REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour l'obtention d'un diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Normes et contrôle de qualité

Par :

Etudiante 1 :Mme ABDI Selma
Etudiante 2 :M^{elle}MAKHLOUFI Zohra

Thème :

CARACTERISASION PHYSICO-CHIMIQUE D'UN FILM A BASE DE POLYSACCHARIDES

Soutenue publiquement le : 05 /06 /2017., Devant le jury composé de :

Membre de jury1 :Dr. BELHADJ Abdelmouneim	Grade :MCA	Président
Membre de jury 2 :Dr.YAHOUM Madiha Malha	Grade :MCB	Examinateur
Membre de jury 3 :Dr.LEFNAOUI Sonia	Grade :MCA	Encadreur
Membre de jury 4 :Dr GASMI Sara	Grade :MCB	Co-Encadreur

Année universitaire 2016-2017

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو المستوى الامثل والوصف الفيزيائي والكيمائي لمركب بولي الكتروليت (PEC) المتشكل من الجينات الصوديوم والكيتوزان, وأظهرت قياسات الناقلية و التعكر ان نسبة الحجم الأمثل (الالجينات/الكيتوزان) هي (50/50)للتشكيل التلقائي لمركب بولي الكتروليت (PEC) نتيجة التشابك الأيوني.وأكد التحليل الطيفي للاشعة تحت الحمراء FTIR تشكيل مركب (الالجينات/ الكيتوزان) من التفاعل بين المجموعات الكربوكسيلية ($-COO^-$)لالجينات الصوديوم ومجموعات أمين البروتونية ($-NH^{3+}$) للكيتوزان .وقد نوقش تطوير أغشية تقوم على أساسPEC. والأغشية شكلت مظهر متجانس شفاف ومرن,أظهرت دراسة الأغشية عند درجة الحموضة 6.8 و 7.4 ان الآلجينات يقلل بشكل فعال قابلية انتفاخ الكيتوزان .من النتائج المحصل عليها، يمكن القول أن الالجنات والكيتوزان بوليمرات حيوية متوافقة تماما و قابلة للامتزاج حيث يمكن استخدامها كلاصقة جلدية.

الكلمات المفتاحية :الجينات الصوديوم، الكيتوزان، مجمع متضاعف الكتروليتي، نظام عبر الجلد.

Résumé

L'objectif de cette étude est l'optimisation et la caractérisation physicochimique de complexes polyélectrolytes (PEC) formés à bases de d'Alginate de sodium (Al) et de chitosane (Chi). Les mesures de la conductivité et de la turbidité ont montré un rapport volumique optimal (Al/Chi) de (50/50) pour une formation spontanée du PEC suite à la réticulation ionique. L'analyse par spectroscopie FTIR a confirmé la formation du complexe Al/Chi par interactions entre les groupements carboxylique ($-COO^-$) de l'Al et les groupements amines protonés ($-NH^{3+}$) du Chi. L'élaboration de membranes à base de PEC a été abordée. Les membranes formées avaient un aspect homogène, transparent et flexible. L'étude du gonflement des membranes à pH 6.8 et pH7.4 a montré que l'Al réduit effectivement la tendance de gonflement du Chi. A partir des résultats obtenus, nous pouvons affirmer que l'Al et le Chi sont deux biopolymères parfaitement compatibles et miscibles, pouvant être utilisés comme support d'un dispositif transdermique.

Mots clés : Alginate de sodium,Chitosane, Complexe polyélectrolytes, système transdermique.

Abstract:

The aim of this study is the optimization and physicochemical characterization of polyelectrolyte complexes (PEC) formed on the basis of sodium alginate (Al) and chitosan (Chi). Conductivity and turbidity measurements showed an optimal volume ratio (Al / Chi) of (50/50) for spontaneous formation of PEC following ionic crosslinking. Analysis by FTIR spectroscopy confirmed the formation of the Al / Chi complex by interactions between the carboxylic groups (-COO-) of Al and the protonated amine groups (-NH3 +) of the Chi. The development of membranes based on PEC was discussed. The membranes formed had a homogeneous, transparent and flexible appearance. The swelling study of the membranes at pH 6.8 and pH7.4 showed that Al reduces the tendency of the Chi swelling. From the results obtained, we can affirm that Al and Chi are two perfectly compatible and miscible biopolymers, which can be used as support for a transdermal device.
Key words: Sodium alginate, Chitosan, Polyelectrolytecomplex, transdermal system.

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire nous remercions ALLAH qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant la réalisation de ce projet de fin d'étude.

Nous souhaitant adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire .

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professionnel et administratif de la Faculté des Sciences de l'Université de Médéa pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous tenons à remercier sincèrement Dr LEFNAOUI- KERRACHE.S et Dr GASMI S.N en tant que promotrice et co-promotrice de notre projet , qui se sont toujours montrées à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour les conseils qui nous ont prodigué ont beaucoup facilité notre travail ,de plus l'aide et le temps qu'ils ont bien voulu nous consacrer et sans eux ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

On remercie l'ensemble du personnel du laboratoire de la faculté de science de l'Université de Médéa pour leur disponibilité afin de réaliser notre partie expérimentale.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos familles et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

MERCI À TOUS ET À TOUTES.

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce mémoire à tous ceux qui me sont chers ;

Ma mère, qui m'a encourager à aller de l'avant et qui m'a donnétout son amour pour reprendre mes études ;

Mon mari, ainsi mes deux filles Nassima , Hadjer ;

Mes proches de la famille ABDI, et plus particulièrement, mes sœurs et mon frère ainsi que sa femme tout à son nom et sans oublier la famille HAMMOU



Selma-Amina

Dédicace

Je dédie ce travail a mes chers parents qui font le maximum pour leur soutien et encouragement durant tout mon parcours

Aucune dédicace ne serait exprimée à leur juste valeur, mon profond respect, et ma gratitudes pour tout les efforts que vous aves fourni pour moi

Que ce travail soit le symbole de mon grand amour, et de ma reconnaissance de leur efforts et de leur soutien inoubliable et de touts les années de sacrifices A mes sœurs Yasmina, Fatiha, Khadidja et ibtissem et frères Fathi et Mohamed pour leur s sacrifices , à toutes la famille MAKHLOUFI

Aussi à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail



Zohra

Sommaire

Résumé

Remeciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des Abréviations et symboles

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale……01

Chapitre I : Dispositifs Transdermique

I.1 La peau…….03

I.1.1 Rôle de la peau……..03

I.1.1.1 Protecteur……...03

I.1.1.2 Régulateur thermique…….....03

I.1.1.3 Sensation……03

I.1.2 Propriétés chimiques de la peau……..…..04

I.1.3 Structure de la peau……..04

I.1.3.1 Epiderme……04

I.1.3.2 Derme……..…05

I.1.3.3 Hypoderme…….05

I.1.4 Métabolisme cutané……..06

I.1.5 Perméabilité de la peau…….……06

I.2 Avantages et inconvénients de lavoie cutanée……..…08

I .3 Dispositif transdermique…….…08

I .3.1 Description du patch transdermique……..…..…...09

I .3.2Différents types de systèmes transdermiques…….……..…10

I .3.3 Critères de choix du type de patch…….....12

I .3.4 Site d'application des patches transdermiques……....12

I .3.5 Avantages du dispositif transdermique……12

I .4 Contraintes et limites des systèmes transdermiques ……..…13

I .4.1 Propriétés physico-chimiques des principes actifs……..13

I .4.2 Propriétés pharmacocinétiques des principes actifs…….13

I .5 Conclusion……..14

Chapitre II :Mélange des polymères

II.1 Introduction……15

II.2 Mélanges de deux biopolymères……...15

II.3 Critères de miscibilité des mélanges de polymères……15

II.3.1 Comportement mécanique des mélanges…… .…….....16

II.3.2 Déplacement des transitions thermiques……..17

II.4 Polyélectrolytes en solutions……..17

II.4.1 Structure et dynamique des polyélectrolyte (PEC)…….18

II.4.2 Polysaccharides polyélectrolytes……18

II.4.2.1 Polysaccharides cationiques…….....19

II.4.3 Application des polyéléctrolytes…….20

II.5 Alginate de sodium…….21

II.5.1 Structure d'alginate de sodium……...……..…21

II.5.2 Applications des alginates……...……...……24

II.6 Chitosane……25

II.6.1 Définition…….…..25

II.6.2 Chitosane en solution……..……...…25

II.6.3 Propriétés et applications du chitosane…….……...….26

II.7 Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes……27

II.7.1 Observation microscopique des mélanges……..……...28

II.7.2 Mise en forme des membranes à base de polymères……..…28

a)Voie sèche……..28

b)Voie humide……...…29

II.8 Conclusion……..31

Chapitre III : Partie expérimentale

III.1. Introduction…….….32

III.2. Matériel, réactifs et produits utilisés……....33

III.2.1. Les biopolymères……..33

III.2.2. Les réactifs……....33

III.2.3. Matériel utilisé……...34

III.3. Etude de la formation du complexe polyélectrolyte (PEC)…….34

III.3.1. Préparation des solutions de biopolymères……...34

III.3.2. Préparation du complexe polyélectrolyte Al/Chi……..34

III.3.3. Caractérisation des PEC Al/Chi……...35

a. Etude de la variation de la turbidité…….35

b. Etude de la variation de la conductivité……..36

c. Etude de la variation du pH……..37

d. Analyse par FTIR du PEC…….38

III.4. Formulation et caractérisation des membranes polymériques……42

III.4.1. Préparation des membranes d'alginate de sodium……42

III.4.2. Préparation des membranes de chitosane…….42

III.4.3. Préparation des membranes de Al/Chi……..……42

III.5. Caractérisation des membranes……45

III.5.1. Aspect et épaisseur des membranes……..45

III.5.2. Etude du gonflement des membranes polymériques…….48

- Préparation des solutions tampons phosphate-citrate……48
- Test de gonflement…….…49

III.6 Conclusion……..…..52

Conclusion Générale……53

Liste des Abréviations et symboles

ADN	Adénosine-triphosphate.
Al	Alginate de sodium
ATMD	Analyse Thermomécanique Dynamique
CMP	Carboxy Méthyl Pullulane
CPE	Complexe Polyéléctrolyte
Chi	Chitosane
CV	Coefficient de Variation
DA	Degré d'Acétylation.
DDA	Degré De Désacétylation
DO	Densité Optique
DSC	Analyse thermique différentielle
FTIR	Ifra-Rouge à Transformée de Fourrier
G	Guluronique
M	Mannuronique
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
PA	Principe Actif
PDADMA	Poly (Diallyl Di-Méthyl Ammonium)
PEC	Poly électrolyte complexe
PSS	Poly (Styrène Sulfonate)
PVBMA	poly (Vinylbenzyl Tri-méthyl Ammonium)
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
THS	Traitement Hormonal Substitutif
UV	Ultra Violet

Liste des figures

Chapitre I : Dispositifs Transdermiques

Figure I.1. Structure de la peau.....04

Figure I.2. Schéma d'un patch transdermique, exemple du dispositif de type « adhésif actif »..
.....09

Figure I.3 . Structure des systèmes transdermiques……11

Chapitre II : Mélange des polymères

FigureII.1 : Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes (PEC)……..….18

Figure II.2 : A) poly-guluronate GG et polymannuronate MM; B) exemple d'enchaînement des blocs GG, blocs MM ou blocs alternés MG dans une chaîne d'alginate……22

Figure II.3 : modèle de boite à œuf…….…….....23

Figure II.4 : Molécules de la cellulose (a), de la chitine (b) et du chitosane (c)…….…..…..25

Figure II.5 : Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane……28

Figure II.6 : Mise en forme du Gel à une épaisseur suffisante……...……... 29

Figure II.7: Mise en forme des gélules par moulage par trempage…….……30

Chapitre III :Partie expérimentale

Figure III.1. Variation de la turbidité des différents mélanges de PEC……..36

Figure III.2. Variation de la conductivité des différents mélanges de PEC……...37

Figure III.3. Variation du pH des différents mélanges de PEC…….….38

Figure III.4. Spectre FTIR de l'Alginate de sodium……...39

Figure III.5. Spectre FTIR du chitosane……..40

Figure III.6. Spectre FTIR du mélange physique Al/chi……...…..40

Figure III.7. Spectre IR du Complexe polyélectrolyte Al/chi……41

Figure III.8. Préparation des membranes d'alginate de sodium (**A**) ; de chitosane (**B**) ; et leur mélange Al/Chi (**C**).....44

Figure III.9. Membranes obtenues par voie humide « solvent casting »…….....46

Figure III.10. Micromètre digital (de marque Electronic)…….47

Figure III.11. Epaisseurs moyennes des membranes préparées……...…..48

Figure III.12. Variation du taux de gonflement des membranes à PH 6.8……..…50

Figure III.13. Variation du taux de gonflement des membranes à PH 7.4…….….51

Liste des tableaux

Chapitre II : Mélange des polymères

Tableau II. 1 : Quelques utilisations des alginates……24

Tableau II.2 : Quelques propriétés et applications des gels de chitosane …….27

Chapitre III :Partie expérimentale

Tableau III.1 : Les biopolymères utilisés……33

Tableau III.2. Caractéristiques des produits chimiques…….….33

Tableau III.3. Matériel utilisés……....34

Tableau III.4. La caractérisation physico-chimique des mélanges de PEC obtenus…….**.....**35

Tableau III.5. Composition des membranes du mélange Alginate / Chitosane……..……43

Tableau III.6. Epaisseur moyenne des membranes préparées…….47

Tableau III.7. Différents volumes prélevés pour la préparation de la solution tampon……..49

Introduction Générale

Introduction générale

Les dispositifs transdermiques sont des systèmes thérapeutiques qui permettent d'administrer un ou plusieurs principe(s) actif(s) à travers la peau, en continu pendant plusieurs jours, en assurant un taux plasmatique stable sur la durée d'utilisation. Ces dispositifs 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.

Les biopolymères possèdent des propriétés physico-chimiques permettant des applications ciblées dans divers domaines notamment dans les secteurs pharmaceutique et biomédical. Parmi les applications pharmaceutiques, les dispositifs transdermiques. Ces derniers peuvent être élaborés à partir de biopolymères, parmi lesquels on trouve la famille des polysaccharides tels que l'alginate de sodium et le chitosane. Ces derniers constituent une alternative intéressante dans le cadre du remplacement des polymères issus de la pétrochimie, car ils possèdent des propriétés physico-chimiques et biologiques importantes.

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 polyélectrolytes se fait par des interactions acide-base. Les interactions électrostatiques mises en jeu et les propriétés de chacun des polyélectrolytes et des complexes polyélectrolytes formés 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 principal objectif l'étude des propriétés physico-chimiques d'un complexe polyélectrolyte à usage pharmaceutique formé à partir de biopolymères polyélectrolytes qui sont l'alginate de sodium et le chitosane.

Pour ce faire, ce mémoire est structuré en deux parties :

1.Une étude bibliographique, organisée en deux chapitres :

- Le premier 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.
- Le deuxième chapitre présente des généralités sur les biopolymères polyélectrolytes, leurs propriétés, en particulier les mélanges de biopolymères utilisés dans notre travail expérimentalà savoirl'Alginate de sodium et le chitosane.

2. Une étude expérimentale, organisée en un seul chapitre qui représente notre travail pratique relatif à l'optimisation et la caractérisation du complexe Alginate/ Chitosane, ainsi que l'élaboration et la caractérisation des membranes à base du complexe formé. L'ensemble des résultats expérimentaux sera présenté avec les interprétations qui en découlent.

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

Chapitre I :

Dispositifs Transdermiques

I.1 La peau

La peau occupe une surface d'environ 2 m^2 chez l'adulte et une masse avoisinant les 13% du poids total du corps humain. C'est l'organe le plus étalé et dont la surface est la plus grande.

I.1.1 Rôle de la peau

La peau joue un rôle d'interface entre l'environnement extérieur et l'organisme. De par sa fonction de barrière épidermique, C'est un organe protecteur des agressions extérieures de type mécanique, physique et biologique. C'est aussi un organe récepteur et il est la source de divers métabolismes. La peau joue un rôle prépondérant dans la cicatrisation et possède également une capacité d'auto renouvèlement permanant via l'élimination par desquamation de ses cellules mortes les plus superficielles

I.1.1.1 Protecteur

La peau est un organe qui protège 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.

I.1.1.2 Régulateur thermique

La peau joue un rôle de régulateur thermique. 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. 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.

I.1.1.3 Sensation

La peau contient une richesse en fibres sensitives qui informe l'organisme sur 4 grands groupes de sensations: la douleur, la pression, la température et le toucher**[1].**

I.1.2 Propriétés chimiques de la peau

D'un point de vue chimique, la peau comprend en moyenne :

- 70% d'eau ;
- 7,5% de protéines ;
- 2% de matières grasses ;
- 0,5% de sels minéraux et oligo-éléments.

I.1.3 Structure de la peau

La peau mesure en moyenne 2 à 3 millimètres d'épaisseur et elle est constituée de trois couches distinctes, de l'extérieur vers l'intérieur de l'organisme : l'épiderme, le derme et l'hypoderme.

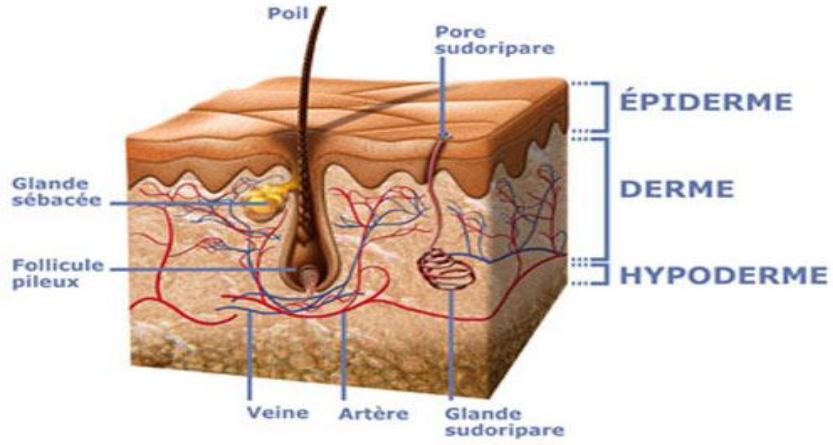


Figure I.1: Structure de la peau

I.1.3.1 Epiderme

Le principe actif du système transdermique coïncide la première couche la plus superficielle de la peau c'est l'épiderme, issue d'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. L'épiderme 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. Cette partie de la peau est pluricellulaire, pluristratifiée avec des cellules différenciées et elle est traversée par les pores de la peau.

L'épiderme se compose principalement de deux familles de cellules: Les kératinocytes, et les cellules dendritiques de trois types différents (mélanocytes, cellules de Langerhans et cellules de Merkel) **[1,2]**.

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

I.1.3.2. Derme

Le derme est une couche situé au dessous de l'épiderme, il forme la première et la plus épaisse des couches véritables de la peau, c'est un 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 extracellulaire, des vaisseaux sanguins et des terminaisons nerveuses. Les glandes sudorales et sébacées siègent aussi dans le derme **[1].**

I.1.3.3.Hypoderme

La troisième couche de la peau la plus profonde c'est l'hypoderme, 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'œil 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.

I.1.4 Métabolisme cutané

Dans la peau plus précisément au niveau du derme et l'épiderme sont localisés de nombreux systèmes enzymatiques. Ces derniers 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. Cependant l'épiderme est le lieu privilégié des enzymes de dégradation, majoritairement situées au niveau des cellules vivantes.

Malgré une irrigation sanguine importante de la peau,le métabolisme cutané reste faible, pour des substances administrées par voies systémiques, autres que transdermique, par rapport au métabolisme hépatique. En effet, le métabolisme de ces molécules est assuré en général à 99% par les enzymes hépatiques.

Le premier passage cutané reste tout de même faible ,pour les substances appliquées sur la peau et destinées à rejoindre la circulation générale, voire inexistant, par rapport au premier passage hépatique subi par les molécules administrées par voie entérale. En effet, ce qui rend le métabolisme cutané pratiquement nul c'est la non abondance des enzymes cutanées. En revanche, 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 dernier 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 **[2, 3].**

I.1.5 Perméabilité de la peau

Les muqueuses sont considérées comme les zones les plus perméables, la peau du scrotum et des paupières, le visage et la tête sont d'une perméabilité intermédiaire, ainsi que, la poitrine, les cuisses, le dos, les fesses, l'abdomen les bras et 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). En effet, le respect du lieu d'application va permettre de diminuer les variabilités inter- et intra-individuelles. Par ailleurs, il demeure essentiel que cette zone de peau soit saine pour ne pas modifier l'absorption **[2, 3, 4, 5]** .

De plus, l'âge peut influencer sur la perméabilité. Car la peau des grands prématurés (nés avant trente et une semaines) est immature avec une diffusion percutanée de 100 à 1000 fois plus importante par rapport aux nouveau-nés nés à terme. La perméabilité tend à se normaliser en quinze jours de vie. Chez les personnes âgées, il est constaté une diminution modérée (évolutive en fonction de l'âge avançant) de la perméabilité due à une sénescence cutanée avec une diminution de production de sébum et de sueur. Entre ces deux âges la barrière cutanée a une perméabilité approximativement stable.

Chez un 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, si celui-ci augmente au niveau du derme, la perméation augmente aussi et inversement en cas de vasoconstriction. Le flux sanguin peut être modifié par certaines affections ou certains médicaments.
- L'état d'hydratation de celle-ci : une peau hydratée sera plus perméable qu'une peau sèche.
    - Les éraflures et les irritations vont augmenter la perméabilité de la peau ;

- Plus la température de la peau augmente plus celle-ci sera perméable. Les brûlures thermiques provoquent également une augmentation de la perméabilité ;
- Les coups de soleil font aussi varier la perméabilité de la peau (celle-ci est plus perméable après desquamation) ;
- Les zones où il y a de l'eczéma sont plus perméables ;
- Enfin, les zones où il y a du psoriasis sont moins perméables.

Pour conclure, la peau des Afro-Américains est plus imperméable que celle des Caucasiens. Ceci s'explique par un nombre plus important de couches cellulaires cutanées chez les personnes ayants une couleur de peau noire.

I.2 Avantages et inconvénients de la voie cutanée

La voie cutanée consiste en l'administration des médicaments sur la peau soit pour une action locale, soit pour une action générale, après pénétration à travers les différentes couches et diffusion par la circulation sanguine**[6].**

La voie cutanée possède des avantages comme : action à différent niveau de profondeur et de structure, action locale, facilité d'usage, action systémique possible, ainsi ses inconvénients sont : dépend de la fonction de la peau (pathologie), pas adapté à tout les PA, temps de latence.

I.3 Dispositif transdermique

Les patchs transdermiques permettent une administration systémique, contrôlée et prolongée de principes actifs peu ou pas absorbés par voie orale (fentanyl), subissant un effet de premier passage important au niveau digestif et hépatique (estradiol), présentant une courte demi-vie (scopolamine).Seuls les principes actifs qui sont résorbés à travers la peau peuvent être utilisés pour cetteforme galénique.

I.3.1 Description du patch transdermique

Les patchs transdermiques sont composés de quatre éléments qui vont du plus loin au plus proche de la peau:

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

Au moment de l'application, un support protecteur amovible (Figure I.2) qui protège la surface active du patch doit être enlevée**[2, 3,7].**

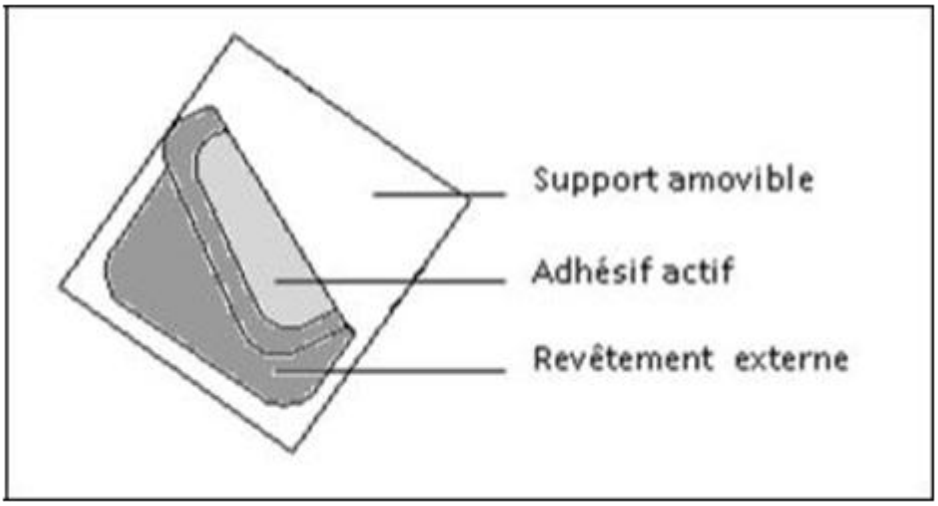


Figure I.2. Schéma d'un patch transdermique, exemple du dispositif de type« adhésif actif » **[2]**

Le revêtement externe enferme une dose unique de préparation composée d'un mélange d'excipients et du ou des PA.

Le mélange qui contient des excipients aide a solubilise, stabiliser et même modifier la vitesse de libération du PA. Ils (les excipients) sont de nature polymérique et ont comme action de limiter la diffusion passive du PA vers la peau ,ces différents excipients ont les appels « élément de contrôle ».

La taille du revêtement externe peut être identique ou plus grande que le mélange.Pour une taille plus grande, la surface de revêtement sera recouverte d'une matière adhésive pour assurer l'adhérence du patch sur l'épiderme, par contre Si la préparation et le revêtement ont la même taille dans ce cas la matrice elle-même contient des adhésives permettant de maintenir le patch sur la peau.

Une membrane protectrice qui est constitué d'une matière plastique ou métallique doit etre retirer avant de positionner le patch sur la peau, il faut savoir retirer le film de tel sorte que la préparation ne soit pas séparé du revêtement ainsi que l'adhésif ne soit pas détacher du patch.

I.3.2 Différents types de systèmes transdermiques

Les dispositifs transdermiques sont des dispositifs qui servent à administrer une dose de médicament au travers de la peau à un débit contrôlé durant une période déterminée.

Il existe 2 types de dispositif transdermique :

- les systèmes « réservoirs » : composés d'un réservoir contenant le principe actif et d'une membrane semi-perméable qui libère le principe actif à vitesse constante. Ces patchs constituent un système à libération contrôlée. Pour ce modèle de patch (réservoir), 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 ;
- Pour ce type de patch, l'adhésif recouvre entièrement la membrane afin de permettre une bonne adhérence à la peau ;
- Une fois le patch appliqué sur la peau, le taux du PA va augmenter progressivement pour se stabiliser après 12 à 24 heures, par la suite le PA va passer dans le sang pour atteindre son site d'action.

- les systèmes « matriciels » : constitués d'une masse polymérique dans laquelle le principe actif est dissout ou dispersé. Ce type de patch est un système à libération modifiée puisque c'est le pouvoir de diffusion du principe actif qui contrôle sa libération et c'est la peau qui est le facteur limitant la pénétration et la résorption. Comme c'est un système de multiple couches donc ça permet d'atteindre plus rapidement la concentration plasmatique efficace.

La variation de la cinétique de libération du PA peut aussi se faire par la modification de quelques paramètres comme: le degré de ramification du polymère, la densité de réticulation du polymère, l'épaisseur de l'adhésif s'il est en contact avec la surface de libération.

D'une part, la surface de libération du PA peut être recouverte par l'adhésif. Dans d'autre cas, un système est dit adhésif actif lorsque son adhésif fait partie intégrante de la matrice, leur avantage(système adhésif)c'est de présenter une grande souplesse avec un épaisseur faible ce qui mène un grand confort au patient.

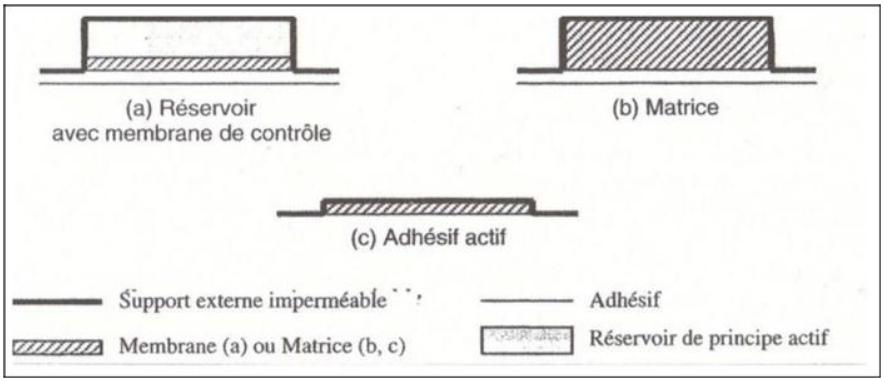


Figure I.3 : Structure des systèmes transdermiques **[8]**

I.3.3 Critères de choix du type de patch

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. Dans ce cas, la libération du PA est finement régulée par la membrane semi-perméable.

D'une autre manière, un système matricielle est suffisant pour l'absorption du médicament et la pénétration à travers la couche cornée,.car la peau va jouer le rôle de l'absorption du PA **[3]**.

I.3.4 Site d'application des patches transdermiques

Le patch doit être appliqué sur une peau propre, sèche et saine (sans irritation, non irradiée, ni même écorchée), dépourvue de crème, lait, poudre ou produit huileux ou gras. Le lieu d'application doit être une surface plane ne comportant pas de plis cutanés importants comme au niveau de la pliure des fesses ou des hanches. Il est préférable que ce lieu ne subisse pas de frottement vestimentaire important (comme au niveau du tour de taille ou avec le port de vêtement serré) pour ne pas détacher le dispositif transdermique

Le patch transdermique doit adhérer facilement à la peau à l'aide d'une légère pression d'au moins 10 secondes avec la paume de la main. En effet, la pression et la chaleur de la paume de la main assurent une adhésivité optimale. Pour cette même raison, il est conseillé d'insister au niveau de la périphérie du patch pour éviter le plus possible le contact de la surface active avec l'environnement autre que la zone d'application.

I.3.5 Avantages du dispositif transdermique

Parmi les avantages de ces patchs transdermiques, c'est que leurs formes offrent un meilleur confort au patient par une diminution des effets indésirables puisque la libération du PA est continue et contrôlée dans le temps par le système transdermique.

Les prisesde médicament peuvent être plus espacées par rapport à une voie orale ou parentérale tout en garantissant une libération constante durant un temps important. Par contre le patch peut avoir une durée d'utilisation variable : de une heure (pour la trinitrine, afin d'éviter le phénomène d'accoutumance survenant après 12h d'application, dans le traitement

de l'angor) à une semaine (pour des dispositifs à l'estradiol, dans le THS chez la femme ménopausée).

La forme transdermique permet d'éviter l'effet de premier passage hépatique rencontré lors de la prise *per os*.

D'autre part ,en le comparant à une forme d'administration parentérale ,le patch permet une administration non invasive donc non traumatisante ,mais aussi son utilisation n'engendre pas de risque de contamination et il s'applique sans aide médicale ni même extérieure.

Enfin, cette forme présente aussi un grand intérêt pour les personnes, ayant des difficultés (ou une impossibilité) à déglutir ou ayant une alimentation parentérale.

I.4 Contraintes et limites des systèmes transdermiques

La perméabilité varie en fonction de l'état physiologique de la peau (âge, race, région anatomique et maladie) et des propriétés physico-chimiques des composés de la formulation (les excipients tout comme la molécule d'intérêt).

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

I.4.1 Propriétés physico-chimiques des principes actifs

L'apport de PA à l'interface peau / patch à vitesse constante, et l'absence de saturation du PA dans la couche cornée sont deux conditions important pour le développement de forme pharmaceutiques des patchs.

Parmi les propriétés physico-chimiques du PA importantes pour le développement de cette forme sont : la cristallinité, poids moléculaire, la solubilité dans l'eau,, la polarité de la molécule, le point de fusion inférieur à 200°C, le coefficient de partage huile / eau ou lipide / protéine (log P)[**3,5,7,9,10].**

I.4.2 Propriétés pharmacocinétiques des principes actifs

Il est important de déterminer certains paramètres pharmacocinétiques comme : la clairance totale, la demi-vie de la molécule, les facteurs de biodisponibilité, le volume de

distribution, la concentration plasmatique efficace, pour pouvoir développer de nouveau médicament destiné à être absorbé et distribué dans l'organisme humain

Le métabolisme cutané qui se déroule au niveau de l'épiderme et se nomme « premier passage cutané » peut être 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 **[5,9].**

I.5 Conclusion

En conclusion, la forme pharmaceutique peut s'expliquer par l'amélioration du confort du patient grâce à une libération de la substance active prolongée et contrôlée dans le temps avec des prises plus espacées, des doses moins importantes et donc moins d'effets secondaires. Ce confort se trouve également amélioré grâce au fait que les PA ne subissent pas l'effet de premier passage hépatique et par conséquent les effets indésirables s'en trouvent diminués.

Ces propriétés sont particulièrement avantageuses chez la population pédiatrique, chez les personnes ayant un défaut de déglutition et chez les personnes souffrant de démence.

C'est la raison pour laquelle, nous avons étudié dans ce présent travail la formation des films à base de biopolymèresdestinés pour l'application transdermique et évaluer les différents avantages et/ou impacts apportés par ces macromolécules sur l'aspect final ainsi que les propriétés physico-chimiques du film obtenu.

Chapitre II :

Mélange des polymères

II.1 Introduction :

La synthèse des mélanges de polymères a beaucoup d'avantages par rapport aux polymères primaires, puisque des caractéristiques spécifiques et des propriétés améliorées peuvent être obtenues systématiquement en variant la composition de ces mélanges.

De plus, élaborer un nouveau matériau à partir d'un mélange de polymères est moins coûteux et moins aléatoire que synthétiser un polymère dont les propriétés sont inconnues, à partir d'un nouveau monomère .Quoique la réalisation des mélanges n'est possible que si la chimie des polymères mélangés est relativement proche.

Les mélanges de polymères possèdent les propriétés intrinsèques: chimiques,physiques, mécaniques, et morphologiques de chacun d'eux. Les avantages de chaque polymère peuvent être combinésen les mélangeant.

II.2 Mélanges de deux biopolymères :

Le mélange de polymères s'est révélé être une méthode alternative importante et utile dans l'optique de développer de nouveaux matériaux ayant des propriétés améliorées. L'optimisation des propriétés difficile à obtenir avec un homopolymère ou un copolymère peut être obtenue grâce aux mélanges de polymères créant une synergie des propriétés des différents polymères mélangés. La plupart des polymères étant immiscibles entre eux, il est important de porter une attention particulière au développement de la morphologie au cours du procédé de mise en œuvre car c'est de celle-ci que vont dépendre les propriétés finales du matériau. D'une manière générale, deux polymères de natures chimiques différentes sont non miscibles entre eux. La miscibilité entre deux polymères peut être prédite grâce à la thermodynamique.

II.3 Critères de miscibilité des mélanges de polymères :

Les bases thermodynamiques qui déterminent le comportement des mélanges de biopolymères en milieu aqueux sont les mêmes que celles des mélanges de polymères synthétiques en milieu solvant. Il n'y a pas de différence fondamentale entre les deux.Les degrés de miscibilité d'un mélange de deux polymères se présentent sous trois différents niveaux

- les deux polymères sont non-miscibles en toute proportion, et forment deuxphases distinctes dans le mélange quelle que soit la température utilisée,
- les polymères sont partiellement miscibles,
- les polymères sont totalement miscibles en toute proportion, et forment unephase unique dans le mélange.

Il existe quelques critères simples pour discuter de la miscibilité ou de l'immiscibilité des mélanges. L'observation visuelle simple de l'opacité d'une membrane peut être révélatrice de la présence d'hétérogénéité. Toutefois, la transparence de la membrane ne peut pas être une preuve de miscibilité puisque le phénomène de diffusion du rayonnement visible n'est perceptible que si la taille des domaines est proche de 100 nm et les indices de réfraction des deux polymères sont très différents. Ainsi, pour caractériser un mélange de polymères, il convient d'utiliser d'autres techniques qui permettent de déterminer le degré de miscibilité.

II.3.1 Comportement mécanique des mélanges

Le module d'Young (noté E) d'un mélange de polymères est dépendant de sacomposition et de sa morphologie. De nombreux modèles basés sur les propriétés mécaniques des mélanges, en particulier sur l'évolution du module d'Young et de la limite d'élasticité Ϭy en fonction de la composition du mélange, ont été établis **[11]**. Ces modèles constituent la "loi des mélanges" et traduisent le fait que le module d'Young d'un mélange de polymères se situe entre deux limites Ep et Es, dont les équations sont données par:

- Le modèle en parallèle : $E_p = \varphi_1 E_1 + \varphi_2 E_2$ (II.1)
- Le modèle en série : $1/ E_s = \varphi_1 / E + \varphi_2 / E_2$ **(**II.2)

Où Ei représente le module d'Young du polymère i, et φi la fraction volumique de la phase i. Les modèles en série et en parallèle sont valides pour les mélanges miscibles. La loi des mélanges prévoit que, dans ce cas, le module d'un mélange varie quasi linéairement en fonction de sa composition, entre ceux des polymères parents. L'utilisation de ces modèles peut être généralisée à tous les mélanges de polymères, comme critère de miscibilité. Par ailleurs, la morphologie évolue avec la composition du mélange, passant d'un système dispersé à une morphologie semi-continue. Ceci explique que les modèles ci-dessus ont un domaine de validité limité.

II.3.2 Déplacement des transitions thermiques :

Chaque polymère est caractérisé par une température de transition vitreuse propre (Tg). Lorsqu'un mélange de deux polymères est caractérisé par deux transitions vitreuses distinctes, identiques à celle des polymères parents, cela indique l'immiscibilité entre les deux polymères. A l'inverse, un mélange de polymères miscibles présenterait une transition vitreuse unique peu étalée en température.

L'analyse thermique différentielle (DSC) et l'analyse thermomécanique dynamique (ATMD) sont les techniques couramment utilisées pour observer l'évolution de la T_g des mélanges en fonction de la composition.Pour les polymères miscibles, il existe des modèles qui permettent de prédire l'évolution de la Tg du mélange en fonction de sa composition. Une approche très simple est l'équation de Gordon-Taylor**[12].**

$$T_g = (w_1 T_{g1} + K w_2 T_{g2}) / (w_1 + w_2) \qquad \text{(II.3)}$$

Où wi et K sont respectivement la fraction massique du polymère i et une constante empirique. Cette équation, applicable à un mélange binaire, sert à modéliser l'effet d'un plastifiant sur les polymères.

L'équation de Fox, encore plus simple, introduite par Gordon et *al***[12]**est fondée sur une approche empirique de l'évolution de la Tgdu mélange, soit :

$$1/T_g = w_1 / T_{g1} + w_2 / T_{g2} \qquad \text{(II.4)}$$

Ainsi la détermination expérimentale de la Tg d'un mélange de polymères et la comparaison avec un des modèles (Gordon-Taylor) permet d'évaluer leur miscibilité.

L'abaissement de la température de fusion (T_f) d'un des constituants peut également être le signe d'une certaine compatibilité entre les polymères du mélange et donc servir de critère de miscibilité.

II.4 Polyélectrolytes en solutions

Les mélanges de biopolymères sont généralement liés par des liaisons physiques, contrairement aux copolymères où les liaisons sont chimiques. L’association de deux bi polymères de charges opposées (l’un polyanionique et l’autre polycationique) crée des

complexes polyélectrolytes (**PEC**) largement étudiés et forment des membranes à haute densité et peuvent avoir comme conséquence une sélectivité plus élevée, telles que les membranes à base du complexe alginate/chitosane.

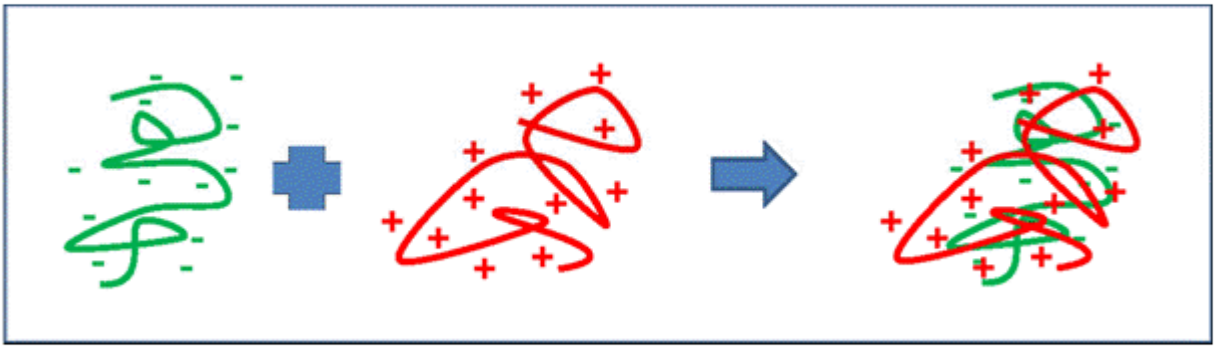


Figure II.1 : Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes (PEC).

II.4.1 Structure et dynamique des polyélectrolyte (PEC) :

Les polyélectrolytes sont très nombreux et variés. Ils peuvent être cationiques(polycations), anioniques (polyanions) ou les deux, on parle de polyampholytes ou polymères zwitterioniques**[13].** Ils peuvent être à charges modulables et pH dépendant (polyélectrolytes faibles), ou présenter uniquement des groupements ionisés (dissociés) dans le solvant indépendamment du pH acide ou basique du milieu (polyélectrolytes forts).

Il existe des polyélectrolytes synthétiques ou artificiels qui sont obtenus principalement par polycondensation ou par polymérisation en chaîne. On peut citer le polyacrylate (PA), le poly(styrène)sulfonate (PSS), le poly(diallyl diméthyl ammonium) (PDADMA), le poly(vinyl benzyl triméthyl ammonium) (PVBMA). En relation avec notre sujet, nous nous intéresserons particulièrement dans cette partie bibliographique aux polysaccharides polyélectrolytes.

II.4.2 Polysaccharides polyélectrolytes

Les polysaccharides constituent les polyélectrolytes naturels les plus connus. Ils sontpour la plupart d'origine animale, bactérienne, végétale ou fongique.

II.4.2.1 Polysaccharides cationiques

La plupart des polysaccharides cationiques sont des biopolymères ayant subi desmodifications chimiques leur apportant des groupements positivement chargés. Nous pouvons citer le chitosane qui est un polysaccharide issu de la chitine, par désacétylation en présence d'une solution concentrée de soude**[14].** Il est souvent utilisé dans les domaines agro-alimentaires et cosmétique par exemple, pour ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes**[15,16].** Les polysaccharides potentiellement cationiques comme le DEAE-Dextrane**[17,18],** DEAE-Pullulane**[19,20]**peuvent être utilisés pour les résines échangeuses d'anions ou pour la vectorisation ou la transfection d'ADN dans le domaine biomédical **[21]**. Polysaccharides anioniques.

Les polysaccharides naturellement ioniques sont majoritairement anioniques. On peutciter l'acide hyaluronique ou plus précisément le hyaluronate (de sodium par exemple) qui estun polysaccharide linéaire composé d'un enchaînement d'unités disaccharides d'acide glucuronique et de N-acetyl glucosamine reliées par une liaison β (1,4)**[22,23]**C'est l'un des principaux composants de la matrice extracellulaire oudu liquide synovial des articulations par exemple. L'immuno-neutralité de cet acide fait de lui un excellent polysaccharide de construction des biomatériaux employés dans la médecine des tissus et dans les systèmes de libération des médicaments.La gomme arabique est un polysaccharide acide fortement ramifié qui existe à l'état natif sous forme de sel (calcium, magnésium, potassium), composé de D-galactose, L-arabinose, acide D-glucuronique, et du L-rhamnose , mais aussi de glycoprotéines (arabinogalactane protéines) **[24,25,26]**. Dans l'industrie agroalimentaire, elle est utilisée en tant que stabilisant, émulsionnant totalement atoxique. On peut citer également d'autres polysaccharides naturellement anioniques comme la gomme de Xanthane**[27]**Des polysacchari des neutres sont également modifiés pour obtenir des polyélectrolytes anioniques. Nous pouvons citer le pullulane qui est un exopolysaccharide neutre hydrosoluble produit par la levure Aureo-basidium Pullulans à partir de source d'amidon. Sa chaîne flexible est composée d'unité maltotriose reliées par des liaisons α(1-6) **[28]**Sa modification chimique par carboxyméthylation va apporter des charges négatives via des fonctions carboxylate pour donner le carboxyméthyl pullulane (CMP) un polyanion.

II.4.3 Application des polyéléctrolytes :

L'utilisation des polyéléctrolytes est de plus en plus importante de nos jours, dans différents domaines. Aussi sont-ils l'objet d'une recherche très active dans les milieux académiques et industriels. Le caractère chargé de ces polymères est souvent fondamental au fonctionnement du vivant (comme dans le cas de la compaction de l'ADN dans le noyau de nos cellules) mais il est aussi responsable de la très grande particularité des polyéléctrolytes en solution.

Les polyéléctrolytes 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 textile.
- L'industrie du papier : les supers absorbants, par exemple, sont des gels de polyéléctrolytes.
- L'industrie des peintures pour obtenir la qualité en améliorant l'adhésion et l'homogénéité.
- Le traitement des eaux usées et des minerais grâce aux propriétés de floculation.

En effet, la plupart des formulations modernes en milieu aqueux font usage des polyéléctrolytes pour apporter au produit final des propriétés d'usage variées. Les polyéléctrolytes servent ainsi couramment en tant que :

- Agent stabilisant des mousses pour les produits cosmétiques (la crème ne doit pas tomber au fond du pot). [2]
- Épaississants et gélifiants des produits alimentaires (on aime que les desserts lactés ou les glaces soient épais et onctueux)
- Rhéofluidification des peintures (la peinture est facile à étaler mais elle ne coule pas).
- Stabilisants des suspensions colloïdales comme les encres.

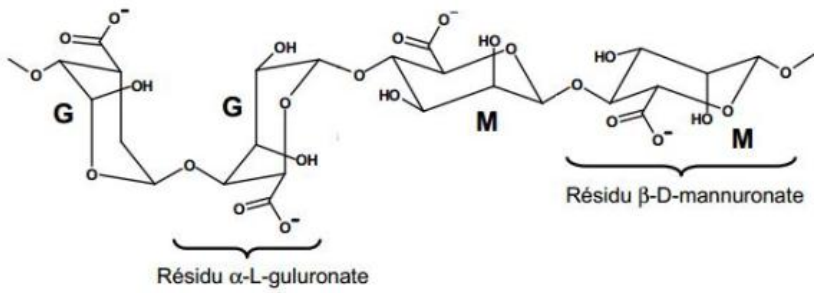
Un polyélétrolyte est un réservoir de charges électrostatiques. La première conséquence est un caractère extraordinairement hygroscopique. Les supers absorbants, par exemple, sont des gels de polyélectrolyte. Ils peuvent absorber une masse d'eau liquide équivalente à mille fois leur masse déshydratée. L'autre effet intéressant est qu'on peut agir sur les polyéléctrolytes avec un champ électrique. Ceci est mis à profit en électrophorèse, technique analytique qui permet de séparer des macromolécules en fonction de leur charge.

II.5 Alginate de sodium

Durant ce projet nous avons travaillé avec l'alginate qui est un des polysaccharides naturellement anioniques les plus utilisés.

II.5.1 Structure d'alginate de sodium

Les alginates sont des polysaccharides linéaires hydrosolubles constitués de résidus d'acide D-mannuronique (M) et d'acide L-guluronique (G) liés par des liaisons glycosidiques β-(1-4) et α-(1-4), dans des proportions et des arrangements séquentiels pouvant être différents avec la possibilité d'avoir des blocs homopolymères en M ou G, des blocs alternant les acides M et G, ainsi que des séquences statistiques (Figure II.2) **[29]**.La composition et les séquences monomères peuvent varier en fonction de la source. Elles déterminent également le comportement physico-chimique en solution aqueuse. L'alginate naturel est produit par les algues brunes des espèces *Laminaria, Macrocystis, Fucus, Phaeophyceae, Ascophyllum, Ecklonie, Nereocystis, Durvillia, Chnoospora, Cystoseira et Turbinaria*.



(A)



(B)

Figure II.2 : A)poly-guluronateGG et polymannuronate MM; B) exemple d'enchaînement des blocs GG, blocs MM ou blocs alternés MG dans une chaîne d'alginate**[30].**

La solubilité des alginates dans les solutions aqueuses dépend de trois paramètres essentiels:

- pH de la solution: Le pKa de l'alginate est autour de 3,4 et 3,7 (constantes de dissociation des acides mannuroniques et guluroniques respectivement) obtenu par la titration potentiométrique**[31]**.
- La force ionique de la solution ;
- Le taux des cations gélifiants dans la solution qui limitent la solubilité des alginates.

En effet, l'alginate est un polysaccharide chargé négativement et il est généralement insoluble pour des pH inférieurs au pKa. L'alginate a aussi la capacité de former unhydrogel en présence de cations divalents ou trivalents. Cette méthode de gélification,dite ionotropique, met en jeu des interactions entre les charges des cations et lesfonctions carboxylates portées par les monomères G des chaînes d'alginate. Si deux acides G s'alignent côte à côte, un losange incurvé se forme ayant des dimensions idéales pour l'effet coopératif entre les blocs G

et les cations divalents tels que Ca^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} ou Mn^{2+}**[32]**. Ces ions interagissent avec les fonctions carboxylate et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyle entrainant une formation d'un réseau tridimensionnel. Le modèle généralement admis est celui de la "boite à œuf " (Figure II. 3), excepté pour les ions Mg^{2+}qui n'entrainent pas de gélification **[33]**. Les hydrogels obtenus sont peu influencés par la température.

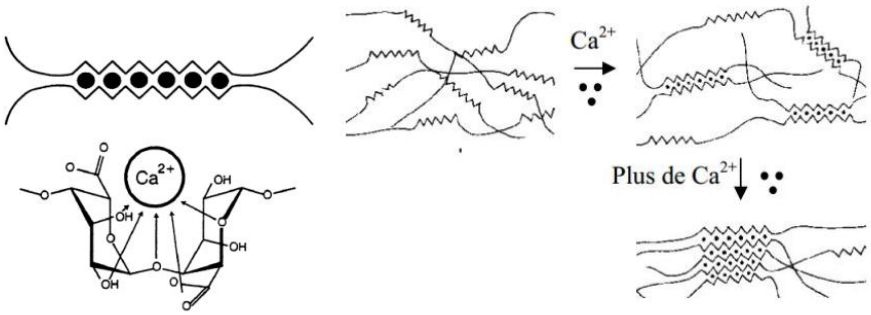


Figure II.3 : modèle de boite à œuf

Les gels d'alginate présentent une grande affinité envers les ions de calcium Ca^{2+}**[31]**, aussi utilisés à cause de leur non-toxicité. La gélification se produit par l'échange des ions sodium Na^{+}avec les ions divalents entre les acides G présents sur les chaines d'alginate et le milieu de la formation. La taille des blocs participant à la gélification doit dépasser les 20 monomères**[34]**. Selon la concentration des ions calcium dans le milieu de formation, l'auto-association inter-chaînes d'alginate peut être aussi bien temporaire que permanente. A des concentrations faibles en calcium, on obtient une augmentation de viscosité et un caractère thixotrope. Avec une concentration très élevée en calcium, une fois la percolation atteinte, les macromolécules s'organisent pour former un réseau tridimensionnel de type gel. Si la concentration continue à augmenter, on aura un phénomène de synérèse **[35]**. Ce phénomène influence, bien évidemment, la force du gel, mais également, la densité du réseau et les phénomènes de gonflement/rétrécissement **[36]**.

En suivant la même approche que pour le pullulane et la pullulanase, nous pouvons citer les revues récentes de Lee **[37]**, Siddhesh **[38]** et Picton**[39]** qui décrivent de manière détaillée les alginates et leurs dérivés ainsi que leurs applications industrielles ou médicales.

II.5.2 Applications des alginates

La production industrielle d'alginate actuelle est d'environ 30,000 tonnes par an, c'est-à-dire un peu moins de 10% du volume total disponible des algues d'origine naturelle chaque année. Si l'on ajoute à cela la possibilité de cultiver ces algues ou bien encore de les produire par fermentation, alors les ressources pour une production industrielle d'alginates sont considérables. Le coût des alginates peut être très différent selon la qualité de celui-ci. Un alginate non-purifié, utilisé à des fins techniques, a un coût d'environ 1$/kg. Des grades plus techniques – purifiés et obtenus par fermentation microbienne- coûtent approximativement 20$/kg (grades purs pour des applications en galénique). L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans le domaine de l'alimentation, pour laquelle environ la moitié de la production y est transformée. Se propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant, etc**[36][40]**. Certains alginates, de grande qualité, peuventêtre utilisés dans le domaine pharmaceutique (Tableau II.1). Une des applications les plus intéressantes est la préparation des capsules d'alginate qui jouent le rôle de pancréas de substitution en diffusant dans l'organisme du malade des cellules productrices d'insuline dans le traitement du diabète**[37] [41]**. Il existe bien d'autres applications, telles que les matériaux d'empreintes dentaires, la préservation des racines d'arbre avant plantation, la protection des fruits frais, etc.

Tableau II.1: Quelques utilisations des alginates**[37] [41]**

Application	**Rôle de l'alginate**
Agroalimentaire	Agent texturant (épaississant ou gélifiant)
Travail du papier	Amélioration de l'uniformité de surface
Production de céramiques	Réduction du dessèchement des surfaces, stabilisant
Pharmaceutique et biotechnologies	Immobilisation de cellules, diffusion contrôlée de principe actifs, dermatologie et guérison des plaies, empreintes dentaires
Crémage de latex	Concentration du latex naturel durant son extraction
Impression des textiles	Fixation, homogénéité de l'impression, bons contrastes et couleurs des motifs imprimés

II.6 Chitosane

II.6.1 Définition

Le chitosane est un copolymère linéaire flexible de 2-acétamido-2-déoxy-β-D-glucopyranose et 2-amino-2-déoxy-β-D-glucopyranose liés en β (1-4). C'est un polysaccharide tel la cellulose. Cette macromolécule est obtenue par N-déacétylation d'un des polymères naturels les plus abondants, la chitine, extraite des carapaces de crustacés tels que les crabes et les crevettes **[42]**. La Figure représente les motifs de la cellulose, de la chitine et du chitosane. Leurs structures diffèrent uniquement au niveau des groupements en position C_2 ; hydroxyle pour la cellulose, acétamide pour la chitine et amine pour le chitosane.

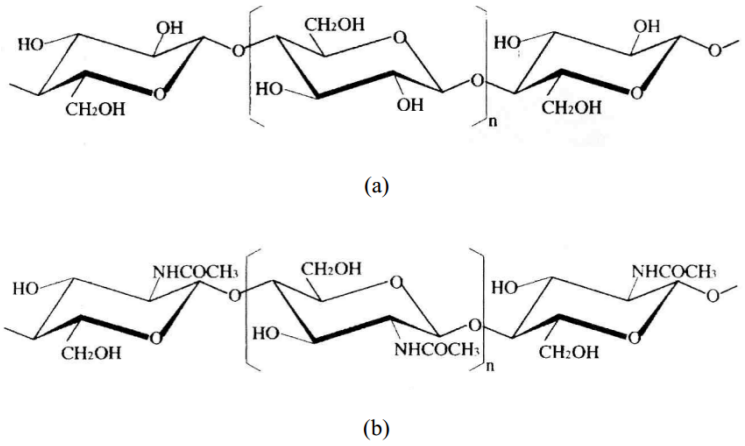


Figure II.4 : Molécules de la cellulose (a), de la chitine (b) et du chitosane (c) **[43]**

Le procédé de N-déacétylation de la chitine consiste à hydrolyser les groupements aminoacétylés de la chitine en milieu alcalin fort **[44]**. La chitine étant insoluble dans l'eau et de nombreux autres solvants, on ne peut l'utiliser que sous forme de chitosane.

II.6.2 Chitosane en solution

Les propriétés du chitosane sont dépendantes principalement de la masse molaire (qui est souvent très élevée comme pour tous les polysaccharides) et du degré de déacétylation (DDA) défini comme le pourcentage d'unités 2-acétamido-2-déoxy-glucopyranose de la chitine de départ qui sont, après déacétylation, des unités 2-amino-2-déoxy-glucopyranose.Le DDA varie considérablement selon le procédé de fabrication et sa valeur influence fortement la solubilité du chitosane .

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

$$\text{Chit-NH}_2 + \text{H}_3\text{O}^+ \rightleftharpoons \text{Chit-NH}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$$

Le pKa du chitosane est approximativement 6,3. Ainsi, lorsque le DDA est peu élevé c'est-à- dire lorsque les groupements amine sont en petite quantité, le chitosane est peu soluble. En général, on utilise du chitosane avec un DDA supérieur à 70 % pour avoir une grande partie soluble. De même, la conformation des chaînes du polymère en solution et donc la viscosité de ces solutions dépendent du pH et du DDA. En effet, ces deux paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne de polymère. Lorsque celle-ci est élevée, les chaînes de polymères sont très étendues et la viscosité est importante. En revanche, lorsque le polymère est peu chargé, les chaînes sont sous forme de pelotes statistiques caractérisées par une faible viscosité. Un certain nombre d'auteurs ont étudié l'effet du pH et du DDA sur la viscosité du chitosane en solution **[44,45,46].**

D'après Pa *et al*, les chaînes de chitosane, dont le DDA vaut 85%, sont flexibles pour des pH supérieurs à 3. Dans le cadre de notre travail (pH > 4), les chaînes de chitosane peuvent être considérées comme flexibles.

II.6.3 Propriétés et applications du chitosane

Les applications du chitosane sont variées et les nouvelles études pour en développer ne cessent de se multiplier à cause de ses propriétés physico-chimiques et biologiques **[47]**. Il est entre autres non fermentable, biocompatible, biodégradable et non toxique. De plus, son coût de fabrication est peu élevé.

A titre d'exemple, quelques propriétés utilisées dans les différents champs d'application du chitosane sont données dans le Tableau(II.2). Une description plus complète des applications du chitosane pourra être trouvée dans **[48].**

Tableau II.1 : Quelques propriétés et applications des gels de chitosane

Champs d'application	Applications	Propriétés
Pharmacie	Encapsulation de médicaments	Matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de principes actifs (enzyme, médicament)
Clinique	Membrane de dialyse, pansements	Rétention d'eau, d'ions, stimulation de la régénération des tissus
Cosmétiques	Crème, shampooing, démélant	Rétention de l'humidité, anti-électrostatique, surfactant
Industrie agro-alimentaire	Restructuration des purées de fruits, de légumes, ou de viande	Formation de films, épaississant
Traitement des eaux	Agent floculant de cations	Polyélectrolytes ; chélation de métaux

II.7 Réticulation Alginate-Chitosane et formation de complexes

La formation de complexes à base de biopolymères pour le développement de biomatériaux tridimensionnels est très décrite dans la littérature. Ce succès est particulièrement dû à la simplicité des interactions qui les composent. Effectivement, la formation du réseau de complexe Alginate/Chitosane (Figure II.5) s'effectue au travers des **réticulations ioniques** entre les fonctions carboxylates déprotonées (chargées négativement) de l'alginate de sodium et les fonctions amines primaires protonées du chitosane (chargés positivement) aboutissant à la formation d'une structure tridimensionnelle dont la porosité est liée à la densité d'enchevêtrement des chaînes macromoléculaires des deux biopolymères.

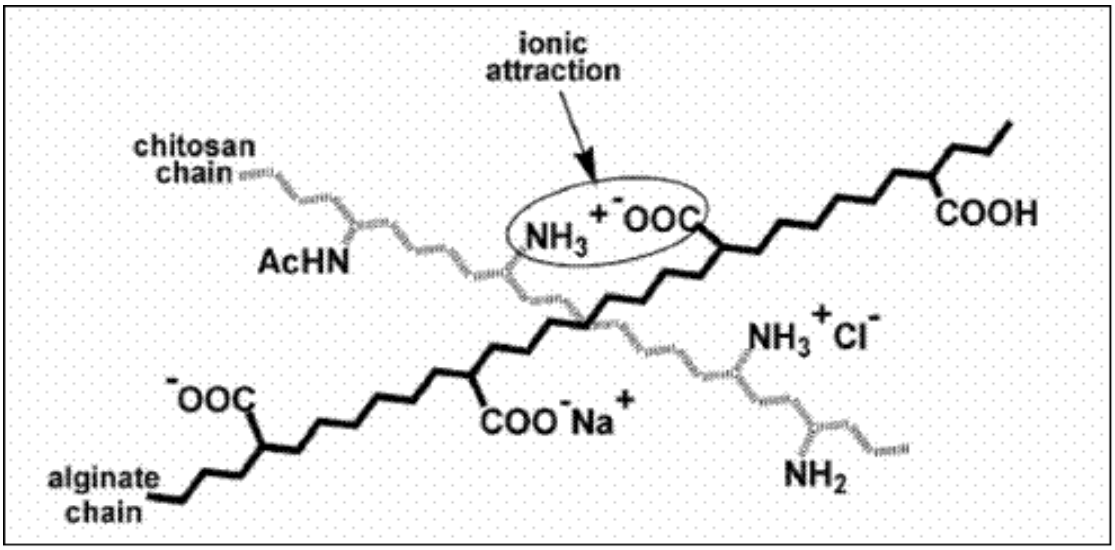


Figure II.5 : Représentation de la réticulation ionique entre l'alginate de sodium et le chitosane.

II.7.1 Observation microscopique des mélanges :

La microscopie électronique à balayage (MEB) permet l'observation directe de la distribution des phases et éventuellement des domaines démixés. Cette technique nécessite un bon contraste entre les différentes phases du système. L'attaque chimique d'une phase du mélange permet d'améliorer l'observation et donc l'interprétation. Cette technique est très utilisée par de nombreux auteurs pour évaluer le degré de miscibilité des mélanges de polymères.

II.7.2 Mise en forme des membranes à base de polymères :

Il existe plusieurs procédés d'élaboration de membranes à base de biopolymères. Les deux principaux sont les procédés dits par voie humide et par voie sèche. La formation du matériau se déroule généralement en deux étapes : la première consiste à obtenir un état déstructuré et la seconde correspond à la mise en forme.

a)Voie sèche

Ce procédé de transformation est utilisé lorsque le matériau manifeste un comportement thermoplastique, c'est-à-dire qu'il pourra comme les polymères synthétiques thermoplastiques, être fondu de façon réversible. Certains biopolymères peuvent être

considérés comme des matériaux thermoplastiques en présence d'eau. Les procédés de transformation utilisés sont les mêmes que ceux utilisés pour les polymères synthétiques :extrusion, injection, thermoformage, et calandrage **[49]**. Les paramètres à prendre en compte sont ceux classiquement considérés dans les différentes techniques de transformation des matières plastiques, à savoir, la viscosité, la température de transition vitreuse, la température de fusion, et la température de dégradation.

b)Voie humide

La voie humide consiste à solubiliser les macromolécules, souvent en milieu aqueux, puis à évaporer le solvant pour obtenir une membrane solide. En fonction du domaine d'application,il existe différents procédés pour réaliser des membranes par voie humide.

- La méthode de « **solvent casting** » reste une des méthodes les plus utilisées pour former des membranes minces. Elle consiste à étaler sur un support une solution ou un gel de polymère. L'épaisseur de la membrane est déterminée par la concentration en polymère et par l'épaisseur initiale de la solution ou du gel qui est généralement ajustée à l'aide d'une barre d'étalement (Figure II.6). Elle permet de fabriquer de manière simple et peu coûteuse, à l'échelle laboratoire, des membranes dont la mise en œuvre et les propriétés sont assimilables à ceux produits par d'autres méthodes de voie humide, telle que le moulage par trempage par exemple.

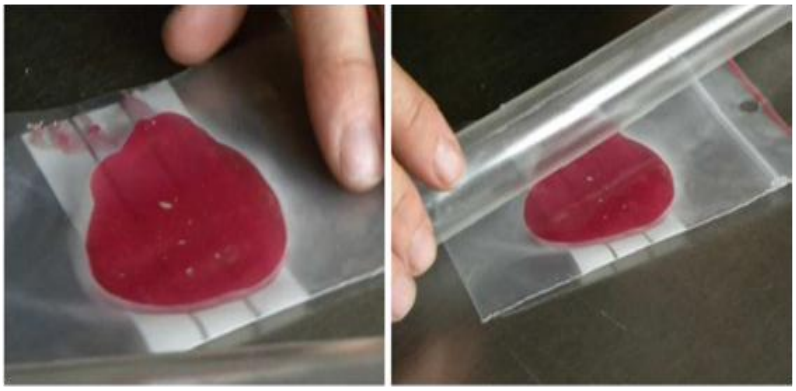


Figure II.6 : Mise en forme du Gel à une épaisseur suffisante.

- La méthode de **moulage par trempage** (dipping ou dip-molding) est une méthode très ancienne utilisée pour appliquer un film protecteur sur certains produits alimentaires, et pour la fabrication des gélules pharmaceutiques (Figure II.7).Elle l'est également pour la fabrication d'objets en latex et de nombreuses pièces plastiques. L'objet à mouler ou à revêtir va être trempé dans une solution de manière à former une couche gélifiée uniforme sur la surface de l'objet. Une fois l'épaisseur désirée atteinte, l'objet est retiré de la solution puis séché. Le film obtenu pourra alors être démoulé **[50]**.



Figure II.7: Mise en forme des gélules par moulage par trempage

- D'autres méthodes peuvent être employées comme le « **spraying**» qui consiste à pulvériser sur une surface une solution de biopolymère sous forme de fines gouttelettes afin d'obtenir une membrane d'une épaisseur très fine **[51].** Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc.). Pour des applications en tant que matériaux, les principaux polysaccharides sont la cellulose et l'amidon, mai une attention croissante a été portée à d'autres polysaccharides comme les alginates, les carraghénanes, la pectine, le chitosane, le pullulane et le xanthane.

II.8 Conclusion

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés aux mélanges des biopolymères leurs propriétés mécaniques ainsi que leurs propriétés physico-chimiques. Nous avons aussi présentés les systèmespolyélectrolytes et leurs propriétés physico-chimiques mises en jeu. Ceux-ci ont focalisé une attention remarquable ces dernières années, ils consistent souvent à utiliser des systèmes binaires, élaborés à partir de polymères cationiques et anioniques. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux polysaccharides (à savoir Alginate/chitosane), étudiés dans notre travail.

Cette partie bibliographique a été réalisée pour pouvoir tracer les lignes principales de notre sujet. Ainsi que de permettre d'aborder l'objectif essentiel de notre projet, qui est l'optimisation et la caractérisation physico-chimique de complexes polyélectrolytes (PEC) formés à bases de d'Alginate de sodium (Al) et de chitosane (Chi) pouvant être utilisées comme support d'un dispositif transdermique.

Chapitre III :

Partie Experimental

III.1. Introduction

L'élaboration de matériaux à base de biopolymères sous forme de membranes s'effectue par plusieurs méthodes, presque identiques, proposées par plusieurs chercheurs, mais la plus employée est celle qui se base sur la formation des films par voie humide (solvent casting). Cette méthode repose sur la séparation du matériau filmogène de la phase solvant par précipitation ou par changement de phase sous l'effet du traitement thermique et de l'évaporation du solvant. La formation de la membrane est le résultat de l'augmentation de la concentration en polymère, entraînant l'agrégation des molécules et la formation d'un réseau physique tridimensionnel.

Cette méthode a été appliqué en laboratoire pour préparer les membranes d'alginate de sodium, de chitosane, et de leur mélange.

C'est dans cette optique, que nous avons voulu élaborer des membranes, pouvant être utilisée comme dispositif transdermique, à base du complexe de polyélectrolytechitosane/Alginate de sodium.

Notre étude expérimentale a été menée au niveau du laboratoire de physico-chimie de la faculté des sciences et comporte trois parties :

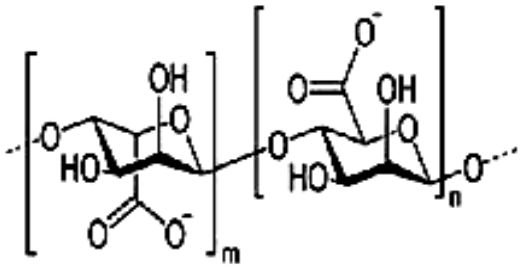
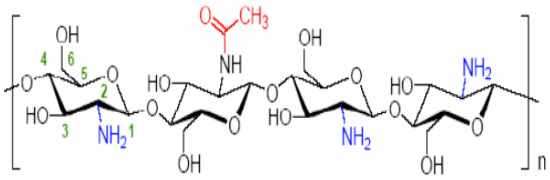
1. La préparation des complexes polyélectrolytes (PEC) et leurs caractérisations.
2. L'élaboration des membranes chitosane/ Alginate et leurs caractérisations.
3. L'étude de la cinétique de gonflement des membranes dans différents milieux de dissolution.

III.2. Matériel, réactifs et produits utilisés

III.2.1. Les biopolymères

Le tableau (III.1) récapitule les caractéristiques principales des biopolymères utilisés.

Tableau III.1 : Les biopolymères utilisés

Polymères	Structure chimique	Masse molaire
Alginate de sodium (Al)		380 KDa
Chitosane (Chi)		94 KDa

III.2.2. Les réactifs

Tous les réactifs chimiques spécifiés dans le tableau(III.2) étaient disponible au niveau du laboratoire de la faculté des sciences (Université de Médéa).

Tableau III.2. Caractéristiques des produits chimiques

Produit	Formule	Pureté(%)	Masse molaire (g/mol)
L'hydroxyde de sodium	NaOH	98	40.00
Acide acétique	CH_3COOH	99.8	60.05
Acide citrique	$C_6H_8O_7$, H_2O	99.5 – 100.5	210.14
Phosphate de sodium di-sodique	Na_2HPO_4, $2H_2O$	98.5 - 101	177.99
Chlorure de calcium, hydraté	$CaCl_2$,H_2O	100	147.02

III.2.3. Matériel utilisé

Tous les instruments qui sont représentés dans le tableau ci-dessous (Tableau III.3) étaient disponibles au niveau de laboratoire de la faculté des sciences (Université de Médéa).

Tableau III.3. Matériel utilisés

Matériel	Marques
Balance électrique	OHAUS-PIONNER (d=0.01 g)
Balance électrique	KERN ALS 220-4N (d=0.1 g)
Conductimètre	CD-2005 CONDUCTIVITY METER
pH mètre	pH-2005 pH METER
Spectrophotomètre UV-Visible	UV-2005
Spectrophotomètre FTIR	BRUKER-TENSOR II
Etuve	UN30-memmert
Thermomètre	Micro-Temp
Agitateur magnétique +plaque chauffante	AGIMATIC –N
Micromètre digital	Electronic (d=0.0001mm)

III.3. Etude de la formation du complexe polyélectrolyte (PEC)

III.3.1. Préparation des solutions de biopolymères

- Une solution à 1 % (w/w) d'alginate de sodium (Al) est préparée en solubilisant 2.5 g d'alginate de sodium en poudre dans 250 ml d'eau distillée sous agitation magnétique (500 rpm) pendant 2h. La solution est laissée au repos pendant 8 heures.
- Une solution à 1 % (w/w) de chitosane (Chi) est préparée en solubilisant 2.5 g de chitosane en poudre dans 250 ml d'acide acétique 1% (v/v) sous agitation magnétique (300 rpm) pendant 1h. .

III.3.2. Préparation du complexe polyélectrolyte Al/Chi

- Différents volumes des solutions d'Al (1 %) et Chi (1 %) préparées précédemment ont été prélevés de telle façon à obtenir des solutions finales à des rapports volumiques en Al/Chi de : 100/0 , 75/25, 50/50, 25/75, et 0/100.

- La solution d'Al a été ajoutée goutte à goutte (1ml/s) à la solution de Chi sous agitation magnétique 1500 rpm, pendant 1h à température ambiante.

III.3.3. Caractérisation des PEC Al/Chi

Pour étudier les propriétés des PEC préparés à différentes proportions en biopolymères, la turbidité des mélanges a été déterminée par spectrophotomètre UV à 600 nm. Les mesures de la conductivité et du pH ont été effectués sur les mélanges réactionnels à température ambiante, en utilisant respectivement un conductimètre CD-2005 (CONDUCTIVITY METER), et un pH – mètre pH -2005 (pH METER). Les résultats sont représentés dans le tableau (III.4).

Tableau III.4. La caractérisation physico-chimique des mélanges de PECobtenus

N°	Proportions volumique des solutions		Densité optique (DO)	pH	Conductivité ($mS.cm^{-1}$)
	Alginate de sodium (%)	Chitosane (%)			
F1	100	0	0.033	7.41	3.81
F2	75	25	0.065	5.93	3.25
F3	50	50	0.143	5.21	2.08
F4	25	75	0.022	4.64	3.13
F5	0	100	0.031	4.15	4.07

a. Etude de la variation de 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 proportions volumiques des solutions pour chaque formule étudiée. La figure (III.1) présente la variation de la turbidité en fonction des proportions volumiques des mélanges des solutions de biopolymères.

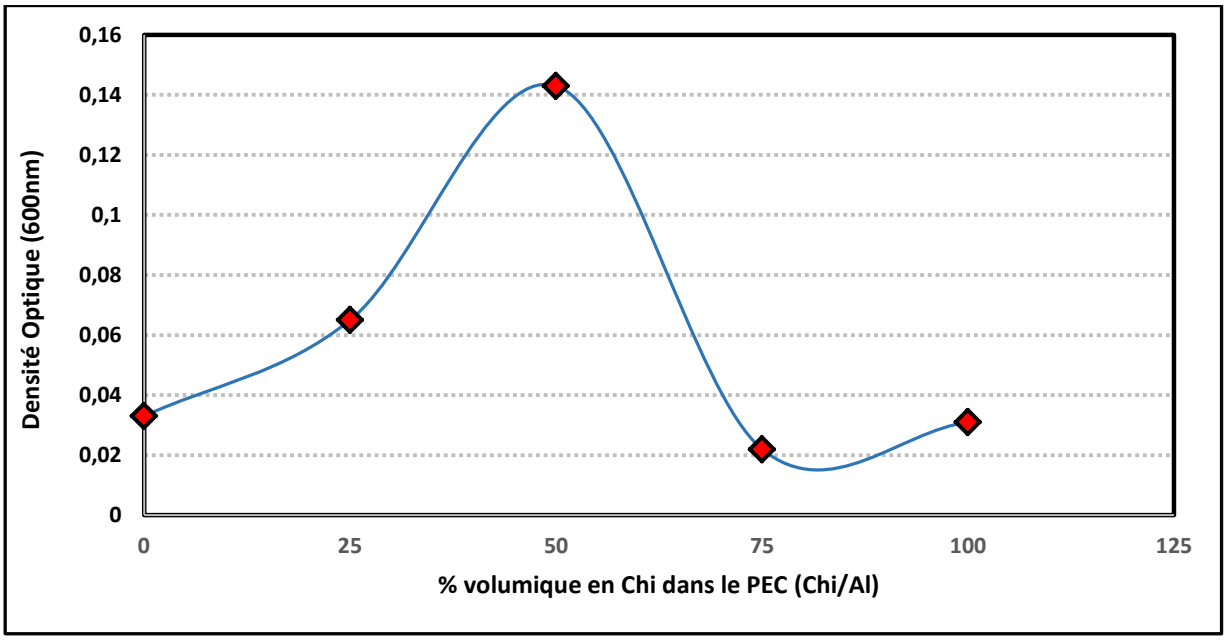


Figure III.1. Variation de la turbidité des différents mélanges de PEC

On remarque que lors de l'augmentation des proportions volumique du Chi dans le mélange, la turbidité de la solution finale augmente, atteignant un pic maximal de 0.14 pour un rapport optimal unitaire (Al /Chi, 50/50). Cette augmentation de la turbidité de la solution finale indique une forte interaction entre les deux polymères mis en contact dans la solution. L'ajout d'un excès de Chi ou d'Al (Un rapport volumique différents de l'unité) a conduit à une diminution de la turbidité en raison de la précipitation du complexe polyélectrolyte formé. Cette sédimentation implique un éclaircissement de la solution et donc une turbidité minimale.

Les interactions électrostatiques entre les groupements amine cationiques du Chi et les groupements anionique de l'Al sont les interactions principales menant à la formation du complexe polyélectrolyte. Ces interactions sont plus fortes que la plupart des interactions de liaisons secondaires. Les conditions optimales pour la formation du complexe polyélectrolyte sont donc fixées à un rapport volumique optimal conduisant à une turbidité maximale.

b. Etude de la variation de la conductivité

La Figure (III.2) représente la variation de la conductivité en fonction de la composition du mélange des solutions de biopolymères. 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.

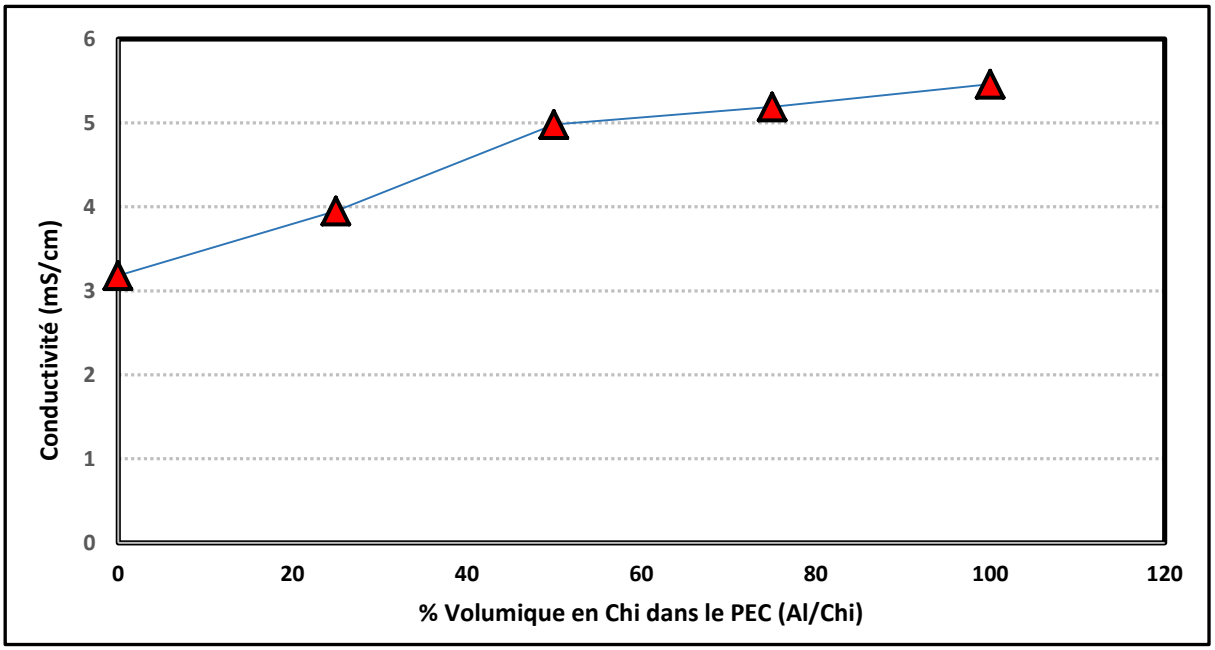


Figure III.2. Variation de la conductivité des différents mélanges de PEC

c. Etude de la variation du pH

La figure (III.3) représente la variation du pH en fonction des différentes proportions volumique des PEC formés. On remarque une diminution du pH proportionnelle à la quantité de Chi ajouté au mélange de PEC. Les valeurs de pH des mélanges réactionnels varie de 7.41 dans le cas de la solution à 100% d'Al et atteint 4.15 pour la solution à 100% de Chi. Cela est dû au caractère acide de la solution de chitosane. Cette acidité est avantageuse pour la formation du complexe. Les Alginates se combinent aux chitosane par la formation d'une liaison entre les groupements carboxylique ($-COO^-$) de l'Al et les groupements ($-NH3^+$) du chitosane. Les variations de pH permettent la formation ou la rupture du complexe Alginate - chitosane.

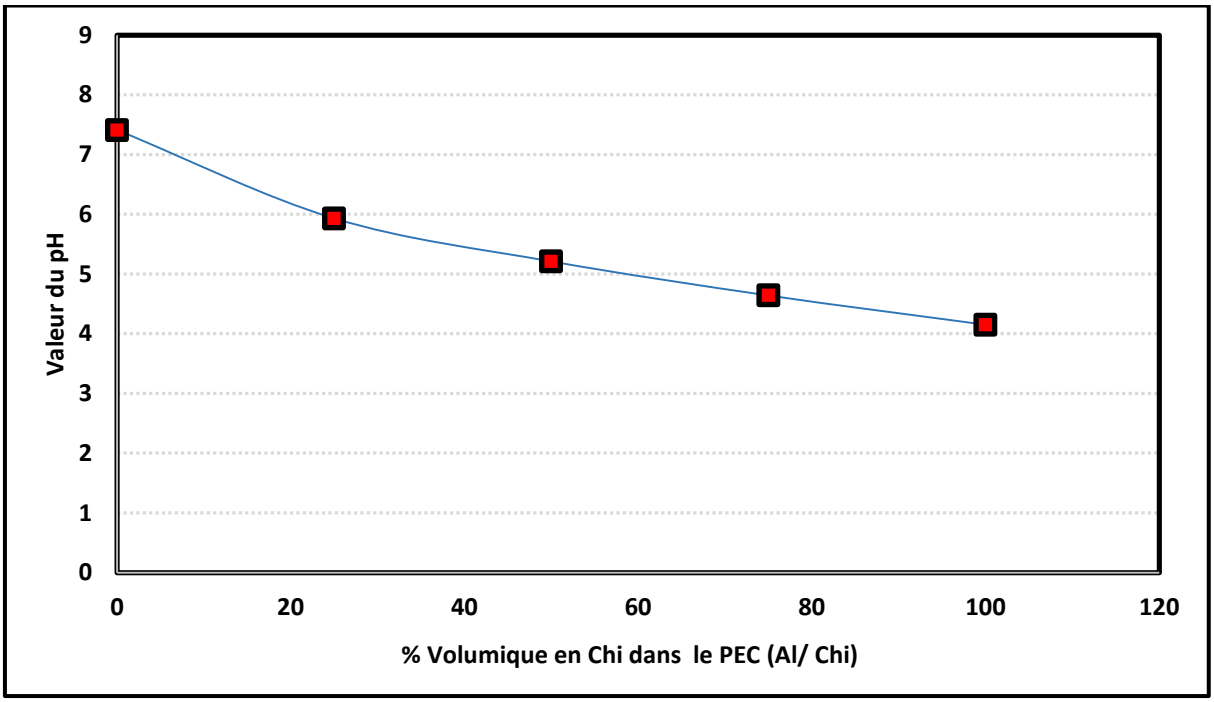


Figure III.3. Variation du pH des différents mélanges de PEC

d. Analyse par FTIR du PEC

La spectroscopie FTIR constitue une méthode de choix pour déterminer les groupements chimiques caractéristiques d'alginate de sodium et de chitosane. Nous pouvons ainsi mettre en évidence l'apparition ou la disparition de certaines bandes de façon très significative lors de la formation du complexe (Al/Chi).

Une analyse spectroscopique par FTIR a été réalisée par un spectrophotomètre FTIR BRUKER-TENSOR II au niveau du labo de recherche (LME, université de Médéa)sur le chitosane, l'alginate de sodium, le mélange physique Al /chi, et le PEC ont été effectués. Les spectres FTIR ont été enregistrés dans l'intervalle 4000-500 cm^{-1}. Les spectres FTIR obtenus sont présentés dans les figures (III.4, III.5 ,III.6 et III.7).

L'analyse FTIR met en évidence pour l'alginate de sodium (Figure III.4) deux bandes d'absorption caractéristiques à 1027cm^{-1}et 1594.27 cm^{-1} due aux vibration dissymétrique et symétrique respectivement du groupe $–COO^-$ et une bande d'absorption à 3252.55cm^{-1}qui est due à la vibration des groupes –OH **[36, 38].**

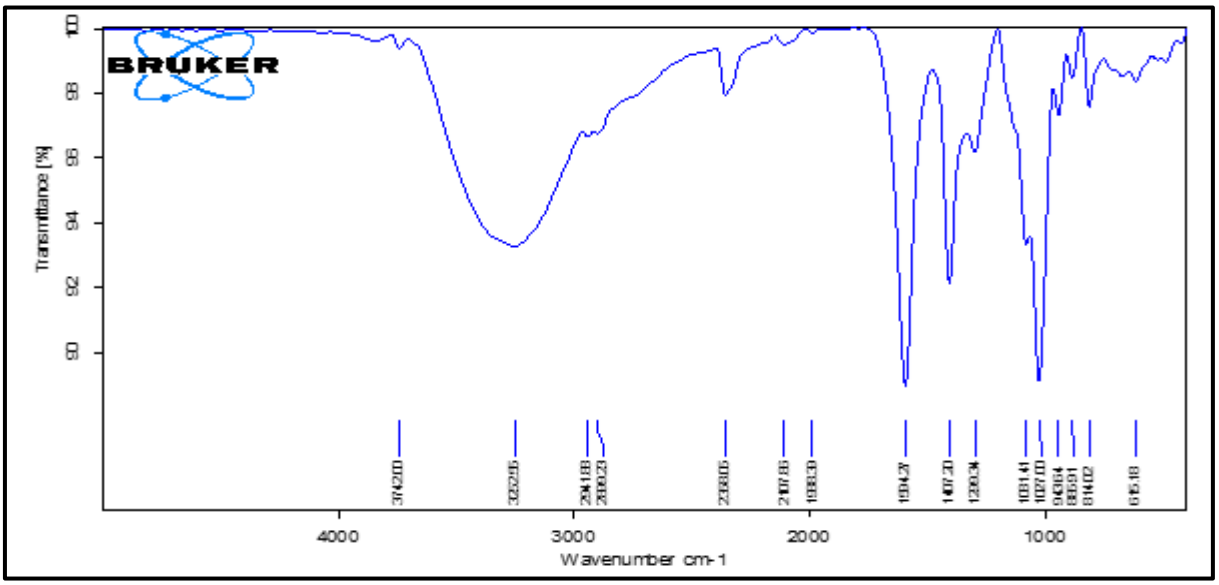


Figure III.4. Spectre FTIR de l'Alginate de sodium

La figure (III.5). représente le spectre FTIR du Chitosane. Les pics caractéristiques sont **[42,43]:**

- 3310 cm^{-1} : large bande caractéristique des liaisons O-H.
- 2896. 55 cm^{-1} : pic caractéristique d'élongation des liaisons C-H.
- 1620 et 1590 cm^{-1} : pics caractéristiques de la vibration et de l'élongation de la liaison N-H des groupements amides.
- 10 34 cm^{-1} : bande caractéristique des liaisons C-O-C du glucose et C-N des groupements amines.
- 1344.83 cm^{-1} : bande caractéristique des groupements C-O-H.

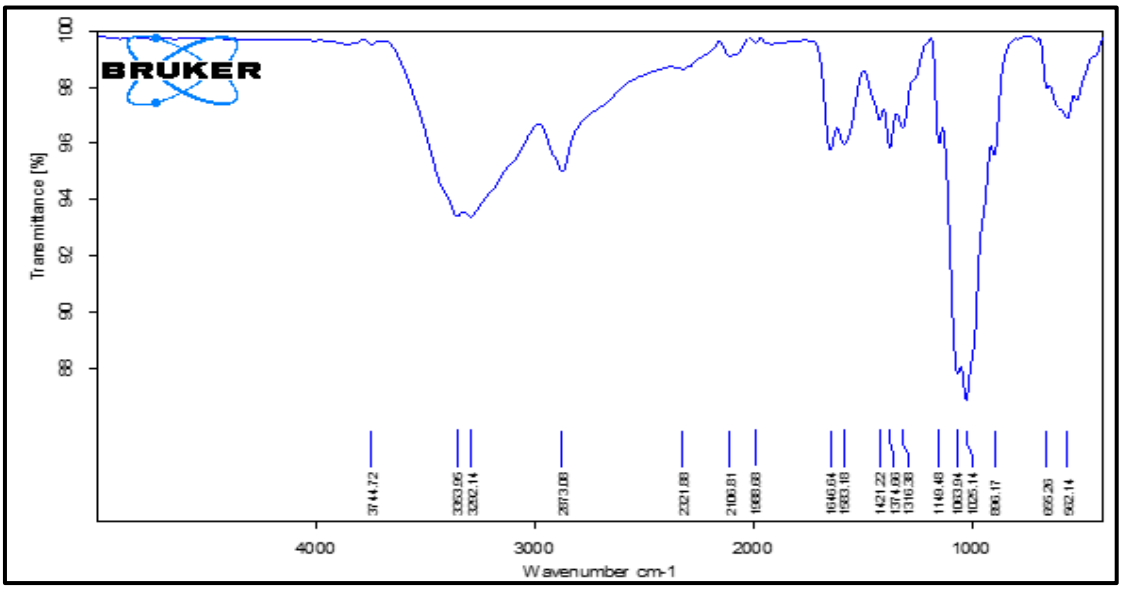


Figure III.5. Spectre FTIR du chitosane

Par comparaison du spectre du mélange physique Al/Chi(FigureIII.6) avec les spectres des produits de base (chitosane et Alginate de sodium), on remarque que le spectre FTIR du mélange regroupe tous les pics caractéristiques du chitosane et d'alginate de sodium ce qui indique que le mélange de poudres n'a aucune interaction entre les deux polymères à l'état de poudre.

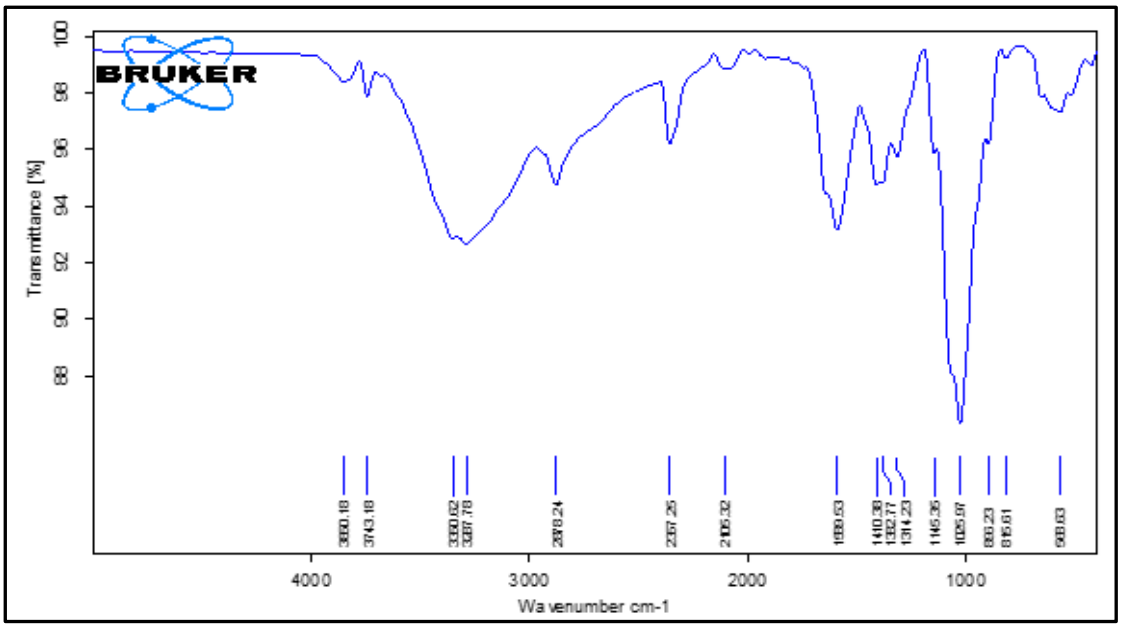


Figure III.6. Spectre FTIR du mélange physique Al/chi

En comparant les spectres FTIR d'alginate de sodium, chitosane, et du PEC Al/Chi (FigureIII.7), on constate une diminution de l'intensité des bandes à 1594.27 cm^{-1} (attribuée au groupement $–COO^-$) et à 1620cm^{-1} (attribuée au groupement $NH3^+$). Cette régression des bandes d'absorption est certainement due aux liaisons formées pendant la réticulation ioniquequi a eu lieu entre les fonctions carboxylates déprotonées (chargées négativement) de l'alginate de sodium et les fonctions amines primaires protonées du chitosane aboutissant à la formation du complexe Al/Chi **[43].**

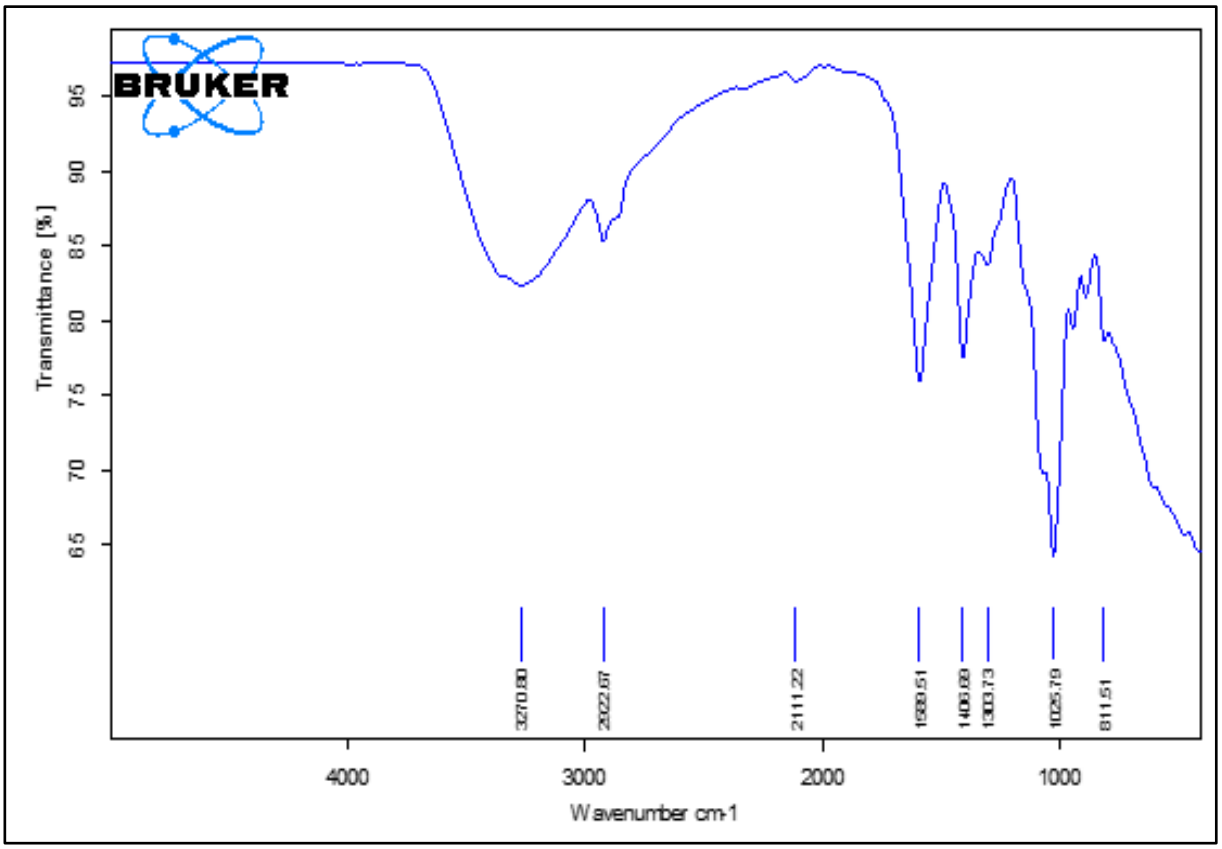


Figure III.7. Spectre IR du Complexe polyélectrolyte Al/chi

III.4. Formulation et caractérisation des membranes polymériques

III.4.1. Préparation des membranes d'alginate de sodium

Les membranes d'alginate de sodium sont préparées selon la procédure suivante :

- Une solution à 1 % (w/w) d'alginate de sodium est préparée en solubilisant 2.5 g d'alginate de sodium en poudre dans 250 ml d'eau distillée sous agitation magnétique (500 rpm) pendant 2h.
- La solution obtenue est coulée dans des boîtes de pétri.
- La boite de pétri recouverte par un film en aluminium est séchée à la température ambiante pendant 24heures.
- Les membranes formées sont démoulées et stockées.

III.4.2. Préparation des membranes de chitosane

- Une solution à 1 % (w/w) de chitosane est préparée en solubilisant 2.5 g de chitosane en poudre dans 250 ml d'acide acétique à 1% (v/v) sous agitation magnétique (300 rpm) pendant 1h.
- La solution obtenue est coulée dans des boîtes de pétri.
- La boite de pétri recouverte par un film en aluminium est séchée à la température ambiante pendant 24heures.
- Les membranes formées sont démoulées et stockées.

III.4.3. Préparation des membranes de Al/Chi

Pour préparer des membranes du mélange Al/Chi :

- On prépare une solution d'alginate de sodium à 1% en poids.
- On prépare une solution de chitosane à 1% en poids à pH ≈ 4.
- On mélange les deux solutions sous agitation magnétique en ajoutant la solution d'alginate goute à goute (à un débit de 1ml/s) à la solution de chitosane.
- La solution du mélange est coulée dans des boites de Pétri.
- La boite de pétri recouverte par un film en aluminium est séchée à la température ambiante pendant 24heures.
- Les membranes formées sont démoulées et stockées.

Différentes membranes sont synthétisées à partir de mélanges en proportions massiques variables d'alginate de sodium et de chitosane. Ainsi, différents ratios alginate/chitosane sont testés pour la synthèse des membranes et leurs caractérisations.

Les différentes membranes obtenues sont énumérées dans le tableau suivant (Tableau III.5)

Tableau III.5. Composition des membranes du mélange Alginate / Chitosane

N°	**Composition des membranes formulées**	
	Alginate de sodium(%)	**Chitosane(%)**
F1	100	0
F2	75	25
F3	50	50
F4	25	75
F5	0	100

La figure (III.8). montre la méthode de fabrication des membranes de l'alginate de sodium, de chitosane et du mélange Al/Chi.

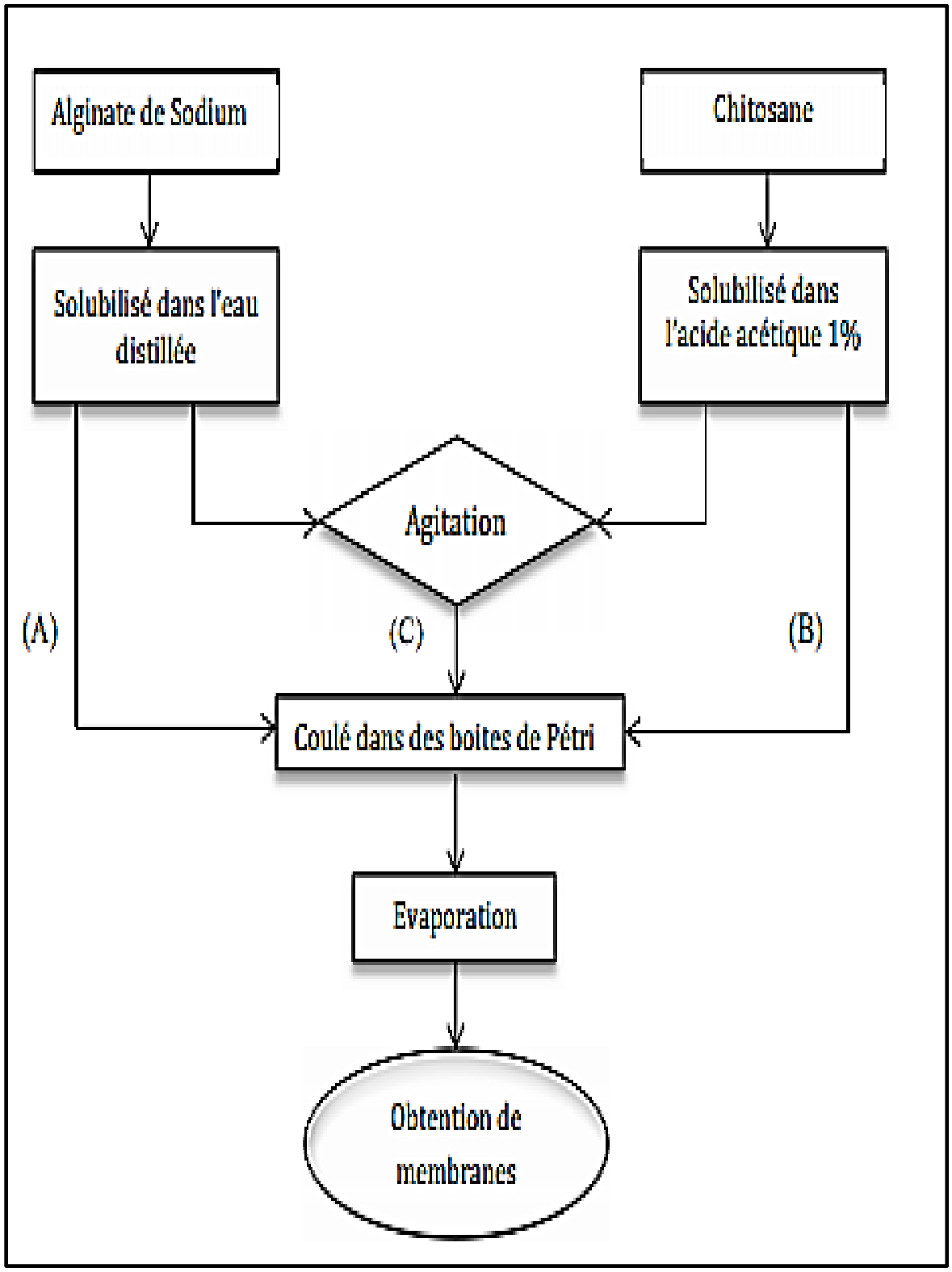


Figure III.8. Préparation des membranes d'alginate de sodium (**A**) ; de chitosane (**B**) ; et leur mélange Al/Chi (**C**).

III.5. Caractérisation des membranes

III.5.1. Aspect et épaisseur des membranes

La figure(III.9) représente les différentes membranes obtenues.

Les principales caractéristiques visuelles pour chacune des membranes obtenues sont notées comme suivant :

- ✓ Les membranes à base d'alginate de sodium seul (F1) sont transparentes, lisses, souples et flexibles.
- ✓ Les membranes à base de chitosane seul (F5) obtenues ont une belle apparence, lisses, flexiblités durables et transparentes avec une couleur légèrement jaunâtre.
- ✓ Les membranes des mélanges Al/Chi (F2, F3 et F4) sont flexibles et légèrement opaques.
- ✓ Cette opacité est générée par la formation des complexes Al/chi à différentes proportions des deux biopolymères.
- ✓ Nous avons constaté que le maximum d'opacité est observé pour des proportions en Al/Chi de 50/50.
- ✓ Le ratio en Al/Chi de 50/50 (F3) correspond donc à une proportion pour laquelle la réticulation est maximale et où le rapport de charge est équilibré entre les deux biopolymères.
- ✓ Au-dessous de ce rapport unitaire (F2) ou les proportions Al/Chi sont de 75/25, le chitosane, en défaut, limite la formation de chaines polyélectrolytes.
- ✓ A l'inverse, pour les proportions en chitosane supérieures à 50% (F4), la formation des chaines polyélectrolytes est limitée par l'excès de chitosane.

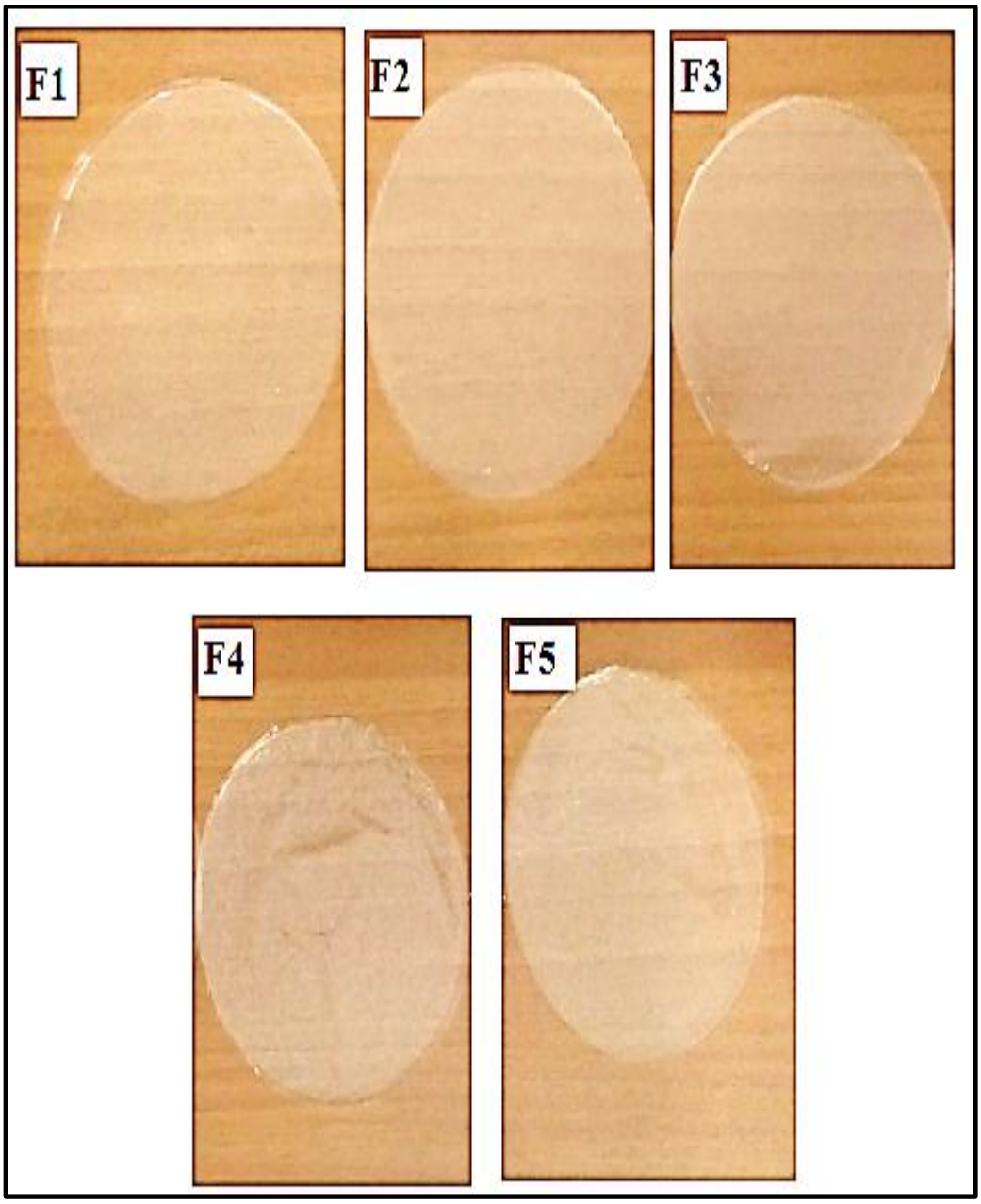


Figure III.9. Membranes obtenues par voie humide « solvent casting ».

Les mesures de l'épaisseur moyenne des membranes préparées ont été réalisées en utilisant un micromètre digital (FigureIII.10). L'analyse a été réalisée sur cinq côtés de chaque film. Une analyse statistique de la moyenne et du coefficient de variation sont effectués sur chaque série d'analyse effectuée. Les résultats sont énumérés dans le tableau (III.6).



Figure III.10. Micromètre digital (de marque Electronic)

Tableau III.6. Epaisseur moyenne des membranes préparées.

Formule	Epaisseur moyenne (µm)	CV(%)
F1	148.25	1.7
F2	362.75	3.2
F3	277.87	1.1
F4	324.41	2.8
F5	114.01	2.9

CV : Coefficient de variation

L'analyse des données montre des valeurs de l'épaisseur des membranes qui varie d'une formule à l'autre selon la concentration en Al en Chi.

En effet, l'épaisseur des membranes pures en Al et Chi sont de l'ordre de 148.25 µm pour la formule F1, composée de 100% d'Al, et de 114.01 µm pour la F5 composée de 100% de Chi.

L'épaisseur des membranes des mélanges de PEC formées par l'Al et le Chi est plus importante. Les valeurs de l'épaisseur des membranes PEC varient entre 277.87 µm pour F3 et 362.75 pour F2.

L'analyse statistique des données montre une variation uniforme de l'épaisseur des membranes traduite par des résultats reproductible, illustré par un coefficient de variation très petit (<5%). La figure (III.10) montre la variation de l'épaisseur des membranes en fonction des différentes formulations.

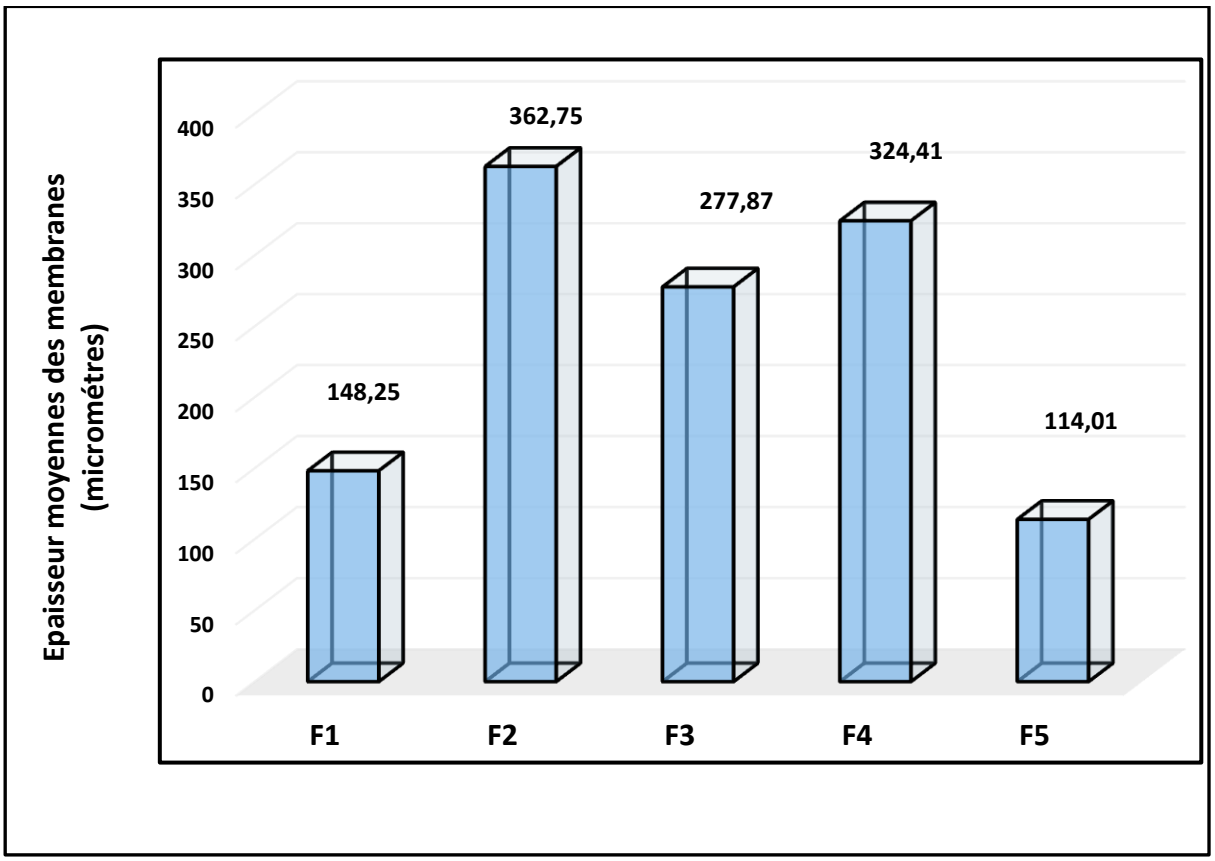


Figure III.11. Epaisseurs moyennes des membranes préparées

III.5.2. Etude du gonflement des membranes polymériques

Afin de réaliser les tests de gonflement, les membranes sont découpées en petits carrés de dimensions (2 × 2) cm^2. Les tests ont été appliqués sur les membranes coupées en utilisant différents milieux (solutions tampons) : milieu pH = 6.8 et milieu pH = 7.4.

- **Préparation des solutions tampons phosphate-citrate**

Cette méthode nous permet de préparer plusieurs solutions tampon à différents pH (allant de 2.2 à 8.0). Pour ce présent travail, des solutions : tampon pH = 6.8 et tampon pH = 7.4 ont été préparés. Pour cela, il faut préalablement préparer deux solutions A et B. Par la suite, des mélanges avec différents volumes de ces deux solutions nous permettront d'obtenir des solutions tampons au 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 (Tableau III.7) ont été réalisés pour avoir les solutions tampons désirées **[52].**

Tableau III.7. Différents volumes prélevés pour la préparation de la solution tampon

pH	**Na_2HPO_4, $2H_2O$ (0.5 M)**	**$C_6H_8O_7$, H_2O (0.5 M)**
6.8	61.80 ml	9.10 ml
7.4	72.68 ml	3.66 ml

- **Test de gonflement**

Afin de réaliser le test de gonflement, les membranes d'alginate de sodium, de chitosane, et de leur mélange Al/Chi (PEC) sont coupées avec des dimensions de(2 × 2) cm^2 et pesées à l'état sec et immergées dans les différentes solutions tampons à T=37±1 °C.

Après chaque 30 minute, les membranes sont mises sur des filtres pour éliminer l'excès d'eau puis pesées.

La variation de la masse (ou le taux de gonflement) a été calculée en utilisant l'équation suivante **[53]:**

$$TG = \frac{m_f - m_i}{m_i} \qquad (III.1)$$

Où **mi** et$\mathbf{m_f}$ sont respectivement la masse initiale et la masse finale de la membrane.

Les figures (III.12 et III.13) représentent les taux de gonflement en fonction du temps pour la membraneétudiées dans les différents milieux tampons.

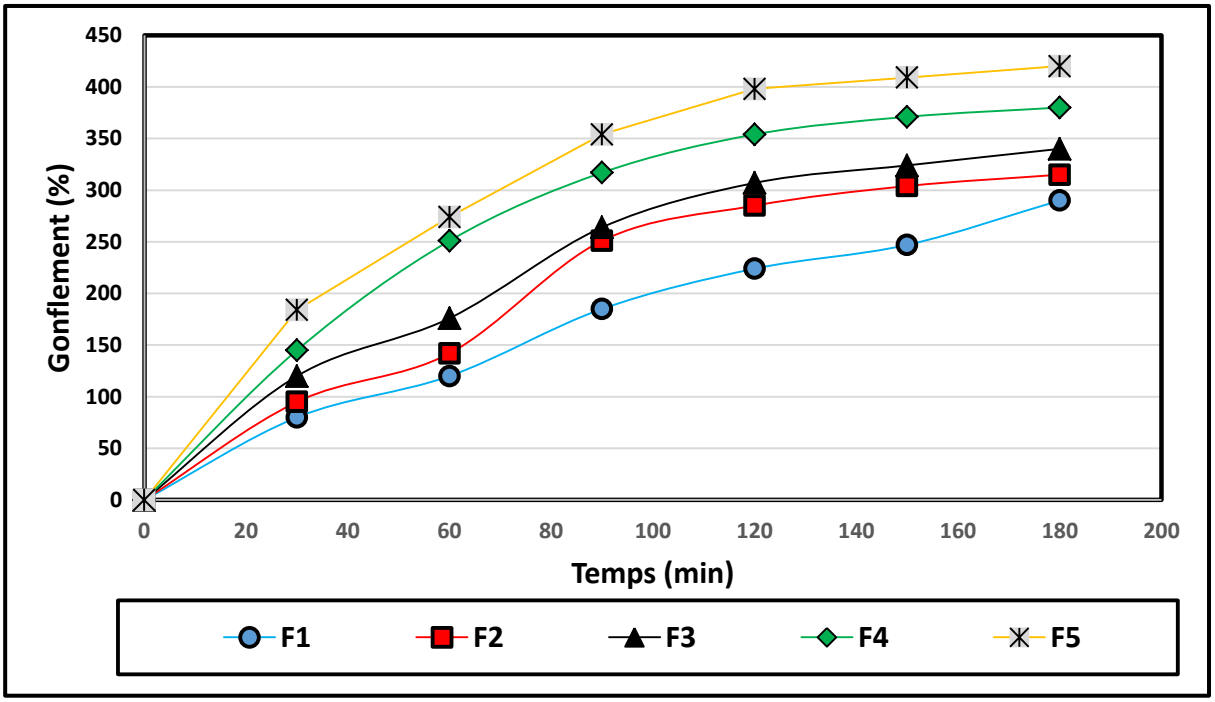


Figure III.12. Variation du taux de gonflement des membranes à PH 6.8.

La figure (III.12) représente le taux de gonflement en fonction du temps des membranes de PEC dans le tampon pH6.8. On remarque que toutes les membranes ont des taux de gonflement qui augmentent en fonction du temps **[54].**

En effet, la mise en contact des membranes avec la solution tampon augmente leurs poids par diffusion du milieu extérieur vers les réseaux polymérique formant les membranes. Les taux de gonflement augmentent avec l'augmentation de la concentration en Chi des membranes testées **[55].**

Ainsi, le taux de gonflement final de la formule F1 (100% Al, 0% Chi) est de 290%, ce taux augmente graduellement en passant à 315 % (F2, 25% de Chi), 340% (F3, 50% en Chi), 380 % (F4, 75% de Chi), et atteint un taux maximum de 420 % pour la formule F5 (100% de Chi).

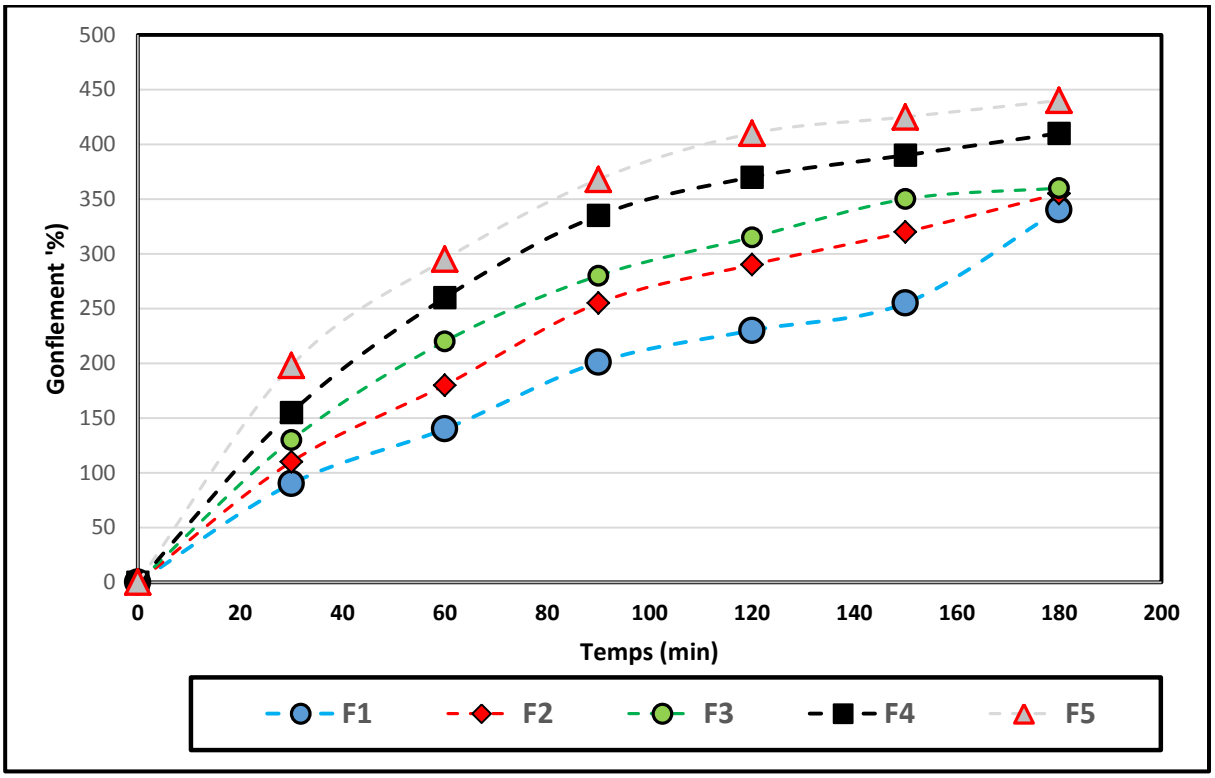


Figure III.13. Variation du taux de gonflement des membranes à pH7.4.

La figure (III.13) représente le taux de gonflement en fonction du temps des membranes de PEC dans le tampon pH7.4. La cinétique de gonflement des membranes dans ce milieu est plus importante que le milieu 6.8. Cela peut être dû au fait que les membranes sont beaucoup plus ionisées en milieu 7.4 qu'on milieu 6.8, à cause des charges portées par les PEC ainsi que les biopolymères individuels. L'augmentation de degré d'ionisation des membranes augmente le les taux d'absorption des réseaux polymériques formant les membranes **[54].**

Cependant un fort taux de réticulation lors de la formation des PEC, réduit le gonflement des membranes du mélange Al/Chi. Le réseau du PEC est plus compact et s'oppose au gonflement par comparaison avec les membranes en Chi seul (F5) **[55].**

III.6. Conclusion

L'étude de la formation d'un complexe polyélectrolyte à base d'Al et de Chi à différentes proportions volumique a été effectuée. La caractérisation physicochimique réalisée par l'étude de la variation de la conductivité, la turbidité et le pH des solutions PEC formées a montré une complexation maximale à un rapport volumique optimal en (Al/Chi) de (50 / 50), représenté par la formule F3. L'analyse par spectroscopie FTIR a confirmé la formation du complexe Al/Chi par réticulation entre les groupements ($–COO^-$) de l'Al et les groupements amines protonés ($-NH3^+$) du Chi.

Les membranes à base de PEC ont été préparées et présentent un aspect homogène, flexible, souple et d'épaisseur fine.

L'étude du gonflement des différentes membranes à pH 6.8 et pH7.4 a montré que l'alginate de sodium réduit effectivement la tendance de gonflement du chitosane, au différents pH étudiés. A partir des résultats obtenus, nous pouvons affirmer que, l'alginate de sodium et le chitosane sont deux biopolymères parfaitement compatibles et miscibles, pouvant être utilisées comme support d'un dispositif transdermique.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Contrairement aux 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 (Alginate de sodium et chitosane) pour la mise au point et la caractérisation de membranesà usage transdermique.

La caractérisation physicochimique réalisée par l'étude de la variation de la conductivité, la turbidité et le pH des solutions PEC formées a montré une complexation maximale à un rapport volumique optimal en (Al/Chi) de (50 / 50), représenté par la formule F3. L'analyse par spectroscopie FTIR a confirmé la formation du complexe Al/Chi par réticulation entre les groupements ($–COO^-$) de l'Al et les groupements amines protonés ($-NH3^+$) du Chi.

Les membranes à base de PEC ont été préparées et présentent un aspect homogène, flexible, souple et d'épaisseur fine. L'étude du gonflement des différentes membranes à pH 6.8 et pH7.4 a montré que l'alginate de sodium réduit effectivement la tendance de gonflement du chitosane, au différents pH étudiés.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons affirmer que, l'alginate de sodium et le chitosane sont deux biopolymères parfaitement compatibles et miscibles, pouvant être utilisées comme support d'un dispositif transdermique.

Dans les perspectives, certains aspects de caractérisation n'ont pas pu être abordés dans ce travail et complèteraient idéalement les résultats présentés. Plus particulièrement, La microscopie électronique à balayage (MEB) qui permet l'observation directe de la morphologie des membranes et la distribution des phases.

Références bibliographiques

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

[2] M. F. Mayka, thèse du doctorat, Université III paulsabatier, France, 2014.

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

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

[5] E. Keleb, R. K. Sharma, E. B. Mosa, A. Z. Aljahwi, Transdermal Drug Delivery System Design and Evaluation, International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences, 1, 201-211, 2010.

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

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

[8] F. Falson-Rieg, F. Pirot, Nouvelles formes médicamenteuses, Tec & Doc Cachan : Éditions médicales internationales, 267-279, 2004.

[9] Bhowmik, D. Chiranjib, M. Chandira, B. Jayakar, K. P. Sampath, Recent advances in transdermal drug delivery system, International Journal of PharmTech Research, 2, 68-77, 2010.

[10] G. M. Shingade, Q. Aamer, P. M. Sabale, N.D. Grampurohit, , M.V. Gadhave, Review on: Recent Trend on Transdermal Drug Delivery System, Journal of Drug Delivery & Therapeutics, 166-175, 2012.

[11] R.F. Landel, L.E. Nielsen, Mechanical properties of polymers and composites II. Eds Marcel Dekker, CRC Press, New-York, USA, 1974.

[12] J.M. Gordon and J.S. Taylor, Ideal copolymers and second-order transitions of syntheticrubbers, I. Non-crystalline copolymers, Journal of Applied Chemistry, 2, 493-500, 1952.

[13] C. Combellas, F. Kajzar, G. Mathey, M.A. Petit, A. Thiébault, Zwitteronic polymers for nonlinear optics. Chemicals physics, 252, 165-177 ,2000.

[14] J. Desbrieres, Chitin and chitosane, ActualitéChimique, 11/12, 39-44, 2002.

[15] N.V. Majeti, K. Ravi, A review of chitin and chitosan applications, Reactive &Functional Polymers, 46, 1-27,2000.

[16] X.Wang, Y. Du, L. Fan, H. Liu, Y. Hu, Chitosan- metal complexes as antimicrobial agent: Synthesis, characterization and Structure-activity study, Polymer, 55, 105–113, 2005.

[17] M. L. Huguet, E. Dellacherie, R. J. Neufeld, Calcium-alginate beads coated with polyca tionic polymers: comparison of chitosan and DEAE-Dextran. Process Biochemistry, 31, 347-353,1996.

[18] Y. Eshita, R.C. Ji, M. Onishi, M. Mizuno, J. Yoshida, N. Kubota, Y. Onishi, Supramolecular facilities to melanoma cells B16F10 with nanoparticles of a DEAE-DextranMMA copolymer-paclitaxel Complex, Nanomedicine& Nanotechnology, 1-6,2012.

[19] Z. Souguir, S. Roudesli, E. About-Jaudet, L. Picton, D. Le Cerf, Novel cationic and amphiphilicpullulan derivatives II: pH dependant physicochemical properties, Carbohydrate Polymers, 80,123-129,2010.

[20] Z. Souguir, S. Roudesli, E. About-Jaudet, L. Picton, D. Le Cerf, Novel cationic and amphiphilicpullulan derivatives I: Synthesis and characterization, European Polymer Journal, 43,4940-4950,2007.

[21] K.D. Mack, R. Wei, A. Elbagarri, N. Abbey, M.S. McGrath, A novel method for DEAEdextran mediated transfection of adherent primary cultured human macrophages, Journal of Immunological methods, 211, 79-86, 1998.

[22] A.M. Durrani, S.J. Farr, I.W. Kellaway, Influence of molecular weight and formulation pH on the precorneal clearance rate of hyaluronic acid in the rabbit eye. International Journal of Pharmaceutics, 118, 243-250, 1995.

[23] J.G. Alauzun, S. Young, R. D'Souza, L. Liu, M.A. Brook, H.D. Sheardown, Biocompatible, hyaluronic acid modified silicone elastomers, Biomaterials, 31, 3471- 3478, 2010.

[24] O.H.M. Idris, P.A. Williams, G.O. Phillips, Characterisation of gum from Acacia Senegal trees of different age and location using multidetection gel permeation chromatography. Food hydrocolloids, 12, 379-388, 1998.

[25] J.Mocak, P. Jurasek, G.O. Phillips, S. Varga, E. Cassadei, B.N. Chikemai, The classification of natural gums, X, Chemometric characterization of exudates gums that conform to the revised specification of the gum Arabic for food use, and the identification fadulterants, Food hydrocolloids, 12, 141-150, 1998.

[26] C.Cozic, L. Picton, M.R. Garda, F. Marlhoux, D. Le Cerf, Analysis of arabic gum: study of degradation and water desorption processes, Food Hydrocolloid, 23, 1930-1934, 2009.

[27] R. Dhami, S.E. Harding, T. Jones, T. Hughes, J.R. Mitchell, To, K. Physico-chemical studies on a commercial food-grade xanthan-I , Characterization by sedimentation velocity, sedimentation equilibrium and viscometry,Carbohydrate polymers, 27, 93-99, 1995.

[28] T. D. Leathers, Biotechnological production and applications of pullulan, Applied Microbiology and Biotechnology, 62, 468-473, 2003.

[29] T. Painter, O. Smidsrød, B. LARSEN, and A. HAUG, "A computer study of the changes in the composition-distribution occurring during random depolymerisation of a binary linear heteropolysaccharide", Acta Chem. Scand , 22, 1637–1648, 1968.

[30] I. colinet, "Poly(ε-caprolactone)-g-alginate: synthèse, caractérisation physico-chimique en solution aqueuse et application à la séquestration et à la libération contrôlée", Polymères fonctionnels, élaboration et propriétés, Université de Rouen, 2007.

[31] A. M. Stephen and G. O. Phillips, Food polysaccharides and their applications, vol. 160. CRC Press, 2010.

[32] G. Blaine, Experimental observations on absorbable alginate products in surgery: gel, film, gauze and foam, Ann. Surg., 125, 102–140, 1947.

[33] D. A. Rees and E. J. Welsh, Secondary and tertiary structure of polysaccharides in solutions and gels, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 16, 214–224, 1977.

[34] O. Smidsrød and G. Skjåk-Bræk, Alginate as immobilization matrix for cells, Trends biotechnology, 8, 71–78, 1990.

[35] A. Martinsen, G. Skjåk-Bræk, and O. Smidsrød, "Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads", Biotechnology Bioengineering, 33,79–89, 1989.

[36] M. Rastello De Boisseson, M. Leonard, P. Hubert, P. Marchal, A. Stequert, C. Castel, E. Favre, and E. Dellacherie, Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: bead formation, structure, and stability, Journal of Colloid Interface Science, 273, 131–139, 2004.

[37] K. Y. Lee and D. J. Mooney, Alginate: properties and biomedical applications, Progress Polymer Science, 37,106–126, 2012.

[38] S. N. Pawar and K. J. Edgar, "Alginate derivatization: a review of chemistry, properties and applications", Biomaterials, 33, 3279–3305, 2012.

[39] L. Picton, C. Karakasyan, and D. Le Cerf, Alginate and its derivates for pharmaceutical and medicinal applications, Ed. M. POPA, R.M. ,OTTENBRITTE, C.V. UGLEA., vol. 1: Macromolecular Drugs. American Scientific Publishers, California, USA: In MEDICAL APPLICATIONS OF POLYMERS, 81-116, 2011.

[40] King, A.H. King, Brown Seaweed extracts (Alginates), Food hydrocolloids, 2 , 115-188. 1983.

[41] B.H.A. Rehm, S. Valla, Bacterial alginates: biosynthesis and applications ,Applied Microbiology and Biotechnology, 48 , 281-288, 1977.

[42] A. Muzzarelli, A. Riccardo, Chitin, Pergamon Press, Oxford, chap 2 ,1977.

[43] K. Okuyama, K. Noguchi, M. Kanenari, T. Egawa, K. Osawa, K. Ogawa, Structural diversity of chitosan and its complexes, Carbohydrate Polymers, 41, 237-247,2000.

[44] M. W. Anthonsen, K. M. Varum, O. Smidsrod, Solution properties of chitosans : conformation and chain stiffness of chitosans with different degrees of N-acetylation,Carbohydrate Polymers, 22, 193-201,1993.

[45] J-H Pa, T. L. Yu, Light scattering study of chitosan in acetic acid aqueous solutions,Macromolecular Chemistry and Physics, 202, 985-991 ,2001.

[46] M. Rinaudo, G . Pavlov, J. Desbrières, Influence of acetic concentration on the solubilization of chitosan, Polymer, 40, 7029-7032 ,1999.

[47] R. Muzzarelli, V. Baldassarre, F. Conti, P. Ferrara, G. Biagini, G. Gazzanelli, V. Vasi, Biological activity of chitosan : ultrastructural study, Biomaterials, 9, 247-252,1988.

[48] M. N. V. R. Kumar, A review of chitin and chitosan applications, Reactive and functional polymers, 46, 1-27,2000.

[49] R.Chandra, et R. Rustgi, Biodegradablepolymers, Progress in Polymer Science, 23,1273-1335, 1998.

[50] F. Podczeck, et B. Jones, Pharmaceutical Capsules. Second Edition. London : Pharmaceutical Press , 2004.

[51] M.NisperosCarriedo, Edible coatings and films based on polysaccharides , 305-335, 1994.

[52] Pharmacopéeamericaine USP 23, NF21, 2011.

[53] 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.

[54] 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*, 57, no.1, 35–52, 2004.

[55] 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*, 59, no. 4, 717–719, 1995.