REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. YAHIA FARES de MEDEA

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement



Mémoire de Master

En vue de l'obtention du diplôme de Master en génie des procédés.

Option : procédés pharmaceutiques

Thème

Elaboration d'un dispositif transdermique à base de biopolymères pour usage pharmaceutique

Réalisé et présenté par l'étudiante :

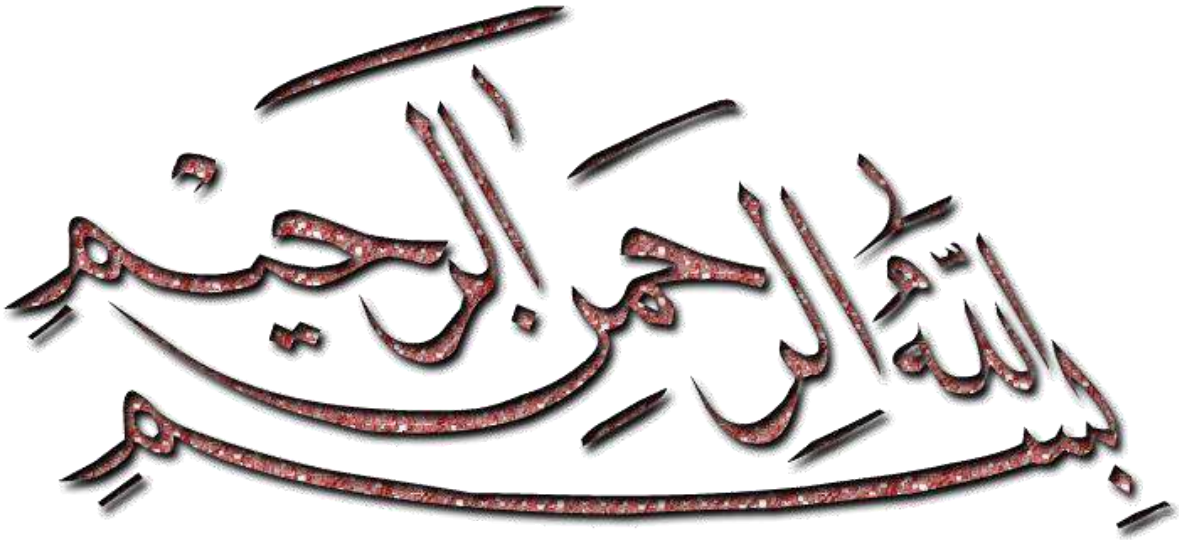
M^{elle}. GOUDJIL Hadjer

Proposé et encadré par :

Dr. MAACHOU Hamida

Dr. LEFNAOUI Sonia

JUIN 2015


بسم الله الرحمن الرحيم

ملخص : الهدف من هذا العمل هو إنشاء لاصقة جلدية مضادة للالتهاب باستعمال الكيتوزان و الكاراجينان للاستعمال الصيدلاني. أولا تمّ مزج الكاراجينان مع الكيتوزان للجمع بين مميزات المبلمرات الحيوية. نتيجة المزج كانت التكوّن التلقائي لمركب متعدد الالكترونية نتيجة لتشابك أيوني. بينت قياسات الناقلية و الامتصاصية أن النسبة المثلى كيتوزان/كاراجينان هي 1/1 ح/ح. أكدّ تحليل الأشعة تحت الحمراء المطبق على المركب وجود تفاعل بين المضاعفين الالكترونيين. ثانيا تم إنشاء غشاء المضاعفات الالكترونية الذي كان ذو مظهر غير متجانس. أخيرا، أظهرت الدراسة الأولية لحركية تحرير البيروكسيكام أن الغشاء المركب هو مرشح مبشِّر لتحرير مطول للبيروكسيكام.

الكلمات المفتاحية : كيتوزان، كاراجينان، مركب المضاعفات الالكترونية ، لاصقة جلدية.

Résumé : L'objectif de ce présent travail est l'élaboration d'un dispositif transdermique anti-inflammatoire à base de chitosane et carraghénane pour usage pharmaceutique. En premier lieu, le kappa-carraghénane (KC) est mélangé avec le chitosane (CS) afin de combiner les caractéristiques des deux biopolymères. Cette association avait comme conséquences la formation spontanée d'un complexe polyélectrolyte (CPE) suite à la réticulation ionique. Les mesures de la conductivité et de la turbidité ont montré un rapport optimal KC/CS de 1/1 v/v. L'analyse du complexe formé par spectroscopie FTIR a confirmé la réaction entre les deux biopolymères en question. En second lieu, l'élaboration d'une membrane polyélectrolyte a été abordée. La membrane formée avait un aspect hétérogène. Enfin, l'étude préliminaire de la cinétique de libération de Piroxicam a montré que la membrane du PEC est un candidat prometteur pour une libération prolongée du Piroxicam.

Mots clés :chitosane, carraghénane, complexe de polyélectrolytes, dispositif transdermique.

Abstract: The aim of this present work is the development of a transdermal anti-inflammatory patch containing Chitosan and Carrageenan for pharmaceutical use. Initially, the Kappa-Carrageenan is mixed with the Chitosan in order to combine the characteristics of both biopolymers. This association had as consequences the spontaneous formation of a polyelectrolyte complex (PEC) following the ionic crosslinking. The conductivity and turbidity measurements showed an optimal ratio KC/CS of 1/1 v/v. The analysis of the complex formed by FTIR spectroscopy confirmed the reaction between the two biopolymers. Secondly, the preparation of a polyelectrolyte membrane has been realized. The formed membrane had a heterogeneous appearance. Finally, a preliminary study of the release kinetics of Piroxicam showed that the membrane of the PEC is a promising candidate for a prolonged release of Piroxicam.

Keywords: Chitosan, Carrageenan, polyelectrolyte complex, transdermal patch.

Remerciement

Ce travail à été réalisé dans le laboratoire d'analyses physico-chimiques au niveau du Hall Technologique de l'université Dr .Yahia Fares de Médéa.

Je remercie en premier lieu ALLAH le miséricordieux, qui m'a donné le courage et la patience de mener à bien ce travail. Je dis à tout le temps « alhamdoulillah ».

Mes remerciements s'adressent à mon encadreuse Dr. MAACHOU Hamida, pour avoir accepté de diriger ce travail. Sa disponibilité, sa modestie, sa gentillesse et ses précieuses directives tout au long de la réalisation de ce travail m'ont beaucoup impressionné.

Je remercie également ma Co-encadreuse Dr. LEFNAOUI Sonia, pour le privilège qu'elle m'a fait en acceptant de diriger ce travail. Sa gentillesse, sa modestie, sa riche expérience et l'accueil cordial qu'elle m'a toujours réservé, m'ont inspiré une grande admiration à son égard.

Je tiens à remercier sincèrement Monsieur le président du jury Dr. HAMDECHE Mabrouk et Madame l'examinatrice Dr. ZOUAMBIA Yamina qui me font le grand honneur d'évaluer ce travail.

Je remercie mon cher père, mon premier enseignant, celui qui m'a accordé la base en chimie, qui m'a toujours encouragé à poursuivre mes études et son soutien moral en toute épreuve.

Je remercie également ma chère mère pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien moral et physique, son sacrifice, celle qui m'a toujours encouragé à poursuivre mes études.

Je vous remercie mes chers parents pour toutes les valeurs que vous avez su m'inculquer.

D'autre part, j'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants qui m'ont enseigné et m'ont aidé en particulier Dr. BELHADJ Abd-Elmouneïm et Monsieur ESSAID Billel, toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits et leurs conseils ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches. À HAMIOUDA Sarah, YOUCEF TOUMI Kaouther et tous les gens qui m'ont aidé, la liste des noms est longue, MERCI INFINIMENT.

Dédicace

Avec toute modestie, je dédie ce travail :

À ma très chère mère et mon très cher père, qui ont toujours été là pour moi, ils ont tout sacrifié pour leurs enfants. Ils m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation irremplaçable dont je suis fière.

À mes chères grands-mères pour leur douceur et leur gentillesse.

À mon cher grand-père maternel, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour.

À la mémoire de mon grand-père paternel, Qu'ALLAH lui pardonne et ait pitié de lui.

Bien sûr, la vie n'aurait pas du goût sans eux, mes très chers frères Billal et Abdeldjalil, et ma très chère sœur Sarah, qu'ALLAH les protège.

A tous mes oncles et tantes, à leurs mari(e)s et à leurs enfants.

A mon fiancé et toute sa famille.

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

Et toutes mes amies.

Hadjer

Sommaire

Nomenclature
Abréviation
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction générale

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères, Biopolymères étudiés

I.1. Introduction ……..03
I.2. Généralité ……03
I.2.1. Définitions.……...……03
I.2.2. Différentes familles de biopolymères ……..04
I.2.2.1. Les polysaccharides ……...05
a) La cellulose ……...05
b) L'amidon ……...06
I.2.2.2. Les protéines ……..07
I.2.2.3. Les biopolymères d'origine bactérienne ……....07
I.2.2.4. Les biopolymères synthétiques ……..08
I.2.3. Les propriétés des biopolymères ……09
I.2.3.1. La biodégradabilité ……....09
I.2.3.2. Biocompatibilité et biorésorbabilité ……09
I.2.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau ……...10
I.2.3.4. Propriétés chimiques ……..10
I.2.3.5. Autres propriétés ……...11
I.3. Biopolymères étudiés ……...11
I.3.1. Chitosane ……....11
I.3.1.1. Historique ……...11
I.3.1.2. Définition et structure ……....12
I.3.1.3. Source de chitosane ……....13
I.3.1.4. Préparation de chitosane ……....13
I.3.1.5. Propriétés du chitosane ……...14
a) Degré de Désacétylation (DD) ……..14
b) Cristallinité ……..……..15

c) Solubilité …….....15
d) Polyélectrolytes en milieu acide ……...15
e) Viscosité ……...15
f) Autres propriétés physiques et chimiques ……...15
g) Propriétés biologique ……....16
I.3.1.6. Les gels de Chitosane ……16
I.3.1.7. Modification du chitosane ……..16
I.3.1.8. Quelques applications du chitosane ……....16
I.3.2. Kappa-Carraghenane ……..…16
I.3.2.1. Historique ……...16
I.3.2.2. Définition …….…….....17
I.3.2.3. Sources et obtention des carraghénanes ……..18
I.3.2.4. Propriétés des carraghénanes ……..19
a) solubilité ……..19
b) Comportement rhéologique : épaississement, gélification ……19
c) Effets des électrolytes ……20
d) Réactions avec les protéines ……...20
e) Synergie ……...20
I.3.2.5. Influence de différents paramètres physico-chimiques sur le comportement des carraghénanes……20
a) Influence de la concentration ……20
b) Influence de la température ……...21
c) Influence du temps ……21
d) Effet des ions sur la transconformation ……21
I.3.2.6. Applications des carraghénanes ……..22
a) Les utilisations dans l'industrie agroalimentaire ……...22
b) Les utilisations en pharmacie et en cosmétologie ……22
I.4. Conclusion ……...23

Chapitre II : Complexes de polyélectrolytes

II.1. Introduction ……...24
II.2. Définitions ……..24
II.3. Classification des polyélectrolytes ……25

II.3.1. Classification selon l'origine de polyélectrolyte ……...25
II.3.1.1. Polyélectrolytes naturels ……....25
II.3.1.2. Polyélectrolytes synthétiques ……...26
II.3.2. Classification selon la nature des charges ……26
II.3.2.1. Polyacides, polybases et polyampholytes ……26
II.3.2.2. Polyélectrolytes faiblement et fortement chargés ……26
II.3.2.3. Polyélectrolyte faible et polyélectrolyte fort ……26
II.3.3. Classification suivant l'interaction avec le solvant ……...27
II.3.3.1. Polyélectrolyte hydrophile ……....27
II.3.3.2. Polyélectrolyte hydrophobe ……..27
II.3.3.3. Polyélectrolyte amphiphile ……27
II.4. Applications des polyélecrolytes ……28
II.5. Complexes de polyélectrolytes ……...29
II.5.1. Les différentes classes de complexes de polyélectrolytes ……....31
II.5.2. Constante de complexation ……...31
II.5.3. Paramètres influençant la complexation de polyélectrolytes ……....32
II.5.4. Mécanisme d'échange ……...33
II.5.5. Le complexe κ-Carraghénane/Chitosane ……..33
II.6. Conclusion ……..34

Chapitre III : Les dispositifs transdermiques

III.1. Introduction ……...35
III.2. Généralité sur la peau ……35
III.2.1. Anatomie de la peau ……...35
III.2.1.1. Epiderme ……...36
III.2.1.2. Derme……37
III.2.1.3. Hypoderme ……37
III.2.2. Fonction de la peau ……37
III.2.2.1. Fonction protectrice ……..37
III.2.2.2. Fonction de régulation thermique ……....37
III.2.2.3. Fonction de sensation ……37
III.2.3. Le métabolisme cutané ……...38
III.2.4. La perméabilité de la peau ……38

III.2.5. Avantages et inconvénients de la voie cutanée ……..39
III.3. Le dispositif transdermique ……..…….39
III.3.1. Définition ……...39
III.3.2. Description du patch transdermique ……..39
III.3.3. Les différents types de systèmes transdermiques ……..40
III.3.3.1. Le patch de type réservoir ……....41
III.3.3.2. Le patch de type matriciel ……42
III.3.4. Critères de choix du type de patch ……43
III.3.5. Les avantages du patch transdermique ……...43
III.3.6. Les contraintes et limites des systèmes transdermiques ……44
III.3.6.1. Les propriétés physico-chimiques des principes actifs ……....44
III.3.6.2. Les propriétés pharmacocinétiques des principes actifs ……..45
III.4. Le passage transdermique ……...45
III.4.1. Les deux phases du passage transdermique ……..45
III.4.2. Les voies de transport à travers la couche cornée ……....46
III.4.3. Les différents mécanismes de pénétration de la peau ……...47
III.5. Conclusion ……....48

Chapitre IV : Etude expérimentale

IV.1. Matériels et produits ……50
IV.1.1. Principe actif, biopolymères et produits utilisés ……..50
a) Principe actif ……50
b) Biopolymères ……51
c) Produits utilisés ……51
IV.1.2. Matériels utilisés……52
IV.2. Pré formulation ……..……53
IV.2.1. Préparation des solutions tampons ……....53
IV.2.2. Optimisation des paramètres de solution à base de Kappa-Carraghénane….. 54
IV.2.2.1. Préparations ……54
IV.2.2.2. Résultats et optimisation ……54
IV.2.3. Optimisation des paramètres de solution à base de Chitosane (CS) ……55
IV.2.3.1. Préparations ……55
IV.2.3.2. Résultats et optimisation ……55

IV.2.4. Préparation et caractérisation du polyélectrolyte CS-KC……...56
IV.2.4.1. Préparations ……56
IV.2.4.2. Résultats et optimisation ……..57
a) La turbidité ……58
b) La conductivité ……...59
c) Le pH ……..60
IV.2.5. Analyse par FTIR ……...61
IV.2.5.1. Préparations ……61
IV.2.5.2. Résultats et discussion ……61
IV.3. Formulation et caractérisation du dispositif transdermique ……..63
IV.3.1. Protocole de formulation ……...63
a) Préparation d'une membrane de CS (0.9 %) (témoin) ……63
b) Préparation d'une membrane du complexe polyélectrolyte ……64
IV.3.2. Caractérisation ……...66
IV.3.2.1. Aspect ……..66
IV.3.2.2. Test de gonflement ……..66
a) Préparation des solutions tampons ……66
b) Gonflement ……67
IV.4. Etude de la libération du PA à partir du dispositif transdermique ……69
IV.4.1. Optimisation du solvant et de la concentration de Piroxicam ……...69
a) Solubilité dans l'éthanol ……..70
b) Solubilité dans le méthanol ……70
c) Solubilité dans l'alcool isopropylique ……70
IV.4.2. Dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-Visible ……...71
a) Optimisation de la longueur d'onde ……71
b) Courbe d'étalonnage ……71
IV.4.3. Fixation et cinétique de libération du Piroxicam par la membrane PEC ……...72
IV.4.3.1. Préparations ……72
IV.4.3.2. Résultats et discussions ……72
Conclusion générale

Nomenclatures

C_{cr}	Concentration critique
f	Taux de charge chimique
D	Dalton (Unité de la masse moléculaire)
G'	module conservatif ou élastique.
G"	module dissipatif ou visqueux.
ι	Iota
κ	Kappa
λ	Lambda
MM	Masse moléculaire.
M_N	Nombre moléculaire.
M_W (PM)	Poids moléculaire.
η	La viscosité.
$C_1 - C_2$	La différence de concentration de part et d'autre de la couche cornée
D	Le coefficient de diffusion de la molécule dans la couche cornée
e	L'épaisseur de la couche cornée
J	Le taux de diffusion
K	Le coefficient de partage de la molécule entre le véhicule et la couche cornée
K_P	La constante de perméabilité
$\frac{dQ}{dt}$	La vitesse d'absorption ou la vitesse de transfert par unité de surface
S	La surface d'application

Abréviations

ADEME	Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie.
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMP	Adénosine-monophosphate.
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine-triphosphate.
CMC	Carboxyméthyl cellulose.
CPE	Complexe de polyélectrolyte
CS	Chitosane
DA	Degré d'acétylation.
DD	Degré de désacétylation.
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxide
HMP	Hydrophobically Modifed Polyelectrolyte
HPC	Hydroxypropyl cellulose.
HPMC	Hydroxypropylméthyl cellulose.
IC	Iota-carraghénane
IR	Infrarouge.
KC	Kappa-carraghenane
LC	Lambda-carraghenane
PA	Principe actif
PEC	Polyelectrolyte complexe
PES	Particules en suspension
PHA	Polyhydroxyalcanoates.
PHB	Polyhydroxybutyrate.

PHV	Polyhydroxyvalérate.
PLA	Poly acide lactique.
PSSNa	Polystyrène sulfonate de sodium
PVP	Poly(vinylpyridine)
PMA	Poly(acide méthacrylique)
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
TDDS	Transdermal Drug Delivery Systems
UIPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée
UV	Ultra violet

Liste des figures

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères, Biopolymères étudiés

Figure I.1. Représentation schématique d'une chaîne de cellulose ……05
Figure I.2. Structure chimique de l'amylose ……...06
Figure I.3. Structure chimique de l'amylopectine ……...…….……..06
Figure I.4. Représentation des enchaînements des fonctions amides des protéines …...……07
Figure I.5. Structure chimique du PHA ; PHB et PHV ……..…...08
Figure I.6. Synthèse d'acide lactique à partir d'amidon ……...…..08
Figure I.7. libération contrôlée des principes actifs ……..……..10
Figure I.8. Structure chimique du chitosane ……..……..12
Figure I.9. Structures de chitine et de chitosane ……..…...13
Figure I.10. Méthode de production de chitosane d'après Onsoyen et Skaugrud……..14
Figure I.11. Structures du κ, ι et λ carraghénane…….17
Figure I.12. Source de carraghénane (Algues rouges Eucheuma) ……..18
Figure I.13. Méthode de production de carraghénane ……..……18

Chapitre II : Complexes de polyélectrolytes

Figure II.1. Représentation d'un polyélectrolyte en solution ……..……25
Figure II.2. Structure chimique du PSSNa partiellement sulfoné ……..……27
Figure II.3. Représentation schématique du squelette des deux types d'amphiphiles…….28
Figure II.4. Schéma de la libération de contre-ions sur la formation du complexe polyélectrolyte ……..29
Figure II.5. Schéma représentant la formation du complexe de polyélectrolyte ……....30

Chapitre III : Les dispositifs transdermique

Figure III.1. Schéma de la structure de la peau humaine ……..….36
Figure III.2. Schéma d'un patch transdermique, exemple du patch de type « adhésif actif » 40
Figure III.3. Structure des systèmes transdermiques ……..41

Figure III.4. Structure du patch réservoir……41
Figure III.5. Structure du patch matriciel de type « adhésif actif » ……42

Chapitre IV : Etude expérimentale

Figure IV.1. Structure chimique de Piroxicam ……...51
Figure IV.2. Aspect du complexe polyélectrolyte à différents ratios …….57
Figure IV.3. Turbidité du système CS-KC en fonction de la composition du mélange……..58
Figure IV.4. Conductivité du système CS-KC en fonction de la composition du mélange…59
Figure IV.5. pH du système CS-KC en fonction de la composition du mélange……60
Figure IV.6. Les spectres FTIR : a) κ-carraghénane, b) chitosane, c) mélange physique…...61
Figure IV.7. Spectres FTIR de: a) κ-carraghénane, b) chitosane, c) Complexe……..62
Figure IV.8. Membrane de chitosane ……..63
Figure IV.9. Procédé de préparation de la membrane de chitosane ……....64
Figure IV.10. Procédé de préparation de la membrane du complexe polyélectrolyte ……...65
Figure IV.11. La membrane du complexe polyélectrolyte : a) avant séchage b) après séchage ……66
Figure IV.12. Variation du taux de gonflement de la membrane du PEC en fonction du temps……68
Figure IV.13. Variation du taux de gonflement de la membrane de CS…….69
Figure IV.14. Courbe d'étalonnage de Piroxicam ……..71
Figure IV.15 : Variation de la concentration en Piroxicam du milieu de libération en fonction du temps ……..72

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères, Biopolymères étudiés

Tableau I.01. Grandes classes de biopolymères……..04

Tableau I.02. Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues ……..11

Chapitre IV : Etude expérimentale

Tableau IV.1. Caractéristiques des biopolymères utilisés ……..51

Tableau IV.2. Caractéristiques des produits utilisés ……...52

Tableau VI.3. Matériels utilisés ……..53

Tableau IV.4. Aspect des solutions de κ-Carraghénane ……...…….54

Tableau IV.5. Aspect des solutions de chitosane préparées ……...55

Tableau IV.6. Aspects des solutions de CS à différentes concentration dans l'acide acétique ……..……56

Tableau IV.7. Principaux paramètres des solutions de complexe polyélectrolyte ……....58

Tableau IV.8. Solutions Tampons ……..67

Tableau IV.9. Poids de la membrane du PEC ……67

Tableau IV.10. Poids de la membrane du chitosane ……..68

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les dispositifs transdermiques sont des systèmes thérapeutiques qui, maintenus sur la peau par un adhésif, permettent d'administrer un principe actif sur une surface délimitée, en continu pendant plusieurs jours, à une vitesse constante et assurant un taux plasmatique efficace stable sur la durée d'utilisation. Ils permettent une administration systémique, contrôlée et prolongée, de principes actifs mal absorbés par d'autres voies ou subissant un effet de premier passage hépatique trop important.

Ces dispositifs peuvent être élaborés à partir de biopolymères. Parmi lesquels on trouve la famille des polysaccharides tels que le carraghénane et le chitosane, issus des produits marins. Ces biopolymères possèdent des propriétés physicochimiques et biologiques importantes permettant des applications ciblées dans des domaines très variés notamment dans les secteurs de l'emballage, textile, l'agriculture, pharmaceutique, l'électronique, et biomédical.

Actuellement, les polyélectrolytes attirent une attention particulière dans la préparation des produits pharmaceutiques. Ce sont des polymères qui portent des groupes ionisables. Ces derniers se dissocient dans un solvant polaire tel que l'eau, ce qui a pour effet de rendre le polymère chargé tout en libérant des contre-ions en solution. La formation des complexes de polyélectrolytes se fait par des interactions acide-base. Les intéractions électrostatiques mises en jeu et les propriétés de chacun des polyélectrolytes et de CPE dépendent de plusieurs paramètres comme le ratio de charge, les masses molaires, la concentration, la densité de charges, le pH, la force ionique, la température, la qualité du solvant, la nature et la force des interactions intermoléculaires et intramoléculaires.

Notre travail a pour objectif l'élaboration et la caractérisation d'un dispositif transdermique anti-inflammatoire à base de complexe des polyélectrolytes carraghénane et chitosane pour usage pharmaceutique. Pour ce faire, ce mémoire est structuré en deux parties :

1. Une étude bibliographique, organisée en trois chapitres :
    - Le premier chapitre présente des généralités sur les biopolyméres : définitions, comment sont-ils classés, leurs propriétés et quelques détails sur les biopolymères utilisés dans ce travail (chitosane et carraghénane).
    - Le deuxième chapitre traite les polyélectrolytes et les complexes de polyélectrolytes en générale, puis une étude sur le complexe chitosane-carraghénane.
    - Le troisième chapitre présente des généralités sur la peau humaine et la voie transdermique, et traite les détails sur les dispositifs transdermiques et leur mécanisme d'action.
2. Une étude expérimentale, organisée en un seul chapitre qui représente notre travail pratique relatif à l'optimisation et la caractérisation du complexe chitosane-carraghénane, l'élaboration et la caractérisation d'une membrane à base du complexe et finalement la réalisation d'un dispositif transdermique en chargeant la membrane par Piroxicam et l'étude préliminaire de sa libération.

Ce travail est, enfin, clôturé par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus.

.

Chapitre I :

Généralité sur les biopolymères

et Biopolymères étudiés

Chapitre I
Généralités sur les biopolymères et Biopolymères étudiés

I.1. Introduction

La chimie des polymères est née de la connaissance d'un biopolymère courant : la cellulose plus connue sous le nom de bois. En effet, la cellulose appartient à la famille des polysaccharides qui est une des familles de biopolymère. Les biopolymères sont donc 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.

Les polysaccharides, biopolymères les plus répondus, peuvent être d'origine végétale (cellulose, amidon, alginates, carraghenanes) ou animale (chitine) ou bactérienne (xanthane, gellane), ils peuvent être les matériaux de demain qui sont pleinement utilisés quand les ressources en pétrole commenceront à se tarir. Ils sont d'un grand intérêt pour l'homme et ont de nombreuses applications industrielles et pharmaceutiques. Dans notre travail, Nous nous intéressons au chitosane et carraghenane ; des biopolymères possédant des propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes [1, 2, 3].

I.2. Généralité

I.2.1. Définitions

Un polymère est un matériau constitué de macromolécules. Le terme macromolécule désigne une molécule de très grande taille formée par l'enchaînement d'un très grand nombre d'unités moléculaires de base appelées motifs constitutifs (monomères). Souvent, les termes polymère et macromolécule sont utilisés indifféremment. Un homopolymère est le résultat de la polymérisation d'un seul type de monomère. Un copolymère résulte de la polymérisation simultanée de deux ou plusieurs monomères [4]. Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré de polymérisation [5].

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UIPAC), Les biopolymères se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes,

d'algues ou d'animaux. Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par la fermentation des micro-organismes [6].

I.2.2. Différentes familles de biopolymères

Les biopolymères d'origine biologique peuvent être classés en trois familles :

a) les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides.
b) les polymères issus d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA).
c) les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales.

Le tableau (I.1) regroupe les différentes classes des biopolymères.

Tableau I.1. Grandes classes de biopolymères [7].

Classes	Descriptions	Exemples de biopolymères
Polysaccharides (plantes/animaux)	Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccharides (glucides ou sucres simples) liés entre eux.	Amidon, Cellulose, Alginate, Chitosane, Agar, Pectine, Gommes, Carraghénane.
Polysaccharides (issus des bactéries)		Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane.
Protéines et **polypeptides**	Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.	Polyacide aminé, Collagène Gluten, Caséine, Soja, Glycoprotéine, Zéine.
Polyesters (synthétisés par des bactéries)	Polymères dont les motifs répétitifs de la chaîne principale contiennent la fonction ester.	Poly (acide lactique) (PLA) Polyhydroxyalcanoate (PHA)
Polyphénols	Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques.	Lignines, Tanins, Acides humiques
Polynucléotides et **nucléotides**	molécules composées de plusieurs nucléotides. Certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN.	Adénosine-5'-triphosphate (ATP) Adénosine-5'-monophosphate (AMP)

I.2.2.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides constituent la famille de biopolymères les plus répandus et les plus utilisés. Ils entrent dans la composition de la plupart des cellules (végétales, animales, et microbiennes). Parmi les plus connus, on peut citer la cellulose, l'amidon, l'alginate, la chitine, et le chitosane.

a) Cellulose

La cellulose représente la molécule biologique la plus abondante sur notre planète. Elément constitutif majeur du bois, la cellulose est également un constituant majoritaire du coton et des fibres textiles telles que le lin, le chanvre, le jute ou la ramie [8].

La cellulose est un homopolymère linéaire de résidus glucose de configuration D, connectés selon une liaison glycosidique β, (1→4) (Figure I.1). La masse molaire de la chaîne de cellulose varie de 50000 à $2{,}5 \times 10^6$ $g.mol^{-1}$, en fonction de son origine et du traitement d'extraction utilisé.

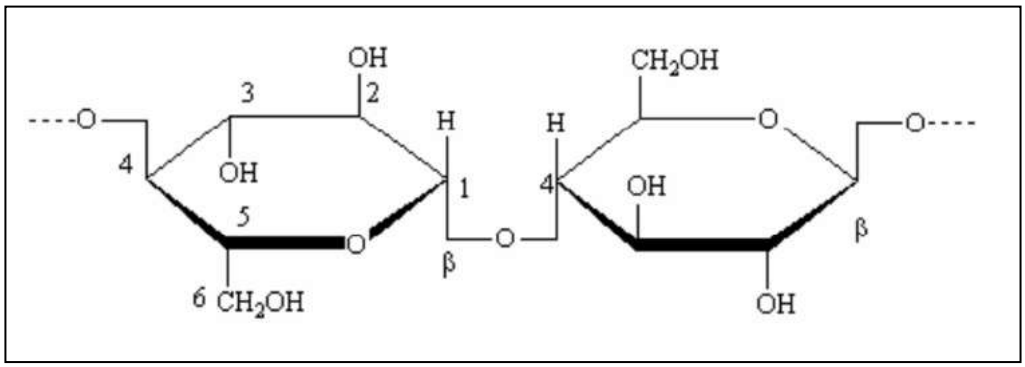


Figure I.1. Représentation schématique d'une chaîne de cellulose

La cellulose native est fortement cristalline et insoluble dans l'eau. Pour améliorer sa solubilité dans l'eau et lui conférer des propriétés filmogènes, la cellulose peut être estérifiée ou éthérifiée au niveau des fonctions hydroxyles libres pour aboutir à certains dérivés cellulosiques comme carboxyméthyl cellulose (CMC), hydroxypropyl cellulose (HPC), hydroxypropylméthyl cellulose (HPMC). La cellulose est très utilisée pour la formation de films flexibles et transparents, présentant des propriétés barrières à l'humidité et à l'oxygène non négligeables. Citons par exemple la cellophane qui est constituée de cellulose régénérée.

b) L'amidon

L'amidon est la principale source d'énergie pour l'homme et pour la vie animale. Il représente une fraction pondérale importante dans un grand nombre de matières premières agricoles telles que les céréales (30-80% de la matière sèche), les légumineuses (25-50% de la matière sèche) et les tubercules (60-90% de la matière sèche). Son faible prix fait de l'amidon un matériau économiquement intéressant. L'amidon est un mélange d'amylose, unités glucose unies par des liaisons α-(1→4), linéaire et souvent en configuration hélicoïdale (Figure I.2) et d'amylopectine très ramifiée. L'amylopectine contient une partie linéaire formée d'unités glucose liées en α-(1→4), mais également des ramifications faisant intervenir des liaisons α-(1→6) toutes les 25 unités glucose en moyenne (Figure I.3).

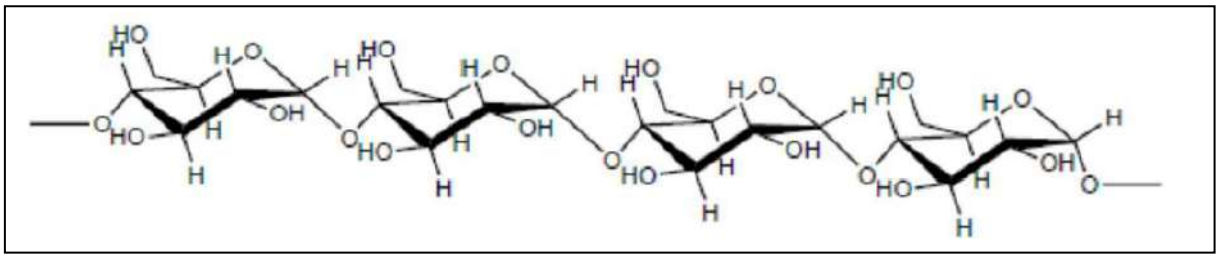


Figure I.2. Structure chimique de l'amylose

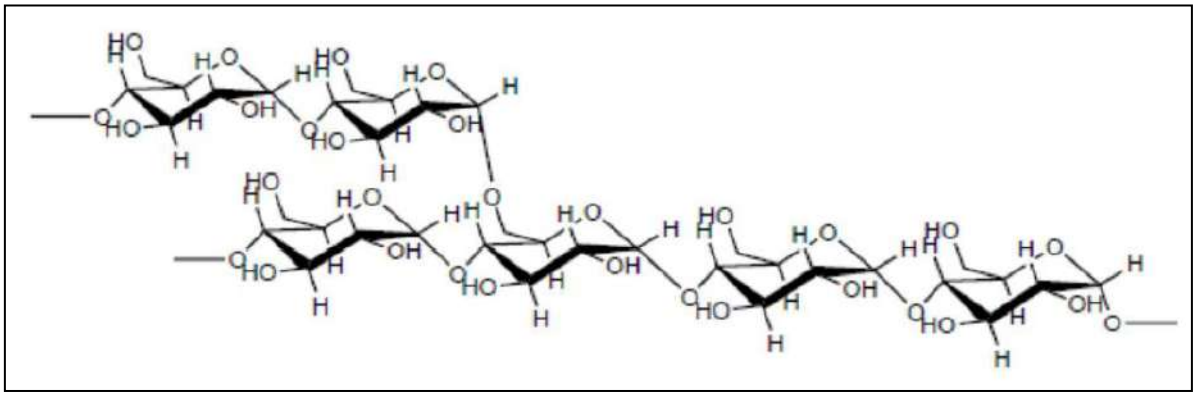


Figure I.3. Structure chimique de l'amylopectine

L'amylose est hydrosoluble dans l'eau bouillante alors que l'amylopectine ne l'est pas. La principale propriété lorsque l'amidon est conditionné sous forme de film est sa faible perméabilité et sa dégradation aisée en présence de micro-organismes [9].

Remarque : en ce qui concerne les biopolymères le **Kappa-carraghenane** et le **chitosane**, ils seront étudiés plus amplement dans le titre « Biopolymères étudiés » plus tard.

I.2.2.2. Les protéines

Les protéines sont les constituants de la matière vivante animale, muscle, peau, cheveux, etc. Elles participent aussi aux différents processus de la vie : transport de l'oxygène respiratoire, déterminisme génétique, système de défense immunologique. Ce sont des polymères d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique qui résulte de la formation d'une fonction amide entre la fonction acide d'un premier acide aminé et la fonction amine d'un deuxième (Figure I.4).

Les protéines telles que **la caséine** du lait ou encore le **gluten** de blé sont très utilisés en tant que biopolymères [10]. La **gélatine** est utilisée pour la fabrication de tablettes et de capsules pour l'industrie pharmaceutique. L'inconvénient majeur de l'utilisation des protéines comme matériaux biopolymères résident dans le prix de revient élevé des matériaux résultants.

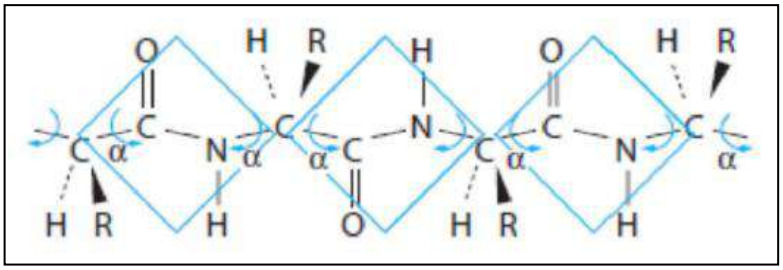


Figure I.4. Représentation des enchaînements des fonctions amides des protéines

I.2.2.3. Les biopolymères d'origine bactérienne

Les polyesters naturels, produits par une grande variété de bactéries, ont reçu une attention toute particulière en tant que biopolymères. Ces biopolyesters, des polyhydroxyalcanoates (**PHA**) (Figure I.5) sont issus de fermentation par des bactéries. Il s'agit de la fabrication « in situ » de polymère qui s'accumule dans le cytoplasme de certaines bactéries placées en condition de fermentation [11]. Parmi ces biopolymères, les plus connus sont le Polyhydroxybutyrate (**PHB**), et le Polyhydroxyvalérate (**PHV**).

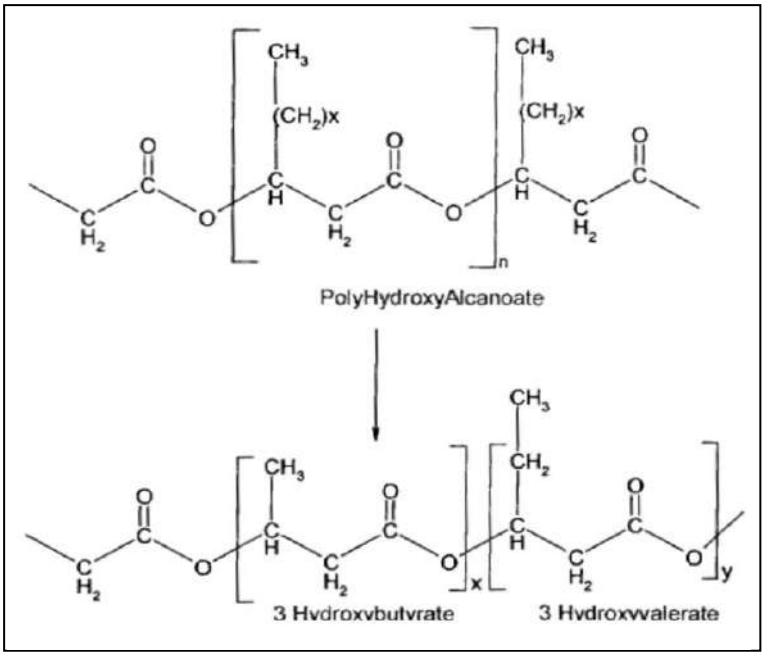


Figure I.5. Structure chimique du PHA ; PHB et PHV

I.2.2.4. Les biopolymères synthétiques

Ils sont obtenus, le plus souvent par polycondensation de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le **PLA**. Le monomère (exclusivement l'acide lactique) nécessaire à la synthèse du **PLA** est obtenu par fermentation bactérienne à partir des ressources renouvelables (Figure I.6).

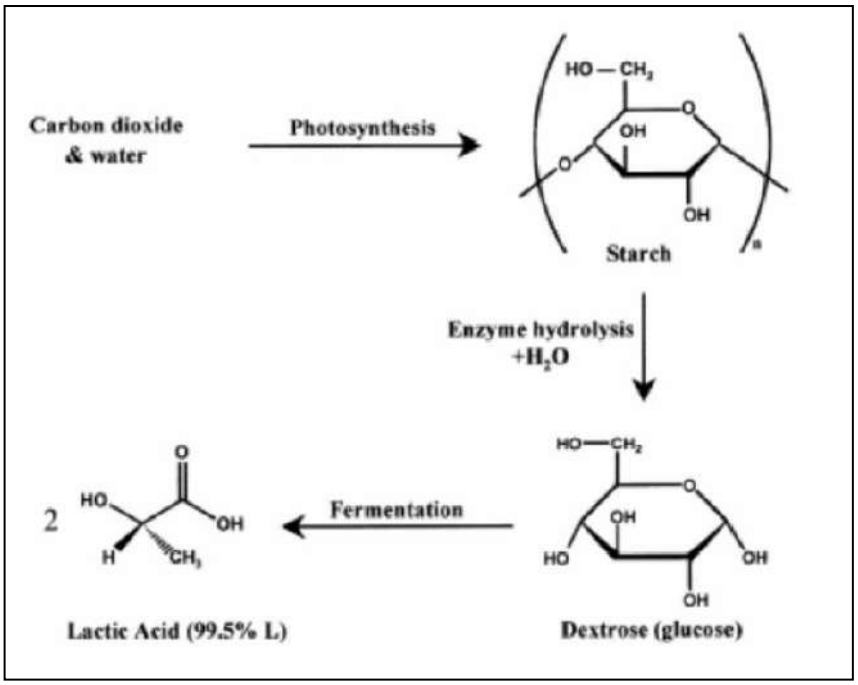


Figure I.6. Synthèse d'acide lactique à partir d'amidon

Deux voies d'obtention du **PLA** peuvent être répertoriées [12] : La polycondensation de l'acide lactique ou la polymérisation d'ouverture de cycle du lactide, dimère cyclique de l'acide lactique.

Grâce à sa biocompatibilité, le PLA trouve de multiples applications dans le biomédical, telles que les fils de sutures bioabsorbables et les implants.

I.2.3. Les propriétés des biopolymères

Les biopolymères sont utilisés dans des domaines très variés tels que l'emballage, l'agriculture, la construction, l'automobile, l'électronique et le textile. Ils sont également employés pour des applications à forte valeur ajoutée dans le domaine médical (implants vasculaires, fils de suture, vis et broches, ligaments artificiels…).

I.2.3.1. La biodégradabilité

A ce jour, le terme biodégradable est donné aux polymères d'origine naturelle c'est-à-dire réservé aux biopolymères qui ont la capacité de se dégrader sous l'action de microorganismes. Leurs décompositions moléculaire et chimique conduisent à la formation de CO_2 et d'H_2O en présence d'oxygène (ou à la formation de CH_4, CO_2 et d'H_2O en milieu anaérobie, plus une nouvelle biomasse [13].

La biodégradation d'un biopolymère dépend de différents facteurs que l'on peut regrouper en trois grandes catégories :

- **Les paramètres physico-chimiques** du milieu de dégradation : température, teneur en eau du milieu, pH, présence d'oxygène et action des UV.
- **Les paramètres microbiologiques** du milieu de dégradation : nature et abondance des micro-organismes présents sur le site.
- **La structure chimique et la morphologie du polymère** constituant le matériau: Un matériau hydrophile, poreux et possédant une faible masse molaire aura une vitesse de dégradation supérieure à celle d'un matériau massif et dense. La cristallinité du polymère a également une influence sur sa biodégradabilité.

I.2.3.2. Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. Les biopolymères par leur origine naturelle, remplissent

logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacées par des polymères d'origine naturelle [14].

En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux biorésorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques. En pharmaceutique, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important comme illustrée dans la figure (I.8).

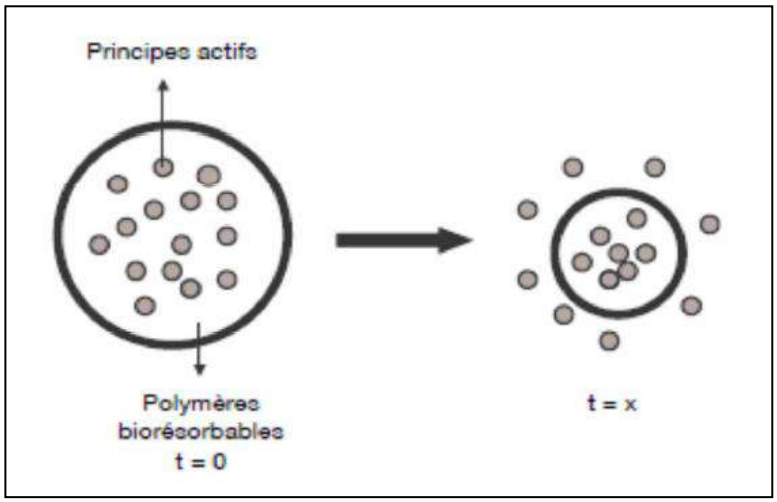


Figure I.7. Libération contrôlée des principes actifs

I.2.3.3. Perméabilité à la vapeur d'eau

La plupart des biopolymères sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes [15]; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique. La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires.

I.2.3.4. Propriétés chimiques et physiques

La réactivité des biopolymères est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile [16]. Une autre particularité des biopolymères est l'existence de stéréo-isomères due à la présence de carbone asymétrique sur certains bio-monomères comme l'acide lactique. Cette propriété

influence les propriétés physiques des polymères. Dès lors, on peut modifier les propriétés physiques et mécaniques des polymères ainsi que leurs applications [17].

I.2.3.5. Autres propriétés

Certains biopolymères possèdent des fonctionnalités qui leur apportent des propriétés physico-chimiques ou mécaniques particulières. On peut relever dans le tableau (I.2), quelques propriétés physico-chimiques intéressantes des biopolymères et les applications potentielles.

Tableau I.2. Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues

Biopolymères	Propriétés particulières	Applications ciblées
Polymères à base d'amidon	Antistatiques, anticondensations, toucher naturel	Emballages, sacs, films de paillage
Polymères à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Fibres, épaississant
Polymères à base de protéine	Comestibles, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages alimentaires
Polymères à base d'huile	Siccativités	Peinture, vernis
Polymères de synthèse (PLA)	Anticondensations, brillances, antibactériens	Emballages, fibres textiles
Polyesters bactériens (PHA)	piézoélectriques, antioxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique

I.3. Biopolymères étudiés

I.3.1. Chitosane

I.3.1.1. Historique

La chitine a été découverte en 1811 par le français Henri Braconnot, qui a isolé une substance fibreuse, insoluble dans les solutions aqueuses, d'un certain type de champignon. Une décennie plus tard, en 1823, la même substance a été trouvée dans certains insectes (coléoptère) et a été ensuite nommée chitine (provient du mot grec "kitos" qui signifie l'enveloppe). En 1859, C. Rouget a soumis la chitine à un traitement alcalin et a observé son comportement. La substance, résultat du traitement alcalin, a pu être dissoute dans les acides. Cependant, ce n'est qu'en 1894 que cette substance a été nommée chitosane par Hoppe-Seyler [8]. Entre 1930 et 1940, ces biopolymères (la chitine et le chitosane) ont suscité beaucoup

d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau. Depuis 1970, La production industrielle et l'utilisation de ces deux biopolymères sont en constante augmentation grâce à leur abondance dans la nature et leurs ressources renouvelables [18]. Actuellement, la production de la chitine et du chitosane à partir des carapaces de crabes et de crevettes, est économiquement rentable [19].

I.3.1.2. Définition et structure

Le chitosane est un polymère naturel de la famille des polysaccharides [20], de structure linéaire, c'est un biopolymère cationique de glucosamine partiellement acétylé [21], ayant un arrangement aléatoires d'unité D-glucosamine et d'unités N-acétyl-D-glucosamine [22,1], reliées par des liaisons β-(1→4) qui lui confèrent de bonnes caractéristiques filmogènes [23]. Le terme chitosane est habituellement utilisé quand les polymères sont solubles dans une solution d'acide dilué [24].

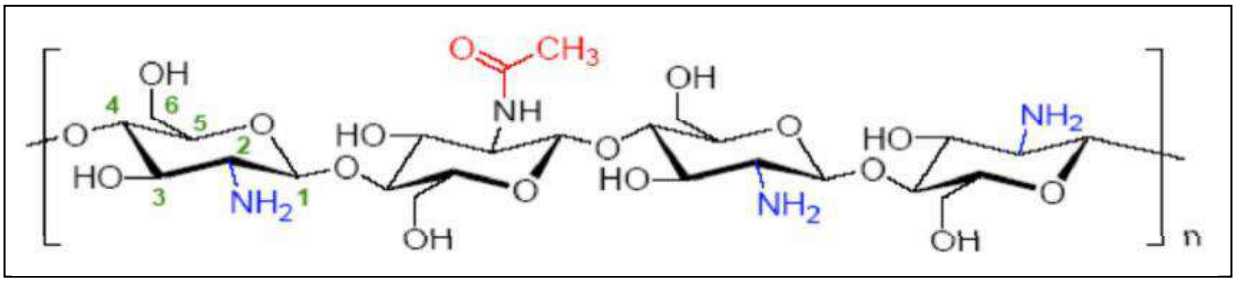


Figure I.8. Structure chimique du chitosane [8].

Généralement, le chitosane a trois types de groupes fonctionnels réactifs : les groupes amines sur le carbone C(2), les groupes hydroxyles primaires et secondaires sur le carbone C(3) et le carbone C(6) respectivement. La nature chimique du chitosane fournit beaucoup de possibilités alternatives pour des modifications covalentes et ioniques qui permettent l'ajustement étendu des propriétés mécaniques et biologiques.

Les structures de la chitine et du chitosane diffèrent uniquement au niveau des groupements en position C(2) : acétamide pour la chitine et amine pour le chitosane (Figure I.10). La chitine et également le chitosane sont caractérisés par la fraction de groupements N-acétamide résiduels appelée degré d'acétylation, noté DA. Dans le cas du chitosane, on préfère utiliser le ٪ de désacétylation, noté DD, qui correspond à la quantité relative de groupements acétylés retirés à la macromolécule de chitine lors de la préparation du chitosane [1, 26]. Les structures de la chitine et du chitosane sont donc caractérisées par la présence de

groupements amine et de groupements acétamide, auxquels ils convient d'ajouter la présence de nombreuses fonctions hydroxyles qui confèrent un fort caractère hydrophile notamment au chitosane. Les polymères de chitine et chitosane sont également caractérisés par les longueurs de leurs chaines macromoléculaires ou leur masse moléculaire (MM), exprimée en poids (M_W) ou en nombre (M_N) [27, 28].

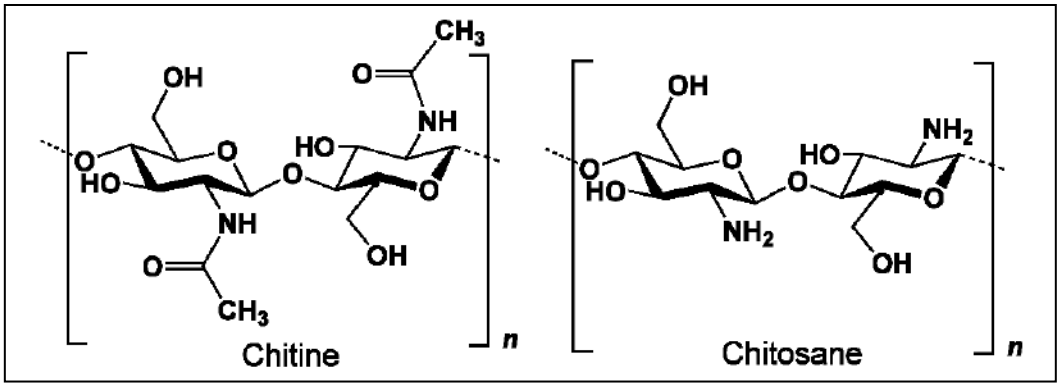


Figure I.9. Structures de chitine et de chitosane

I.3.1.3. Source de chitosane

Le chitosane est obtenu à partir de la chitine (poly N-acétyl-D-glucosamine). La chitine, deuxième biopolymère abondant après la cellulose, est le composant structural primaire des squelettes externes des crustacés, et est également trouvée dans beaucoup d'autres espèces telles que des mollusques, des insectes et des mycètes. Le α-chitosane est la forme la plus généralement obtenue de la chitine crustacée issue des coquilles de crabe et de crevette [25].

Le chitosane en tant que tel est rare en nature, excepté dans certains mycètes. Ces dernières années, la production du chitosane des mycètes, par des méthodes de fermentation gagne également beaucoup d'intérêt [25].

I.3.1.4. Préparation du chitosane

La production typique du chitosane à partir des carapaces des crustacés (Figure I.10) est composée généralement de quatre étapes de base : la déprotéinisation, la déminéralisation, la décoloration et la désacétylation [8, 29-35, 41]. Ces quatre étapes sont souvent empiriques et varient avec le degré de minéralisation des carapaces, les saisons et les conditions de température [36].

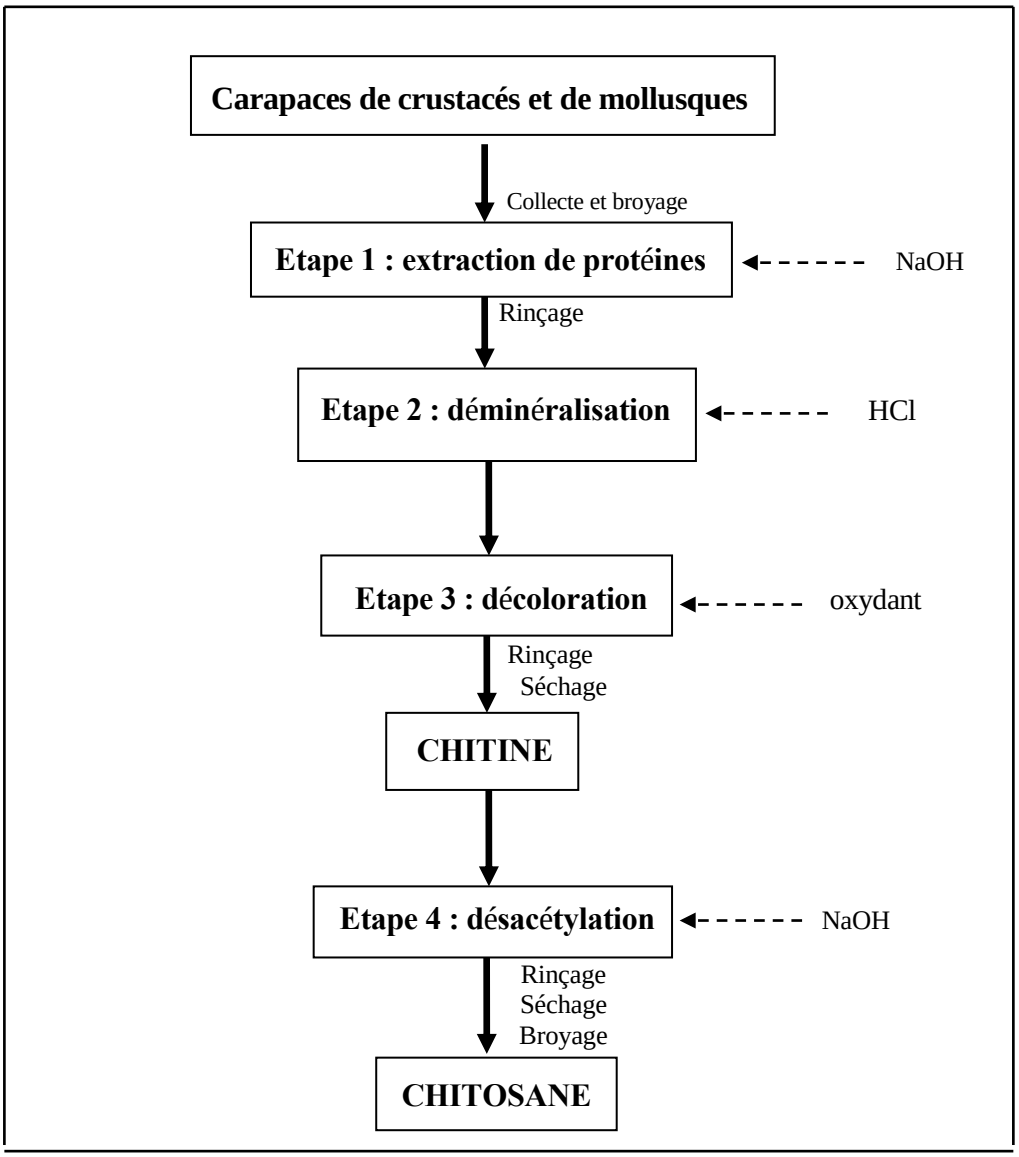


Figure I.10. Méthode de production du chitosane d'après Onsoyen et Skaugrud [41].

I.3.1.5. Propriétés du chitosane

a) Degré de Désacétylation (DD)

Le DD influe, non seulement sur les caractéristiques chimiques et physiques, mais aussi sur la biodégradation du chitosane [37]. Plusieurs méthodes ont été développées pour la détermination du DD, y compris la spectroscopie infra rouge [38], la spectroscopie UV, la résonance magnétique nucléaire, la titration colloïdale et la titration potentiométrique [39]. Cependant, la méthode la plus simple reste la spectroscopie IR proposée par Khan et al [40].

b) Cristallinité

Le Chitosane est une substance semi-cristalline. Deux types de structures sont connus: le chitosane I (sous forme de sel) correspondant à un faible degré de désacétylation DD (60 %). Il est plus désordonné que le chitosane II (forme amine libre) qui possède un fort degré de désacétylation DD (90 %) [26, 42, 43].

c) Solubilité

Le chitosane est insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées, par contre, soluble dans la plupart des solutions organiques acides [26]. L'acide le plus couramment utilisé pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué. En générale, le chitosane est parfaitement soluble à pH 3-4, les groupes aminés du chitosane sont protonés et le polymère chargé positivement devient soluble. En revanche il est relativement stable en milieu acide concentré, même s'il se dégrade après une longue exposition.

d) Polyélectrolytes en milieu acide

Le chitosane est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques [44,45]. En milieu acide, il se comporte comme un polycation, a forte densité de charge et dont l'état d'ionisation est décrit par l'équilibre suivant :

$$\text{Chit-NH}_2 + \text{H}_3\text{O}^+ \longleftrightarrow \text{Chit-NH}_3^+ + \text{H}_2\text{O}$$

Le chitosane est une base faible de pKa compris entre 6.3-6.7, En général, la valeur du pKa augmente quand le DD diminue [28, 42].

e) Viscosité

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, le chitosane est donc plus soluble et par conséquent sa viscosité est plus importante [47]. La viscosité dépend également : de la concentration du polymère, de la température [48], du poids moléculaire [49] et enfin du pH.

f) Autres propriétés physiques et chimiques

Le chitosane est un matériau versatile qui prend des formes physiques modifiables [50,22]. C'est un matériau très stable en phase solide et il a une conservation quasi-infinie en solution. Il possède des propriétés de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complexation et d'adsorption de molécules ou des polymères. Le chitosane est un agent de floculation dans le traitement des eaux polluées grâce à son association sélective avec les espèces anioniques, il peut aussi former des complexes polyanion polycation menant à la préparation de membranes.

g) Propriétés biologiques

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

I.3.1.6. Les gels de Chitosane

Depuis plusieurs années ; les gels de chitosane ont suscité beaucoup d'intérêt suite à leur excellent potentiel d'utilisation dans les domaines alimentaires, pharmaceutiques, biomédicales et cosmétiques. En bref, un gel est défini comme un réseau tridimensionnel semi-solide incluant une phase liquide. La plupart des gels de chitosane sont non thermoréversibles et sont formés : soit de liens covalents, on parle de gels « chimiques »; soit d'interaction de type hydrophobe et on les qualifie de gels «physiques » [22].

I.3.1.7. Modification du chitosane

La présence des groupements amines et hydroxyles permettent des modifications chimiques et incluent, l'acylation, l'alkylation, la formation de base de Schiff, l'alkylation réductrice, la carboxyméthylation et la carboxyalkylation [51].

I.3.1.8. Quelques applications du chitosane

Les applications du chitosane sont nombreuses et variées. On cite des domaines de traitement des eaux, agriculture et alimentaire, médecine [19, 52], cosmétique [3, 53], superabsorbant [54], phase stationnaire pour la chromatographie, capteur [55] ou encore support pour la catalyse [56].

I.3.2. Kappa-Carraghenane

I.3.2.1. Historique

Dans un comté du sud de l'Irlande, appelé Carragheen, les habitants avaient pour habitude d'utiliser une " mousse d'Irlande ", algue qu'ils trouvaient sur les rochers des côtes, pour faire des pommades et des flans. Ils se sont par la suite rendus compte que cette algue appartenait à la famille des Rhodophycées (ou algues rouges), et était appelée Chondrus crispus. L'intérêt économique et l'abondance de l'algue, a éveillé l'intérêt des industriels. Ainsi en 1871, le polysaccharide pur, à l'origine des vertus de la "mousse d'Irlande", est extrait aux Etats-Unis. Il est logiquement appelé carraghénane en référence à son comté

d'origine. Après la Seconde Guerre Mondiale, l'expansion de l'industrie alimentaire a engendré une utilisation accrue des carraghénanes en tant que stabilisateurs, épaississants et gélifiants.

I.3.2.2. Définition

Les carraghénanes sont des polysaccharides linéaires constitués de molécules de galactoses et d'anhydro-galactose plus ou moins sulfatés. La chaîne est constituée de sous unités appelées carrabioses comprenant deux galactoses liés par une liaison α (1-3). Ces carrabioses sont liés entre eux dans la chaîne par des liaisons β (1-4). Selon la position et le nombre de groupements sulfates sur le cycle carboné, on distingue les kappa (κ) (très gélifiant), les iota (ι) (créent des produits flasques et malléables) et les lambda (λ) (stabilisant et épaississant) carraghénanes [57,58]. Les structures du KC, du IC et du LC sont représentées sur la figure (I.13).

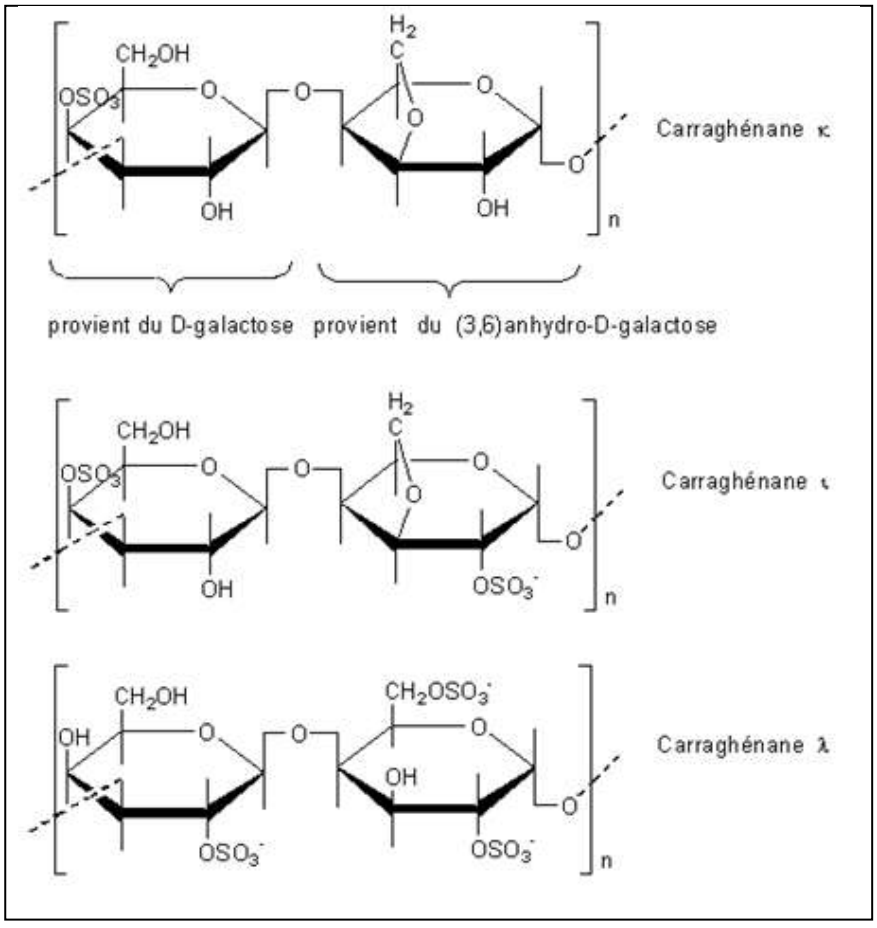


Figure I.11. Structures du κ, ι et λ carraghénane.

I.3.2.3. Sources et obtention des carraghénanes

Les carraghénanes sont essentiellement extraits d'algues rouges de l'espèce Eucheuma (Figure I.14). **L'extraction** s'effectue en deux étapes. ***La première étape*** est une macération à chaud (90°C) à pH basique afin d'améliorer son rendement, de modifier la structure des chaînes précurseurs et d'améliorer les propriétés gélifiantes tout en limitant l'hydrolyse acide. ***La deuxième étape*** de l'extraction, qui consiste à séparer les différents types de carraghénanes entre eux, repose sur leurs différences de solubilité dans différents alcools. Après séchage, les échantillons obtenus sont de masse moléculaire élevée (de 10^5 à 10^6 D), très polydispersés et de composition variable en fonction de l'espèce et de l'âge de l'algue considérée, du lieu et de la saison de la récolte [59]. La figure (I.15) résume la méthode de production industrielle des carraghénanes.



Figure I.12. Source de carraghénane (Algues rouges Eucheuma)

Les carraghénanes peuvent être extraits des familles suivantes : Furcellariacées *(Furcellaria)*, Gigartinacées *(Chondrus, Gigartina, Iridaea)*, Hypnéacées (*Hypnéa)*, Phyllophoracées (*Phyllophora, Gymnogongrus, Ahnfeltia)* et Soléria cées (*Eucheuma, Anatheca, Meristotheca)*. Les espèces les plus utilisées industriellement appartiennent aux familles des Soléria cées et des Gigartinacées [60].

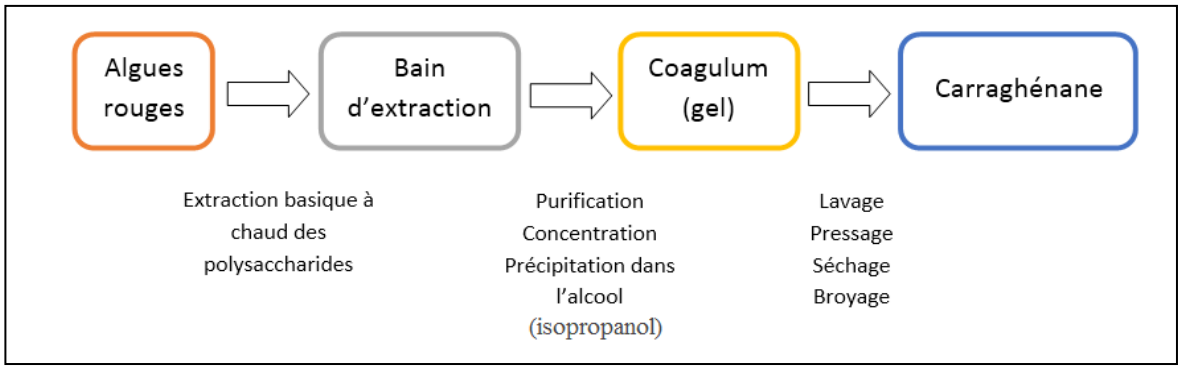


Figure I.13. Méthode de production de carraghénane

I.3.2.4. Propriétés des carraghénanes

a) solubilité

Les carraghénanes sont solubles dans l'eau, mais la température de solubilisation dépend du type de copolymère et des cations associés à l'ester sulfate. Plus il y a de groupements sulfate, plus la molécule est soluble. Donc la présence du pont (3→6) Anhydrogalactose résultant de la désulfation du carbone 6 du copolymère diminue la solubilité [60].

- **Lambda carraghénane** est le plus hydrophile car il ne possède pas de pont (3→6) anhydrogalactose, et sa solubilisation se fera à température ambiante quel que soit le cation associé aux sulfates.
- **Kappa carraghénane** est moins hydrophile, sa solubilisation totale ne pourra être assurée que par élévation de la température. Cette température de solubilisation dépendra en outre du cation associé, la forme sodique étant plus facilement soluble que la forme potassique.
- **Iota carraghénane** a un comportement intermédiaire.

Cependant, tous les carraghénanes sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et dans la plupart des solvants organiques polaires.

b) Comportement rhéologique : épaississement, gélification

La linéarité des macromolécules de carraghénane leur confère un important pouvoir viscosifiant, du fait de leur grand rayon de giration, comparativement à celui d'une autre macromolécule du même poids moléculaire qui serait ramifiée. Les carraghénanes ont donc tous des propriétés épaississantes, dès lors que les macromolécules ont acquis une certaine indépendance les unes vis-à-vis des autres, c'est à dire au-delà de la température nécessaire à leur solubilisation : à froid pour la fraction Lambda et à chaud pour les fractions Kappa et Iota [60]. Par refroidissement à la température ambiante de leur solution chaude, les diverses fractions de carraghénanes évoluent différemment selon que les chaînes de polysaccharides auront, ou non, tendance à s'associer entre elles [60]:

- Dans le Lambda carraghénane très hydrophile, dont les chaînes peuvent s'écarter facilement les unes des autres dès la température ambiante, les macromolécules n'auront évidemment aucune tendance à se réassocier pour donner des gels : il a seulement un rôle épaississant.
- Pour les fractions Kappa et iota, qui nécessitent un chauffage pour leur complète solubilisation, les macromolécules auront au contraire tendance à spontanément se

rapprocher lors du refroidissement, en créant des zones de jonction plus ou moins intenses caractérisant l'état gélifié.

c) Effets des électrolytes

Le pouvoir gélifiant des carraghénanes est grandement influencé par la présence d'électrolytes, qui sont nécessaire pour permettre cette gélification. Les sels de potassium (K^+) sont les plus réactifs et de ce fait les plus utilisés. La densité du gel de Kappa carraghénanes augmente en fonction des concentrations de K^+. Ainsi, plus la concentration en K^+ est élevée plus le gel est dense. Les ions K^+ augmentent également les températures de fusion et de formation du gel. Les ions calcium (Ca^{++}) ont également une influence sur le pouvoir gélifiant des carraghénanes, mais leur effet est plus marqué pour la fraction Iota avec laquelle ils forment un gel très élastique et cohérent [60].

d) Réactions avec les protéines

Les carraghénanes, au caractère anionique très prononcé du fait de la présence des groupements esters sulfates, réagissent avec les polyélectrolytes cationiques, et les floculent. De la même façon, ils précipitent les protéines lorsque le pH est inférieur à leur point isoélectrique. A des pH supérieurs à leur point isoélectrique, les protéines sont compatibles avec les carraghénanes et des réactions peuvent être obtenues. A cet égard, la propriété la plus remarquable des carraghénanes, est leur aptitude à stabiliser les micelles de caséine désignée sous le nom de caséine Kappa [61].

e) Synergie

Certains hydrocolloïdes, notamment les galactomannanes constitués de chaînes linéaires de mannose, sur lesquels sont branchés irrégulièrement des motifs galactose, comme la gomme de caroube, ont la particularité d'augmenter la cohésion des gels de carraghénanes. Les parties linéaires du galactomannane, dépourvues de ramifications, peuvent se rapprocher des doubles hélices et former un réseau qui évite la formation ultérieure d'agrégats [60].

I.3.2.5. Influence de différents paramètres physico-chimiques sur le comportement des carraghénanes

a) Influence de la concentration

Les carraghénanes possèdent la propriété d'augmenter considérablement la viscosité du milieu à de très faibles concentrations, inférieures à 1%. Ce comportement est la traduction

macroscopique de l'existence d'enchevêtrements macromoléculaires qui apparaissent au-delà d'une concentration critique en polymère C_{cr} qui est une fonction inverse de la viscosité intrinsèque [62] :

$$C_{cr} = k /[\eta]$$

La constante k serait de l'ordre de 4 dans le cas des kappa-carraghénanes.

b) Influence de la température

Une gélification par diminution de la température d'un système aqueux des iota carraghénanes, montre que la rigidité du milieu (G' module conservatif ou élastique, traduit la composante élastique du milieu) augmente au cours de la gélification, d'abord rapidement au voisinage de la transition sol-gel puis de plus en plus lentement au fur et à mesure que la température diminue pour tendre vers un plateau [63]. Les valeurs de la température de transition sol-gel pour un système aqueux des iota carraghénanes (contenant 0,15 M de NaCl) se situent dans le domaine 60-65°C, et entre 40-45°C pour des kappa carraghénanes, ces valeurs dépendent largement de la concentration en ions [64].

c) Influence du temps

Le temps n'a que peu d'influence sur la gélification des carraghénanes. En effet, les modules élastique G' et dissipatif ou visqueux G" d'un système aqueux de kappa carraghénanes semblent atteindre un équilibre au bout d'un temps relativement court à une température inférieure à la température de gélification [65].

d) Effet des ions sur la transconformation

Les carraghénanes sont des polyélectrolytes anioniques. Contrairement aux électrolytes simples dont les propriétés sont bien modélisées à partir de lois idéales lorsque la concentration est faible, la dilution des solutions de polyélectrolytes provoque une forte perturbation des propriétés du système. Comme nous l'avons dit, les carraghénanes sont commercialisés sous forme de sels de Na^+, K^+ et Ca^{2+}. Mis en solution, ces contre-ions ne se dissocient pas dans leur totalité mais d'environ la moitié [64]. Les conformations étendues sont favorisées par des densités de charge élevées ; les macro-ions sont alors assimilables localement à des bâtonnets plus ou moins rigides en fonction de leur structure primaire, conformation favorisée par la présence de liaisons hydrogènes. Une variation de pH, de la

température ou de la qualité du solvant peut induire un changement de conformation. Les caractéristiques du gel obtenu sont donc fonction du type d'ion présent dans la solution.

I.3.2.7. Applications des carraghénanes

Les carraghénanes sont connus sous le code d'E407 en industrie. Les utilisations n'ont cessé de s'accroître et ses principales applications sont dans l'industrie agroalimentaire, en cosmétologie et en pharmacie [66, 67].

a) Les utilisations dans l'industrie agroalimentaire

Les applications des carraghénanes dans l'industrie laitière sont très vastes : crèmes, glaces, gâteaux, flans… Les carraghénanes forment des gels avec le lait après chauffage et refroidissement. Cette gélification s'explique par la création d'une liaison carraghénane-caséine (protéine majoritaire du lait) renforcée par la présence du calcium. On obtient donc un complexe carraghénane-calcium-caséine qui a lieu quelque soit le pH.

Les carraghénanes sont aussi employés pour la production de « bâtons » de glace, comme agent de couverture ou encore dans la préparation de boissons en poudre qu'il faut ensuite hydrater. Dans les jus de fruits, ils permettent de stabiliser la pulpe.

b) Les utilisations en pharmacie et en cosmétologie

- ✓ Les carraghénanes se combinent aux protéines par la formation d'une liaison entre les ions OSO_3^{2-} du polymère et les groupes NH_3^+ de la protéine mais le pH doit être en dessous du pH isoélectrique de cette protéine. Les variations de pH permettent la formation ou la rupture du complexe carraghénane-protéine. C'est ce mécanisme qui explique le fonctionnement du traitement pour les ulcères gastriques. Ces derniers sont difficiles à cicatriser, à cause de l'absence de gaine mucilagineuse qui protège contre l'acidité gastrique (pH de 1 à 2) et des enzymes digestives dont la pepsine. De ce fait, la blessure ne cicatrise pas mais elle s'étend. L'absorption de carraghénanes de sodium entraine : (i) la formation du complexe carraghénane-pepsine, ce qui neutralise les effets de l'enzyme ; (ii) une diminution de l'acidité gastrique par le sodium ; (iii) le carraghénane de sodium crée un pansement sur la blessure.
- ✓ Les carraghénanes jouent un rôle d'agent texturant en conférant au dentifrice une stabilité pendant le stockage. De plus, il évite la synérèse, notamment sous les climats chauds.

- ✓ Concernant les gels désodorisants, la méthode consiste à gélifier une solution aqueuse de forte teneur en parfum à l'aide de kappa carraghénane de potassium. Ce gel, de par sa propriété de synérèse, libère progressivement l'eau qu'elle contient, vaporisant dans l'atmosphère le parfum.
- ✓ Les carraghénanes sont habituellement utilisés comme agents pour induire des inflammations expérimentales et des douleurs inflammatoires. Ils ont aussi montré plusieurs propriétés pharmaceutiques potentielles incluant des activités antitumorales, immunomodulatrices, antihyperlipidemiantes et anticoagulantes.
- ✓ Les carraghénanes apportent une douceur et une finesse aux crèmes de beauté.

I.4. Conclusion

La définition du terme **biopolymère** est souvent sujette à controverse et il n'y a pas de distinction claire entre les « biopolymères », les « bioplastiques » et les « polymères biosourcés ». Les biopolymères sont considérés par certains auteurs comme étant uniquement des polymères biodégradables. En pratique, ils rassemblent les polymères biosourcés, c'est-àdire produits à partir de ressources renouvelables, les polymères biodégradables et même parfois également les polymères biocompatibles.

Chapitre II :

Complexes de polyélectrolytes

Chapitre II
Complexes de polyélectrolytes

II.1. Introduction

Les polyelectrolytes sont des macromolécules possédant plusieurs groupes ionisables. La plupart des solutions de polyelectrolytes contiennent des espèces chargées provenant soit de la macromolécule (contre ions), soit d'un sel ajouté (contre ions et coions). Parmi toutes ces espèces chargées, il existe des interactions de longues portées de nature coulombiennes, qui confèrent à ces solutions certaines propriétés caractéristiques [72]. L'existence des charges confère aux solutions de polyélectrolytes des propriétés physico-chimiques remarquables qui donnent lieu à de nombreuses applications industrielles.

On peut citer par exemple les propriétés épaississantes et gélifiantes dans l'eau, utilisées dans la fabrication des mousses alimentaires ou dans la récupération du pétrole, ou encore les propriétés de rétention d'eau des gels, utilisés dans les couches pour bébés. Le champ d'application de ces systèmes est donc très vaste et s'étend encore à des secteurs comme la médecine, la cosmétologie, l'agro-alimentaire ou la papeterie [93].

Ce présent chapitre est consacré à l'étude des polyélectrolytes : définitions, classification, propriétés et domaines d'application.

II.2. Définitions

Les polyélectrolytes sont des polymères qui portent des charges, ces charges proviennent de groupements ionisables qui se dissocient dans des solvants polaires, tels que l'eau, le diméthylformamide DMF, et le diméthylsulfoxide DMSO. L'eau dissocie facilement (forte constante diélectrique) et solvate bien (moment dipolaire permanent) les charges. Par conséquent, presque tous les polyélectrolytes sont fortement solubles dans l'eau.

L'ionisation de ces polyélectrolytes en solution aqueuse provoque des chaînes polymères chargées appelées ployions (les macroions), et de petits ions libres appelées contreions de charges opposées (figure II.1). Il peut y avoir deux types de contreions: ceux libérés par les macromolécules en s'ionisant en solution et ceux dus à un sel ajouté. Ce dernier induit aussi des ions de même charge que celle portée par le polyion appelé coion [69,70].

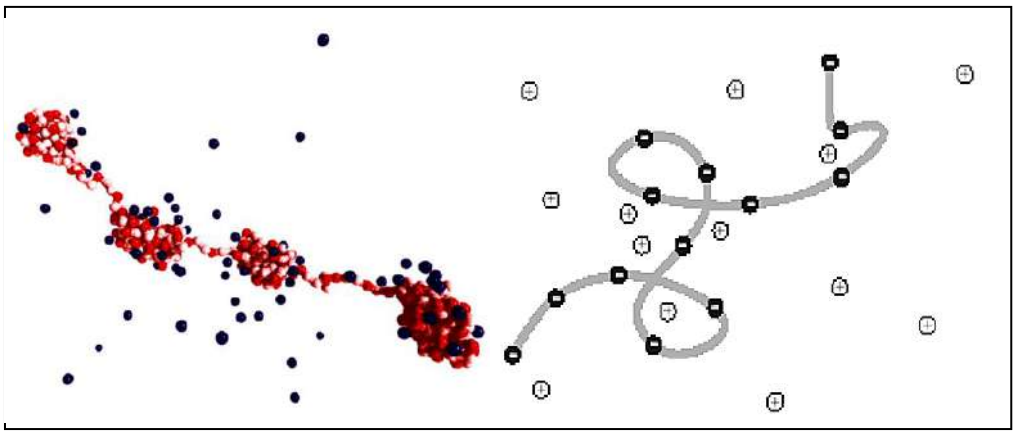


Figure II.1. Représentation d'un polyélectrolyte en solution

II.3. Classification des polyélectrolytes

Les polyélectrolytes sont classés selon différentes catégories. On peut définir plusieurs types de polyélectrolytes suivant leur origine (naturelle ou artificielle), la natures des charges (figées ou variables) et l'interaction avec le solvant (hydrophobe, hydrophile, dissociées ou sous forme de paires d'ions).

II.3.1. Classification selon l'origine du polyélectrolyte

II.3.1.1. Polyélectrolytes naturels

L'origine naturelle des polyélectrolytes leur confère des propriétés uniques de biocompatibilité et de biodégradabilité. Ainsi, de plus en plus de matériaux pressentis pour applications médicales (greffes, vecteurs thérapeutiques) sont des polyélectrolytes naturels. Les polysaccharides, les protéines et les poly nucléotides constituent les grandes classes des polymères naturels [71].

Il existe des polysaccharides neutres comme l'amidon, la cellulose et le glycogène (réserve de glucose dans le foie et les muscles). En milieu aqueux, certains polysaccharides portent des charges positives ou négatives et deviennent ainsi des polyélectrolytes. Le plus courant est le chitosane (deuxième composant de la biomasse après la cellulose). La présence de groupements fonctionnels hydroxyles (OH) et amines (NH_2) facilement substituables permet de modifier les propriétés de la molécule et donc son comportement en solution [71].

Il existe également des polysaccharides anioniques, les charges sont portées parfois par des groupements carboxyles comme par exemple L'alginate et le hyaluronane [70].

II.3.1.2. Polyélectrolytes synthétiques

Les polymères synthétiques ont l'intérêt de pouvoir être fabriqués en grande quantité, à haute pureté et avec une grande régularité dans l'enchaînement des monomères. Aujourd'hui, les polyélectrolytes commerciaux sont obtenus, d'une manière prédominante, par polymérisation, polycondensation ou par polyaddition [72].

II.3.2. Classification selon la nature des charges

II.3.2.1. Polyacides, polybases et polyampholytes

Si l'enchaînement des monomères ionisables le long de la chaîne se fait par les parties chargées négativement on parle de polyélectrolyte anionique qui se dissocie pour former un polyanion (polyacide), et des contre-ions de charges positives. Dans le cas contraire, le polyélectrolyte est dit cationique et il se dissocie pour former un polycation (polybase) et des contre-ions anioniques. Les polyampholytes contiennent à la fois des groupes acides et basiques et par conséquent possèdent des charges positives et négatives [72].

II.3.2.2. Polyélectrolytes faiblement et fortement chargés

Deux paramètres suffisent à décrire un polyélectrolyte: la longueur de la chaîne N (nombre de monomères par chaîne) et le taux de charge chimique, f ($0 < f \leq 1$). Lorsque f est faible, la présence de monomères ionisables, éventuellement dissociés, constitue une faible perturbation par rapport au cas neutre. Les forces de Van der Waals et électrostatiques sont en compétition. On parle d'un polyélectrolyte faiblement chargé. Lorsque le taux de charge f est suffisamment important pour que les forces d'origine électrostatique soient prépondérantes, on parle alors d'un polyélectrolyte fortement chargé [72].

II.3.2.3. Polyélectrolyte faible et polyélectrolyte fort

Si les charges sont fixes le long de la chaîne, on parle de polyélectrolytes forts par exemple des groupements SO_3^- sur une chaîne de polystyrène (on dit parfois que la charge est gelée). Une autre possibilité est que chacun des monomères de la chaîne peut acquérir une charge suivant l'environnement local dans lequel il se trouve. Dans cette situation, le polyélectrolyte est dit recuit, ou faible (par exemple chaînes portant des groupements COOH). La fraction de monomères chargés est un autre paramètre clé définissant un polyélectrolyte [72].

II.3.3. Classification suivant l'interaction avec le solvant

Sachant que l'eau est le solvant le plus courant des polyélectrolytes, on distingue 3 classes de polyélectrolytes: polyélectrolyte hydrophile, hydrophobe et amphiphile.

II.3.3.1. Polyélectrolyte hydrophile

Un polyélectrolyte est dit hydrophile lorsque son squelette est en situation de bon solvant dans l'eau. La plupart des protéines chargées solubles dans l'eau seront donc des polyélectrolytes hydrophiles [72].

II.3.3.2. Polyélectrolyte hydrophobe

Un polyélectrolyte est dit hydrophobe lorsque son squelette est en situation de mauvais solvant dans l'eau. C'est par exemple le cas du PSSNa (polystyrène sulfonate de sodium) partiellement sulfoné qui peut être considéré comme une molécule de polystyrène sur laquelle ont été greffés des groupes sulfonates de sodium [72].

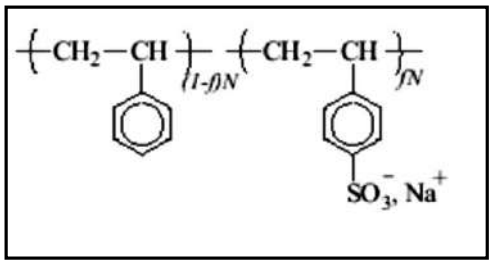


Figure II.2. Structure chimique du PSSNa partiellement sulfoné [72].

II.3.3.3. Polyélectrolyte amphiphile

Les polyélectrolytes amphiphiles sont généralement composés de deux sous unités distinctes (figure II.3): une ou plusieurs portions polyélectrolytes associées à des portions neutres hydrophobes. Lorsque ces sous unités s'enchaînent sous forme de bloc, on parle de copolymère à blocs. Lorsque des chaînes hydrophobes sont greffées sur un squelette de polyélectrolyte, on parle de polyélectrolyte modifié hydrophobe (Hydrophobically Modifed Polyelectrolyte, noté souvent HMP).

Les copolymères à blocs peuvent former en solution aqueuse de nombreuses structures par auto-association des parties neutres qui se trouvent en mauvais solvant. Les assemblages se font au fur et à mesure qu'on augmente la fraction en monomère: micelle puis cylindre avec un cœur hydrophobe et enfin phase lamellaire. Ils persistent même à grande dilution [73].

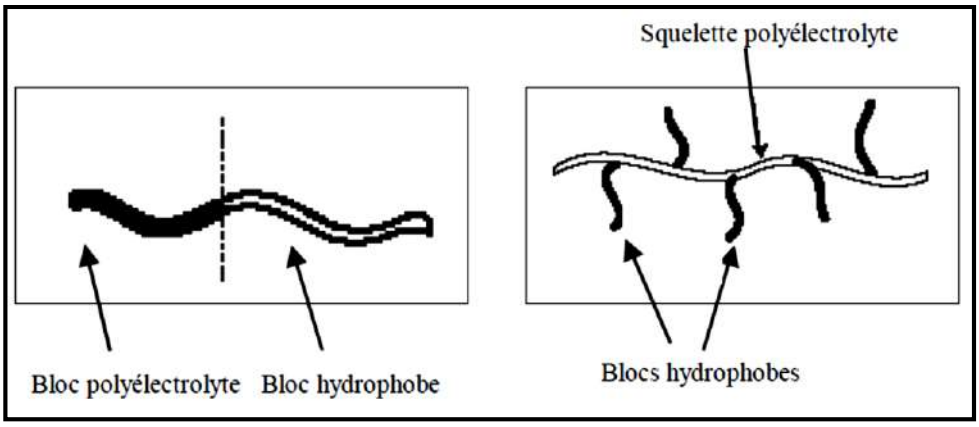


Figure II.3. Représentation schématique du squelette des deux types d'amphiphiles [72].

II.4. Applications des polyélectrolytes

L'utilisation des polyélectrolytes est de plus en plus importante de nos jours, dans différents domaines. Les polyélectrolytes trouvent des applications importantes notamment dans le domaine industriel tels que l'industrie agro-alimentaire, la médecine, l'industrie cosmétique, l'industrie papetière ou encore l'industrie pétrolière.

- ✓ L'industrie pétrolière surtout dans la récupération assistée du pétrole en utilisant la viscosité due aux effets de charges.
- ✓ L'industrie des peintures pour obtenir la qualité en améliorant l'adhésion et l'homogénéité.
- ✓ L'industrie textile.
- ✓ L'industrie du papier : les super absorbants, par exemple, sont des gels de polyélectrolyte.
- ✓ Le traitement des eaux usées et des minerais grâce aux propriétés de floculation.

Actuellement, la majeure partie des applications utilise les propriétés des polyélectrolytes au voisinage d'une surface. L'adsorption successive sur une surface de polyélectrolytes cationiques et anioniques permet la création de multicouches de polyélectrolytes [74].

L'application la plus remarquable de cette interaction forte consiste à effectuer la complexation sur une surface afin de la protéger. Les complexes de polyélectrolytes sont d'une grande importance. Ils trouvent leurs applications dans la technologie des membranes comme hydrogels pour l'ultrafiltration sélective. En effet, les interactions entre quelques polyacides forts et polybases quand ils sont mélangés dans un rapport équivalent en ions, produisent des membranes fortes et durables de haute sélectivité [72].

II.5. Complexes de polyélectrolytes

Une propriété très intéressante des polyélectrolytes est leur capacité de former des complexes avec les polyélectrolytes des charges opposées, un processus qui est connu pour être important dans les systèmes biologiques aussi [87]. Les complexes de polyélectrolytes CPEs, (polyelectrolyte complexes PECs en anglais), sont formés par interaction entre des polyanions et polycations conduisant à la libération de contre-ions (figure II.6). La formation de CPEs peut avoir lieu en solution ou aux interfaces. Ce dernier phénomène a conduit au développement d'une nouvelle forme de matériaux hybrides nano-structurés sous la forme de films minces.

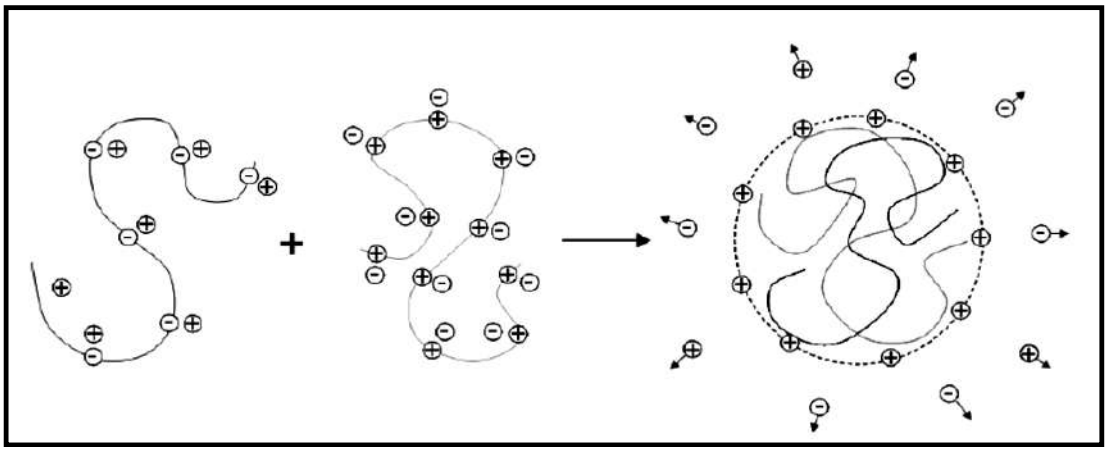


Figure II.4. Schéma de la libération de contre-ions sur la formation du complexe polyélectrolyte [100].

Le terme « structure d'œuf brouillée » (figure II.7) est une description très imaginaire de la morphologie actuelle du complexe [88]. Ce qui a été formé juste après le mélange des deux polyélectrolytes. Dans de tels complexes, principalement la compensation aléatoire des charges a été trouvée, et dans la plupart des cas, cette situation changera à peine une fois que le complexe sera formé [89].

Bien que l'ordre ne soit pas une condition préalable pour la formation du complexe de polyélectrolyte, des systèmes hautement ordonnés peuvent être formé dans ce cas [90].

Il est cru qu'initialement un complexe amorphe est formé (cinétiquement déterminé) qui peut être partiellement et lentement réorganisé à une structure ordonnée et thermodynamiquement favorisée (figure II.7.a) [87,89]. Même la formation des particules de polyélectrolytes complexes macroscopiquement anisotropique (comme les fibres, figure II.7.b) en solutions très diluées à été reportée [87, 91].

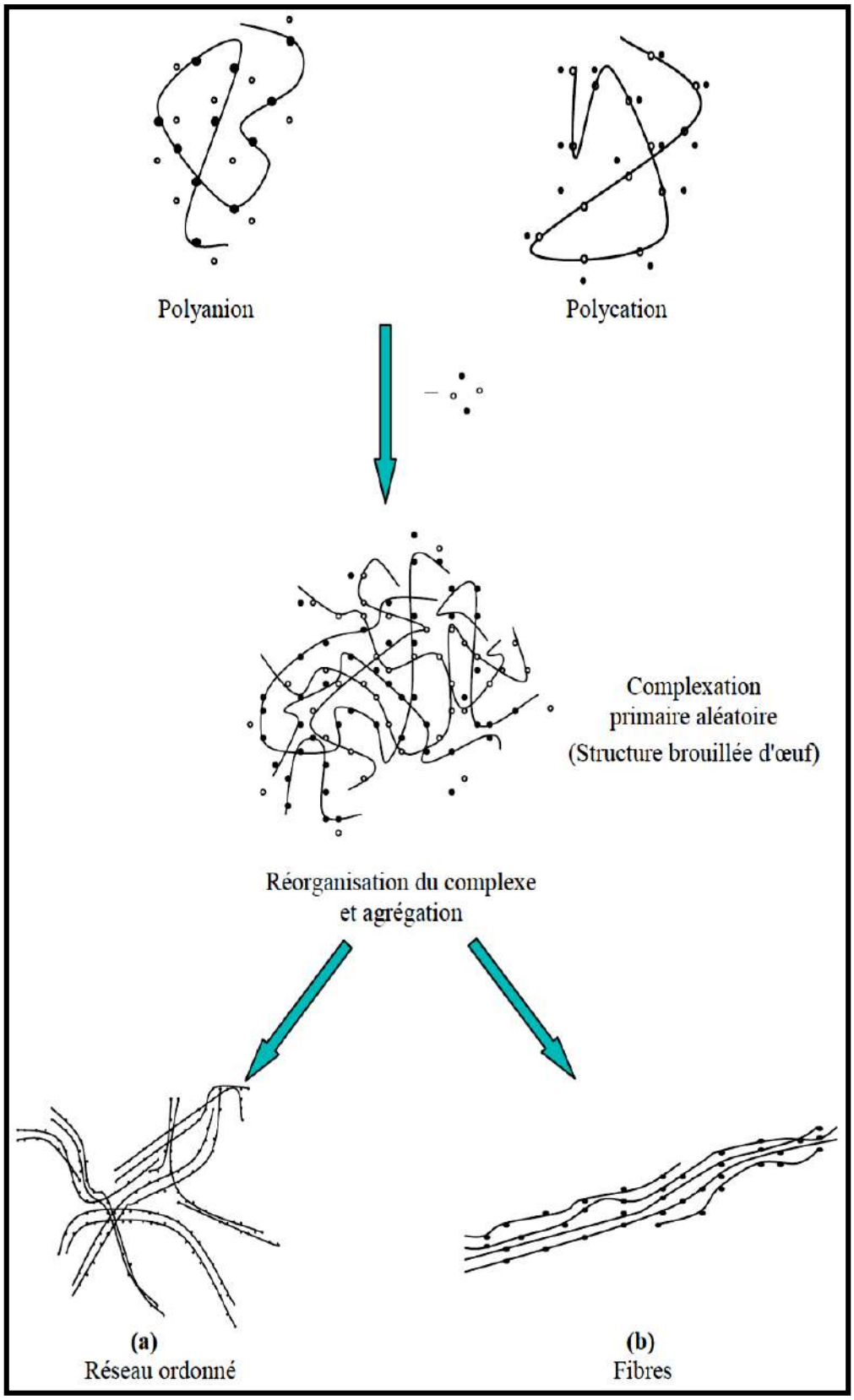


Figure II.5. Schéma représentant la formation du complexe de polyélectrolyte [88].

II.5.1. Les différentes classes de complexes de polyélectrolytes

Les complexes de polyélectrolytes peuvent être classés selon la nature de leur constituant polymère. Il existe quatre classes de complexes de polyélectrolytes en dehors de ceux composé de biopolyméres.

Les différents exemples de complexes de polyélectrolytes qui sont formés à partir de forces électrostatiques peuvent être résumés comme suit :

***** Les acides polymériques peuvent former des complexes par un transfert de protons aux polymères basiques complémentaires résultant en une paire polycation-polyanion. Par exemple, les polycarboxylates synthétiques peuvent former de tels complexes avec le polyéthylène imine [92].

***** Similairement, les sels d'acides polymériques (ex : polyélectrolyte anionique) peuvent s'associer via des interactions électrostatiques avec des polyélectrolytes de charges opposées (polyélectrolytes cationiques) [91]. Un autre exemple simple de ce type de complexe est l'association du polystyrène sulfonate de sodium avec le chlorure de polyvinyltrimethyl ammonium.

* En plus des complexes interpolymères, les complexes intrapolymères de polyampholytes ont également été largement étudiés. Dans ces systèmes, les complexes peuvent être formés entre les constituants de charges opposées sur la même chaîne de polymère ou encore sur la même unité monomère [93].

* Finalement, les polyélectrolytes en solution peuvent être liés entre eux par des ions multivalents pour former des gels [93].

Les interactions électrostatiques sont considérablement plus fortes que les liaisons hydrogènes, par conséquent, les complexes de polyélectrolytes montrent des propriétés chimiques et physiques uniques [93].

Les complexes de polyélectrolytes (CPE) peuvent se présenter sous forme de complexes solubles, de coacervats liquides ou de précipités solides

II.5.2. Constante de complexation

Un polyélectrolyte faible, ayant une constante d'acidité pKa comprise entre 1 et 14, présente une densité de charge qui dépend du pH. Cette constante d'acidité est différente de celle du monomère : par exemple le pKa du poly(acide acrylique) est de 4,75 alors que celui de l'acide acrylique est de 4,35. En réalité, pour un polyélectrolyte, il y a une distribution de pKa. Ceci est dû à un phénomène d'ionisation locale sur chaque

monomère induit par les motifs monomériques voisins lors du repliement de la chaîne de polyélectrolyte [96].

La formation de complexes de polyélectrolytes (CPE : complexes de polyélectrolytes, PECs an anglais pour PolyElectrolyte Complexes) se fait par expulsion des contre-ions liés aux chaînes de polyélectrolytes est des molécules d'eau qui solvatent ces molécules [97,98]. Cette expulsion s'accompagne d'une augmentation d'entropie, favorisant alors fortement le rapprochement de chaînes de polyélectrolytes de charges opposées. Une fois que les polyélectrolytes sont suffisamment proches (de l'ordre de la longueur de Debye), les interactions électrostatiques entre polyélectrolytes de charges opposées permettent la cohésion du complexe.

L'augmentation d'entropie constitue donc la force motrice de la complexation entre polycations et polyanions en solution aqueuses. L'importance de l'entropie dans la réalisation de la complexation de chaînes polymériques de charges opposées peut être évaluée par microcalorimétrie. Pour certains couples polycation/polyanion, le phénomène de complexation était endothermique. Dans ce cas seule l'augmentation de l'entropie que l'on attribue la libération des contre-ions et des molécules d'eau solvatant les chaînes de polyélectrolytes favorise la formation de complexes. Les interactions sont alors faibles Lorsque l'enthalpie de complexation est négative (réaction exothermique), l'entropie mais également l'enthalpie du processus sont favorables à la complexation. Les interactions entre polycations et polyanions sont alors fortes. C'est en particulier le cas du système poly(allylamine) /poly(styrène sulfonate) à pH 7,4 [99].

De par le très grand nombre de liaisons électrostatiques mises en jeu, la complexation entre deux polyélectrolytes de charges opposées ainsi que l'adsorption d'un polyélectrolyte sur une surface de charge opposée, est irréversible en l'absence de sel. En effet, il faut que toutes les liaisons électrostatiques se rompent simultanément pour dissoudre le complexe (ou désorber la chaîne de polyélectrolyte de la surface), ce qui est hautement improbable [97].

II.5.3. Paramètres influençant la complexation de polyélectrolytes

Les interactions électrostatiques mises en jeu et les propriétés des CPEs dépendent de plusieurs paramètres comme le ratio de charges, le pH (contrôlant la densité de charge dans le cas des polyélectrolytes faibles), la force ionique, la température, la concentration des

polymères, la densité de charge et la structure des polymères [89]. La longueur de chaîne, la ramification du polyélectrolyte ainsi que la longueur de chaîne relative entre les deux composés complémentaires jouent également un rôle important [94].

La formation de complexes est influencée majoritairement par la nature et la densité des charges présentes sur les deux macromolécules. Une faible densité de charges inhibe la formation des complexes, alors qu'une forte densité peut induire une précipitation ou une gélification. Une forte concentration en sel inhibe la formation de complexes en créant un effet d'écran électrostatique. De même, une force ionique insuffisante inhibe la complexation. En effet, la forte charge portée par les macromolécules induit une modification de leur configuration de manière à favoriser la formation d'agrégats et ce, au détriment des complexes [72].

II.5.4. Mécanisme d'échange

Il a été montré que les CPEs solubles étaient des structures stables thermodynamiquement, mais des phénomènes d'échanges peuvent exister entre le complexe (chaînes concentrées) et le milieu (chaînes diluées) [95]. Ainsi, Bakeev et al., en étudiant les interactions entre poly(4-vinylpyridine) (PVP) et poly(acide méthacrylique) (PMA), ont montré que ce phénomène d'échange possédait une constante d'échange qui augmentait avec l'augmentation de la force ionique de la solution, la diminution de la longueur de chaîne et la diminution de la densité de charge.

II.5.5. Le complexe κ-Carraghénane/Chitosane

En raison de la considération de la substance biocompatible et non toxique comme les composants de complexes de polyélectrolytes dans de telles applications, plusieurs CPEs à base de chitosane ont été étudiés pour des formulations à libération contrôlée en combinaison avec des polyanions synthétiques ou naturels. Un des polyanions naturels est κ-carraghénane, un polysaccharide acide avec des groupes sulfate [101]. Dans une solution acide, les groupes sulfate chargés négativement de κ-carraghénane lient aux groupes amino chargés positivement de chitosane et forment un CPE de type acide-base [102].

Comme dans le cas de la préparation d'autre CPE, beaucoup de facteurs peuvent affecter les propriétés physico-chimiques du CPE chitosan-carraghénane. En particulier, le type de carraghénane, le rapport de poids, le solvant de gélification et les concentrations en sel se sont

avérés les facteurs les plus importants influençant les propriétés physico-chimiques, telles que stabilités mécaniques, comportements de gonflement, et les profils de dissolution [103,104].

Jusqu'aux derniers ans, l'attention croissante a été tirée pour développer des systèmes de livraison de nano-échelle en utilisant le CPE chitosan-carraghénane. En diminuant la concentration des solutions de chitosan et de carraghénane, les nanoparticles peuvent être facilement préparés par la méthode ionique de gélation et les charges de surface dépendent du rapport de masse et de l'ordre de mélange des deux polymères [105].

Le CPE chitosane-carraghénane a été exploré pour les applications d'encapsulation et la libération contrôlée de composés bioactifs. Après l'augmentation du pH, les groupes amino sont désionisés et l'affinité de liaison entre deux molécules de polyélectrolyte devient plus faible, ce qui conduit au gonflement et à la désintégration du CPE et finalement la libération du médicament chargé [106, 107].

II.6. Conclusion

Les polyanions et les polycations peuvent co-réagir en solution aqueuse et forment des poly-sels dans un processus de complexation étroitement liée aux processus d'auto-assemblage. La conception générale est que la force d'entraînement principale de la formation du complexe est le gain d'entropie provoquée par la libération de contre-ions à faible poids moléculaire.

Les propriétés macroscopiques des polyélectrolytes sont beaucoup utilisées depuis longtemps, mais leur comportement à l'échelle microscopique est mal compris. La théorie, en particulier, est difficile: aux interactions à courte portée (volume exclu, van der Waals) viennent s'ajouter des interactions à longue portée (interactions électrostatiques) qui peuvent être écrantées à moyenne échelle par la présence d’ions libres en solution ou à courte échelle par des effets de localisation des contre-ions sur la chaîne (condensation, adsorption).

La diversité de ces interactions, en particulier en régime semi dilué (où les chaînes sont interpénétrées) se caractérise par une grande quantité de longueurs caractéristiques qui interviennent pour paramétrer les systèmes [93].

Chapitre III :

Les dispositifs transdermiques

Chapitre III

Les dispositifs transdermiques

III.1. Introduction

La peau est une voie d'administration systémique connue depuis très longtemps. Ce site d'administration systémique a été associé au concept de libération contrôlée pour définir, en 1985, les systèmes transdermiques. Ils permettent une administration systémique, contrôlée et prolongée, de principes actifs mal absorbés par d'autres voies ou subissant un effet de premier passage hépatique trop important. La Pharmacopée Européenne les définit sous le terme de « dispositifs transdermiques ». Mais il ne reste bien souvent auprès des utilisateurs, que la notion d'étiquette médicamenteuse, appliquée sur la peau, résumée sous le nom de « patch ». En effet, depuis quelques années, sont apparus de nombreux systèmes adhésifs cutanés, dont l'action est cette fois-ci locale (certains à usage thérapeutique, d'autres à usage cosmétique), souvent aussi désignés sous le nom de patch, ce qui contribue à créer encore plus la confusion entre ces deux formes totalement distinctes [123].

III.2. Généralité sur la peau

La peau est une enveloppe qui joue un double rôle, elle protège notre organisme et elle nous donne des informations sur le monde extérieur. Elle est non seulement un organe de protection mécanique, physique et biologique vis-à-vis des agressions extérieures, mais également un organe récepteur et la source de divers métabolites.

III.2.1. Anatomie de la peau

Sur un plan structural, la peau comprend trois couches superposées de tissus qui correspondent, de la surface à la profondeur, à l'épiderme, au derme puis à l'hypoderme (figure III.1). Elle a une épaisseur de 0.5 à 5mm selon les localisations du corps, sa surface est d'environ de 1.75−2 m^2, son poids atteint 3.5−4kg et elle renferme 20% de la totalité de l'eau du corps humain [108,109].

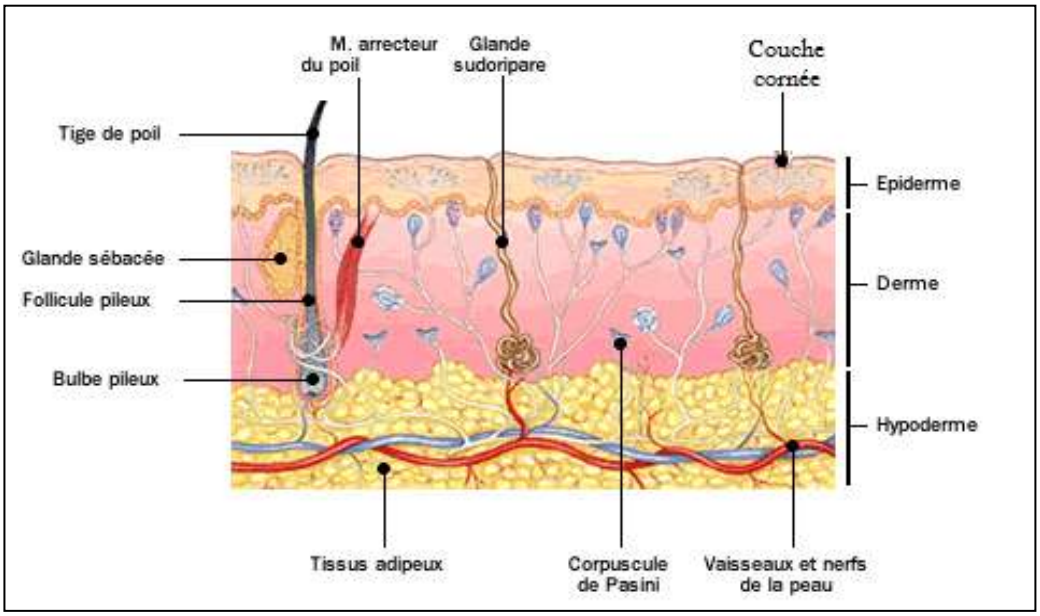


Figure III.1. Schéma de la structure de la peau humaine.

III.2.1.1. Epiderme

L'épiderme représente la couche la plus superficielle de la peau. C'est donc la première couche que va rencontrer le principe actif du système transdermique. Elle a une épaisseur moyenne de 200µm, avec une valeur minimale de 100µm au niveau des paupières et une valeur maximale de 800µm au niveau des paumes des mains et des plantes des pieds [110]. Elle est constitué de quatre couches de cellules ou kératinocytes empilées les unes sur les autres qui sont de bas en haut la couche basale, la couche épineuse, la couche granuleuse et la couche cornée [111]. Cette partie de la peau est pluricellulaire, pluristratifiée avec des cellules différenciées et elle est traversée par les pores de la peau [110].

L'épiderme se compose principalement de deux familles de cellules [110,111] : Les kératinocytes, et les cellules dendritiques de trois types différents (mélanocytes, cellules de Langerhans et cellules de Merkel).

La couche cornée externe (appelée également stratum cornéum ou épiderme non viable) est l'élément le plus imperméable de la peau et se trouve en contact direct avec l'extérieur. Cette couche assure un effet barrière grâce à la kératine produite lors du phénomène de kératinisation et aux liaisons cellulaires assurées par les desmosomes. Ainsi, c'est une barrière physique à la lumière, à la chaleur, aux micro-organismes et à la plupart des agents chimiques [110].

III.2.1.2. Derme

Juste au-dessous de l'épiderme, le derme forme la première et la plus épaisse des couches véritables de la peau [112]. Il fait le lien entre l'hypoderme et l'épiderme. Le derme est un tissu conjonctif qui contient des cellules du derme appelées fibroblastes entourées par une matrice extra-cellulaire, des vaisseaux sanguins et des terminaisons nerveuses. Les glandes sudorales et sébacées siègent aussi dans le derme [111].

III.2.1.3. Hypoderme [111]

L'hypoderme, la couche la plus profonde, est constituée de cellules graisseuses, organisées en lobules, séparées par des cloisons fibreuses et traversées par des vaisseaux. Il est en continuité avec le tissu graisseux sous-jacent.

L'hypoderme est une couche mal différenciée où se trouvent les glandes sudorales qui fabriquent et expulsent la sueur via de petits canaux invisibles à l'oeil nu. Ces canaux au nombre de 2 millions environ sont répartis sur toute la surface de la peau même s'ils sont particulièrement plus nombreux sur les paumes des mains.

III.2.2. Fonctions de la peau [111]

III.2.2.1. Fonction protectrice

La peau exerce d'abord une fonction protectrice, vis à vis de toutes les agressions venues de l'extérieur : agressions mécaniques, agressions chimiques (certains produits peuvent pénétrer lentement à travers la peau pour gagner la circulation générale, cette pénétration peut être utilisée pour l'application de certains médicaments), rayons du soleil et microbes.

III.2.2.2. Fonction de régulation thermique

La peau est un organe essentiel de la régulation thermique. Contre le chaud, l'évacuation de l'excès de chaleur est assurée par la dilatation active des petits vaisseaux du derme, et par la sudation. Contre le froid, le resserrement des petits vaisseaux de la peau, le coussin graisseux de l'hypoderme, la contraction des petits muscles des poils (chair de poule) s'opposent au refroidissement de l'organisme.

III.2.2.3. Fonction de sensation

La peau, par sa richesse en fibres sensitives, informe l'organisme sur 4 grands groupes de sensations: le toucher, la douleur, la température et la pression.

III.2.3. Le métabolisme cutané

Il existe dans la peau de nombreux systèmes enzymatiques localisés principalement au niveau de l'épiderme et du derme. Ces systèmes sont capable d'oxyder, de réduire, d'hydroxyler, de conjuguer et d'hydrolyser les substances chimiques appliquées sur la peau et celles contenues dans la circulation systémique. L'intensité des phénomènes métaboliques cutanés varie d'une zone anatomique à une autre. Néanmoins, l'épiderme est le lieu privilégié des enzymes de dégradation.

Pour les substances appliquées sur la peau et destinées à rejoindre la circulation générale, le premier passage cutané reste tout de même faible, voire inexistant, par rapport au premier passage hépatique subi par les molécules administrées par voie entérale. En effet les enzymes cutanées, peu abondantes, sont rapidement saturées ce qui rend le métabolisme cutané pratiquement nul. Néanmoins, pour les substances absorbées lentement et s'accumulant dans les couches superficielles de l'épiderme ce phénomène métabolique pourrait avoir une importance non négligeable. Ce phénomène aurait la capacité de diminuer les propriétés pharmacodynamiques et les propriétés toxiques de certains PA, mais pourrait également activer des prodrogues. Ainsi, il est possible qu'il augmente l'action thérapeutique ou l'effet néfaste de ces molécules particulières [110,113].

III.2.4. La perméabilité de la peau [110, 113, 114, 115]

Les zones du corps les plus perméables sont les muqueuses, la peau du scrotum et des paupières. Les zones où la peau a une perméabilité intermédiaire sont le visage et la tête, la poitrine, le dos, les fesses, l'abdomen, les bras et les cuisses. Les zones les plus couramment préconisées pour l'application des patchs sont les cuisses, les bras, le dos et la poitrine. Ainsi pour chaque substance un site d'application doit être déterminé et indiqué dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP).

Mais aussi, la perméabilité de la peau varie en fonction de l'âge. Il est important de noter que chez l'enfant ou le nouveau-né, l'importance de la surface corporelle cutanée par rapport au poids du corps est inférieure à celle d'un adulte. Ainsi avec l'utilisation d'un même patch, la taille de la surface d'application reste identique chez l'adulte et chez l'enfant, en revanche l'espace de dilution du produit absorbé est beaucoup plus faible chez l'enfant. Ceci signifie qu'une même dose de principe actif administrée à l'aide d'un patch transdermique à un adulte et à un enfant sera plus toxique chez ce dernier. Le risque de surdosage est donc fortement présent chez les enfants et les nouveau-nés, ceci n'étant pas dû à une perméabilité cutanée supérieure mais à un rapport surface d'application / poids plus élevé.

D'autres paramètres peuvent faire varier la perméabilité de la peau notamment : le flux sanguin, l'état d'hydratation, les éraflures et les irritations, la température de la peau, les brûlures thermiques, les coups de soleil.

III.2.5. Avantages et inconvénients de la voie cutanée [116]

- Avantage de la voie cutanée : facilité d'utilisation, action locale, action à différent niveau de profondeur et de structure, action systémique possible.
- Inconvénients de la voie cutanée : non adapté à tout les PA, temps de latence, fonction de l'état de la peau (pathologie…).

III.3. Le dispositif transdermique

Le terme de système transdermique ou « Transdermal Drug Delivery Systems » (TDDS) a été défini en 1985 désignant une forme pharmaceutique cutanée permettant une administration systémique, contrôlée et prolongée de principes actifs étant mal absorbés par d'autres voies ou subissant une dégradation trop importante lors du premier passage hépatique rencontrée avec les formes *per os.* Le patch transdermique est aussi appelé patch médicamenteux, timbre transdermique, système ou dispositif transdermique [117].

III.3.1. Définition

D'après la *pharmacopée européenne 7.0* [Monographie 1011 (01/2008 :1011)] : « Les dispositifs transdermiques sont des préparations pharmaceutiques souples, de dimensions variables, qui servent de support à une ou plusieurs substances actives. Placés sur la peau non lésée, ils sont destinés à libérer et diffuser une ou plusieurs substances actives dans la circulation générale après passage de la barrière cutanée. » [85].

Cette forme se différencie des autres formes cutanées par le lieu d'action du principe actif (PA). En effet celui-ci atteindra la circulation générale et sera distribué dans tout l'organisme, permettant une action systémique contrairement aux autres formes cutanées ayant une action locale ou régionale comme les patchs cutanés.

III.3.2. Description du patch transdermique [110, 113, 117]

Les patchs transdermiques sont constitués de quatre éléments. Du plus loin au plus proche de la peau se trouve :

- Un revêtement externe imperméable à la substance active, aux autres composants du dispositif et à l'eau. Ce revêtement a une finalité de protection et se nomme également feuillet externe.

- Un compartiment ou réservoir comprenant le(s) PA et un élément de contrôle de libération de la substance médicamenteuse (facultatif).
- Une membrane semi-perméable (facultative) qui contrôle la libération du PA.
- Un élément adhésif, hypoallergénique, permettant le maintien au site d'application. Cette couche adhésive peut ne pas être présente, c'est le cas des systèmes matriciels qui ont par eux-mêmes des propriétés d'adhésion cutanée.

Enfin un support protecteur amovible (Figure III.2) protégeant la surface active du dispositif est à retirer au moment de l'emploi.

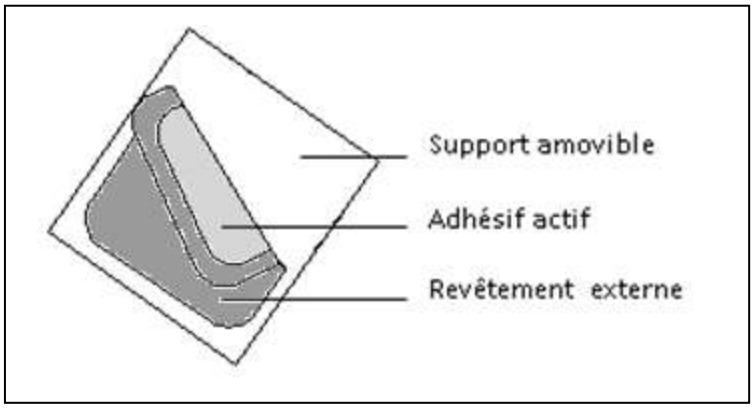


Figure III.2. Schéma d'un patch transdermique, exemple du dispositif de type « adhésif actif » [110]

Le revêtement externe enferme une dose unique de préparation composée d'un mélange d'excipients et du ou des PA. Les excipients contenus dans la préparation vont servir à stabiliser, solubiliser, modifier la vitesse de libération ou améliorer l'absorption transdermique du principe actif. Le revêtement externe peut avoir une taille identique ou plus grande que la préparation. Dans le cas où le revêtement est plus grand, la surface du revêtement externe, qui sera à même la peau, est recouverte d'une matière adhésive afin d'assurer l'adhérence du patch sur l'épiderme. D'autre part, la matrice peut elle-même contenir des adhésifs permettant de maintenir le patch sur la peau. Dans ce cas, il faudra prendre en compte ces adhésifs lors de la formulation pour évaluer la biodisponibilité du PA.

La membrane protectrice couvre la surface de libération du PA « celle-ci est à retirer avant de positionner le dispositif sur la peau ». Cette membrane peut être constituée d'une matière plastique ou d'un matériau métallique.

III.3.3. Les différents types de systèmes transdermiques

Les différents types de systèmes transdermiques se distinguent selon le positionnement de l'élément régulateur de la libération du PA (Figure III.3).

Tous ces types de dispositif rentrent néanmoins dans la catégorie des « systèmes à libération modifiée » [110].

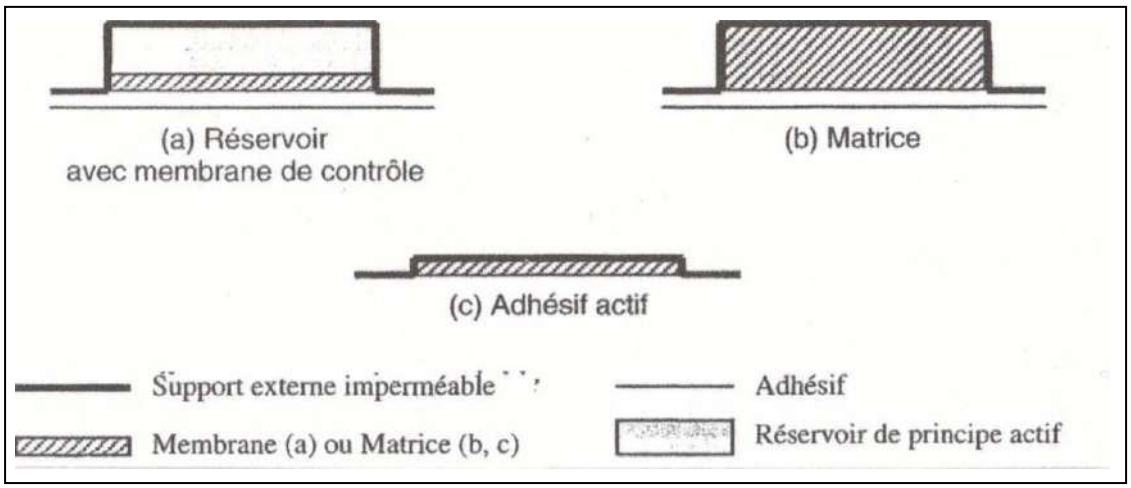


Figure III.3. Structure des systèmes transdermiques [120].

III.3.3.1. Le patch de type réservoir

Dans les patchs de type réservoir (Figures III.3 et III.4), la substance médicamenteuse peut être dissoute ou dispersée dans une base semi-solide ou dans une matrice polymère solide et elle est séparée de la peau par une membrane polymère. Dans ce cas le réservoir est une solution ou une suspension de principe actif dans un véhicule liquide. La membrane polymère est une membrane semi-perméable qui régule la libération et la diffusion du PA. Ces paramètres sont liés à la vitesse de passage de la substance active à travers la membrane, qui suit une cinétique d'ordre zéro. Ainsi la vitesse de libération reste constante au cours du temps. Le patch de type réservoir, grâce à cette membrane, rentre dans la catégorie de « systèmes à libération contrôlée ».

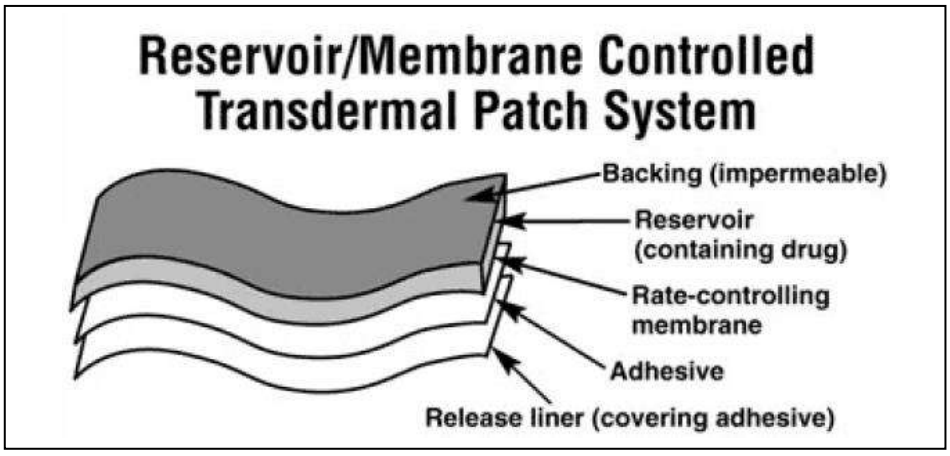


Figure III.4. Structure du patch réservoir [115].

Pour ce modèle de patch, les paramètres permettant de modifier la vitesse de libération du PA sont par exemple : la quantité de polymère comprise dans le réservoir, servant à solubiliser ou à suspendre le PA ; le coefficient de perméabilité de la membrane, celui-ci dépend du fait que la membrane soit ou non poreuse et de la taille de ses pores ; l'épaisseur de la membrane et/ou de l'adhésif. En effet, la libération est ici fonction des caractéristiques du PA, mais aussi, de la composition du réservoir, de la structure et de l'épaisseur de la membrane ainsi que des interactions éventuelles entre le PA et la membrane.

Chez ce type de patch, l'adhésif recouvre entièrement la membrane afin de permettre une bonne adhérence à la peau.

III.3.3.2. Le patch de type matriciel

Le patch de type matriciel (Figures III.3 et III.5) est constitué d'une masse polymérique où est dissous ou dispersé le PA associé à un excipient liquide. Ce patch peut être composé d'une seule couche ou de couches multiples. La libération du PA est contrôlée par le pouvoir de diffusion du PA entre les chaînes de polymère de la matrice. Généralement la cinétique de libération est non linéaire (donc non d'ordre 0 mais d'ordre 1) sauf s'il y a un gradient de concentration au sein de la matrice (dans ce cas la cinétique de libération est d'ordre 0). Ce gradient est obtenu grâce à un système multicouche dont les couches se différencient par leur concentration en PA (avec les couches les plus concentrées en PA, les plus éloignées de la peau). Ce système multicouche permet d'atteindre plus rapidement la concentration plasmatique efficace.

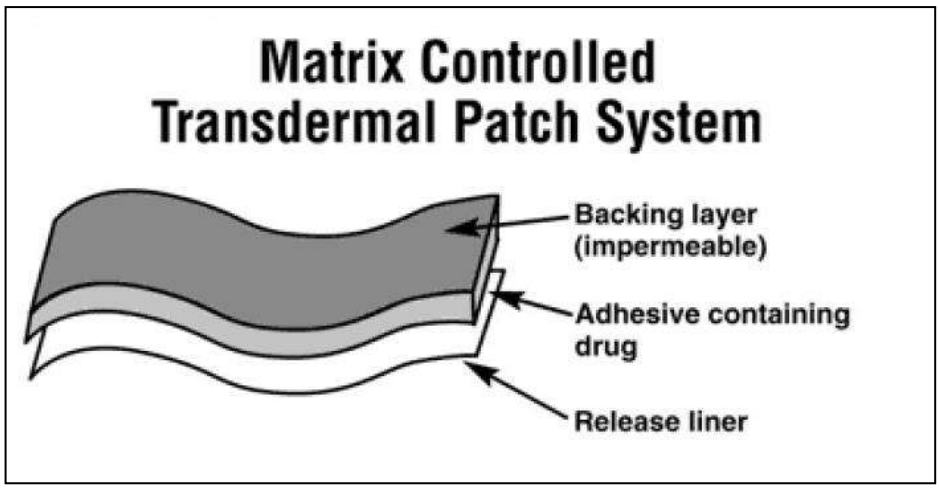


Figure III.5. Structure du patch matriciel de type « adhésif actif » [115]

La variation de la cinétique de libération peut aussi se faire par la modification des paramètres suivants : la densité de réticulation du polymère, le degré de ramification du polymère, le degré de cristallinité et la dimension des zones cristallines dans le polymère, l'épaisseur de l'adhésif (s'il est en contact avec la surface de libération).

Une matrice polymérique idéale doit posséder les caractéristiques suivantes : ne pas interagir chimiquement avec les substances actives ; ne pas opposer de résistance trop importante à la diffusion du PA ; être biocompatible ; garder son intégrité structurelle au cours du stockage et tout au long de la durée de vie commerciale du patch transdermique ; être formée à partir de polymères peu coûteux.

Si le revêtement externe est plus grand que la couche matricielle, la matière adhésive peut être appliquée sur les rebords tout en assurant une adhérence suffisante à la peau. Dans certain cas, l'adhésif peut recouvrir la totalité de la surface de libération. Enfin dans d'autres cas, l'adhésif peut faire partie intégrante de la matrice, les systèmes sont dits alors adhésifs actifs. Ces systèmes adhésifs actifs ont l'avantage de présenter une technologie simplifiée, une faible épaisseur et une grande souplesse ce qui améliore le confort du patient [113,118].

III.3.4. Critères de choix du type de patch

Lorsque le but est d'obtenir une vitesse de libération du PA inférieure à la vitesse de pénétration à travers la couche cornée, quand l'index thérapeutique de la molécule est étroit ou si le médicament est irritant, il est plus judicieux de choisir un système réservoir pour pouvoir atteindre une concentration thérapeutique tout en évitant un surdosage. En effet dans ce cas, la libération du PA est finement régulée par la membrane semi-perméable.

Autrement, si l'étape limitante de l'absorption du médicament est la pénétration à travers la couche cornée, un système matriciel suffit. Car dans ce cas la régulation de l'absorption du PA se fait par la peau [113].

III.3.5. Avantages du dispositif transdermique

Les formes transdermiques sont de plus en plus développées notamment en raison d'une libération de principe(s) actif(s) prolongée et contrôlée dans le temps.

- ☆ C'est la forme pharmaceutique qui permet une libération la plus étalée dans le temps,
- ☆ Les prises de médicament peuvent être plus espacées par rapport à une voie orale ou parentérale tout en garantissant une libération constante durant un temps important,

- ✯ Le confort du patient est amélioré et donc les risques de non-compliance sont diminués,
- ✯ Le pic plasmatique de concentration se trouve fortement diminué par rapport à une forme orale ou injectable, et donc, la toxicité de la molécule est souvent moins importante,
- ✯ L'utilisation de forme transdermique permet d'éviter l'effet de premier passage hépatique rencontré lors de la prise *per os* de médicament,
- ✯ Les doses utilisées pour ces formes sont approximativement vingt fois plus faible que celles de la forme orale, parce que le PA atteint la circulation générale avant d'être métabolisé par le foie.
- ✯ En cas de surdosage, d'intolérance ou d'effets indésirables, cette forme possède la qualité de pourvoir arrêter la thérapie à tout moment en ôtant simplement le patch. De ce fait et en raison de sa facilité d'emploi, le patch possède un réel avantage en thérapie pédiatrique.
- ✯ cette forme présente aussi un grand intérêt pour les personnes ayant des difficultés (ou une impossibilité) à déglutir ou ayant une alimentation uniquement parentérale.

En résumé, les avantages de l'utilisation du patch pour le patient sont : une facilité d'utilisation, une réduction de la fréquence des prises et une diminution des effets secondaires par rapport à une forme conventionnelle orale [113, 114, 115, 117, 121, 122].

III.3.6. Contraintes et limites des systèmes transdermiques

Pour développer de nouveaux patchs il faudra donc sélectionner les futurs principes actifs selon leurs paramètres pharmacocinétiques et leurs propriétés physico-chimiques [115].

III.3.6.1. Les propriétés physico-chimiques des principes actifs

Les conditions nécessaires à respecter pour le développement de formes pharmaceutiques transdermiques à libération contrôlée sont :

- L'apport de PA à l'interface peau / patch à vitesse constante,
- L'absence de saturation du PA dans la couche cornée.

Ainsi les propriétés physico-chimiques du PA importantes pour le développement de cette forme sont : la solubilité dans l'eau, la cristallinité, le poids moléculaire, la polarité de la molécule, le point de fusion inférieur à 200°C, le coefficient de partage huile / eau ou lipide / protéine (log P).

Les molécules de PA vont devoir traverser deux interfaces. Pour les molécules hydrophiles, l'interface limitant la pénétration dans la peau est celle du patch/couche cornée. Pour les molécules hydrophobes, l'interface limitante est l'interface couche cornée/derme, c'est-à-dire au niveau de la membrane basale. Ainsi la pénétration dans la peau est facilitée pour les molécules amphiphiles.

Par ailleurs, les molécules de faible poids moléculaire traversent plus facilement les deux interfaces que les molécules de haut poids moléculaire. La masse moléculaire des PA ne doit donc pas dépasser 500 Daltons pour avoir la meilleure absorption cutanée possible. Cette restriction exclut l'administration par voie transdermique d'un certain nombre de molécules d'intérêt thérapeutique telles que les peptides et les protéines issus des biotechnologies [113, 115, 117, 121, 122].

III.3.6.2. Les propriétés pharmacocinétiques des principes actifs

Comme pour le développement de tout nouveau médicament destiné à être absorbé et distribué dans l'organisme humain, il demeure crucial de déterminer certains paramètres pharmacocinétiques comme : la demi-vie de la molécule, le volume de distribution, la clairance totale, la concentration plasmatique efficace, les facteurs de biodisponibilité.

Il faudra également explorer le métabolisme cutané. Celui-ci se déroule au niveau de l'épiderme et se nomme le « premier passage cutané ». Ce métabolisme peut être à l'origine de réactions indésirables telles qu'une irritation et une sensibilisation de la peau dans le cas où les métabolites formés sont réactifs. Par ailleurs, la flore bactérienne de surface de la peau possède les mêmes enzymes que le foie qui peuvent participer à ce métabolisme [115, 121].

III.4. Passage transdermique [113, 114, 115, 117]

Le passage transdermique ou l'absorption percutanée correspond à la pénétration d'une molécule appliquée sur la peau jusqu'à la circulation générale.

III.4.1. Les deux phases du passage transdermique

Ce phénomène peut être divisé en deux grandes phases : la phase de pénétration, puis la phase d'absorption.

La phase de pénétration se subdivise en plusieurs étapes :

- Après application d'un patch sur la peau, il y a dissolution du PA dans le véhicule si la substance médicamenteuse est en suspension.

- Il s'en suit le transport du PA dissout vers son milieu de dissolution. Ce transport est caractérisé par la libération totale ou partielle de la substance active dans le milieu de dissolution à la surface de l'épiderme. Ce milieu de dissolution est composé des constituants du véhicule provenant du patch et des constituants du site d'application comme l'eau, le sébum, les électrolytes et la flore bactérienne.
- Vient la libération du PA de l'excipient pour venir au contact de la peau. La durée de cette étape dépend principalement du coefficient de partage du PA entre l'excipient et la peau.
- Enfin la pénétration s'effectue à travers les structures de la peau par différentes voies :
    - Les glandes sudoripares, phénomène très limité pour des raisons physiologiques.
    - Les follicules pilo-sébacés, phénomène très important. La pénétration est favorisée par la présence de sébum et de sueur formant une émulsion dans le canal pilo-sébacé, permettant une dissolution aisée des PA (hydrophiles ou lipophiles). Dans ce cas la molécule atteint directement le derme et donc la microcirculation cutanée, puisque le follicule pileux traverse la couche cornée. En raison d'un nombre restreint de follicules par rapport à la surface de la peau (1 pour 1000), une très faible quantité de médicaments emprunte cette voie. Cependant, les électrolytes, les molécules très polaires et les molécules de grande taille pénètrent uniquement grâce à ces annexes cutanées.
    - Le passage de la barrière cellulaire cutanée du *stratum corneum*, soit par les espaces intercellulaires, soit à travers l'épaisseur des cellules.

La phase d'absorption d'une substance médicamenteuse correspond à sa traversée de la matrice fondamentale du derme et de l'endothélium des capillaires sanguins et lymphatiques.

III.4.2. Les voies de transport à travers la couche cornée

L'analyse histochimique de la couche cornée montre qu'elle est, de façon physiologique, partiellement hydratée (15 à 20% d'eau essentiellement dans les régions intercellulaires) et qu'elle contient approximativement 20% de lipides. Ceci justifie la possibilité que cette couche soit traversée par des substances liposolubles ou hydrosolubles.

Le passage de la barrière cellulaire cutanée de la couche cornée est l'étape la plus limitante dans l'absorption transcutanée des substances. Ce passage se fait par deux voies principales : la voie transcellulaire et la voie intercellulaire.

La première voie, la plus directe, est la voie transcellulaire où le médicament traverse à la fois la membrane phospholipidique et le cytoplasme des kératinocytes morts qui composent la couche cornée. Cette voie est donc la plus courte mais aussi celle où la molécule rencontre le plus de résistance à sa pénétration dans la peau. En effet, la molécule doit d'abord traverser une membrane lipophile puis se retrouver dans un milieu hydrophile (le cytoplasme) et encore une fois traverser la membrane lipophile. Pour pouvoir suivre cette voie, les molécules doivent présenter une affinité élevée pour les phospholipides membranaires, pour la kératine et pour les protéines condensées intracytoplasmiques. D'autre part, les kératinocytes des couches profondes renferment jusqu'à 60 à 70% d'eau ce qui renforce l'importance de l'affinité des PA pour l'eau. Peu de molécules suivent cette voie car peu d'entre elles possèdent les propriétés nécessaires pour traverser les kératinocytes.

La seconde voie, la voie la plus fréquente, est la voie intercellulaire. Ici les molécules passent par les petits espaces entre les cellules ce qui rend le trajet plus sinueux. De cette manière, le trajet de diffusion est en règle générale vingt fois plus long (en termes de distance) que la voie transcellulaire. Ceci réduit considérablement le taux de pénétration du médicament. Ces espaces intercellulaires se composent des restes de desmosomes et de lipides lamellaires.

III.4.3. Les différents mécanismes de pénétration de la peau

Trois types de mécanismes physiologiques peuvent entrer en jeu dans la pénétration de la substance active à travers la peau :

- La filtration passive : utilisée lors de l'infiltration des molécules à travers les glandes sudorales, les orifices pilo-sébacés et l'espace intercellulaire. La capacité à emprunter cette filtration passive dépend de la taille et de la conformité des molécules. Dans ce cas le poids moléculaire des substances doit être inférieur à 100 000 Daltons.
- La diffusion passive : les molécules empruntant cette diffusion doivent être légèrement hydrosolubles et avoir un poids moléculaire inférieur à 400 - 500 Daltons. Ici la diffusion obéit à la loi de FICK :

$$J = \frac{dQ}{dt} = K_P \times S \times (C_1 - C_2)$$

$$\text{Où} \quad K_P = D \times \left(\frac{K}{e}\right)$$

Avec :

J : le taux de diffusion ;

$\frac{dQ}{dt}$: la vitesse d'absorption ou la vitesse de transfert par unité de surface ;

K_P : la constante de perméabilité ;

S : la surface d'application ;

$C_1 – C_2$: la différence de concentration de part et d'autre de la couche cornée ;

D : le coefficient de diffusion de la molécule dans la couche cornée ;

K : le coefficient de partage de la molécule entre le véhicule et la couche cornée ;

e : l'épaisseur de la couche cornée.

Pour avoir un taux de diffusion constant au cours du temps il faut que la concentration à la surface de la couche cornée reste constante et soit légèrement supérieure à celle du sang. Il en résulte que la quantité en PA contenue dans les patchs transdermiques est supérieure à la quantité réellement libérée en fin d'administration.

L'intensité de la diffusion passive est d'autant plus élevée que la solubilité lipidique de la molécule est importante. La molécule doit toutefois rester légèrement hydrosoluble pour pouvoir passer à travers les structures vivantes de la peau. Ainsi les molécules préférentiellement absorbées par diffusion passive sont les molécules amphiphiles.

- Le transport actif correspond au transport de substances à travers les membranes cellulaires par transfert d'électrolytes. Ce transport actif n'est pas encore prouvé pour les médicaments administrés par voie transdermique.

L'aptitude d'une membrane à laisser passer une substance s'exprime par le coefficient de perméabilité P ($cm.h^{-1}$). Ce paramètre permet de comparer :

- L'absorption de diverses substances par une même membrane. La comparaison de l'absorption permet, entre autres, de choisir les molécules d'intérêt thérapeutique.
- La résistance de diverses membranes au passage d'une substance. Ainsi il est possible de comparer la pénétration d'une peau saine à celle d'une peau altérée.

III.5. Conclusion

Les dispositifs transdermiques sont des formes pharmaceutiques spécifiquement intéressantes pour toute médication de longue durée nécessitant de faibles taux plasmatiques.

Le principal facteur limitant lors du développement de ces patchs est le passage de la molécule thérapeutique à travers la peau. Pour pouvoir développer un nouveau patch transdermique il est donc nécessaire de connaitre précisément la structure de la peau humaine et ses nombreuses particularités en terme de métabolisme et de mécanisme de passage transdermique des molécules chimiques. Ces caractéristiques sont présentées en première partie de ce développement.

Chapitre IV :

Etude expérimentale

Chapitre IV

Etude expérimentale

Une forme galénique à libération prolongée, ou LP, permet l'absorption régulière et soutenue dans le temps du principe actif d'un médicament. Dans certains cas, une libération du principe actif ralentie ou différée peut être souhaitée afin de prolonger la durée de l'action thérapeutique. C'est dans cette optique, que les formes à libération modifiée ont été développées.

Nos intentions pour le côté pratique étaient d'effectuer une élaboration d'une membrane (dispositif transdermique) à base du complexe de polyélectrolyte chitosane/κ-carraghénane, non chargée et chargée par un anti-inflammatoire, puis une étude préliminaire de la cinétique de diffusion de ce principe actif in vitro.

Notre étude expérimentale comporte :

- L'optimisation des paramètres de solutions de carraghénane et chitosane,
- L'optimisation du mélange de complexe polyélectrolyte et sa caractérisation,
- L'élaboration de la membrane du complexe carraghénane-chitosane et sa caractérisation,
- La charge de la membrane par un anti-inflammatoire et l'étude préliminaire de la cinétique de libération in vitro.

IV.1. Matériels et produits

IV.1.1. Principe actif, biopolymères et produits utilisés

a) Principe actif

Le principe actif utilisé dans notre travail est : Piroxicam (1,1-dioxide de 4-Hydroxy-2-methyl-N-(2-pyridinyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide).

Le piroxicam $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ (Figure IV.1) est un anti-inflammatoire non stéroïdien du groupe des oxicams. Il possède les propriétés suivantes: activité antalgique, activité antipyrétique, activité anti-inflammatoire, inhibition des fonctions plaquettaires. L'ensemble de ces propriétés est lié à une inhibition de la synthèse des prostaglandines.

C'est une poudre cristalline, blanche ou légèrement jaune dont la masse molaire est 331.4 g/mol. La teneur est de 98.5 à 101.5% (substance desséchée).

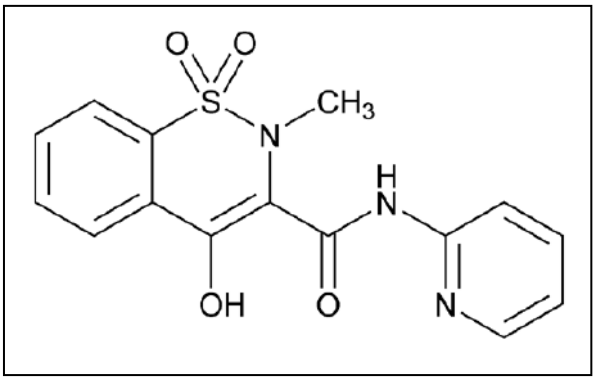
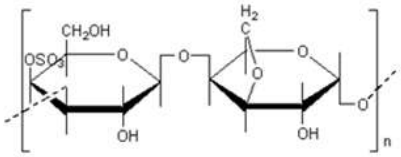


Figure IV.1. Structure chimique de Piroxicam [124]

b) Biopolymères

Les biopolymères ont été traités plus amplement dans le chapitre I. Le tableau IV.1 récapitule les caractéristiques principales des biopolymères utilisés.

Tableau IV.1. Caractéristiques des biopolymères utilisés

Polymère	Formule	Fournisseur N° Lot	Pureté	Masse Molaire
Kappa-carraghénane		Danisco (Danemark) Lot : SRCCG 169	Sous forme de sel potassique (0.56 mg/g)	385 KDa
Chitosane	$[C_6O_4H_9(NH_2)_{0.81}(NHCOCH_3)_{0.19}]_n$	Sigma-Aldrich, USA	-	208 KDa

c) Produits utilisés

Le fournisseur principal des produits utilisés dans ce travail est SIGMA-ALDRICH (Allemagne). Tous les produits spécifiés dans le Tableau (IV.2) étaient disponibles au niveau du Hall de technologie (Université de Médéa).

Tableau IV.2 : Caractéristiques des produits utilisés

Produit	**Formule**	**Fournisseur N° Lot**	**Pureté (%)**	**Masse Molaire (g/mol)**
Acide chlorhydrique	HCl	***Riedel-de Haën (Allemagne) Lot : #SZBC 1950V***	36.5 – 38	36.46
Acide citrique	$C_6H_8O_7$-H_2O	***Riedel-de Haën (Allemagne) Lot : 27102***	99.5 -100.5	210.14
Acide acétique	CH_3COOH	Chem-Lab (Belgique) Lot : 21.1561004.1000	99.8	60.05
Acétate de sodium trihydraté	$C_2H_3O_2Na$ $3H_2O$	***Riedel-de Haën (Allemagne) Lot : 61310***	99 - 101	136.08
Phosphate de sodium di-sodique	Na_2HPO_4 $2H_2O$	***Riedel-de Haën (Allemagne) Lot : #SZBC 2120V***	98.5–101	177.99
Hydroxyde de sodium	HNaO	Fluka chemika ***(Allemagne)*** Lot : 71692	97.0	40.00
Glycérol	$C_3H_8O_8$	Sigma-Aldrich (Allemagne) Lot : SZBC 123BV	99 – 101	92.09
Méthanol	CH_4O	***Riedel-de Haën (Allemagne) Lot : 43270***	99.5	32.04
Isopropanol (2-propanol)	C_3H_8O	Merck KGaA (Allemagne) Lot : CE 200-661-7	99.5	60.10
Ethanol	C_2H_6O	Sigma-Aldrich (Allemagne) Lot : #SZBE 0020V	96	46.07

IV.1.2. Matériels utilisés

Toutes les manipulations ont été faites au niveau du laboratoire d'analyse physico-chimique du Hall de technologie (Université de Médéa), en utilisant les instruments qui sont résumés dans le Tableau (IV.3).

Tableau IV.3 : Matériels utilisés

Matériel	**Marque**
Balance électrique	KERN ALS 220-4N (d = 0.1 mg)
Agitateur magnétique + plaque chauffante	OVAN®
Centrifugeuse	Hettich ZENTRIFUGEN EBA 20
Spectrophotomètre UV-Visible	UV mini-1240 SHUMADZU
Spectrophotomètre FTIR	FTIR-8400 SHUMADZU
pH mètre	HI 2209 - HANNA®
Conductimètre	EC 214 - HANNA®
Etuve	Ipp 500 - memmert
Thermomètre	Checktemp 4 - HANNA®

IV.2. Pré formulation

Avant de procéder à la formulation du dispositif transdermique, nous avons commencé par l'optimisation de la préparation des solutions de base (solutions de chitosane et de Kappa-carraghénane). Pour ce faire, nous avons choisi plusieurs solutions ayant des pH différents.

IV.2.1. Préparation des solutions tampons

Une solution tampon est une solution permettant de conserver un pH à peu près constant si on lui ajoute de faibles quantités d'acide ou de base. Pour préparer une solution tampon, on réalisera un mélange entre un acide faible et sa base conjuguée.

Dans notre étude, nous avons choisi les solutions tampon acétate. Ces solutions peuvent être préparées à différent pH (de 3.6 à 5.6). On avait besoin de Tampon (pH = 4) et Tampon (pH = 5). On devait préparer d'abord deux solutions A et B, puis les mélanger en différents volumes pour avoir les ph voulus.

Solution A : Solution d'acide acétique 0.2 M.

Solution B : Solution d'acétate de sodium trihydraté 0.2 M.

Les mélanges suivants ont été réalisés pour avoir les solutions Tampons :

- **pH = 4 :** 41.0 mL de A + 9.0 mL de B, dilués à 100 mL.
- **pH = 5 :** 14.8 mL de A + 35.2 mL de B, dilués à 100 mL.

Les concentrations en acide faible et base faible doivent être au moins supérieures à 1 mmol.L^{-1} pour que la solution tampon soit efficace.

IV.2.2. Optimisation des paramètres de solution à base de Kappa-Carraghénane (KC)

IV.2.2.1. Préparations

Des solutions à différentes concentrations (0.6 - 1.1 %) de KC ont été préparées dans différents solvants : eau distillée, Tampon pH=4, Tampon pH=5, HCl (0.1%). Les solutions ont été chauffées à une température T = 90 ± 3°C pendant 15 mn sous agitation magnétique, puis elles ont été refroidies à température ambiante.

L'objectif de ces préparations était d'optimiser le solvant, la concentration de KC.

IV.2.2.2. Résultats et optimisation

Les résultats de l'évaluation des solutions obtenues sont résumés dans le Tableau (IV.4).

Tableau IV.4 : Aspect des solutions de κ-carraghénane

	Solvants			
Concentra-tion de KC (P/V)	**Eau distillée**	**Tampon pH = 4**	**Tampon pH = 5**	**HCl (0.1%)**
0.6 %	Solubilité totale (solution visqueuse)	Solubilité (petites PESs)	Solubilité (petites PESs)	Solubilité totale (solution visqueuse)
0.7 %	Solubilité totale (solution visqueuse)	Solubilité (petites PESs)	Solubilité (petites PESs)	Solubilité non totale présence de PESs
0.8 %	Petites particules en suspension (PESs)	Solubilité (petites PESs)	Solubilité (petites PESs)	Solubilité non totale présence de PESs
0.9 %	Particules en suspension	Solubilité (petites PESs)	Particules en suspension	Suspension homogène
1.0 %	Particules en suspension	Particules en suspension	Mauvaise solubilité	Suspension (formation rapide du gel)
1.1 %	PESs, formation immédiate du gel	Particules en suspension	Pas de solubilité	Suspension (formation du gel)

Suite aux résultats obtenus, nous avons choisi l'eau distillée comme solvant et une concentration optimale de 0.6 % (P/V). Ainsi, pour la suite du travail, la préparation d'une solution de KC (0.6 %) a été réalisée par la solubilisation de 0.6 g de KC dans un volume de 100 mL de l'eau distillée, à T = 90 ± 2 °C pendant t ≥ 15 min sous agitation magnétique 900 r.p.m. Puis, la solution obtenue a été refroidi à température ambiante.

IV.2.3. Optimisation des paramètres de solution à base de Chitosane (CS)

IV.2.3.1. Préparations

L'objectif désiré dans ce cas était d'optimiser le solvant pour la préparation de la solution de CS, la concentration de CS.

A cet effet, plusieurs solutions à différentes concentrations (0.1 – 0.4 %) de CS ont été préparées dans différents solvants : Acide acétique (1%), Tampon pH = 4, Tampon pH = 5, HCl (0.1%). à température ambiante pendant 15 mn sous agitation magnétique.

IV.2.3.2. Résultats et optimisation

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau (IV.5).

Tableau IV.5 : Aspect des solutions de chitosane préparées.

	Solvants			
Concentration de CS (P/V)	**Acide acétique (1%) T = 20 ± 2 °C**	**Tampon pH4 T = 18 ± 1 °C**	**Tampon pH5 T = 18 ± 1 °C**	**HCl (0.1%) T = 22 ± 1 °C**
0.1 %	Solubilité totale	Solubilité totale	Solubilité totale	Solubilité totale
0.2 %	Solubilité totale	Solubilité totale	Solubilité totale	Solubilité totale
0.3 %	Solubilité totale	Solubilité (PESs)	Solubilité partielle	Solubilité totale
0.4 %	Solubilité totale	Solubilité (PESs)	Pas de solubilité	Solubilité totale

A la lumière de ces résultats, nous avons choisi l'acide acétique comme solvant. Par la suite et afin de choisir les concentrations optimales de CS pour réaliser le CPE et la membrane de CS (le témoin), nous avons joué sur la concentration. Les résultats sont résumés dans le tableau (IV.6).

Tableau IV.6 : Aspects des solutions de CS à différentes concentration dans l'acide acétique

Concentration de CS (P/V)	Solubilité dans l'acide acétique
0.6 %	Solubilité totale (solution peu visqueuse)
0.8 %	Solubilité totale (solution peu visqueuse)
0.9 %	Solubilité totale (solution peu visqueuse)
1.0 %	Formation immédiate du gel

En conclusion, nous avons choisi l'acide acétique comme solvant, une concentration optimale de 0.3 % (P/V) pour la préparation du CPE et 0.9 % (P/V) pour la préparation de la membrane de chitosane (témoin).

Alors, deux solutions de CS ont été préparées pour poursuivre le travail expérimental :

1. une solution de CS (0.3 %) a été préparée par solubilisation de 0.3 g de CS dans un volume de 100 mL de l'acide acétique, à la Température de laboratoire (T = 20 ± 2 °C) sous agitation magnétique 900 r.p.m, pendant $t \geq 15$ min.
2. une solution de CS (0.9 %) a été préparée de la même manière que la précédente.

IV.2.4. Préparation et caractérisation du polyélectrolyte CS-KC

IV.2.4.1. Préparation

Des mélanges des deux solutions optimisées précédemment (CS (0.3 %) et KC (0.6 %)) ont été réalisés à différente proportions de telle façon à obtenir une solution finale de 10 ml (Tableau IV.7). Les mélanges ont été maintenus sous agitation magnétique 1500 r.p.m, pendant 10 min à température ambiante.

Afin de mesurer la conductivité, le pH et la turbidité des mélanges (Tableau IV.7), une centrifugation à 40x100 r.p.m a été réalisée pendant 10 min en utilisant une centrifugeuse de type Hettich ZENTRIFUGEN EBA 20.

En se basant sur les travaux antérieurs [125,126], La turbidité a été déterminée par spectrophotomètre UV (mini-1240 SHUMADZU) à 600 nm. Les mesures conductimétriques et pH-métrique ont été effectués sur le surnageant des mélanges réactionnels à température ambiante, en utilisant un conductimètre numérique Hanna Instruments EC 214 avec une erreur de 0.01 μS/cm, et un pH-mètre numérique Hanna Instruments HI 2209 respectivement.

IV.2.4.2. Résultats et optimisation

Les mélanges obtenus (Figure IV.2) comportent deux phases, un culot blanc et le surnageant. Plus on augmente la concentration de KC plus le volume de culot augmente. Néanmoins, pour des rapports élevés, nous avons remarqué que le surnagent est devenu trouble et la précipitation du culot n'est pas parfaitement atteinte.



Figure IV.2. Aspect du complexe polyélectrolyte à différents ratios

Les résultats de la turbidité, de la conductivité et du pH du surnagent sont rassemblés dans le Tableau (IV.7).

Tableau IV.7: Principaux paramètres des solutions de complexe polyélectrolyte

N°	KC (ml)	CS (ml)	Ratio	Densité optique (DO)	pH	Conductivité ($mS.cm^{-1}$)
1	1	9	1/9	0.024	3.2	2.17
2	2	8	2/8	0.017	3.2	2.28
3	3	7	3/7	0.020	3.3	2.53
4	4	6	4/6	0.022	3.3	2.64
5	5	5	5/5	0.143	3.3	3.08
6	6	4	6/4	0.020	3.4	3.30
7	7	3	7/3	0.023	3.5	3.70
8	8	2	8/2	0.035	3.6	3.81
9	9	1	9/1	0.063	3.4	3.77

Suite à ces résultats, nous allons discuter les paramètres étudiés :

a. La turbidité

Les mesures de la turbidité ont été réalisées afin d'étudier les conditions optimales de la formation du complexe polyélectrolyte en fonction des concentrations des deux polymères. La figure (IV.2) présente la variation de la turbidité en fonction de différents rapports volumique KC/CS pour un volume finale constant.

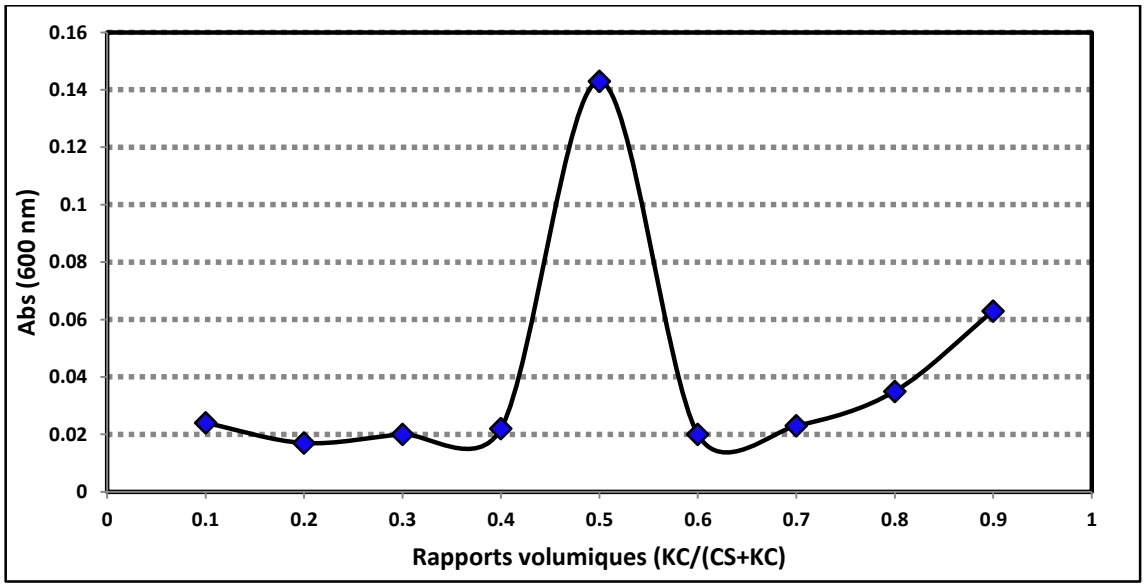


Figure IV.3 : Turbidité du système CS-KC en fonction de la composition du mélange.

On remarque que lors de l'augmentation du rapport volumique KC/CS, la turbidité de la solution finale augmente, atteignant un pic maximal de 0.14 pour un rapport optimal unitaire. Cette augmentation de la turbidité de la solution finale indique une forte interaction entre les deux polymères mis en contact dans la solution.

Les interactions électrostatiques entre les groupements amine cationiques du CS et les groupements sulfates anioniques du KC sont les interactions principales menant à la formation du complexe polyélectrolyte. Ces interactions sont plus fortes que la plupart des interactions de liaisons secondaires [127]. Les conditions optimales pour la formation du complexe polyélectrolyte sont donc fixées à un rapport volumique optimal conduisant à une turbidité maximale.

b. Conductivité

La Figure (IV.4) représente la variation de la conductivité en fonction de la composition du mélange réactionnel, exprimée comme le rapport entre le volume de KC et le volume total du mélange (KC + CS). Nous avons remarqué l'existence de deux parties ayant la même allure mais avec des pentes différentes.

Pour expliquer cette variation, nous nous sommes basé sur l'hypothèse que la conductivité d'une solution est liée à la présence des ions dans la solution et aussi à leurs mobilités. Le point d'équivalence est marqué par le point d'intersection des deux droites.

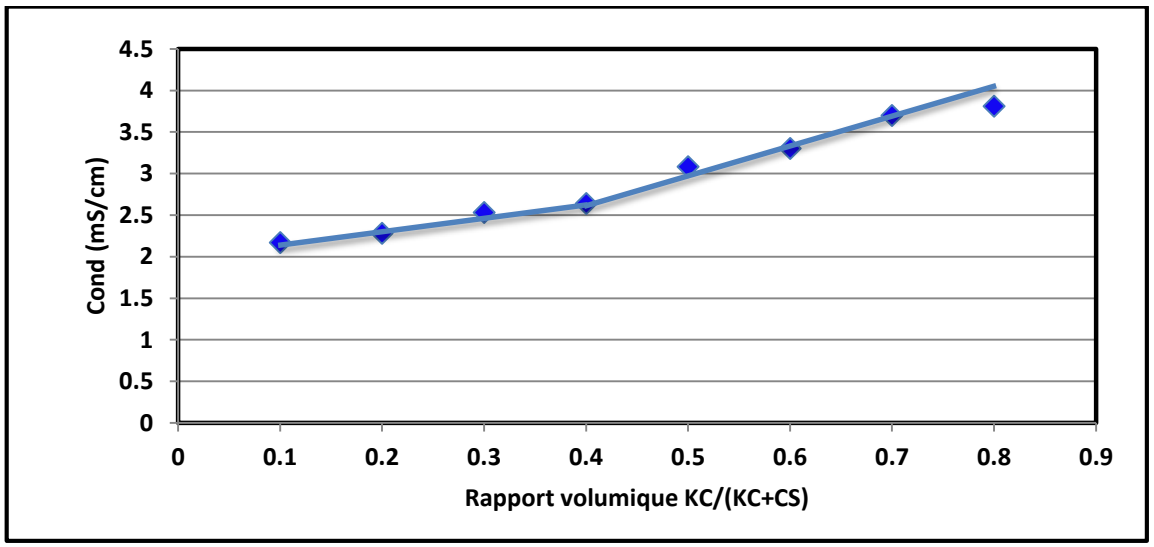


Figure IV.4 : Conductivité du système CS-KC en fonction de la composition du mélange.

La réaction mise en jeu lors du mélange est représenté par l'équation (1).

$$\wedge\wedge\wedge\wedge OSO_3^{2-},2K^+ + 2(CH_3COO^-, {}^+NH_3\wedge\wedge\wedge\wedge) \rightleftharpoons \wedge\wedge\wedge\wedge OSO_3^{2-}, 2{}^+NH_3\wedge\wedge\wedge\wedge + 2CH_3COO^-,2K^+ \quad (1)$$

La formation du PEC est accompagnée par la libération des ions K^+ et H^+ dans le milieu avec des mobilités différentes de celles des macro-ions qui ont réagit. La figure (IV.4) montre que la mobilité des ions K^+ libérés pendant la réaction est faible devant la mobilité des ions H^+ libérés après la fin de la réaction, ce qui explique la variation brutale de l'allure de la conductivité.

c. Le pH

La figure (IV.5) représente la variation du pH en fonction de la composition du mélange réactionnel.

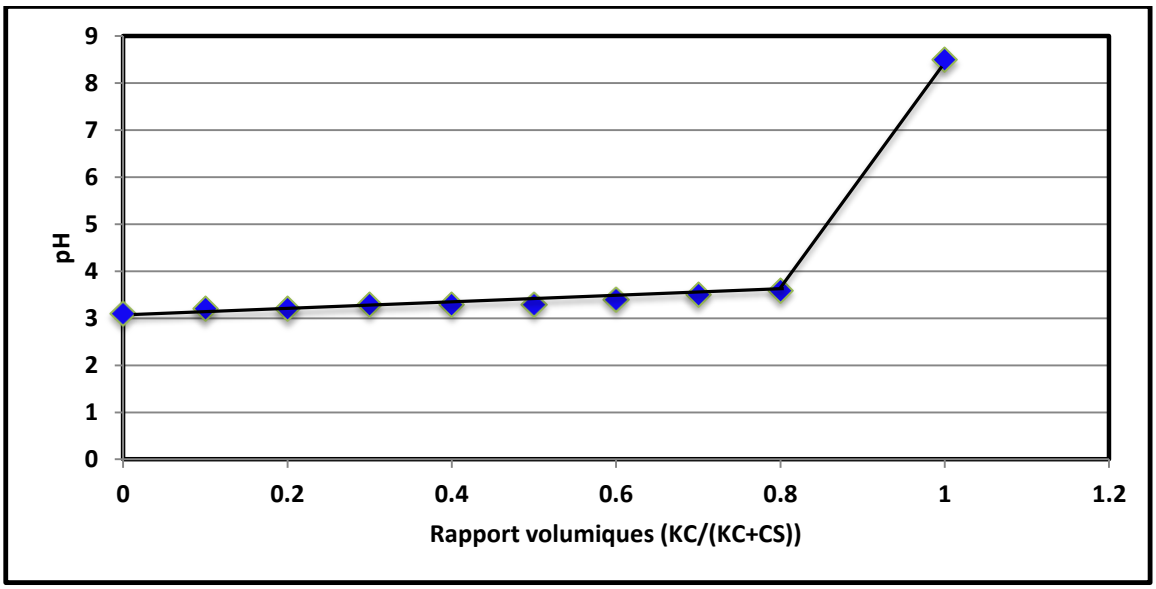


Figure IV.5. pH du système CS-KC en fonction de la composition du mélange.

On remarque une faible augmentation du pH proportionnelle à la quantité de κ-carraghénane ajoutée, les valeurs de pH des mélanges réactionnels restent toujours en milieu acide, cela est du au caractère acide de la solution de chitosane. Cette acidité est avantageuse pour la formation du complexe. Les carraghénanes se combinent aux chitosane par la formation d'une liaison entre les groupements $-OSO_3^{2-}$ du carraghénane et les groupements $-NH_3^+$ de chitosane. Les variations de pH permettent la formation ou la rupture du complexe carraghénane-chitosane.

IV.2.5. Analyse par FTIR

IV.2.5.1. Préparations

Une analyse spectroscopique par FTIR a été réalisée par un spectrophotomètre FTIR-8400 SHUMADZU au niveau du laboratoire d'analyse physico-chimique du Hall technologique (université de Médéa) sur le chitosane, le κ-Carraghénane, le mélange physique KC-CS et le PEC chitosan-carraghénane. Des pastilles de Chitosane, κ-carraghénane, mélange physique KC-CS et PEC ont été préparées par compression des poudres finement broyées en présence de KBr. Les spectres FTIR ont été enregistrés dans l'intervalle 4000-500 cm^{-1}.

IV.2.5.2. Résultats et discussion

Les spectres FTIR de κ-carraghénane (a, rouge), le chitosane (b, noir), et le mélange physique KC-CS (c, bleu) sont illustrés dans la figure (IV.6). Le pic de l'amide I du chitosane (vibration de valence C-O) est apparu à 1655 cm^{-1}. La bande (1150-1033 cm^{-1}) représente la liaison C-O-C du cycle pyranose, la vibration de valence C-O et OH et la vibration de déformation NH_2. Les groupements sulfate de κ-carraghénane sont attribués aux pics à 1261, 1224, 916 et 839 cm^{-1}. Les bandes larges autour de 1200-1000 cm^{-1} à la fois dans le chitosane, le carraghénane et le mélange physique sont de l'étirement (élongation) de C-O-C.

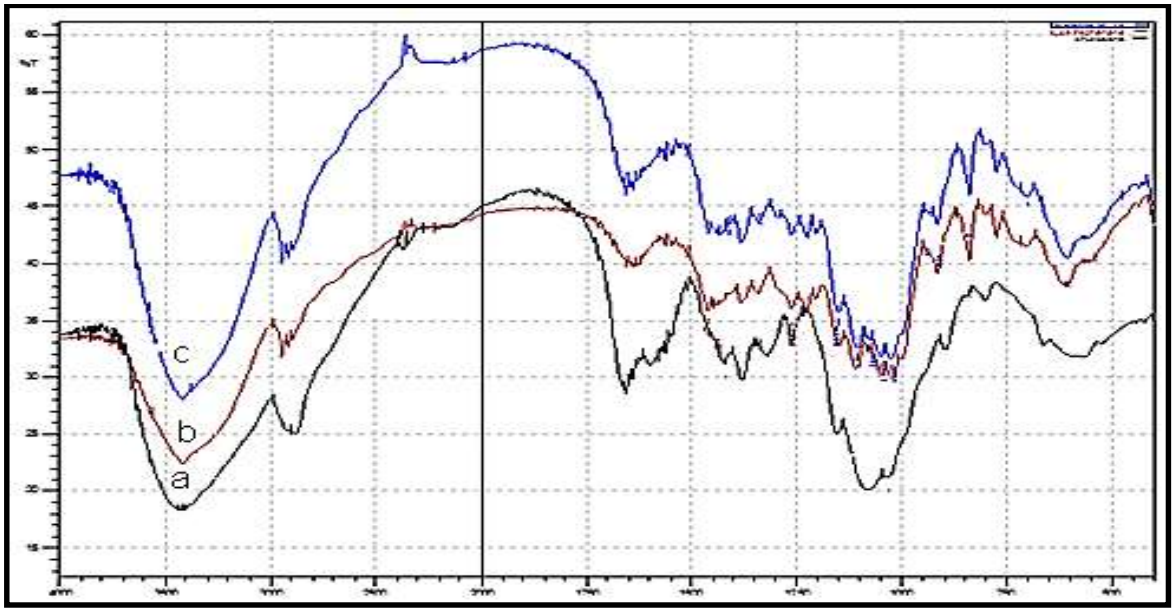


Figure IV.6 : Les spectres FTIR : a) chitosane, b) κ-carraghénane, c) mélange physique.

Par comparaison du spectre du mélange physique avec les spectres des produits de base (chitosane et κ-carraghénane), on remarque que le spectre du mélange regroupe tous les pics caractéristiques du chitosane et du κ-carraghénane ce qui indique que le mélange de poudres est un mélange physique.

Après la formation du complexe polyélectrolyte chitosane-carraghénane, une nouvelle bande d'absorption à 1540 et 1535 cm^{-1} est apparus en raison de groupement $-NH_3^+$ (Figure IV.7). En outre le pic amide I de chitosane à 1655 cm^{-1} a été diminué à 1637 cm^{-1} et la modification des pics à 1261 et 1224 cm^{-1} caractéristiques des groupements sulfates du κ-carraghénane (qui sont devenus une bande large) indique la formation du complexe polyélectrolyte chitosane-carraghénane par interaction entre les groupements amine protonées du chitosane et les groupements sulfates du κ-carraghénane.

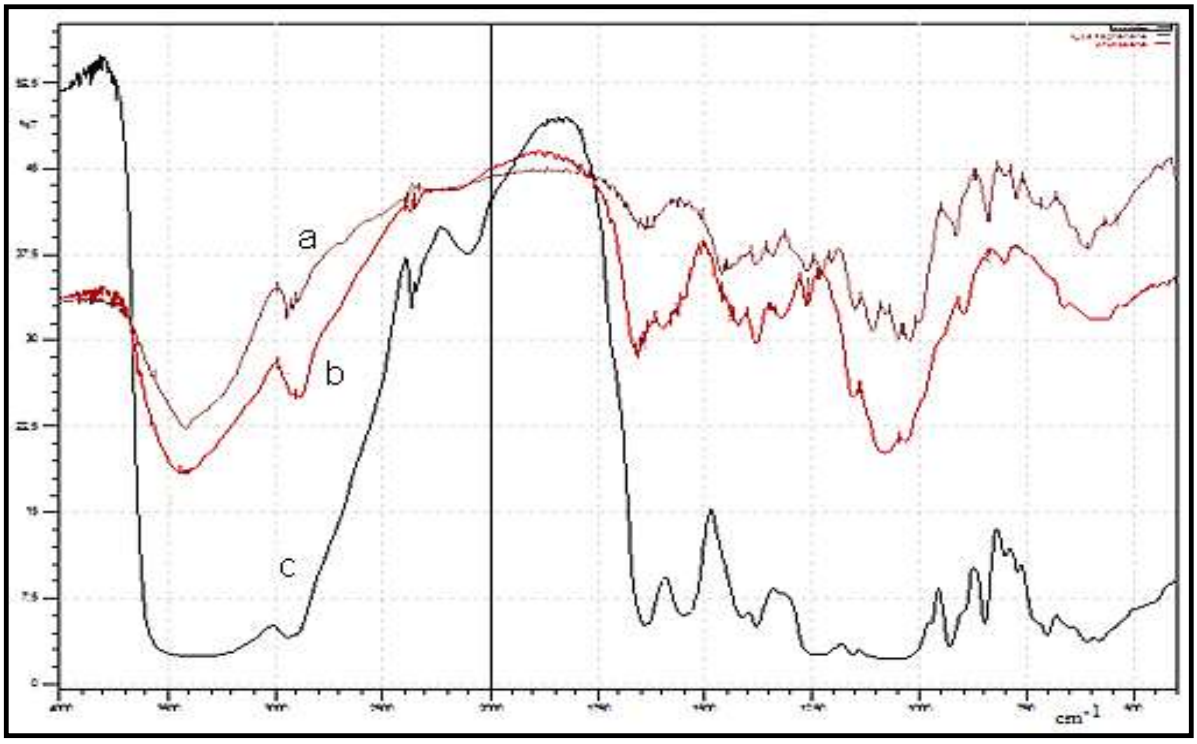


Figure IV.7 : Spectres FTIR de: a) κ-carraghénane, b) chitosane, c) Complexe.

IV.3. Formulation et caractérisation du dispositif transdermique

IV.3.1. Protocole de formulation

a) Préparation d'une membrane de CS (0.9 %) (témoin)

La membrane de chitosane a été préparée par séchage d'un volume de 20 ml de la solution de chitosane 0.9% dans l'acide acétique étalée sur une boite pétri, en mettant cette dernière dans une étuve memmert à 60°C pendant 6 à 7 heures.

Après le séchage et l'apparition d'une membrane, une solution de NaOH a été ajoutée pour solidifier la membrane par régénération des groupements amines libres et par conséquent on garantit une insolubilité de la membrane. Par la suite, la membrane a été lavée par l'eau distillée jusqu'à neutralisation. Finalement, un séchage à l'air libre pour obtenir la membrane finale (Figure IV.8). L'organigramme de la figure (IV.9) récapitule les étapes de la préparation.

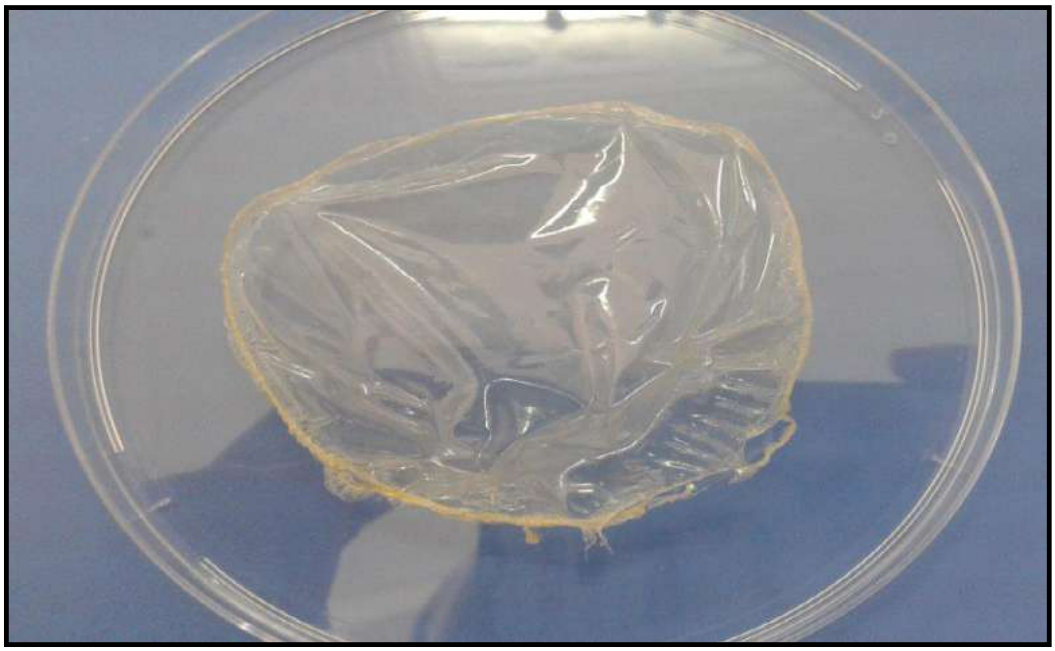


Figure IV.8 : Membrane de chitosane

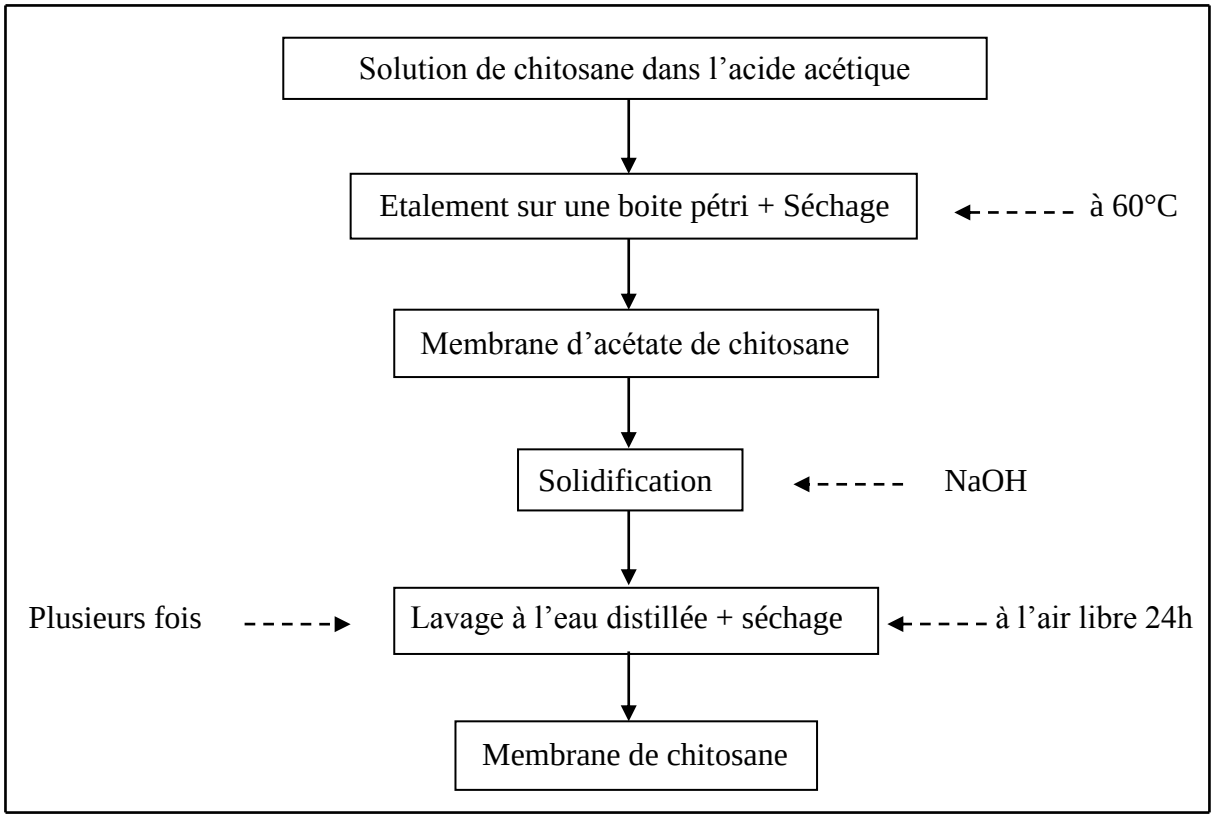


Figure IV.9. Procédé de préparation de la membrane de chitosane

b) Préparation d'une membrane du complexe polyélectrolyte

L'organigramme de la figure (IV.10) récapitule les étapes de la préparation de la membrane du CPE. Le mélange optimal de 20 ml d'une solution d'acétate de chitosane 0.3% et 20 ml d'une solution de κ-carraghénane 0.6% a été préparé sous agitation magnétique pendant 10 à 15 min à température ambiante.

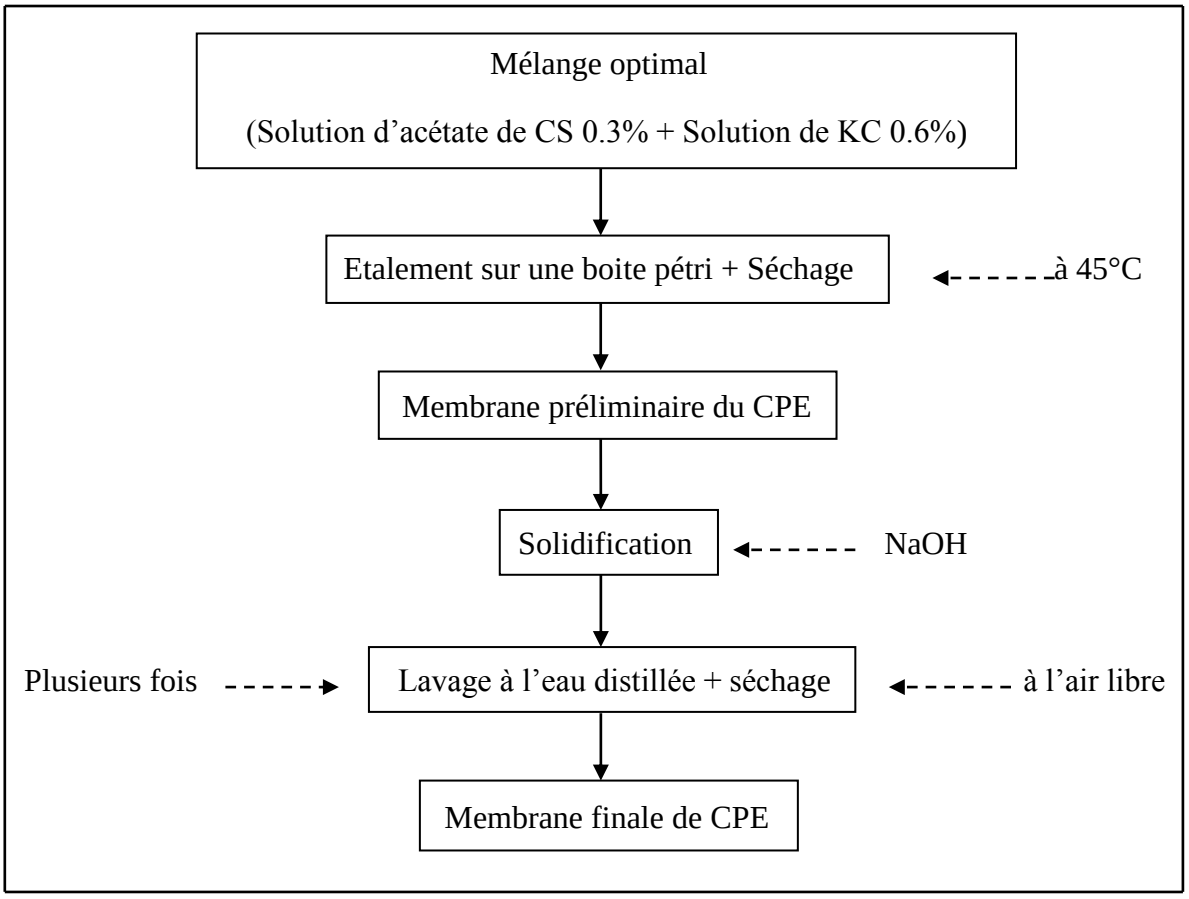


Figure IV.10. Procédé de préparation de la membrane du complexe polyélectrolyte

Une membrane de CPE a été préparée par séchage du mélange optimal étalé sur une boite pétri (figure IV.11.a), en mettant cette dernière dans une étuve memmert à 45°C pendant (12 heures au minimum) ou à l'air libre pendant (48 heures au minimum). Après le séchage et l'apparition d'une membrane (figure IV.11.b), une solution de NaOH a été ajoutée. Par la suite, la membrane résultante a été rincée plusieurs fois par l'eau distillée jusqu'à la neutralisation.

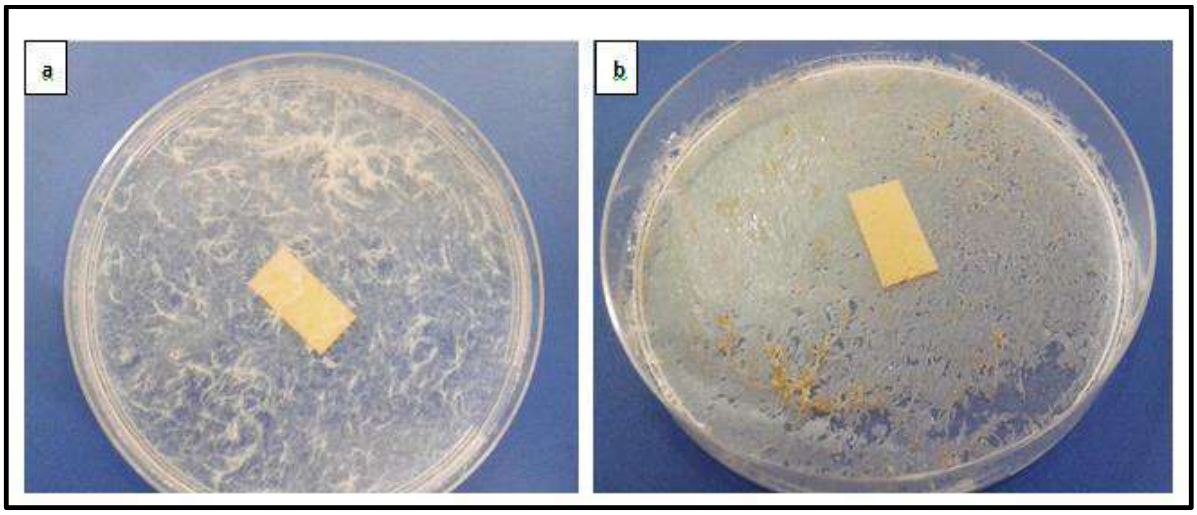


Figure IV.11 : Membrane du complexe polyélectrolyte : a) avant séchage b) après séchage.

IV.3.2. Caractérisation

IV.3.2.1. Aspect

Les membranes obtenues sont très fines (quelques micromètres d'épaisseur). La membrane de chitosane est transparente, tandis que celle du CPE présente des irrégularités d'aspect et de couleur.

IV.3.2.2. Test de gonflement

Afin de réaliser les tests de gonflement, nous avons coupé les membranes en petits carrés (2 × 2) cm^2. Les tests ont été appliqués sur les deux membranes en utilisant des différents milieux : eau distillée, Milieu pH = 4, Milieu pH = 6.8 et Milieu pH = 8.

a) Préparation des solutions tampons

Tampon phosphate-citrate

Cette méthode nous permet de préparer plusieurs solutions tampon à différents pH (de 2.2 à 8.0). Dans ce travail, on avait besoin de Tampon pH = 4, Tampon pH = 6.8 et Tampon pH = 8. On devait préparer d'abord deux solutions A et B, puis les mélanger en différents volumes selon le pH désiré.

Solution A : Solution d'acide citrique ($C_6H_8O_7$, H_2O) 0,50 M.

Solution B : Solution de phosphate de sodium di-sodique (Na_2HPO_4, $2H_2O$) 0,50 M.

Les mélanges suivants ont été réalisés pour avoir les solutions Tampons :

Tableau IV.8 : Solutions Tampons

pH	Na_2HPO_4, $2H_2O$ (0.5 M)	$C_6H_8O_7$, H_2O (0.5 M)
4	30.84 ml	24.58 ml
6.8	61.80 ml	9.10 ml
8	77.80 ml	1.10 ml

b) Gonflement

- **<u>Préparation</u>**

Des échantillons de (2 × 2) cm^2 des membranes de chitosane et de CPE ont été immergées dans différents milieux (Eau distillée, Tampon pH = 4, Tampon pH =6.8 et Tampon pH =8) à $T=37 \pm 1$ °C. La masse de chacun des échantillons a été mesurée initialement avant l'immersion (à l'état sec), puis à chaque 10 min après l'immersion en utilisant une balance KERN ALS 220-4N avec une erreur de 0.1 mg.

- **<u>Résultats et discussions</u>**

Les résultats obtenus sont regroupés dans les Tableaux (IV.9) et (IV.10).

Tableau IV.9 : Poids de la membrane du CPE

	Masse (g)			
Milieu	à t = 0	à t = 10 min	à t = 20 min	à t = 30 min
Eau distillée	0.0054	0.0390	0.0530	0.0550
pH = 4	0.0042	0.1320	0.1360	0.1340
pH = 6.8	0.0043	0.0480	0.0810	0.0830
pH = 8	0.0048	0.0450	0.0460	0.0500

Tableau IV.10 : Poids de la membrane du chitosane

	Masse (g)			
Milieu	à t = 0	à t = 10 min	à t = 20 min	à t = 30 min
Eau distillée	0.014	0.094	0.098	0.154
pH = 4	0.031	0.152	0.174	0.157
pH = 6.8	0.028	0.116	0.117	0.12
pH = 8	0.023	0.104	0.111	0.137

La variation de la masse (ou le taux de gonflement) à été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$TG = \frac{m_f - m_i}{m_i} \qquad (2)$$

Où m_i et m_f sont respectivement la masse initiale et la masse finale de la membrane.

La figure (IV.12) représente le taux de gonflement en fonction du temps étudié pour la membrane de CPE dans les quatre milieux ; et La figure (IV.13) représente le taux de gonflement en fonction du temps étudié pour la membrane de chitosane dans les quatre milieux.

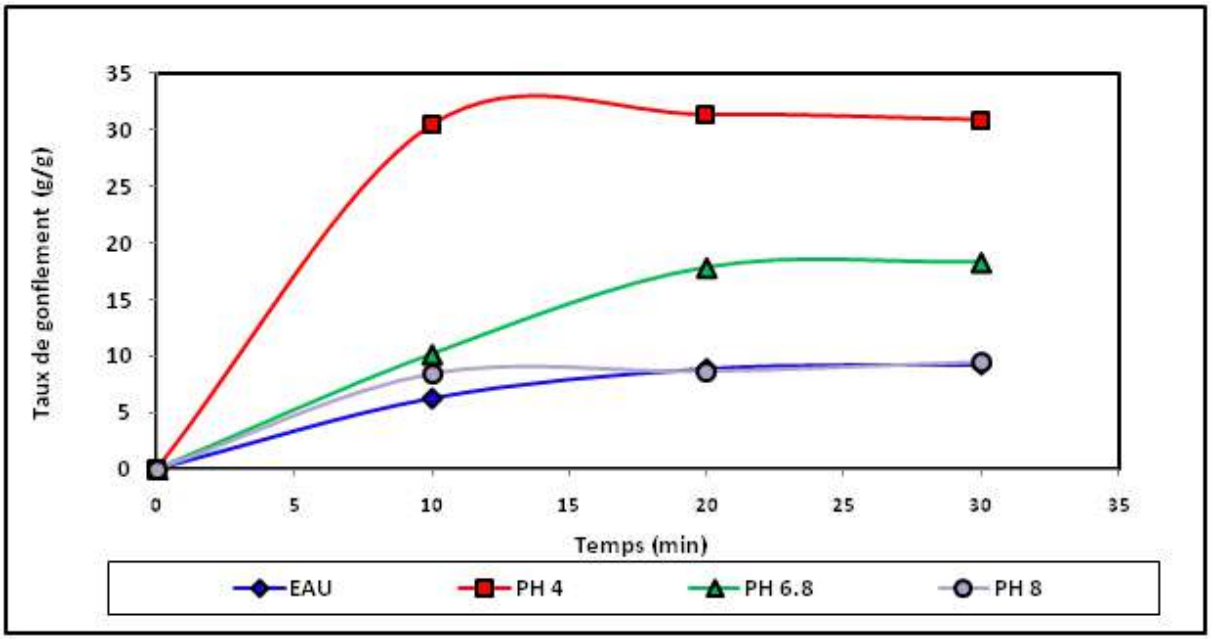


Figure IV.12. Variation du taux de gonflement de la membrane du CPE en fonction du temps.

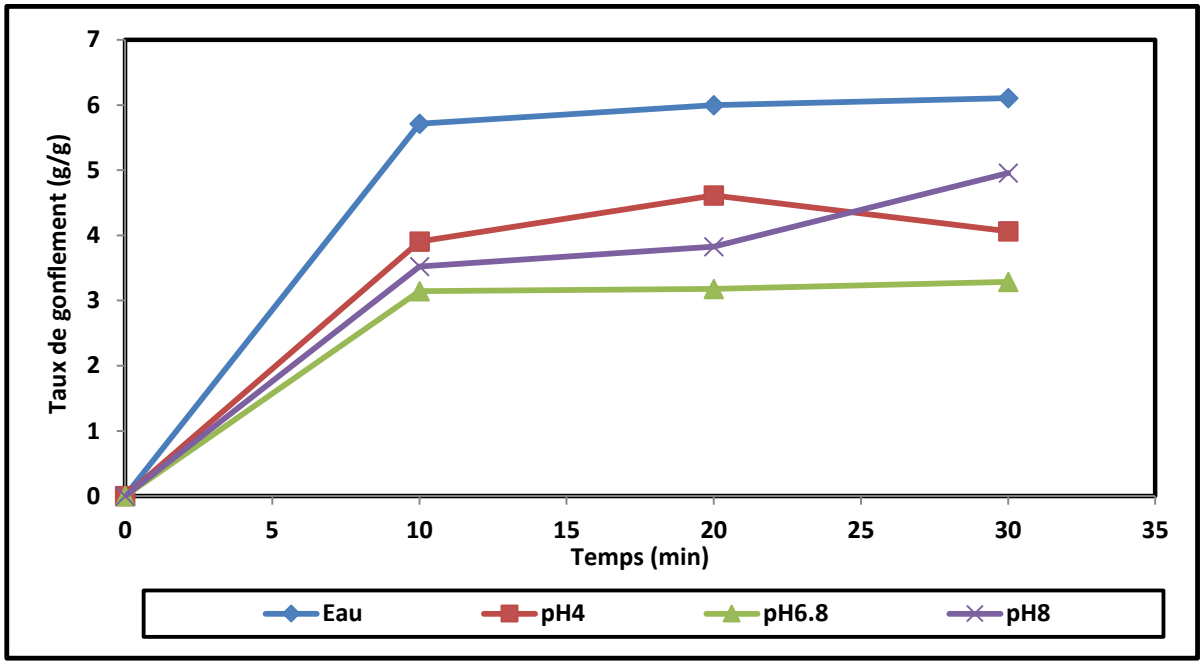


Figure IV.13. Variation du taux de gonflement de la membrane de CS.

Le taux de gonflement de la membrane du CPE augmente avec la diminution du pH. Par contre, pour la membrane de chitosane le taux de gonflement est plus important dans l'eau distillée.

Le milieu pH = 6.8 c'est le milieu qui nous intéresse beaucoup plus, à cause de son pH équivalent à celui de la peau. En comparant les deux membranes, on remarque que le gonflement de la membrane du CPE est beaucoup plus important. Ceci indique que la membrane de PEC est beaucoup plus accessible au milieu d'immersion que la membrane de chitosane.

IV.4. Etude de la libération du PA à partir du dispositif transdermique

Après la préparation de la membrane polyélectrolyte et sa caractérisation, nous avons voulu l'utiliser comme dispositif transdermique (support) pour la libération des principes actifs. Dans cette optique, nous avons choisi le piroxicam comme anti-inflammatoire utilisé par voie dermique.

IV.4.1. Optimisation du solvant et de la concentration de Piroxicam

D'après la pharmacopée européenne [124], Piroxicam est pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans le chlorure de méthylène, peu soluble dans l'éthanol anhydre.

La solubilité de Piroxicam a été testée dans différents solvants, en vue de trouver un compromis entre un solvant non toxique et possèdant le pouvoir de solubiliser le Piroxicam.

a) Solubilité dans l'éthanol

Afin de préparer une solution de Piroxicam (1 g/l) dans l'éthanol, on a essayé de solubiliser une masse de 0.05 g de Piroxicam dans un volume de 50 ml de solvant (10 ml d'éthanol et 40 ml d'eau distillée) sous agitation magnétique, pendant 30 min à température ambiante.

Un Précipité jaune a été obtenu, ce qui indique que le Piroxicam est pratiquement insoluble dans l'éthanol (pur ou avec l'eau distillée).

b) Solubilité dans le méthanol

Une solution de Piroxicam (100 mg/l) a été préparée dans un solvant à base de méthanol (20 % de Méthanol + 80 % de solution tampon pH 7.4) sous agitation magnétique à température ambiante

$T = 28 \pm 2$ °C.

La solution de Piroxicam obtenue était transparente limpide, ce qui indique que le Piroxicam est soluble dans la solution de méthanol 20%. Cette quantité de méthanol est trop élevée et ne peut être utilisée dans la formulation pharmaceutique. Les concentrations de méthanol acceptables dans l'utilisation pharmaceutique sont de 0.2 à 0.5 %. Le Piroxicam est pratiquement insoluble dans ces conditions, par conséquent le méthanol n'est pas le solvant optimal du Piroxicam.

c) Solubilité dans l'alcool isopropylique

Une autre solution de Piroxicam (100 mg/l) a été préparée dans un solvant à base d'isopropanol (40 % d'isopropanol + 60 % de l'eau distillée) sous agitation magnétique à température ambiante.

La solution obtenue est limpide de couleur légèrement jaune, ce qui indique que le Piroxicam est bien soluble dans l'isopropanol, et comme cette quantité de l'alcool isopropylique est acceptable dans l'utilisation pharmaceutique, le mélange (isopropanol 40% + eau distillée 60%) est un bon solvant du Piroxicam.

IV.4.2. Dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-Visible

Le dosage du principe actif par spectrophotométrie a été réalisé par un spectrophotomètre UV mini-1240 SHUMADZU, pour l'objectif d'établir la courbe d'étalonnage de Piroxicam dans le milieu de dissolution.

a) Optimisation de la longueur d'onde

Avant d'analyser le Piroxicam pour établir la courbe d'étalonnage, on avait besoin d'effectuer un balayage en longueur d'onde entre (300-600) pour déterminer λ_{max}, longueur d'onde où l'absorption est maximale, il nous a fallu également retrancher une ligne de base que l'on détermine en effectuant le même balayage avec le solvant sans l'espèce absorbante. Pour la détermination de λ_{max}, on a pris une solution assez concentrée; ainsi le pic d'absorption est mieux défini à une longueur d'onde λ_{max}= 358 nm.

b) Courbe d'étalonnage

A partir de la solution mère de Piroxicam (0.1mg/ml), plusieurs solutions étalon ont été préparées par dilution, puis leurs densités optiques (Absorbances) ont été mesurées. La courbe d'étalonnage représente la variation de l'absorbance en fonction de la concentration *(A =f(c))* mesurée pour plusieurs solutions étalon (Figure IV.14).

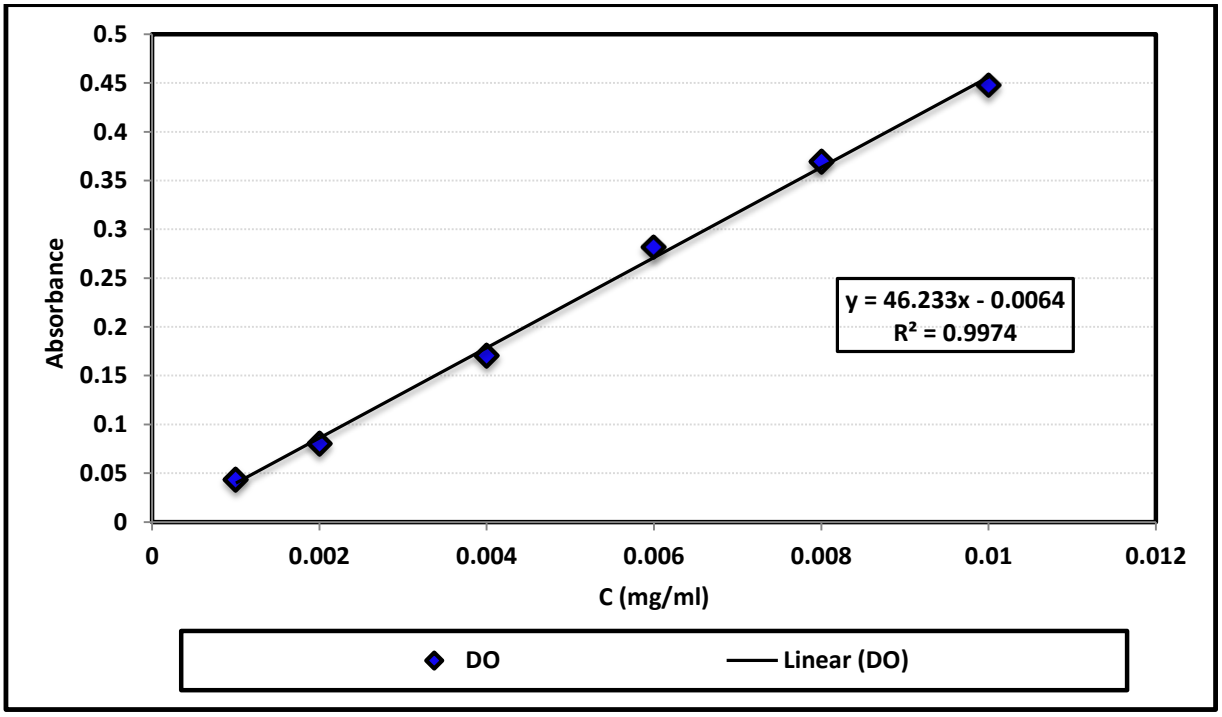


Figure IV.14. Courbe d'étalonnage de Piroxicam

IV.4.3. Fixation et cinétique de libération du Piroxicam par la membrane CPE

IV.4.3.1. Préparations

Afin de charger la membrane par le principe actif, un échantillon de (2 × 2) cm^2 de la membrane de CPE a été placé dans 20 ml d'une solution saturée de Piroxicam pendant 3 heures. La quantité de Piroxicam retenue par la membrane a été déterminée par mesure de la densité optique de la solution avant et après immersion.

Une étude préliminaire de la cinétique de libération du piroxicam a été effectuée par immersion de la membrane chargée dans le milieu de solubilisation optimal (isopropanol 40% + eau distillée 60%) de pH = 7.05, à T = 37 ± 2 °C. La densité optique du milieu de libération a été mesurée à des intervalles de temps réguliers.

IV.4.3.2. Résultats et discussions

La quantité du Piroxicam retenue par la membrane était 36 mg. Les résultats de la libération du Piroxicam en fonction du temps sont illustrés par la figure (IV.15).

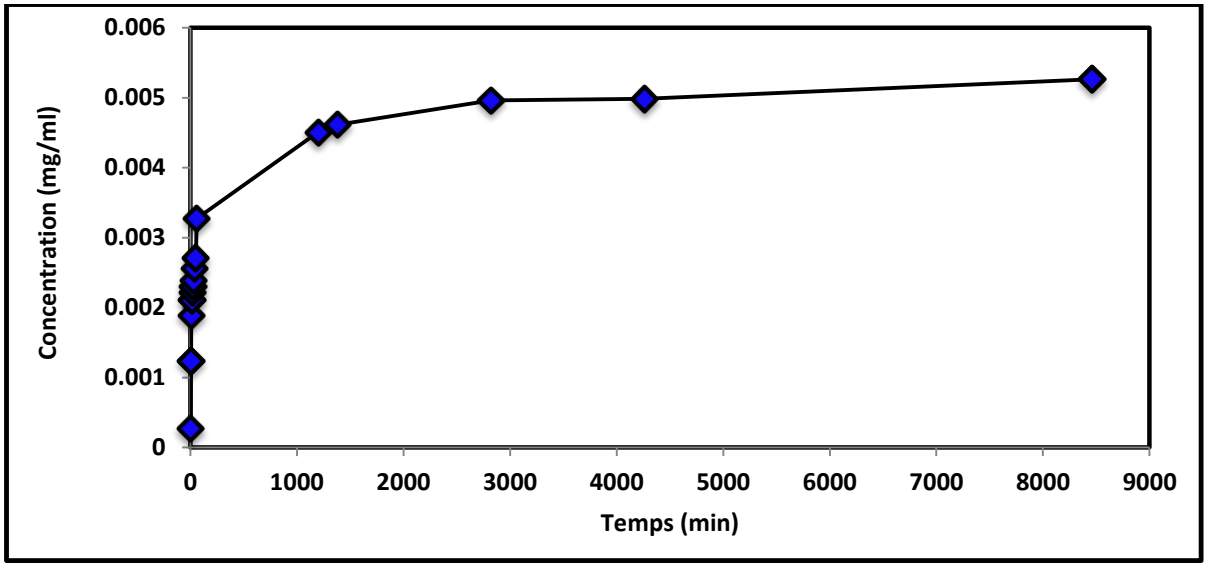


Figure IV.15 : Variation de la concentration en Piroxicam du milieu de libération en fonction du temps

La vitesse de diffusion du Piroxicam est importante durant la première heure, puis elle a diminuée. Néanmoins, la quantité libérée reste très faible par rapport à la quantité initialement retenue par la membrane du CPE. De plus, il semble que la membrane du CPE est un candidat prometteur pour une libération prolongée du piroxicam.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Contrairement aux cas des polymères neutres, l'étude des propriétés des polyélectrolytes en solution est difficile à mener malgré les nombreux efforts à la fois théoriques et expérimentaux déployés depuis leurs découvertes. Ceci est dû principalement au nombre important de paramètres influant sur le comportement de ces systèmes chargés.

Notre objectif a été d'élaborer un dispositif à base d'un complexe polyélectrolyte de deux biopolymères (carraghénane et chitosane) pour un éventuel usage transdermique, puis d'étudier ses caractéristiques et ses comportements. A cet effet, plusieurs techniques ont été utilisées: FTIR, tests de gonflement et la cinétique de libération du principe actif.

Le complexe polyélectrolyte a été formé, en milieu acide, par mélange des deux solutions polymériques avec des proportions déterminées. La mesure de la conductivité et de la turbidité a montré qu'un rapport KC/CS de 1 / 1 a donné les meilleurs résultats.

L'analyse par spectroscopie FTIR a confirmé la formation du complexe KC/CS par réticulation entre les groupements sulfate $-OSO_3^{2-}$ de carraghénane et les groupements amines protonés $-NH_3^+$ du chitosane.

Par la suite, et en se basant sur les résultats de formation du polyélectrolyte, l'élaboration des membranes de polyélectrolyte a été abordée en vue de les utiliser comme dispositif transdermique. Les membranes élaborées avaient un aspect hétérogène.

Enfin, une étude préliminaire sur la possibilité d'usage de ces membranes comme dispositif à libération prolongée de principe actif a été abordée. Les résultats ont montré que la membrane du CPE est un candidat prometteur pour une libération prolongée du piroxicam. Néanmoins, la quantité libérée reste très faible par rapport à la quantité initialement retenue par la membrane CPE. Ces résultats nous encouragent de poursuivre cette recherche.

Références bibliographiques

[1] Rauchf, M. Dornish, chitosan in: An introduction to biomaterials, SA. Ghelcher, JO. Hollinger, eds CRC press 14, 249, 2006.

[2] N.V. Majeti, R. Kumar, A review of chitin and chitosane applications, reactive and functional polymers, 46, 1-27, 2000.

[3] M .Rinaudo, Prog Polym Sci 31, 603, 2006.

[4] S. Bach, F. Buet, G. Volet, CAPES de Sciences physiques, 3ème éditions, Tome 2-chimie, Belin, 2004.

[5] A. Ram, Fundamentals of polymère engineering, Ed. Plenum Press, New York, 1997.

[6] M. Akiyama, T. Tsuge, Y. Doi, Environmental life cycle comparison of polyhydroxyalkanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation, Polym. Degrad. Stab, 80, p 183–194, 2003.

[7] N. Jarroux, Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications, Techniques de l'ingénieur, Traité AM 3580, 2012.

[8] N. E. Suyatama, Développement de films biodégradable à base de chitosane Etude de mélange chitosane /PLA de la plastificateur et de la comptabilisation. Thèse de doctorat, Université de Reims, Juin 2006.

[9] M. A. Garcia, M. N. Martino, N. E. Zaritzky, Microstructural characterization of plasticized starch-based films, Starch/Staerke, 52, 118-124, 2000.

[10] D. Rutot, P. Dubois, Les biopolymères biodégradables : l'enjeu de demain ? *Chim. Nouv*, 86, p. 66–75, 2004.

[11] A. M. Clarinval, F. Monfort Windels, Les polymères biodégradables, CRIF 79p, 2003.

[12] E. T. H. Vink, K. R. Rabago, D. A. Glassner, P. R. Gruber, Applications of life cycle assessment to NatureWorks polylactide (PLA) production, Polym. Deg. Stab, 80, 403-419, 2003.

[13] JD. Gu, Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances, Int. Biodeter. Biodegr. 52, p. 69–91, (2003).

[14] SC. Chen, Y. Lu, Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. Adv. Drug Delivery Rev. 56, p.1621–1633, 2004.

[15] R. Auras, B. Harte, S. Selke, An overview of polylactides as Packaging Materials. Macromol. Biosci. 4, p. 835–864, 2004.

[16] M. Okada, Chemical syntheses of biodegradable polymers, *Prog. Polym. Sci*, 27, p. 87–133, 2002.

[17] M. Vert, Polymères de fermentation, Les polyacides lactiques et leurs précurseurs, les acides lactiques, Actual. Chim, 11-12, p. 79–82, 2002.

[18] E. A. Pavlath, D. W. S-Wong, G. H. Robertson, chitosane (preparation, structure and proprieties.).

[19] R. Kumar, chitin and chitosane application M.N.V.React .Function polymer, 46, 1-27, 2000.

[20] L. Payet , F .Ponton, P. Agenly, J. colinart, L.Grpossiord, payet et al, Rhèologie caractérisation rhéologique de la gèlification de l`alginate et de chitosane : èffet de la température Vol.2, 46 -51, 2002.

[21] E. A. Baldwin, M. O. Nisperos-carriedo, R. A. Baker, Use of edible coating to preserve quality of lightly (and slightly) processed products, Food Science and Nutrition, 35(6), 509-523, 1995.

[22] G. A. F. Roberts, Structure of chitin and chitosan. In: Chitin chemistry, edited by G. A. F. Roberts, Mac Millan Press, Houndmills, 1-53, 1992.

[23] C. Creuzet, R. AuzélyVelty, M. Rinaudo, Synthèse et étude d'hydrogels thermsensibles obtenus par modification chimique contrôlée du chitosane, L'actualité chimique N° 294, février 2006.

[24] M. Jalal Zohuriaan-Mehr, Advances in Chitin and Chitosan Modification through Graft Copolymerization, Iranian Polymer Journal 14 (3), 235-265, 2005.

[25] M. George and T. Emilia Abraham « polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan a review»22 Journal of controlled Release volume 114, ISSue 1, 1-14, May 2006 .

[26] K. Kurita, Marine Biotechnol 8. 203, 2006.

[27] J. Blackwell, chitin in: Biopolymers. AG.Walton; J.Blackwell. eds. NewYork: Academic press. 474, 1973.

[28] PA. Sandford, Commercial sources of chitin and chitosan and their utilization in: Advances in chitin science, KM .varum ; A. Domard ; O. Smidsrd; eds.Trondheim : NTNU6. 35, 2003.

[29] H. K. No, & Meyers. Preparation and characterization of chitin and chitosan. Journal of Aquatic Food Product Technology,4, S. P. 27-52, 1995.

[30] H. K. No, J. W. Nah, & Meyers, Effect of time/temperature treatment parameters on depolymerization of chitosan. Journal of Applied Polymer Science, 87, S. P. 1890-1894, 2003.

[31] H. K. No, S. P. Meyers, & Lee, Isolation and characterization of chitin from crawash shell waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 37, K. S.575-579, 1989.

[32] C. J. Brine & Austin, Chitin variability with species and method of preparation. Comparative Biochemistry and Physiology, 69B, , P. R .283-286, 1981.

[33] M.N. Moorjani, V Achutha & Khasim, Parameters afecting the viscosity of chitosan from prawn waste. Journal of Food Science and Technology, 12, D. I. 187-189, 1975.

[34] J. Brugnerotto, J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W. ArgU elles-Monal, J. Desbrières & M. Rianudo, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, Polymer, 42, 3569-3580, 2001.

[35] D. Kyoung Youn , N. Hong Kyoon, W. Prinyawiwatkul, Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation, Carbohydrate Polymers 69 .707-712, 2007.

[36] R.A.A. Muzzarelli,. B. Muzzarelli,. Structural and functional versatility of chitins' in S. Dumitriu (ed.), Structural Diversity and Functional Versatility of Polysaccharides, Marcel Dekker, New York,569-594, 1998.

[37] C. Chatelet, O. Damour, and A. Domard, Influence of the degree of acetylation on some Biological properties of chitosan Films, Biomater., 22 .261-268, 2001.

[38] B. Acharya, V. Kumar, R. Lalitha, Gowda and Rudrapatnam N. Tharanathan, Nonspecific depolymerization of chitosane by pronase and characterization of the resultant products. Eur. J. Biochem. 271 . 713-723, 2004.

[39] X. Jiang, L. Chen, W. Zhong, A new linear potentiometric titration method for the determination of deacetylation degree of chitosane, Carbohydrate Polymers 54. 457-463, 2003.

[40] T. Khan, A. Peh, K. K., & C'ing, Mechanical bioadhesive strength and biological evaluation of chitosan films for wound dressing. Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutical Science, 3(3), H. S. 3003-3371, 2000.

[41] E. Onsoyen, O. Skaugrd, J Chem Technol Biotechnol 49.396, 1990.

[42] S.M. Hudson, D.W. Jenkins, Chitin and chitosan in : EPST.Mark HF; ed. New York: Wiley. 569, 2003.

[43] G. Jak. winterowd and.A. Paul. Sandford, chitin and chitosane,etited by Alistair.M.Stephen.food polysaccharides and their application. Edition Marcel.Dekker.Newyork 1995.

[44] P.R. Austin, Chitin solvents and solubility parameters in: chitin and chitosane and related enzymes, Zikakis JP, ed. Orlando: Academic Press . 227, 1984.

[45] P.A. sandford, chitosan: commercial uses and potentials in: chitin and chitosan. Sources; chemistry; biochemistry; physical properties and applications. SKjala-Braek G; Anthonsen T; Sandford PA; eds. London New York : Elsevier .51, 1989.

[46] W. T. M. Howard, Biomimetic materials and design: biointerfacial strategies, tissue engineering, and targeted drug delivery, New York, Marcel Dekker, Chap.10, 679 p, 2002.

[47] W. Wang, et D. Xu, Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of deacetylation, Int. J. Biol. Macromol., 16 (3).49-1 52, 1994.

[48] R.H .Chen,. et M.L. Tsaih, Effect of temperatures on the intrinsic viscosity and conformation of chitosan in dilute HC1 solution. Int. J. Biol. Macromol.,23.135-141, 1998.

[49] G. Berth, H. Dautzenberg et M. G. Peter, Physico-chernical characterization chitosans varrying in degree of acetylation, Carbohydrate Polymers, 36 ..205 218, 1998.

[50] R.A.A. Muzzarelli, Chitin in: The polysaccharides. Aspinall GO; ed. London: Academic Press 3 .X 417, 2005.

[51] G. Crini, Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment, Prog. Polym. Sci. 30 . 38-70, 2005.

[52] Y. Fukumori, H .Ichikawa. Hdv Powder Technol 17 .1.57, 2006.

[53] G. Lang, T. Clausen, The use of chitosan in cosmetics. In: Skjak-Braek, G., Thorleif Anthosen, T., Standford, P. (Eds.), Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry,Biochemistry. Physical Properties and Applications. Elsevier Applied Science,London and New York, pp. 139–147, 1989.

[54] M.W. Anthonsen, KM. Varum, O. Smidsrod, Carbohydr Polym 22 .193, 1993.

[55] M.R. Kasaai, J. Arul , G .Charlet, J Polym Sci Polym Phys 38. 2591, 2000.

[56] L. Raymond, F.G. Morin, R.H. Marchessault, Carbohydr Res 246. 331, 1993.

[57] N.S. Anderson, T.C.S. Dolan, A. Penman, D. A. Rees, G.P. Muller, D.F. Stancioff , N.F. Stanley, Carrageenans IV. Variation in the structure and gel properties of κ-carrageenan and the characterisation of sulfate esters by infrared spectroscopy, J. chem. Soc. C: 602–606, 1968.

[58] N.S. Anderson, T.C.S. Dolan, D. A. Rees, Carrageenans. Part VII. Polysaccharides from*Eucheuma spinosum* and *Eucheuma cottonii*. The covalent structure of ι-carrageenan. J. chem. Soc. Perkin I: 2173–2176, 1973.

[59] D. A. Rees, Adv. Carbohydrat. Chem, **24**: p. 267-332, 1969.

[60] G. Martin, -Evaluation toxicologique des carraghénanes. Definition, structure, fabrication, propriétés et applications. – *Science des aliments*, **4**, 335-346, 1984,

[61] T.H.M. Shoern, -Kappa carageenan. A study on its physico-chemical properties. Sol gel transition with milk proteins. *Nizo Verslagen*, 174, 1976,

[62] Norton, Morris, and Rees, *Lyotropic effects of simple anions on the conformation and interactions of kappa-carrageenan.* Carbohydrate Research, **134**(1): p.89-101, 1984.

[63] L. Piculell, S. Nilsson, and P. Muhrbeck, *Effects of small amounts of kappacarrageenan on the rheology of aqueous iota-carrageenan.* Carbohydrate Polymers, **18**(3): p. 199-208, 1992.

[64] C. Rochas, and S. Landry, *Molecular organization of kappa carrageenan in aqueous solution.* Carbohydrate Polymers, **7**(6): p. 435-447, 1987.

[65] C. Michon, et al., *Viscoelastic properties of [iota]-carrageenan/gelatin mixtures.* Carbohydrate Polymers, **31**(3): p. 161-169, 1996.

[66] V. Leclerc , J.-Y. FLOC'H, *Les secrets des algues*. [s.l.] : [s.n.], (Carnets de sciences, ISSN 2110-2228), 2010.

[67] *Carraghénanes : agents gélifiants, épaississants et stabilisant sti700-f5080.pdf (Objet application/pdf)* [En ligne]. Disponible sur : < http://www.techniquesingenieur. fr.ezproxy.unilim.fr/res/pdf/encyclopedia/ti700-f5080.pdf > (consulté le 18 août 2011)

[68] M. Guibet, Analyse structurale des carraghénanes par hydrolyse enzymatique, Thèse 2007.

[69] D. Baigl, Thèse de doctorat, Université Paris VI, France, 2003.

[70] A. Bray, J. Lewis, R. Roberts, R. Walter. Essential cell biology, Garland Publishing, USA, 1998.

[71] Bloom and Fawcett. A textbook of histology, Chapman and Hall, USA.???

[72] A. Kasmi, Thèse de magister, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 2006.

[73] M. R. Tant, K. A. Mauritz, G. L. Wilkes, Ionomers: synthesis, structure, properties and applications, Edition Chapman and Hall: London, 1997.

[74] R. V. Klitzling and R. Steitz, Internal structure of polyelectrolyte multilayers, parudans Handbook of polyelectrolytes and their applications, Vol. 1, page 313, Stevenson Ranch, CA, USA, 2002.

[75] C. Onesippe, Thèse de doctorat, Université Montpellier II, France, 2005.

[76] C. Esquenet, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, France, 1992.

[77] G. S. Manning, "Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions. I. Colligative properties", *J Chem Phys*., **51** 924 - 933, 1969.

[78] F. Oosawa, *Polyelectrolytes*, Marcel Dekker, New York, 1971.

[79] M. Le Bret, B. H. Zimm, *Biopolymers*, **23,** 287,1984.

[80] P. Debye, E. Hückel, *PhysikZeitschr*, **24**,185, 1923.

[81] H. Yamakawa, *Modern Theory of polymer solutions*, New York, 1971.

[82] T. Odijk, A. C. Houwaart, *J. Polym. Sci. Pol. Phys*, **16,** 627, 1978.

[83] M. Fixman, J. Skolnick, *Macromolecules*, **11,** 863, 1978.

[84] J. Oberdisse, Thèse de Doctorat, Université Montpellier II, France, 1997.

[85] Pharmacopée Européenne 7.0: Monographies générales des formes pharmaceutiques : Dispositifs Transdermiques (1011), édition 2011.

[86] M. Rinaudo, G. Pavlov, J. Desbrières**,** "Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan", *Polymer*, 40: 7029 – 7032, 1999**.**

[87] E. Tsuchida and K. Abe, chapter 5 in "Developments in ionic polymers-2", Eds. A. Wilson and S. Prosser (1986).

[88] A. S. Michaels, Ind. Eng. Chem, 57, 32, 1965.

[89] B. Philipp, H. Dautzenberg, K. J. Linow, J. Kotz and W. Dawydoff, Prog. "Polyelectrolyte complexes - recent developments and open problems " Progress in *Polymer Science*.14, 91, 1989.

[90] J. C. Salomone, S. Poulin, A. C. Watterson and A. P. Olson, Polymer 20, 611, 1979.

[91] V. A. Kabanov and A. B. Zezin, Pure Appl. Chem, 56(3), 343, 1984.

[92] K. Abe, E. Tsuchida , Macromol. Chem, 176, 803, 1975.

[93] C. Ghezouali, Thèse de magister, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 2010.

[94] A. F. Thunemann, M. Muller, H. Dautzenberg, J. F. O. Joanny et H. Lowen, *Advanced Polymer Science: 113–171,* 2004.

[95] K. N. Bakeev, V. A. Izumrudov, S. I. Kuchanov, A. B. Zezin et V. A. Kabanov, "Kinetics and Mechanism of Interpolyelectrolyte Exchange and Addition Reactions." *Macromolecules 25: 4249-4254*, 1992.

[96] G. S. Manning, "The molecular theory of polyelectrolyte solutions with applications to the electrostatic properties of polynucleotides." Quarterly Reviews of Biophysics **11: 179-246,** 1978.

[97] S. A. Sukhishvili, E. Kharlampieva, et V. Izumrudov, "Where Polyelectrolyte Multilayers and Polyelectrolyte Complexes Meet." Macromolecules 39: 8873– 8881, 2006.

[98] R. von Klitzing, "Internal structure of polyelectrolyte multilayer assemblies." Physical *Chemistry Chemical Physics 8: 5012-5033,* 2006.

[99] N. Laugel, C. Betscha, M. Winterhalter, J. C. Voegel, P. Schaaf, et V. Ball, "Relationship between the Growth Regime of Polyelectrolyte Multilayers and the Polyanion/Polycation Complexation Enthalpy." Journal of Physical Chemistry B 110: 19443-19449, 2006.

[100] C. Ankerfors, Polyelectrolyte complexes: Their preparation, adsorption behaviour, and effect on paper properties, Stockholm, 2008.

[101] T. Sakiyama, C. H. Chu, T. Fujii, et T. Yano, "Preparation of a polyelectrolyte complex gel from chitosan and K-carrageenan and its pH-sensitive swelling," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 50, no. 11, pp. 2021–2025, 1993.

[102] C. Li, S. Hein, et K. Wang, "Chitosan-Carrageenan Polyelectrolyte Complex for the Delivery of Protein Drugs," Hindawi Publishing Corporation ISRN Biomaterials, 10, 5402-629807, 2013.

[103] C. Tapia, Z. Escobar, E. Costa, J. Sapag-Hagar, F. Valenzuela, C. Basualto, M.a.Nella Gai, M. Yazdani-Pedram, Eur. J. Pharm. Biopharm. 57, 65–75, 2004.

[104] T. Mitsumata, Y. Suemitsu, K. Fujii, T. Fujii, T. Taniguchi, K. Koyama, Polymer, 44, 7103–7111, 2003.

[105] Y. Luo, Q. Wang, "Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery," International Journal of Biological Macromolecules 64, 353– 367, 2014.

[106] J. Berger, M. Reist, J. M. Mayer, O. Felt, et R. Gurny, "Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 57, no.1, pp. 35–52, 2004.

[107] C. H. Chu, T. Sakiyama, et T. Yano, "pH-Sensitive swelling of a polyelectrolyte complex gel prepared from xanthan and chitosan," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 59, no. 4, pp. 717–719, 1995.

[108] S. Benoliel, Le laser en dermatologie et esthétique, Pressses Universitaires de France, 1998.

[109] C. Marino, "Skin physiology, irritants, dry skin and moisturizers," Report 56-2-01, Washington State Department of Labor and Industries, USA, 2001.

[110] M. F. Mayka, thèse du doctorat, Université III paul sabatier, France, 2014.

[111] H. V. Tran, thèse du doctorat, université de technologie de compiègne, France, 2007.

[112] F. Lassagne, La peau : une frontière bien vivante, In Science et Vie, 2004.

[113] S. Parodi, Les systèmes transdermiques à l'officine, Th. D: Pharmacie, Toulouse 3, 188p, 2000,2011.

[114] C. Jean-Baptiste, Physiologie et pharmacologie de la voie transcutanée: applications thérapeutiques des systèmes transdermiques, Th. D : Pharmacie, Toulouse 3, 150p, 2036, 1990.

[115] E. Keleb, R. Kumar Sharma, E. B. Mosa *et al*, Transdermal Drug Delivery System- Design and Evaluation International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences, 1, 201-211, 2010.

[116] M. M. Seillier, C. Martini, Formes pharmaceutique pour application locale, 2éme Ed, Tec&Doc, Lavoisier, Paris, 1996.

[117] F. Falson-Rieg, V. Faivre, F. Pirot, Nouvelles formes médicamenteuse, Tec & Doc Cachan : Éditions médicales internationales, – 320p, Paris, 2004.

[118] A. F. Wasilewski-Rasca, P. Bonnabry, Systèmes thérapeutiques transdermiques : aspects pratiques chez le patient âgé, -495, 24188, Suisse, 2004.

[119] K. Tita, Thèse du doctorat, Université de Lorraine, France, 2012.

[120] F. Falson-Rieg, F. Pirot, Nouvelles formes médicamenteuses, p267-279, 2004.

[121] Bhowmik, D. Chiranjib, M. Chandira, B. Jayakar *et al*, Recent advances in transdermal drug delivery system, International Journal of PharmTech Research, Vol.2, No.1, pp 68-77, 2010.

[122] G. M. Shingade, Q. Aamer, P. M. Sabale *et al*, Review on: Recent Trend on Transdermal Drug Delivery System, Journal of Drug Delivery & Therapeutics, [en ligne].

[123] F. Falson-Rieg, F. Pirot, Nouvelles formes médicamenteuses, p259 -262, 2004.

[124] Pharmacopée Européenne 6.0 : Monographies générales des formes pharmaceutiques : Piroxicam (2896), Edition 2008.

[125] H.J. Prado, M.C. Matulewicz, P.R. Bonelli, A.L. Cukierman, Preparation and characterization of a novel starch-based interpolyelectrolyte complex as matrix for controlled drug release, Carbohydrate Research 344, 1325–1331, 2009.

[126] L. Becherán-Marón, C. Peniche, W. Argüelles-Monal, Study of the interpolyelectrolyte reaction between chitosan and alginate: influence of alginate composition and chitosan molecular weight, International Journal of Biological Macromolecules 34, 127–133, 2004.

[127] J.W. Lee, S.Y. Kim, S.S. Kim, Y.M. Lee, K.M. Lee, S.J. Kim, Synthesis and characteristics of interpenetrating polymer network hydrogel composed of chitosan and poly (acrylicacid), J. Appl. Polym. Sci, 73, 113–120, 1999.