) du groupement CH_3
1548,51	$\delta_{déf}$ (C-H) du groupement CH_3
1621,84	δ (C=N) du groupement $C=NH_2$
3149,59	ν (N-H) de groupement $-NH_3^+$
3290,42	ν_{as} (N-H) d'une amine secondaire
3367,87	ν_{s} (N-H) de (C=N-H) libre d'une imine

Avec : ν_s : élongation symétrique, ν_{as} : élongation asymétrique, δ : déformation

Le spectre IR-TF de chlorhydrate de la Metformine pure présente deux bandes de vibration de valence de la liaison N-H de C-N-H primaire se situant dans la région de 3400 et 3100 cm^{-1}. Les absorbances à 3367 cm^{-1}, 3290 cm^{-1} et 3149 cm^{-1} correspondent à l'élongation symétrique et asymétrique de N-H primaire. Une bande intense positionnée à 1621 cm^{-1} est assignée à la déformation dans le plan de la liaison NH_2. Les bandes à 735 cm^{-1} et 936 cm^{-1} de moyenne à faible intensité sont assignées aux balancements de la liaison C-H et CN-C respectivement. Trois bandes de déformation du groupement CH_3 d'une moyenne intensité sont observé à 1413 cm^{-1}, 1448 cm^{-1} et 1472 cm^{-1}. Deux bandes caractéristiques situées à 1038 cm^{-1} et 1166 cm^{-1} sont attribuées à la vibration de valence de C-N d'une amine secondaire. Deux vibrations d'élongation du groupement C-Cl sont notées à 578 et 632 cm^{-1} **[71,72]**.

Le tableau (III.7) résume les pics caractéristiques de gomme xanthane ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes.

Tableau III.7 : Fréquences et groupements fonctionnels attribués à la gomme xanthane

Fréquence (cm^{-1})	**Attribution des groupements fonctionnels**
1015,55	C-O-C
1407,66	C-H de groupement C-H de CH_3
1602,34	ν_{as} (COO^-)
1732,00	ν (C-O) de groupement ester CH_2OCOCH_3 et alkyle
3317,00	ν (OH) de groupement hydroxyde

Le spectre FTIR de la gomme xanthane (GX) montre des bandes caractéristiques d'absorption à 1015,55 cm^{-1}, 1407.66 cm^{-1}, 1602,34 et 1732.13 cm^{-1} correspondant respectivement à l'élongation de la fonction éther C-O-C, les liaisons C-H des groupements méthyle, et les vibrations asymétrique de COO^- ainsi que l'élongation des C-O des esters (acétyles). Le pic caractéristique à 3317,00 cm^{-1} est attribué à l'élongation des groupements hydroxyles OH.

III.8. DETERMINATION DE LA LONGUEUR D'ONDE OPTIMALE

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λ_{max}, correspondant à l'absorption de la molécule Metformine chlorhydrate dans différents milieu de dissolution. Pour la détermination de λmax, les solutions de Metformine chlorhydrate sont préparées dans les solutions tampon à pH 1,2 et à pH 6,8 et l'eau distillée à une concentration de 0,1 mg/ml. Les résultats montrent des pics d'absorptions maximums définis à une longueur d'onde λ_{max}= 234 nm.

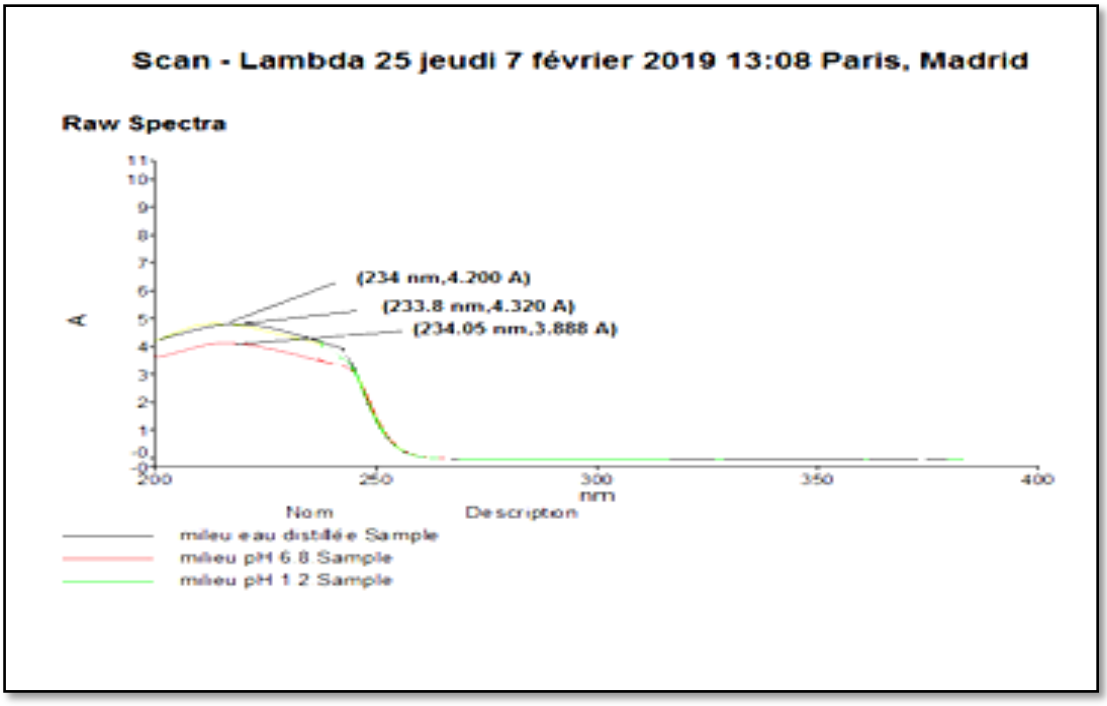
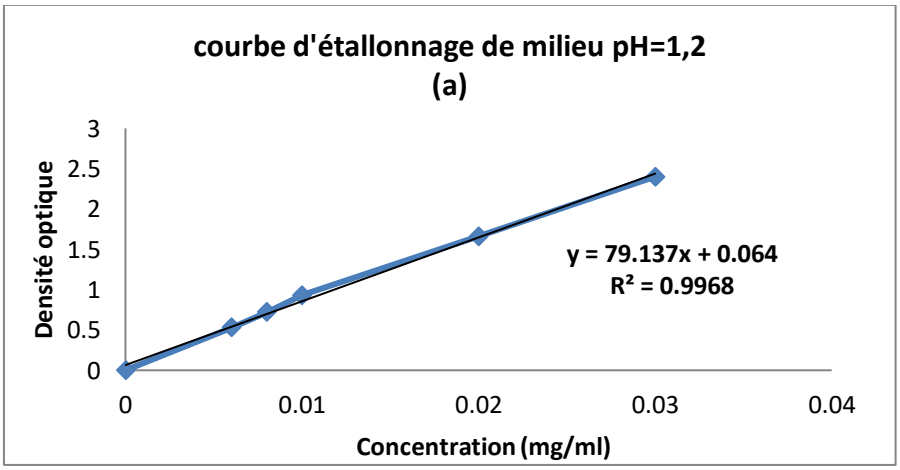


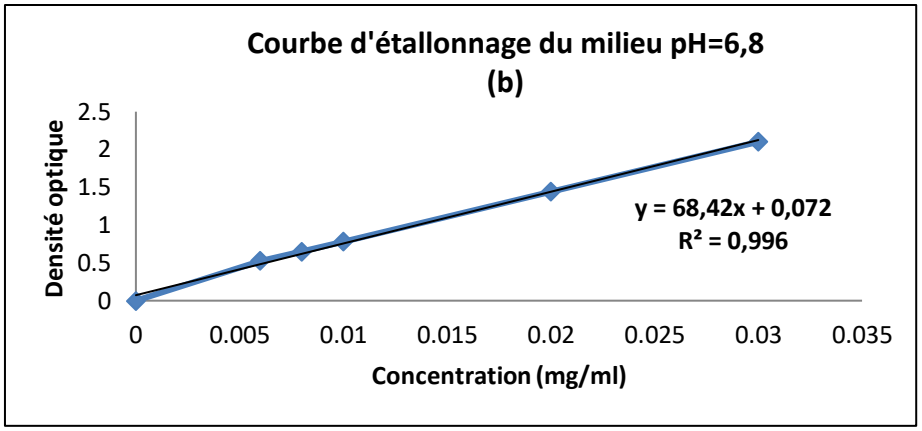
Figure III.6. Spectres d'absorption UV des solutions de Metformine chlorhydrate : dans un milieu tampon pH 1,2. dans un milieu tampon pH 6,8 et l'eau distillée

III.9. DETERMINATION DE LA COURBE D'ETALONNAGE

Les courbes d'étalonnage sont réalisées dans des solutions tampons différentes qui sont le tampon gastrique pH 1,2, le tampon intestinal pH 6,8 et l'eau distillée. Les trois courbes d'étalonnage (DO = f(c)) ont été réalisées par la mesure de la densité optique (DO) à λ =234 nm de différentes solutions de metformine à des concentrations comprises entre 0,006 mg/ml à 0,03 mg/ml.

Les résultats sont représentés dans la figure III.7.





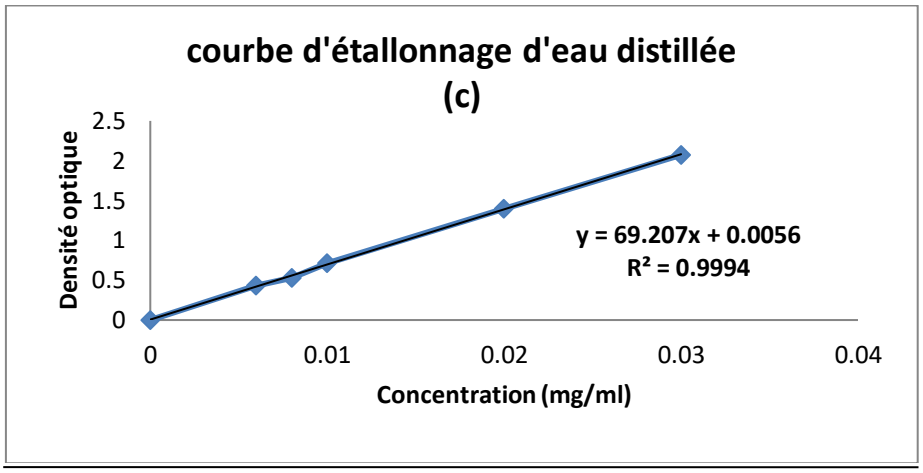


Figure III.7. Courbe d'étalonnage de Metformine chlorhydrate dans l'UV à λ =234 nm: **(a)** dans un milieu tampon pH 1.2, **(b)** dans un milieu tampon pH 6,8 **(c)** dans l'eau distillée

Le Tableau III.8 résume les résultats obtenus des courbes d'étalonnage à savoir les équations des droites d'étalonnage et les coefficients de corrélation correspondants.

Tableau III.8 : Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du Metformine chlorhydrate

Milieux de dissolution	**Longueur d'onde optimale (nm)**	**Equation de la droite d'étalonnage**	**Coefficients de corrélation R^2**
Milieu Tampon pH 1,2	234	y=79,13 x+0,064	0,996
Milieu Tampon pH 6,8	234	y=68,42 x+0,072	0,996
Eau distillée	234	y=69,20 x+0,005	0,999

D'après les résultats obtenus, il apparait que la méthode de dosage du Metformine chlorhydrate est convenable pour notre étude étant donné qu'elle offre une bonne spécificité pour la détection et le dosage du principe actif recherché ainsi qu'une bonne linéarité suivant la loi de Lamber-Beer se traduisant par des coefficients de corrélation supérieurs à 0.99 pour les trois milieux étudiés.

III.10. CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE DES CAPSULES HUMIDES ET SECHES

Les capsules obtenue ont une forme sphérique a l'état humide, mais après le séchage les capsules sont dépourvue d'eau et s'allongent légèrement. Dès qu'on les remet dans un milieu aqueux, les capsules regonflent et reprennent leurs formes initiales (Figure III.8).

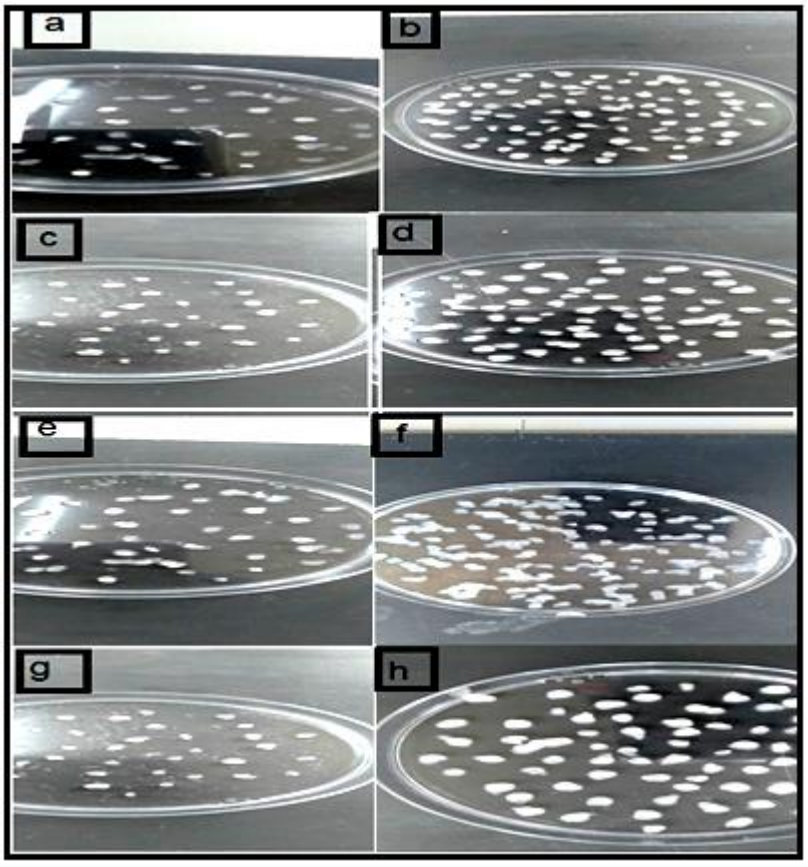


Figure III.8. Formes et aspect des capsules formulées à différentes concentration en gomme xanthane :**a ,b**: capsules à 0,5 % (p /v) sèche et humide respectivement **c, d**: capsules à 0,75 % (p /v) sèche et humide respectivement , **e ,f**: capsules à 1 % (p /v) sèche et humide respectivement, **g ,h**: capsules à 1,25 % (p /v) sèche et humide respectivement.

III.10.1. Analyse granulométrique des capsules

Les résultats de mesures obtenus sont résumés dans le tableau III.9 :

Tableau III.9 : Taille des capsules obtenues à différentes concentrations en gomme xanthane

Capsules avant séchage			
N° Formule	**% GX (p/v)**	**Diamètre moyen (mm)**	**CV*(%)**
F1	0,5	2,417	6.92
F2	0,75	2,814	4.28
F3	1,0	3,310	6.25
F4	1,25	3,549	6.93
Capsules après séchage			
N° Formule	**% ALG (p/v)**	**Diamètre moyen (mm)**	**CV*(%)**
F1	0,5	1,1045	5.39
F2	0,75	1,7845	3.49
F3	1.0	1,7965	3.19
F4	1,25	2,0655	2.25

* CV : coefficient de variation.

L'analyse des données montre des valeurs de la dimension des capsules qui varie d'une formule à l'autre selon la concentration en gomme xanthane. En effet, le diamètre des capsules lors de leurs préparations est de l'ordre de 2,417mm pour la formule F1, composée de 0.5 % de gomme xanthane, et ce diamètre moyen augmente en augmentant la concentration en gomme xanthane, et enfin atteint une valeur de 3,549 mm pour la F4 composée de 1,25 % de gomme xanthane. Ceci peut être expliquée par le fait que la viscosité de la solution initiale augmente avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, ceci entraine la formation de capsule beaucoup plus volumineuse lors de l'extrusion à travers de la seringue.

Après séchage des capsule, leurs formes est réduite et devient plus petites et plus ou moins sphériques avec des diamètres allant de 1,1045 mm pour la formule F1 (0.5 % de gomme xanthane) à 2,0655 mm pour la formule F4 (1,25 % de gomme xanthane). La figure III.9 illustre les diamètres des capsules avant et après leur séchage.

L'analyse statistique des données montre une variation uniforme de la dimension des capsules traduite par des résultats reproductible, illustré par un coefficient de variation très petit (<10%).

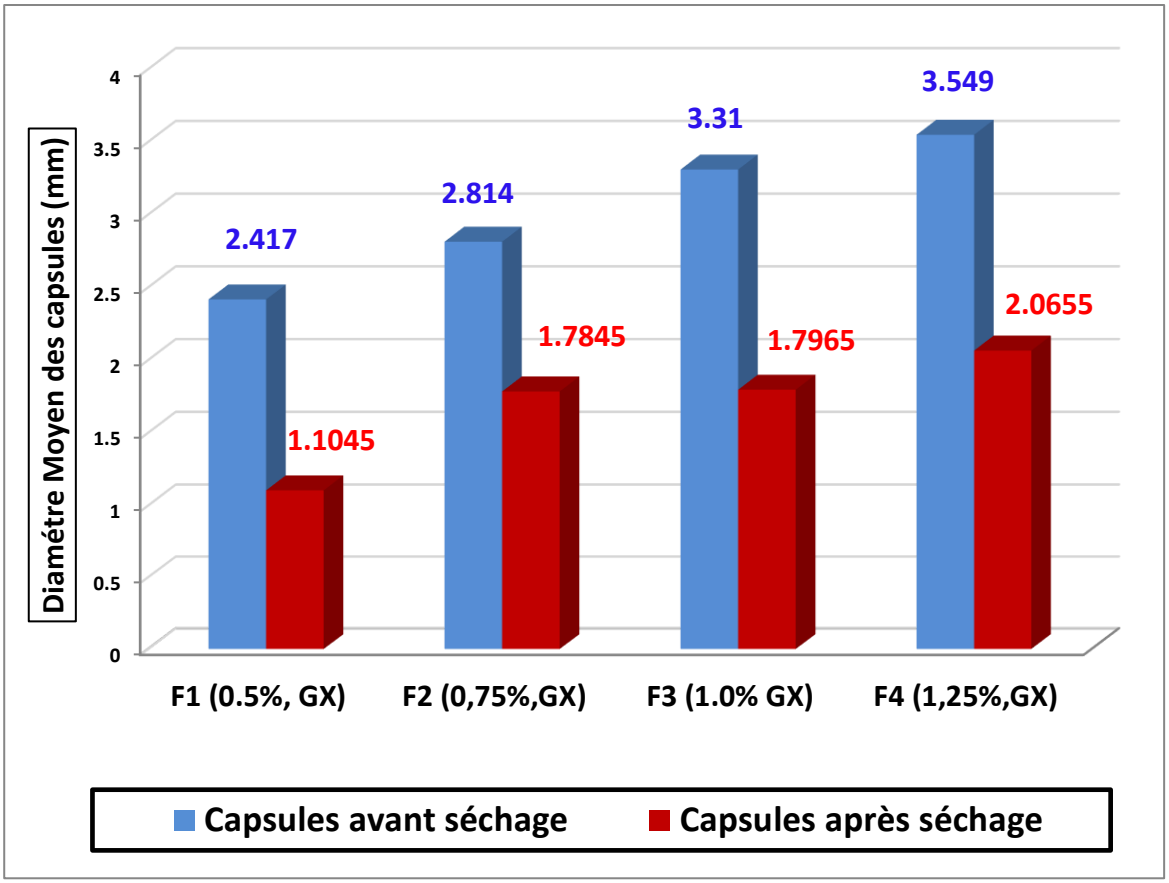


Figure III.9 : Tailles des capsules (avant et après séchage).

III.10.2.Etude du gonflement des capsules

L'étude du gonflement basée sur la gravimétrie **[73],** permet d'établir la cinétique de pénétration du milieu de dissolution dans les capsules. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation de volume au cours du temps.

Les résultats du test de gonflement des capsules formulées, dans les différents milieux de dissolution sont représentés sur les figures III.10, III.11 et III.12.

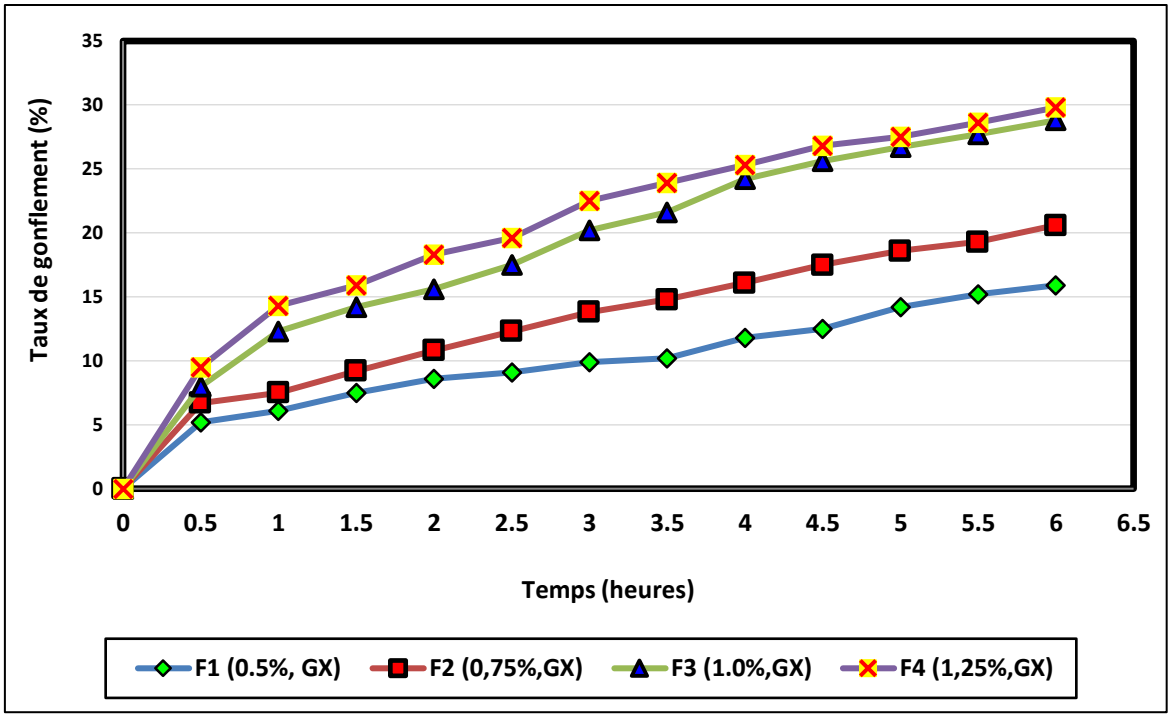


Figure III.10. Cinétique de gonflement des capsules (pH1,2)

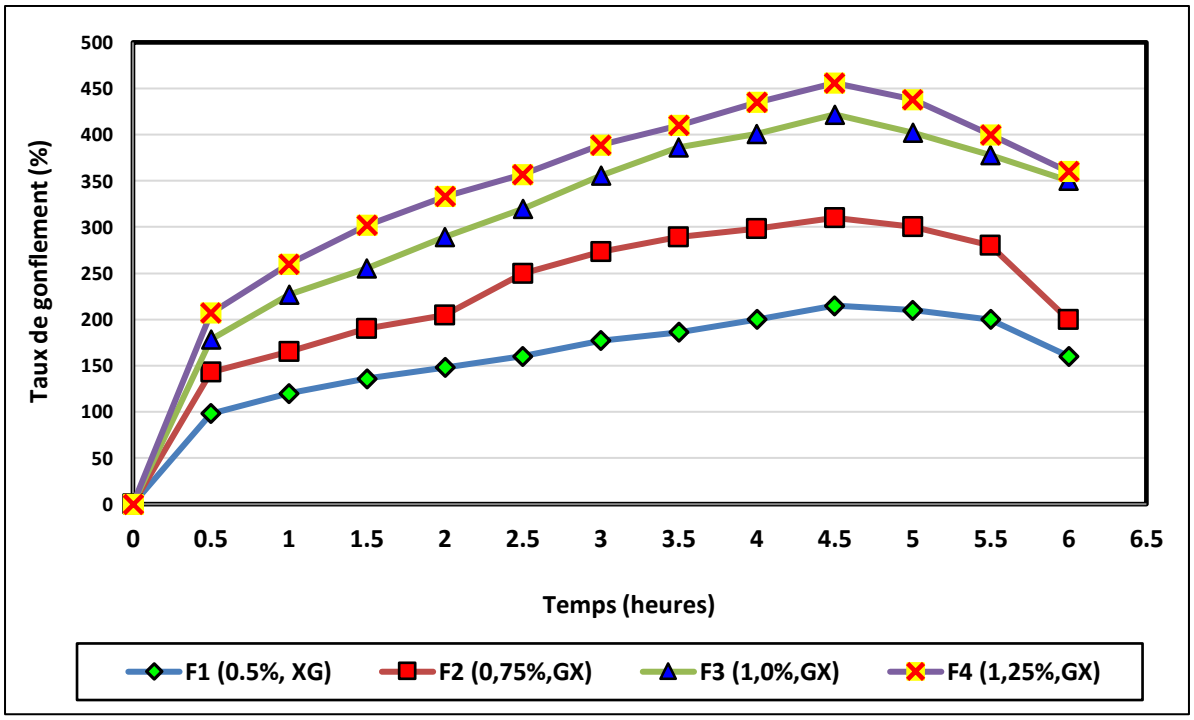


Figure III.11. Cinétique de gonflement des capsules (pH 6,8).

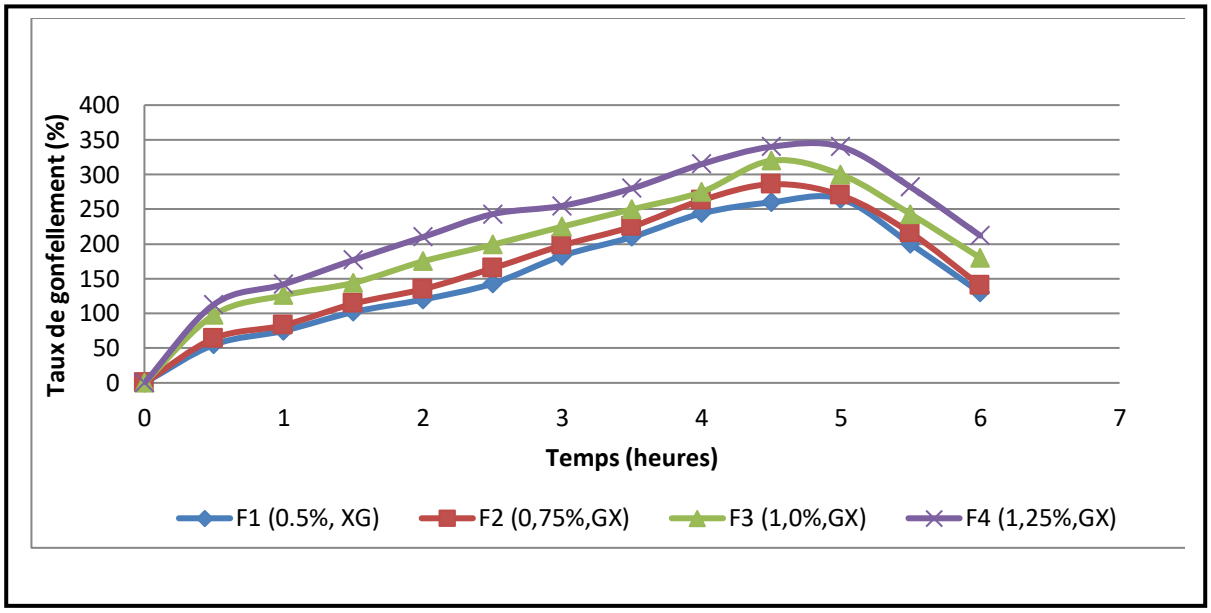


Figure III.12. Cinétique de gonflement des capsules (Eau distillée)

A partir des résultats obtenus lors des études de gonflement des capsules formulées, on remarque que les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les trois milieux de dissolution étudiés et pour toutes les formules de capsules testées. Les taux de gonflement sont plus importants dans le milieu pH 6,8 par rapport au milieu pH 1,2 pour toutes les formules et augmentent lorsque la concentration en gomme xanthane s'accroit dans les capsules dans les trois milieux étudiés.

Dans le milieu gastrique, les taux de gonflement des capsules varient entre 18,9 % lorsque la concentration en gomme xanthane est de 0,5 % (F1), et atteignent un maximum de 29,8 % lorsque la concentration en gomme xanthane est de 1,25 % (F4). Dans le milieu intestinal (pH 6,8) ils, varient entre 160 % lorsque la concentration en gomme xanthane est de 0.5% (F1), et atteint un maximum de 360 % lorsque la concentration en xanthane est de 1,25 % (F4).
Les taux de gonflement des capsules dans le milieu neutre d'eau distillée varient entre 130 % pour la formule (F1), et atteignent un maximum de 212 % pour la formule(F4).

La figure III.13, récapitule les résultats des taux de gonflement finaux des capsules dans les trois milieux de dissolution étudiés.

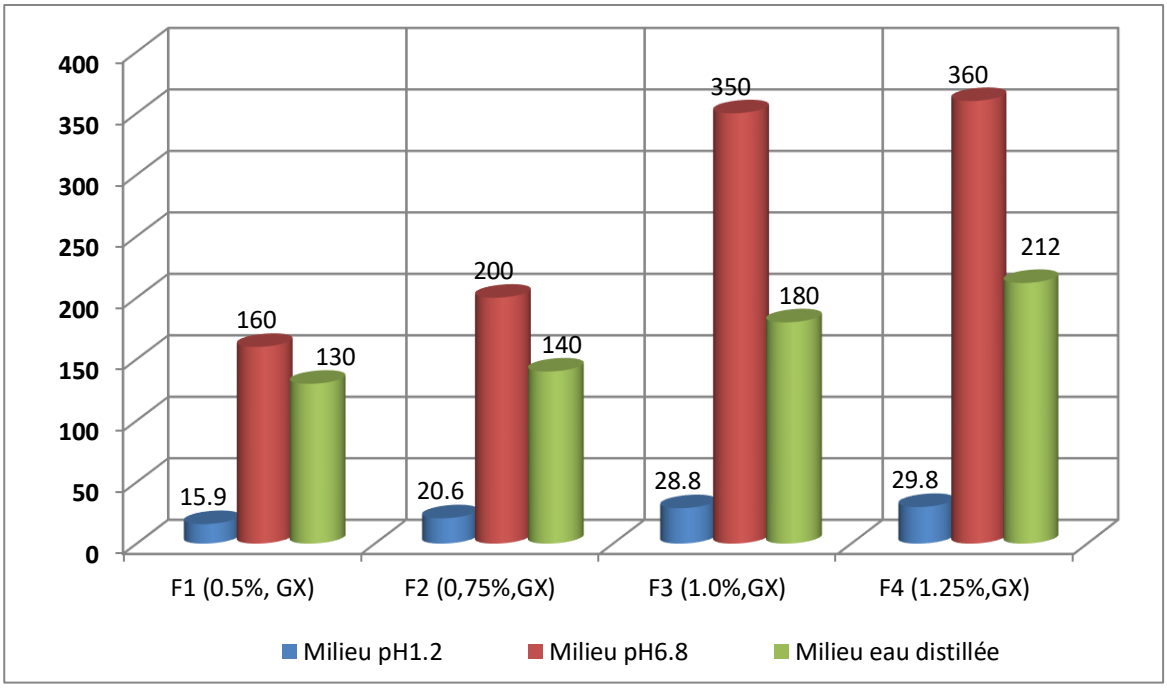


Figure III.13. Taux de gonflement final des capsules.

La gomme xanthane est un polysaccharide anionique de par la présence des fonctions carboxyliques –COOH dans sa structure. Le ralentissement de la cinétique de gonflement en milieu acide peut être expliqué par le fait que les groupements carboxyliques sont sous forme non dissociée (-COOH) à pH 1,2, ceci diminue donc nettement la répulsion électrostatique due à la neutralisation des charges et conduit à un rapprochement des chaines. Vue son caractère polyélectrolyte, ce qui rends sont taux de gonflement plus important aux milieux pH 6,8 et l'eau distillée qu'en milieu pH1.2. En effet, des études ont montrées que la gomme xanthane ayant un PKa de 3,5, est un polyélectrolyte chargé positivement présentant plusieurs formes ionisées à différent pH du milieu de dissolution. A un pH légèrement inférieur à 3,5, la neutralisation des charges conduit à un rapprochement des chaînes qui s'insolubilisent et précipitent. En dessous de pH 3 un risque d'hydrolyse des chaînes est très probable ; ce qui explique les taux de gonflement faible dans le milieu pH1,2 **[74]**. Pour des pH compris entre 3,5 et 10, les fortes répulsions électrostatiques entre groupements carboxylate tendent à écarter les chaînes les unes des autres, produisant des solutions visqueuses et stables **[74]**. Ces données est en accords avec les forts taux de gonflement obtenus dans les milieux pH 6,8 et l'eau distillée.

III.10.3.Détermination du taux d'encapsulation

La figure III.19, illustre les résultats des d'encapsulation de la metformine en fonction de la concentration en gomme xanthane.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les taux d'encapsulation du PA varient entre 76,75 % et 93,11 %, selon les différentes formules étudiées. On constate également que le taux d'encapsulation augmente avec l'augmentation de la concentration en gomme xanthane formant les capsules étudiées. En effet, lorsque la concentration en gomme xanthane est de 0.5 % (F1), le taux d'encapsulation est de 76,75 %, ce taux atteint 82.27 % lorsque la concentration en gomme xanthane est de 0,75 % (F2), et passe à 86,94 % la formule F3 (1.0% de GX) et atteint enfin un maximum de 93,11 % à des concentrations de 1,25 % en gomme xanthane (F4).

Ceci peut être expliqué par le fait que l'augmentation de la concentration du biopolymère entraine une réticulation plus importante de ce dernier par les ions Al^{+3} contenue dans la solution de réticulation. Ceci entraine un durcissement plus rapide des capsules empêchant le principe actif de ressortir et d'être expulser vers le milieu extérieur. Les faibles concentrations en gomme xanthane conduisent à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du PA et donc un taux d'encapsulation plus faible **[74]**.

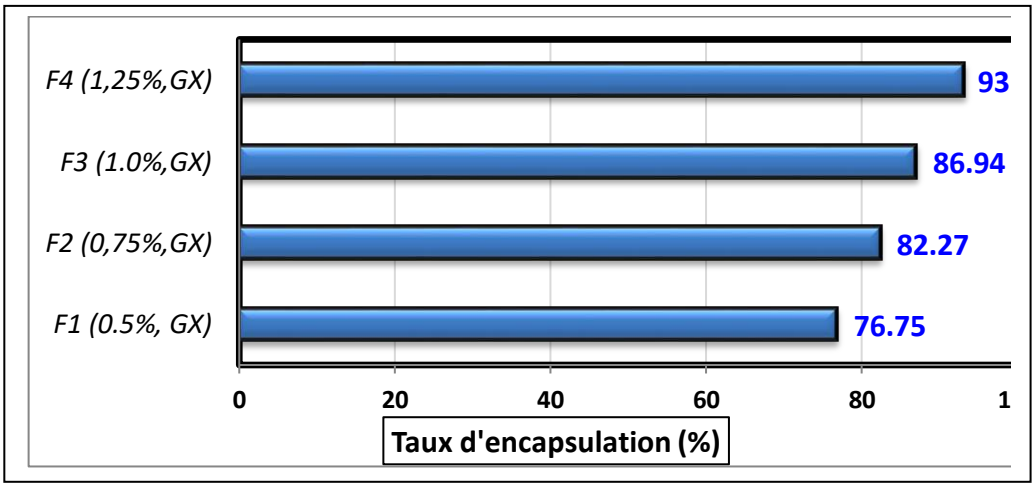


Figure III.14. Taux d'encapsulation du principe actif

III.10.4.Etude de la libération du principe actif a partir des capsules

L'étude de la cinétique de libération est réalisée pour le chlorhydrate de Metformine chlorhydrate seul et pour les formulations sèches des microcapsules obtenues **[75],** dans trois milieux physiologiques, le premier simulé au milieu gastrique [pH=1,2] et le second au milieu intestin grêle [pH=6,8] et le milieu neutre qui est l'eau distillée.

1. Profil de libération dans le milieu gastrique

La figure III.15, illustre le profile de libération le la Metformine chlorhydrate en capsulée dans le milieu gastrique pH 1,2.

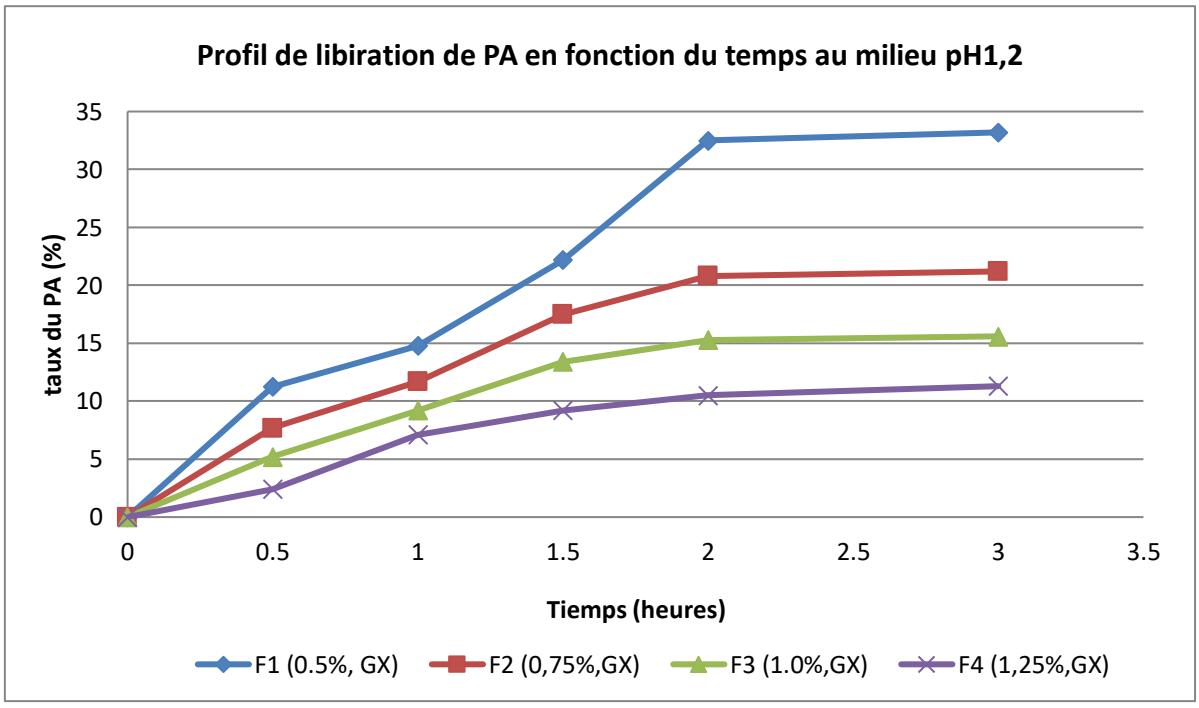


Figure III .15. Cinétique de dissolution in vitro dans le milieu pH 1,2.

Les profils de dissolution montrent une augmentation des taux de Metformine chlorhydrate libéré en fonction du temps selon une relation non linéaire.

On observe que les taux maximums de libération du Metformine chlorhydrate sont plus importants dans les formule F1 (0.5 de GX%) avec une valeur de 32,5% en 2.0 heures puis il se stabilise au delà 2 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en gomme xanthane. En effet, les taux de libération du Metformine chlorhydrate sont

respectivement de 20,8%, 15,3%, et 10,5%, correspondant à F2 (0,75% de GX), F3 (1,0 % de GX) etF4 (1,25 % de GX) respectivement.

Ces résultats indiquent qu'avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, la matrice hydrophile formant les capsules de gomme xanthane est plus résistante à la libération du Metformine chlorhydrate à cause de l'enchevêtrement des chaines de polysaccharides qui devient de plus en plus important, ceci se répercute directement sur le nombre et le volume des pores qui sont réduits avec l'augmentation de la concentration en gomme xanthane **[76]**.

A pH 1,2, les chaînes de gomme xanthane sont moins solubles et la couche (moins hydratée) se rétracte, réduisant la perméabilité et donc la vitesse de libération du Metformine chlorhydrate

2. Profil de libération dans le milieu intestinal

Les résultats de l'étude de libération *in-vitro* de la Metformine en fonction du temps à partir des microcapsules de gomme xanthane dans le milieu intestinal à pH 6,8 sont représentés sur la figure III.16.

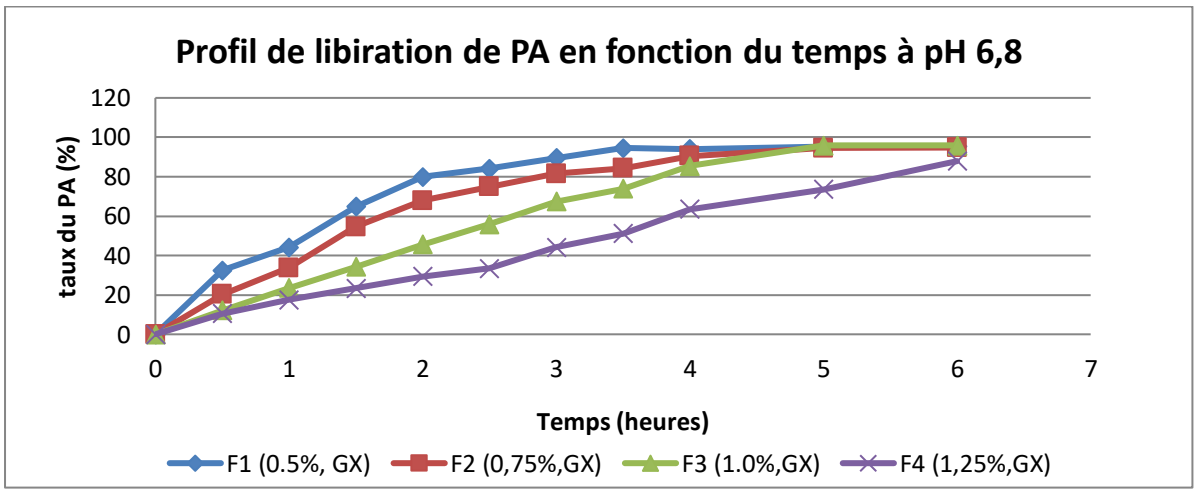


Figure III .16. Cinétique de dissolution in vitro dans le milieu pH 6,8.

Les profils de dissolution montrent une libération progressive et continue de Metformine en fonction du temps. On remarque que les taux maximums de libération du Metformine chlorhydrate atteignent une libération totale et complète pour toutes les formules étudiées et cela à différents temps de dissolution.

En effet, les formules F1 contenant 0,5 % de GX, libèrent 90,2% de metformine en 3 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en gomme xanthane où les

taux de libération du Metformine chlorhydrate sont respectivement de 90,4% au bout de 4 heures dans les formule F2 (0,75 de GX %), et de 95.9% au bout de 5 heures dans les formule F3 (1.0% de GX), et enfin un taux de 90,6% au bout de 8.0 heures dans les formule F4 (1,25 % de GX).

A pH 6,8 le gel de la membrane reprend un état plus hydraté, augmentant la perméabilité et la vitesse de sortie du Metformine chlorhydrate. La gomme xanthane étant très hydrophile, son réseau va gonfler vont peu à peu diffuser dans le milieu externe, ce qui a pour conséquence d'augmenter la dimension des mailles du réseau, et par conséquence la diffusion du P.A, jusqu'à se dégrader complètement, car les chaînes polymères deviennent trop éloignées les unes des autres et la couche d'hydrogel se délite.

3. Profil de libération dans le milieu neutre l'eau distillée

La libération in vitro de la Metformine à partir des microparticules de gomme xanthane a été étudiée dans l'eau distillée en fonction du temps. Les profils de libération sont représentés sur la figure III.17.

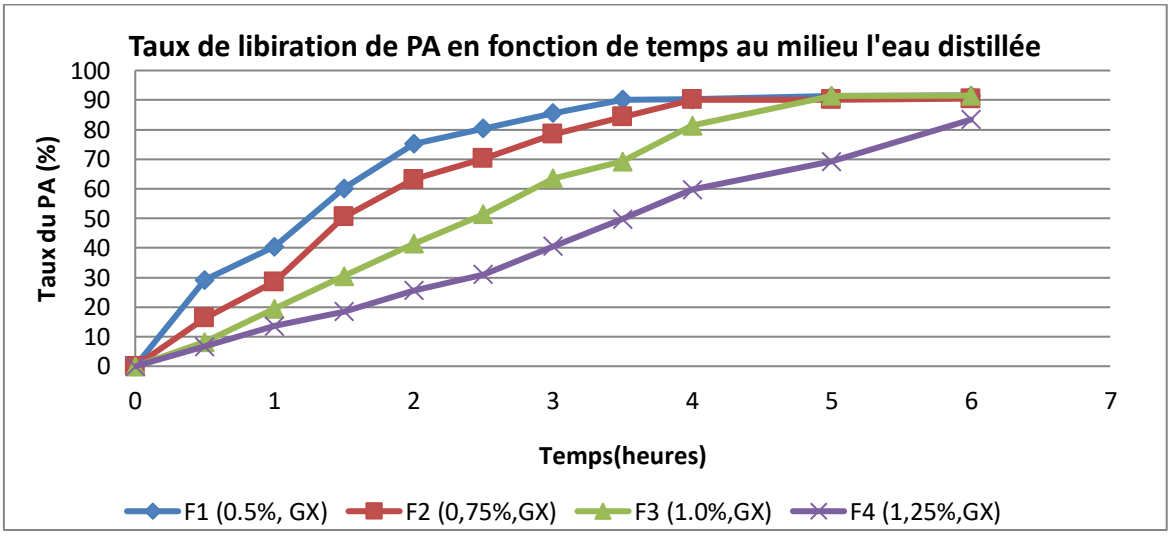


Figure III .17. Cinétique de dissolution in vitro dans l'eau distillée.

Les profils de dissolution montrent une libération progressive et continue de Metformine chlorhydrate en fonction du temps. On remarque que les taux maximums de libération du PA atteignent une libération totale et complète pour toutes les formules étudiées et cela à différents temps de dissolution.

En effet, les formules F1 contenant 0,5 % de GX, libèrent 90,1% de metformine en 3,5 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en gomme xanthane où les taux de libération du Metformine chlorhydrate sont respectivement de 90,2% au bout de 4 heures dans les formule F2 (0,75 de GX %), et de 91.4% au bout de 5 heures dans les formule F3 (1.0% de GX), et enfin un taux de 90,2% au bout de 8.0 heures dans les formule F4 (1,25 % de GX).

III.11.CONCLUSION

Lors de cette étude, une caractérisation du principe actif Metformine chlorhydrate et du biopolymère gomme xanthane a été mené par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-VIS, Viscosimètre,….).

L'encapsulation de la Metformine chlorhydrate au sein de capsules de gomme xanthane a été menée avec succès à l'aide de la méthode de gélification en présence d'un agent réticulent. En effet, ce travail nous a permis l'obtention de capsules de taille micrométriques qui varient en fonction de la concentration en biopolymère.

La caractérisation des capsules de gomme xanthane a été réalisée du point de vue, taux de gonflement, taux d'encapsulation et cinétique de libération dans différents milieux de dissolution.

Les taux d'encapsulation du Metformine chlorhydrate varient entre 76,75% et 93,11%, selon les différentes formules étudiées. Ce taux augmente avec l'augmentation de la concentration en gomme xanthane, atteignant un maximum à des concentrations de 1,25% en gomme xanthane (F4). Les faibles concentrations en gomme xanthane conduisent à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du Metformine chlorhydrate et donc un taux d'encapsulation plus faible.

L'étude a montré également des taux de gonflement plus importants lorsque la concentration en gomme xanthane augmente dans les capsules dans les trois milieux étudiés. A pH 1.2, ce taux atteint un maximum de 29,8%, et 360% à pH 6,8 et 212% à l'eau distillée à des concentrations en gomme xanthane de 1,25% (F4),

La concentration de gomme xanthane dans les capsules influence également la cinétique de libération du Metformine chlorhydrate. En effet, en augmentant la concentration du biopolymère dans les capsules, la cinétique de libération du Metformine chlorhydrate est très faible dans le milieu pH1,2 , avec des taux plus important pour la formule F1 (0,5 de GX%)

d'une valeur de 32,5% en 2.0 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en gomme xanthane.

A pH 6,8, la cinétique de libération du principe actif est plus prolongée dans le temps avec des taux de libération maximum de 90,6% au bout de 8.0 heures trouvé dans la formule F4 (1,25 % de GX).

Pour l'eau distillée, la cinétique de libération du principe actif est plus prolongée dans le temps avec des taux de libération maximum de 90,2% au bout de 8.0 heures trouvé dans la formule F4 (1,25 % de GX).

Ces résultats indiquent qu'avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, la matrice hydrophile formant les capsules de gomme xanthane est plus résistante à la libération de la Metformine chlorhydrate.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail était l'encapsulation selon le procédé de gélification d'un principe actif antidiabétique, la Metformine chlorhydrate dans une matrice polymérique à base de gomme xanthane (GX).

Dans un premier lieu, une étude de Préformulation a été réalisée pour la caractérisation du principe actif Metformine chlorhydrate et du biopolymère GX par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-VIS, Viscosimétrie, conductémitrie, pH….).

Par la suite, l'encapsulation du Metformine chlorhydrate au sein de capsules de gomme xanthane (allant de 0,75% à 1,25%) a été menée avec succès à l'aide de la méthode de gélification en présence d'un agent réticulent $AlCl_3$.

En effet, la mise au point d'une microencapsulation par un tel procédé permet d'obtenir des billes de tailles moyennes allant de 241.70 µm à 354.90µm avant séchage et de 110.45µm à 206.55µm après séchage, où le PA est dispersé dans la matrice hydrophile de GX, dont le taux d'encapsulation a atteint 93.11 % à une concentration de 1,25%.On remarque également que le taux d'encapsulation augmente avec l'augmentation de la concentration en GX dans les capsules.

D'autre part, l'étude du gonflement dans les milieux gastrique (pH1.2) et intestinale (pH 6,8) a permis de voir que les capsules présentaient des taux de gonflement plus importants dans les milieux pH 6,8 et l'eau distillée par rapport au milieu pH 1,2, pour toutes les formules étudiées atteignant 29,8% dans le milieu gastrique, 360 % dans le milieu pH 6.8 et 212% dans l'eau distillée. Ces taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en GX augmente dans les capsules dans les trois milieux étudiés.

L'analyse des cinétiques de libération du Metformine chlorhydrate mène à dire que les conditions opératoires telles que le pH du milieu de dissolution et la concentration en GX peuvent influencer d'une manière notable les taux de libération du PA dans le temps.

Par ailleurs, des profils de libération prolongée ont été obtenus dans le milieu intestinal pH6,8 avec des taux de libération de 90.20% en Metformine chlorhydrate au bout de 3 heures , alors que des taux maximums de 32.50% au bout de 2 heures ont été obtenus dans le milieu gastrique pH1.2 et le taux maximum dans l'eau distillée est de 90,10% au bout de 3,5 heures. Ces résultats confirment une libération prolongée du principe actif au travers les capsules de GX à 0,5 %.

Enfin, nous pouvons conclure que GX est un biopolymère ayant des propriétés très intéressantes pour l'encapsulation des principes actifs en vue d'avoir une libération prolongée d'un principe actif. Cette encapsulation est fortement dépendante de la concentration en GX et du milieu de dissolution étudié.

Ce travail est loin d'être achevé et mérite d'être soumis à des études plus approfondies surtout sur le plan physico-chimique en utilisant des techniques d'analyse performantes telles que : la DSC la microscopie électronique à balayage…et faire des études de comparaison avec la forme commerciale existante et d'utiliser la gomme xanthane en mélange avec un autre polymère : Protéine ou polysaccharide.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Référence bibliographique

[1] Dictionnaire *Vidal 2019*, 95ème édition. (France), 2019.

[2] **Mehellou Z.,** (2016)., Caractérisation partielle et activités biologiques des polysaccharides hydrosolubles., Thèse de magister en biologie université de KASDI MERBAH OUARGLA département de biologie.

[3] **Blitz J.P., Gun'ko V.M., Poncelet D., (**2006) Microencapsulation: Fundamentals, methods and application., P23–34.

[4] **Murano E.,** (1998)., Use of natural polysaccharides in the microencapsulation techniques of appl.Ichthoyl ., P14.245-249.

[5] **BrunetonJ.,(**2009)., Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ., (4émeEdition)., revue et augmentée, Paris, tec and Doc- Editions médicales internationales., P1288.

[6] Milas M ., Rinaudo M.,(1979) .,Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. *Carbohydrate Research* **.,** P76, 189-196.

[7] **Voet D., Voet J.G.,** (2005)., Chapitre 11: Sucre de polysaccharides., Biochimie (2^{éme}Edition)., Paris., P 356-380.

[8] **Beffa. R., Widmer F .,** (2000)., Aide mémoire de biochimie et biologie moléculaire (2éme Edition) médicales internationales., Paris –New York,. P 200.

[9] **Moussard C.,** (2010). Chapitre 5: Les glucides -Structures et propriétés. Biochimie et biologie moléculaire., Ed, de boeck., Paris., P 51-62.

[10] **Margham R.**, (2009)., Chapitre 1 : Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale., Ed, Bahaeddine., Constantine.Algérie., P 13-40.

[11] **Morris E.R ., Rees D.A., Young G., Walkinshaw M.D., Darke A., (1977**)., Order-disorder transition for a bacterial polysaccharide in solution., A role for polysaccharide conformation in recognition between *Xanthomonas* pathogen and its plant host., *Journal of Molecular Biology*., P 110, 1-16.

[12] **Winnik M.A., Yekta A.,** (1997)., Associative polymers in aqueous solution., *Current Opinion in Colloid & Interface Science.*, **P** 2, 424-436.

[13] **Delattre C.**, (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate., Thèse de doctorat. Science Biochimie Génie Enzymatique., Université de Picardie Jules Verne., France., P4-11.

[14] **Hourdet D., Gadgil J., Podhajecka K., Badiger M. V., Brulet A., Wadgaonkar P. P.,** (2005)., Thermoreversible behavior of associating polymer solutions: Thermothinning versus thermothickening., *Macromolecules.*, P38, 8512-8521.

[15] **Kemba A., Ratisbonne Z.,** (2013)., Formulation d'un adjuvant phytosanitaire sous forme d'émulsion et optimisation de la pulvérisation., Thèse de doctorat., Université de technologie Compiègne., France.

[16] **Sunil G., Dr. Sonali N.,** (2014)., Natural gums and its pharmaceutical application JSIR., 3(1): P112-121.

[17] **Edward M.R .,Kottke K.M.,** (2002).,Tablet Dosage Forms., In: Banker GS, Rhodes CT., ed. Modern Pharmaceutics., New York: Marcel Dekker., Inc:P 287-333.

[18] **Aslam A., Parrott E.,** (1971)., Effect of aging on some physical properties of hydrochlorthiazide tablets. J Pharm. Sci., 60: 263-266.

Référence bibliographique

[19] **Bhardwaj T.R ., Kanwar M., Lal R.,**.(2000)Naturalgums and modifiednaturalgumsassustained release carriers., Drug Dev., Ind. Pharm., 26: P 1025-1038.

[20] **Kale V. V., Kasliwal R ., Parida S.K.,** (2004) ., Formulation and release characteristics of guar gum matrix tablet containing metformin HCl. Int. J. Pharm. .,P 75-80.

[21] **Khullar P., Khar R.K ., Agrawal S.R .,** (1998)., Evaluation of guar gum in the preparation of sustained release matrixtablets.Drug Dev., Ind. Pharm. 24:P 1095-1099.

[22] **Heda A., Shivhare U .,** (2004)., Study of some natural hydrophilic polymers as matrix forming materials for sustained release tablet formulation., Int. J. Pharm. P 69-74.

[23] **Shefter E., Gum Acacia. C. R., Paul J. S., Paul J.W.,** (2003)., ed., Handbook of Pharmaceutical Excipients ., The Pharmaceutical Press and The American Pharmaceutical Association., In: Raymond ., P1-2.

[24] **Jain N.K ., Dixit V.K .,** (1988)., Studies on gums and their derivatives as binding agent. Indian J. Pharm. Sci., 50 P: 113-114.

[25] **Owen S. C., Gum Tragacanth. C. R., Paul J. S., Paul J. W.,**(2003)., ed,. Handbook of Pharmaceutical Excipients., The Pharmaceutical Press and The American Pharmaceutical Association; P654-656.

[26] **Sreenivasa R.B., Prasanna R.Y., Mary S., et al.,** (2000)., Design and studies of gum karaya matrix tablet., Int. J. Pharm .,P 239-242.

[27] **MundayD. L., Philip J. C.,** (2000)., Compressed xanthan and karaya gum matrices: hydration, erosion and drug release mechanisms. Int. J. Pharm.,203:P 179-192.

[28] **Beltz H.D., Grosch W., Schieberle P.,**(2004) 03^{éme}Edition Food Chemistry., Springer Science & Business Media., berlin - Allemagne P 333.

[29] **GarcõÂa-Ochoaa F., Santosa V.E ., Casasb J.A ., E. GoÂmeza E.,**(2000) ., BiotechnologyAdvances ., 549 ± 579., Université de Madrid – Espagne., P 550.

[30] **Capron, I.; Brigand, G.; Muller, G.,** (1997) **.,** About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide. Polymer ., P38, 5289-5295.

[31] **Dentini, M.; Crescenzi, V.; Blasi, D.,**(1984)., Conformational properties of xanthan derivatives in dilute aqueous solution., *International Journal of Biological Macromolecules* . ,P 6, 93.

[32] **Winnik M. A.; Yekta A.,**(1997) Associative polymers in aqueous solution., *Current Opinion in Colloid & Interface Science.*, P 2, 424-436.

[33] **Jouquand C., Aguni Y., Malhiac C., Grisel M.,** (2008).,Influence of chemical composition of Polysaccharides on aroma retention., *Food Hydrocolloids* .,P 22, 1097-1104.

[34] **Cuvelier G., Launay B.,** (1986)., Concentration regimes in xanthan gum solutions deduced from flow and viscoelastic properties. *Carbohydrate Polymers* .,P 6, 321-333.

[35] **Billa N., Kah-Hay Y., Mohamed Ali A.K., ., Alias O., (**2000)., Gamma scintigraphicstudy of the gastrointestinal transit and in vivo dissolution of a controlledreleasediclofenac sodium formulation in xanthan gum matrices.,InternationalJournal of Pharmaceutics.,P 201, 109–120.

Référence bibliographique

[36] **Hoepfner E. M., Herbert H., P,Reng A., Schmidt P. C.,** (2002). Encyclopedia ofexcipients for pharmaceuticals., cosmetics and related areas (5th ed.)., Aulendorf:Edito Cantor Verlag.,

[37] **Benoit J.P ., Richard J.,** Technique de l'ingenieur .,5TRéférence .,P 2210 -2000.

[38] **Giraud S.,** (2002) ., Microencapsulation d'un diisocyanate et d'un phosphate d'ammonium - Application : élaboration d'un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l'enduction textile., Thèse de doctorat., Université Lille 1.

[39] **N. ndamme.T, Poncelet, D., Subra-Paternault, P.,** (2007) editors. Microencapsulation des Sciences aux Thecnologie . ,Paris .,Lavoisier., P 9-22.

[40] **Poncelet D.,** Life Is Based on a Combinaison of Biochemistry and Bioencapsulation

[41] **Naga Jyothi N.V., Prasanna P.M., Sakarkar S.N., Prabha K.S., Ramaiah P.S., Srawan G.Y.,** (2010)., Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency , Journal of Microencapsulation .,27(3):P 187–197.

[42] **Finch C.A., Bodmeier R.,** Wiley-VCH Verlag GmbH & Co:«Microencapsulation», KGaA ., Weinheim 10.1002/14356007:P 6_575

[43] **Vandamme T ., Poncelet D., Subra-Paternault P .,** Microencapsulation : des Sciences Aux Technologies,Paris., Éditions Tec & Doc.,200.

[44] **Soper, J.,**(1995) Utilization of Coacervated Flavors., ACS Symposium Séries,590,104-112.1.

[45] **Patwardhan S.A ., Wiley J.,(1983)**., Microencapsulation Controlled-released technology., In KG, Das ., P 121-141.

[46] **Dziezak JD.,**(1998) Microencapsulation and encapsulated ingrédients., Food Technology., P 42,136,153.

[47] **Vandegaer J,E.,** (1973)., Encapsulation by coacervation., Vandegaer,Microencapsulation:Processes and Applications., In JE ., P 21-37.

[48] **Risch S.J.,**(1995)., Encapsulation: Overview of uses and techniques., ACS Symposium Séries .,P 590, 2-7.

[49] B**arratt G.,** (2003)., Colloidal drug carriers: achievements and perspectives, CellularAnd Molecular Life Sciences.,P 60, 21-37.

[50] **Risch S.J .,** (1995)., Encapsulation: Overview of uses and techniques., ACS Symposium Séries ., 590, 2-7.

[51] **Gibbs B.F., Kermasha S., Alli L., Mulligan C.N.,**(1999)., Encapsulationin the food industry: a review., International Journal of Food Sciencesand Nutrition ., P50, 213-224.

[52] **Bernard F.G., Selim K., Inteaz A., et al.,** (1999)., Encapsulation in the food industry- a review., International Journal of Food Sciences and Nutrition.,P 50, 213-217.

[53] **Madene A., Jacquot M., Scher J., Desorby S.,** (2006) ., Flavour encapsulation and controlled release - a review., International Journal of Food Science and Technology., Vol. 41.,P1 - 21

[54] **Viebek,C., et al** .,(1994)., On the mechanicm of gelation of helix forming

biopolymers., Macromolecules., P 4160-4166.

[55] **Igorg G., Mattiasson B.O.,** (2008)., Smart polymers Applications in Biotechnology and Biomedicine ., CRC Press., New York ., 2eme edition., P 16 ,148-150 .

[56] **Guo H.L., Zhao X.P., Wang J.P.,** (2005) .,Synthesis of functional microcapsules containing suspensions responsive to electric fields., Journal of Colloid and Interface Science., 284 (2): P 646-651

[57] **Gao C.Y., Mohwald H ., Shen J.C.,** (2005) ., Thermosensitive poly (allylamine)-g-poly (Nisopropylacrylamide)., synthesis, phase separation and particle formation., Polymer., 46(12): P 4088-4097.

[58] **Lamprecht A., Yamamoto H., Takeuchi H., Kawashima Y.,** (2004)., pH-sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin ., Journal of Controlled Release., 98(1): P 1-9.

[59] **Braunecker J., Baba M., Milroy G.E ., Cameron R.E.,** (2004) ., The effects of molecular weight and porosity on the degradation and drug release from polyglycolide., International Journal of Pharmaceutics., 282: P19-34.

[60] **Klose D., Siepmann F., Elkharraz K., Krenzlin S., Siepmann J.,** (2006) ., How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles., International Journal of Pharmaceutics., 314(2):P 198-206.

[61] **Pinto Reis C., Neufeld R.J., Ribeiro A.J., Veiga F.,** (2006): Nanoencapsulation Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles., Nanomedicine : nanotechnology, biology and medicine., 2(1): P 8-21.

[62] **Bartkowiak A., and Hunkeler D.,** (1999) ., Alginate-oligochitosan microcapsules: A mechanistic study relating membrane and capsule properties to reaction conditions., Chemistry of Materials., 11(9): P 2486-2492.

[63] **Yang Y.Y., Chung T.S., Ng N.P.,** (2001)., Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method., Biomaterials., .22(3)P 231-241.

[64] **Shah S.S., Cha Y., and Pitt C.G,** (1992) ., Poly(Glycolic Acid-Co-Dl-Lactic Acid) – Diffusion or Degradation Controlled Drug Delivery., Journal of Controlled Release., 18(3):P 261-270.

[65] la pharmacopée européenne. ,(2017) édition N°9

[66] **Loubiere C., Dirat B., Tanti J.F., Bost F.,(** 2013)., Metformine et cancer : de nouvelles perspectives pour un ancien médicament., New perspectives for metformin in cancer therapy., Annales d'Endocrinologie., Elsevier Masson SAS., France ., P 74 130–136.

[67] **Monnier L., Colette C.,** (2014)., Thérapeutique des désordres glycémiques , Diabétologie ., Elsevier Masson SAS.

[68] **Sreenivasulu D., Charanraj O., Vijaykumar D., Babu M.Y.,** (2012)., Formulation and evaluation of metformin HCL microspheres ., international journal of advanced Pharmaceutics., India .,Vol 2 (Issue 2).,P 102-109,.

[69] **A.K. Nayak, D. Pal,** (2014)., Trigonellafoenum-graecum L. seed mucilage-gellan

mucoadhesive beads for controlled release of metformin HCl ., Carbohydrate Polymers., P 107 31–40.

[70] British pharmacopée

[71] **Refat M.S., Al-Azab F.M., Al-Maydama H.M.A., Amin R.R., Jamil Y.M.S., Kobeasy M.I.,** (2015)., Synthesis, spectroscopic and antimicrobial studies of La(III), Ce(III),Sm(III) and Y(III) Metformin HCL chelates., Spectrochimica Acta Part A., Molecular and Biomolecular Spectroscopy 142 392-404.

[72] **Nayak A.K., Pal D., Santra K.,** (2014)., carbohydrate polymers., P103 154-163.

[73] **Patel YL.,** (2006)., The effect of drug concentration and curing time on processing and properties of calcium alginate beads containing Metronidazole by response surface methodology., AAPS Pharm Sci Tech.,7(4):P 86.

[74] **Lannuccelli V., Coppi G., Bernabel MT., Cameroni R.,** (1998)., Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence,Part I.? Formulation study, Int, J, Pharm., 2009.,P174, 47-54 .

[75] **Lehir A.,**(2001)., Pharmacie Galénique ., Bonne pratique de fabrication des médicaments.,8èmeédition., Masson., Paris.

[76] **Anandrao R .,** (1999)., Controlled release of diclofenac sodium from sodium alginate beads cross linked with Glutaraldehyde ., Pharm Act Helv.,74: P 29-36.

[77] **Das M.K., Senapati P.C.,** (2007) ., Evaluation of furosemide-loaded alginate microspheres prepared by ionotropic External gelation technique. ActaPoloniaePharmaceutica Drug Res., b64.,P253-262.