



Mémoire de Master

Présenté par :

- M^{elle} ABZAR Fahima
- M^{elle} BENAMARA Célia

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Spécialité : Analyse chimique

Thème :

**Etude de l'influence des paramètres expérimentaux
sur les caractéristiques des microparticules de
PLA/Metformine**

Soutenu le : 30/06/2016.

Devant le jury composé de :

Nom & Prénom	Département d'affiliation	Qualité
FATMI Sofiane	Génie des procédés	Président
DJAMA Nouria	Chimie	Examineur
REZGUI Farouk	Génie des procédés	Encadreur
BOURICHE Sihem	Génie des Procédés	Co-Encadreur

2015-2016

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à :

Notre promoteur Mr Rezgui Farouk, qui nous a permis de bénéficier de la qualité de son encadrement, les conseils qu'il nous a prodigué, la patience, la confiance qu'il nous a témoigné.

Une reconnaissance et des remerciements infinis sont adressés à Mlle BOURICHE Sihem, la co-promotrice, qui nous a guidé dans chaque pas, qui était présente a tout moment pour répondre à nos questions.

On remercie vivement, les membres du jury qui ont accepté de valoriser ce travail.

Nous souhaitons adresser nos vifs remerciements a l'ensemble des techniciens du laboratoire de génie du bloc 11 de l'université A. Mira de Bejaia plus précisément Mme OUAHIBA ainsi que Mme BERADAI.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant toutes nos années d'études.

Toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin de quelque façons que ce soit, a la concrétisation de ce travail.



DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail.

*A mon père en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant,
te préserver et l'accorder santé et prospérité ;*

*A ma mère : qu'elle trouve ici l'hommage de ma gratitude, si grande qu'elle puisse
être, ne sera a la hauteur de ses sacrifices et ses prière pour moi ;*

A mes sœurs Sabrina et Inass à qui souhaite beaucoup de réussite et de bonheur ;

A tout la famille ABZAR et LOUNIS

A mon chère binôme Célia en témoignage de l'amitié qui nous unie ;

*A tous mes amis : Dalila, Iman, Salima, yasmina, farid qui me sont chères, qu'ils
trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus
sincères ;*

A toute la promotion chimie analytique

Que Dieu le tous puissant vous préserve tous et vous procure sagesse et sérénité.

Fahima

Dédicaces

Tout d'abord, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force, la chance et la patience pour achever ce travail.

En suite, je passe mes dédicaces à ma chère maman Zahia et mon cher papa Massaoud qui m'ont éduqué de la meilleure façon qui soit. Je tiens à leur faire part de ma reconnaissance infinie pour tout ce qu'ils sacrifié pour faire de moi la personne qui je suis. Longue vie à vous incha'Allah.

Je remercie aussi mes chères sœurs, Nassima, Dida, Shrouti, Fatima, Kahina et Yasmine.

Et mes chers frères Salem, Rabah et Loucif, je leurs souhaite beaucoup de réussite, de bonheur et de bonne santé. Sans oublier mes chères grands-mères.

Aussi je dédie ce travail pour mes amis Fatiha, Samia, Nani, Thamila, Radia, Roza, mes camarades, et tous ceux qui ont vécu avec moi les instants les plus difficiles durant ce travail.

Célia

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I : Revues de la littérature

I.1 Diabète sucré.....	3
I.1.1 Définition du diabète sucré	3
I.1.2 Types de diabètes.....	3
I.1.2.1 Diabète de type 1 (insulino-dépendant)	3
I.1.2.2 Diabète de type 2 (non insulino-dépendant)	3
I.2 Traitement du diabète avec les biguanides.....	4
I.3. Chlorhydrate de metformine	4
I.4. Propriétés physico-chimique du chlorhydrate de metformine	5
I.5. Mécanisme d'action de chlorhydrate de metformine	5
I.6. Pharmacocinétiques du chlorhydrate de metformine.....	6
I.7. Encapsulation.....	7
I.7.1 Historique de l'encapsulation.....	7
I.7.2 Définition de l'encapsulation	7
I.7.3 Intérêts de la microencapsulation	8
I.7.4 Morphologie des microcapsules.....	8
I.7.4.1 Les microcapsules.....	8
I.7.4.2 Les microsphères.....	8
I.7.5 Techniques de la microencapsulation.....	10
I.8. Encapsulation par évaporation du solvant/émulsion.....	12
I.8.1. Emulsion.....	12
I.8.2. Définition d'émulsion	12
I.8.3 Différents types d'émulsion	13
I.8.3.1. Émulsion doubles	13
I.9. Les polymères utilisés en micro encapsulation	16
I.9.1. Polymère de l'acide lactique.....	18

I.9.2. Composition chimique de l'acide lactique (PLA)	18
I.9.3. Propriétés du PLA	20
I.9.4. Application du PLA	20
I.9.7. Application des polymères biodégradables	21
I.9.7.1. En médecine et pharmacie.....	21
I.9.7.2. En agriculture.....	21
I.9.7.3. En emballage	21
I.10. Techniques utilisés pour la caractérisation des microparticules.....	21
I.10.1. Spectroscopie UV-visible.....	21
I.10.1.1. Principe spectroscopie UV-Visible.....	22
I.10.2. Spectrophotométrie IR-TF.....	23
I.10.2.2. Principe de l'IR-TF.....	23
I.10.2.3. Préparation du l'échantillon dans l'IR TF.....	24
I.10.3. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	24
I.10.3.1. Définition de MEB.....	24
I.10.3.2. Principe de MEB.....	25

Chapitre II : Synthèse des microparticules

II. Introduction.....	27
II.1. Matériels et méthodes.....	27
II.1.1. Matériels.....	27
II.1.1.1. Dichlorométhane (CH ₂ Cl ₂).....	27
II.1.1.2. Polymère : Poly (acide lactique) (PLA).....	28
II.1.1.3. Tensioactifs.....	29
II.1.1.3.1. Polyvinyl alcool (PVA).....	29
II.1.1.3.2. Sodium dodécyl sulfate (SDS).....	30
II.1.1.3.3. Bromure de cetyl-triméthyl ammonium (CTAB).....	30
II.1.1.4. Principe actif : Chlorhydrate de metformine.....	31
II.1.2. Méthodes.....	31

II.1.2.1. Préparation des phases aqueuses externes (w_2).....	31
II.1.2.1.1. Préparation des solutions du PVA.....	31
II.1.2.1.2. Préparation des solutions CTAB et SDS à 0,1%.....	32
II.1.2.2. Préparation de la phase aqueuse interne à 0,05% (w_1).....	32
II.1.2.3. Préparation de la phase organique (O).....	32
II.1.3. Mode opératoire de préparation des microparticules.....	32
II.1.3.1. L'influence de la concentration du tensioactif du (PVA)	33
II.1.3.2. L'influence des tensioactifs	33
II.1.3.3. L'influence de la vitesse d'agitation	33
II.1.4. Détermination de taux d'encapsulation.....	34
II.1.5. Rendement d'encapsulation (R%).....	34

Chapitre III : Caractérisation des microparticules

III. Résultats et discussions.....	35
III.1. Spectrophotométrie UV-Visible du chlorhydrate de metformine.....	35
III.2. Dosage de chlorhydrate de metformine par UV-Visible.....	35
III.3. Influence des paramètres expérimentaux sur le rendement et le taux d'encapsulation...36	
III.3.1. Influence de la concentration du PVA.....	36
III.3.2. Rendement des microparticules en absence des la metformine.....	37
III.3.3. Influence de la nature du tensioactif.....	38
III.3.4. Influence de la vitesse d'agitation.....	39
III.3.4.1. A la vitesse d'agitation 700 tr/min.....	39
III.3.4.2. A la vitesse d'agitation 1000 tr/min.....	40
III.3.4.3. A la vitesse d'agitation 1200 tr/min.....	40
III.4. Comparaison entre les rendements des tensioactifs à différent vitesse d'agitation.....	40
III.5. Analyse spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF).....	43
III.5.1. Spectre IR-TF du PLA.....	43
III.5.2. Spectre IR-TF de chlorhydrate de metformine.....	45
III.5.3. Spectre IR-TF du PLA, metformine, et d'E1, E2, E3, E4 à différentes concentration du PVA.....	46

III.5.4. Spectre IRTF de des microparticules avec le SDS 0.1% à différentes vitesses	47
.....	
III.5.5. Spectre IRTF du PLA, metformine, et les microcapsules contenant la metformine préparé avec CTAB.....	50
III.6.Caractérisations des microcapsules par le MEB.....	52
III.6.1. Influence des paramètres expérimentaux sur la morphologie des microcapsules.....	52
III.6.1.1.Influence de la concentration de PVA.....	52
III.6.1.2. Morphologie des microparticules en absence de la metformine.....	55
III.7.1.3. Influence de la nature du tensioactif.....	55
III.7.1.4.Influence de la vitesse d'agitassion.....	57
Conclusion et perspectives.....	62

Références bibliographies

Liste d'abréviations

°C : Degré Celsius.
μm : Micromètre.
CH₂Cl₂ : Dichlorométhane.
CH₄: Methane.
Cm³: Centimeter cube.
CNE: Comité Européen de Normalisation.
CO₂: Dioxyde de Carbone.
CTAB : Bromure de cétyl-triméthyl ammonium.
D: Dextrogyre.
DRX : Diffraction des rayons X.
E : Eau.
g: Gramme.
H: Huile.
H₂O : Eau.
IR-TF : Infrarouge à Transformée de Fourier.
L: Lévoxyre.
MEB : Microscopie électronique à Balayage.
Min : Minute.
ml : Millilitre.
O: Oil.
PH : Potentiel hydrogène.
PKa : Constante d'acidité.
PLA: Poly acide lactique.
PVA : Polyvinyl alcool.
R: Rectus.
S: Sinister.
SDS : Sodium dodécyl sulfate.
UV : Ultra violet.
W: Water.

Liste des tableaux

Chapitre I : Rappels bibliographiques.

Tableau I.1 : Avantages et inconvénient des systèmes réservoirs et matriciels.....	9
Tableau I.2 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé.....	11
Tableau I.3 : Polymère utilisé en microencapsulation.....	17

Chapitre II : Synthèse des microparticules.

Tableau II.1 : Propriétés physico-chimiques de dichlorométhane.....	28
Tableau II.2 : Propriétés physico-chimiques de PVA.....	29

Chapitre III : Caractérisations des microparticules.

Tableau III.1. Taux d'encapsulation et rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à différents concentration du PVA.....	36
Tableau III.2. Rendement des microparticules obtenues sans chlorhydrate de metformine...38	
Tableau III.3. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à différents tensioactifs.....	38
Tableau III.4. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à une vitesse d'agitation 700 tr/min.....	39
Tableau III.5. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à une vitesse d'agitation de 1000 tr/min.....	40
Tableau III.6. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à la vitesse d'agitation 1200 tr/min.....	41
Tableau III.7: Principales bandes caractéristiques du PLA.....	44
Tableau III.8 : Principales bandes IR observables pour le chlorhydrate de metformine pur.45	
Tableau III.9 : Tailles des microcapsules obtenues.....	55

Liste des figures

Chapitre I : Rappels bibliographiques.

Figure I.1 : Structure chimique du chlorhydrate de metformine.....	5
Figure I.2 : Mécanisme d'action du chlorhydrate de metformine dans l'organisme.....	6
Figure I.3 : Morphologie des microparticules.....	9
Figure I.4 : Description d'une émulsion double directe.....	14
Figure I.5 : Représentation des différents types d'émulsion.....	14
Figure I.6 : Représentation schématique de processus de double émulsion.....	15
Figure I.7 : Aspect physique de poly (acide lactique) (PLA).....	18
Figure I.8 : Structure chimique du PLA.....	18
Figure I.9 : Stéréo-isomères de l'acide lactique.....	19
Figure I.10 : Les trois isomères du lactide.....	19
Figure I.11 . Schéma représentant d'une radiation à travers la cuve.....	22
Figure I.12 . Schéma de principe du spectrophotomètre UV-Visible.....	23
Figure I.13 . Schéma de principe de spectrophotomètre IR-TF.....	24
Figure I.14 . Microscopie électronique à balayage.....	25
Figure I.15 . Principe du microscopie électronique à balayage.....	26

Chapitre II : Synthèse des microparticules.

Figure II.1 : Formule développée de CH_2Cl_2	27
Figure II.2 : Aspect physique de CH_2Cl_2	27
Figure II.3 : Aspect physique de PLA.....	28
Figure II.4 : Formule développée du PLA.....	28

Figure II.5 : Formule développée de PVA.....	29
Figure II.6 : Aspect physique de PVA.....	29
Figure II.7 : Formule développée de SDS.....	30
Figure II.8 : Aspect physique de SDS.....	30
Figure II.9 : Formule développée de CTAB.....	30
Figure II.10 : Aspect physique de CTAB.....	30
Figure II.11 : Formule développée du chlorhydrate de metformine.....	31
Figure II.12 : Aspect physique du chlorhydrate de metformine.....	31

Chapitre III : Caractérisation des microparticules

Figure III.1. Spectre UV du chlorhydrate de metformine dans l'eau distillée.....	35
Figure III.2. Courbe d'étalonnage de la metformine HCl dans l'eau distillée à 232 nm.....	36
Figure III.3. taux d'encapsulation et le rendement en fonction de différente concentration du PVA à la vitesse d'agitation 400 tr/min.....	37
Figure III.4. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à une vitesse d'agitation de 400 tr/min.....	38
Figure III.5. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à une vitesse d'agitation de 700 tr/min.....	39
Figure III.6. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à la vitesse d'agitation 1000 tr/min.....	40
Figure III.7. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à la vitesse d'agitation de 1200 tr/min.....	41
Figure III.8. Rendement en fonction des vitesses d'agitation pour différent tensioactifs.....	42
Figure III.9: Spectre IR-TF de PLA.....	43

Figure III.10 : Spectre IR-TF du chlorhydrate de metformine.....	45
Figure III.11: Spectre IRTF du PLA, metformine et les microparticules contenant le chlorhydrate de metformine.....	46
Figure III.12 : Spectres IR-TF du PLA, metformine, et les microparticules contenant la metformine entre 400 cm^{-1} et 4000 cm^{-1}	47
Figure III.13 : Spectre IR-TF des microparticules de PLA contenant la metformine entre 1600 et 2000 cm^{-1}	48
Figure III.14 : Spectre IRTF du PLA, metformine, et les microparticules contenant la metformine entre 800 et 1200 cm^{-1}	49
Figure III.15 : Spectre IRTF du PLA, metformine, et les microparticules contenant la metformine entre 400 et 4000 cm^{-1}	50
Figure III.16: Spectre IRFT des microparticules contenant la metformine entre 900 et 1300 cm^{-1}	51
Figure III.17 : Spectre IRTF des microparticules contenant la metformine entre 1500 à 2000 cm^{-1}	51
Figure III.18: Spectre IRTF des microparticules PLA/metformine entre 3000 et 4000 cm^{-1}	52
Figure III.19. Micrographie électronique à balayage des microcapsules à un grossissement de 100 μm pour les différentes concentrations de PVA : E1 (0,01%) ; E2 (0,1%) ; E3 (0,25%) ; E4(0,5%).....	53
Figure III.20. Micrographie électronique à balayage des microcapsules à un grossissement de 20 μm et 50 μm pour les différentes concentrations de PVA : E1(0,01%) ; E2 (0,1%) ; E3 (0,25%) ; E4 (0,5%).....	54
Figure III.21. Micrographie électronique à balayage des microcapsules sans principe actif à différents grossissement.....	55

Figure III.22. Micrographie électronique à balayage des microcapsules a un grossissement de 100µm et 20 µm à diffirentes tensionactif : (E2) PVA 0,1% ; (E6) SDS 0,1% ; (E7) CTAB 0,1%.....56

Figure III.23: Micrographie électronique à balayage des microcapsules a un grossissement de 100µm à diffirentes vitesse d'agitation avec le PVA (0,1%) comme tensioactf: (E2) 400tr/min, (E8) 800 tr/min, (E11) 1000 tr/min, (E14) 1200 tr/min.....58

Figure III.24: Micrographie électronique à balayage des microcapsules aux grossissements varie entre 20µm et 50 µm à diffirentes vitesse d'agitation avec PVA (0,1%) comme principe actif : (E2) 400tr/min, (E8) 800 tr/min, (E11) 1000 tr/min, (E14) 1200 tr/min.....59



INTRODUCTION



Sur le marché et depuis plus de 60 ans, la metformine reste le seul médicament essentiel dans la réserve thérapeutique du diabète du type 2 [1].

Ce médicament est un anti diabétique oral qui fait partie de la classe des biguanides normoglycémiants, utilisés comme des régulateurs du taux de sucre dans le sang [2].

Cette antidiabétique est classée parmi les principes actifs hydrophiles, elle présente une faible biodisponibilité 50-60%, et caractérisé par un temps de demi vie court d'environ 1.5 à 3h, ce qui nécessite plusieurs administrations par jours. Toutefois il est également possible que le malade lui-même sente une certaine gêne à l'égard des prises multiples du médicament qui s'administre à longueur de journée [3].

Afin d'améliorer la biodisponibilité de ce médicament, l'encapsulation (la d'émulsion/évaporation de solvant) des principes actifs dans des polymères biodégradable reste la seule stratégie accessible.

L'encapsulation est définie comme l'ensemble des technologies qui permettent de piéger ou enrober des composés sensible dans une microcapsule. C'est une technologie de plus en plus utilisé et qui répond à divers attentes. L'objectif principal de l'encapsulation est d'établir une barrière entre la substance active et le milieu environnant. Cette technique permet de transformer des produits liquides en poudre afin de résoudre les problèmes liés au stockage, à la consommation..., elle assure une libération contrôlée du principe actif [4].

Les émulsions doubles sont des systèmes complexes dont la fabrication fait intervenir de nombreux constituants : de l'eau, de l'huile, des tensioactifs permettant de stabiliser les interfaces [5].

Il existe une énorme gamme des polymères capable de transporter des principes actifs et de régularisé leurs libération contrôlée au même temps, et pour cela, nous allons travailler avec le PLA qui est un polymère biocompatible, biodégradable, biorésorbable. De ce fait, les caractéristiques de ce polymère lui permettant d'être utilisé dans l'encapsulation de la metformine [6].

Le choix des polymères d'encapsulation dépend sur un certains nombre de facteurs : l'objectifs et les conditions de l'utilisation du produit ; la nature de polymère ; le procédé d'encapsulation et le coût d'utilisation [7].

Ce travail consiste à préparé des microparticules metformine/PLA ensuite étudier l'influence des paramètres expérimentaux sur ces dernières.

Après une introduction générale, notre travail se décompose en trois chapitres.

Le première chapitre est consacré à une étude bibliographique sur le diabète, le chlorhydrate de metformine, en suite une référence bibliographique sur la microencapsulation et ces techniques, ainsi que l'utilisation de poly (acide lactique) dans la préparation des microparticules.

Dans le deuxième chapitre nous décrivons les matériaux utilisés, la méthode d'élaboration des microparticules de PLA et les méthodes de caractérisation de ces dernières.

Le troisième chapitre développe tous les résultats obtenus sur la caractérisation des microparticules ainsi que leurs discussions.

Enfin, on termine par une conclusion et perspectives.



CHAPITRE I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES



I.1 Diabète sucré

I.1.1. Définition du diabète sucré

Le diabète est une maladie chronique causée par un défaut dans l'utilisation de l'hormone insuline produite par le pancréas et qui résulte en une concentration élevée de glucose dans le sang, connue comme une hyperglycémie [8].

I.1.2. Types de diabètes

Il existe deux types principaux de diabètes :

I.1.2.1. Diabète de type 1 (insulino-dépendant)

Le diabète de type 1 se distingue par une production insuffisante ou par l'impécuniosité de production d'insuline. Plus souvent retrouvé chez les enfants, les adolescents et les jeunes adultes, il touche environ 10% de la population diabétique du monde. Les personnes diabétique de type 1 ont besoin d'injections quotidiennes d'insuline durant toute leur vie afin de combler l'absence de l'hormone dans le corps. L'état de santé d'une personne portant ce type de diabète ne peut être déterminé avec certitude qu'à travers des diagnostics médicales et des prises de sang. Les chercheurs trouvent que le diabète de type 1 est principalement dû à des facteurs génétiques ou environnementaux [8].

I.1.2.2 Diabète de type 2 (non insulino-dépendant)

Entre les deux types de diabète, on trouve que le diabète de type 2 qui est la forme qui se manifeste le plus, ce type couvre environ 90% de la population du monde, cet espèce dépend de l'utilisation incorrecte de l'insuline par le corps humain. Cette espèce de diabète peut être soignée, elle se manifeste généralement chez les adultes âgés de 40 ans ou plus, ce phénomène renvoie soit à la malnutrition, soit à l'inactivité physique et d'obésité. On peut déterminer le diabète de type 2 à travers des prises de sang. Ce type de diabète peut engendrer d'autres maladies qui sont principalement liées à des problèmes cardiovasculaires et sans faire le signe d'aucun symptôme au long terme [8].

I.2 Traitement du diabète avec les biguanides

Depuis longtemps, les biguanides jouent un rôle important dans le traitement du diabète, les biguanides représentent une des quatre principales classes médicamenteuses utilisées pour le traitement de diabète 2, les autres étant les sulfamides (sulphonylurées) [9], les thiazolidinediones, les méglitinides, et les inhibiteurs de α -glucosidase [10].

Dans cette classe on fait souvent appel à trois sortes de médicaments: la buformine, la phenformine et la metformine (chlorhydrate de metformine). La commercialisation de la buformine est apparue dans quelque pays depuis le retrait de phenformine (INSORAL) qui a causé l'acidose lactique, la metformine demeure le seul biguanide disponible actuellement [11].

I.3. Chlorhydrate de metformine

Le chlorhydrate de metformine est un principe actif qui fait partie de la classe des biguanides. Cette molécule se distingue par un caractère basique, le pKa de cette activité mesuré est de 12,4 [12].

Le chlorhydrate de metformine est considéré actuellement comme antidiabétique oral de premier choix en raison de son rapport efficacité/sécurité et de son faible coût, ainsi que son pouvoir d'être associée à une réduction de l'incidence de cancer et à une diminution de la mortalité cardiovasculaire qui l'accompagne. Cette vieille molécule a déjà démontrés sa capacité et sa position privilégiée dans la prise en charge pharmacologique du patient diabétique de type 2[13].

Le chlorhydrate de metformine est le mélange issu de la condensation entre deux molécules de guanidine avec celle de l'élimination d'ammoniac [1].

La structure chimique de chlorhydrate de metformine est représentée sur la **figure (I.1)**

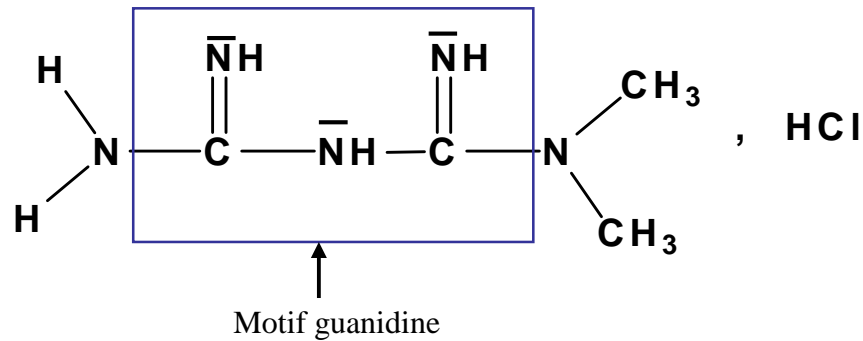


Figure I.1 : Structure chimique du chlorhydrate de metformine [14,15].

I.4. Propriétés physico-chimique du chlorhydrate de metformine

Le chlorhydrate de metformine est un composé cristallin avec une formule chimique de $C_4H_{11}N_5-HCl$ et de masse moléculaire 165.63 g.mol⁻¹. Le chlorhydrate de metformine est entièrement fondant dans l'eau, et partiellement insoluble dans : l'acétone, éther, et le chloroforme. Le pH d'une solution de metformine à 1% est estimé de 6,68 [16].

I.5. Mécanisme d'action de chlorhydrate de metformine

La metformine est un biguanide qui possède des effets antihyperglycémiques, et qui réduit la glycémie basale et postprandiale. Elle n'incite pas la sécrétion d'insuline, par conséquent, la metformine ne crée pas d'hypoglycémie.

L'activité de la metformine dépend de la présence de trois mécanismes intermédiaires:

- En réduisant la production hépatique de glucose, en inhibant la néoglucogenèse et la glycolyse ;
- Au niveau musculaire, en augmentant la sensibilité à l'insuline, en favorisant la captation et l'utilisation périphérique du glucose ;
- Enfin, en retardant l'absorption intestinale du glucose [17].

La figure (I.2) représente le mécanisme d'action du chlorhydrate de metformine :

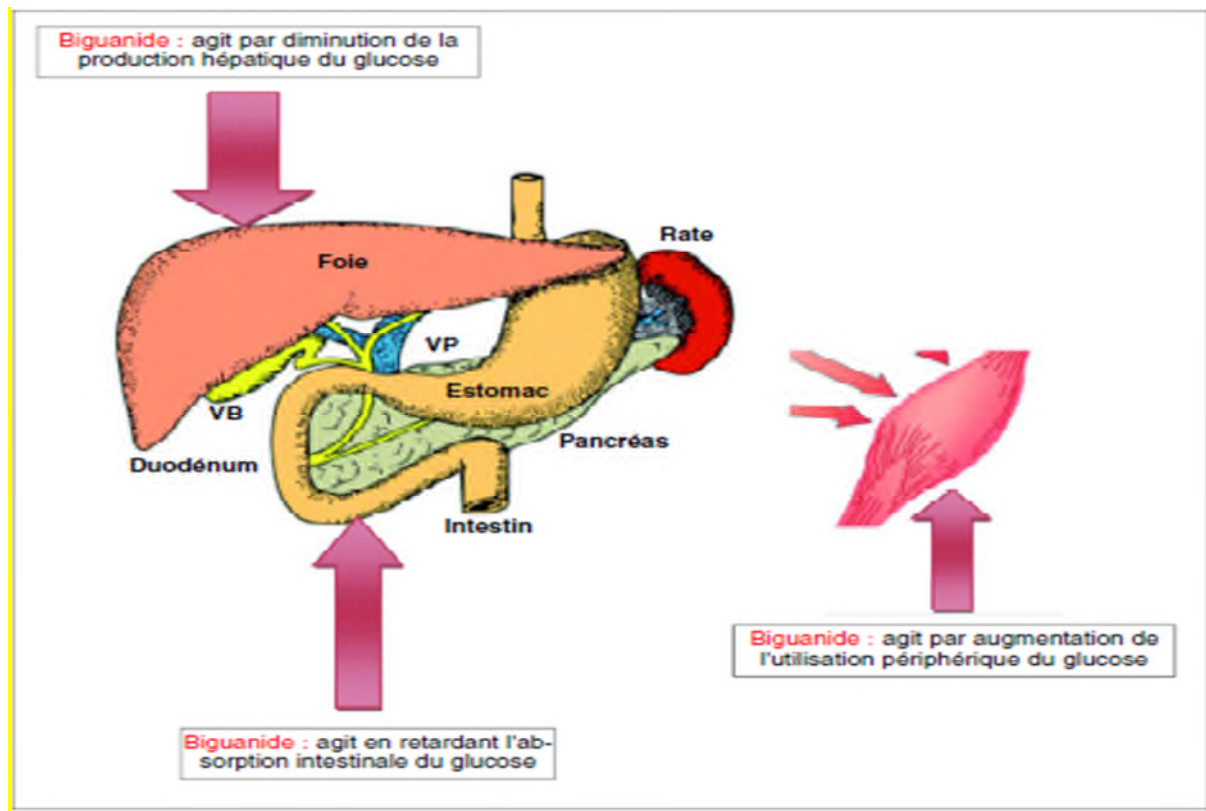


Figure I.2 : Mécanisme d'action du chlorhydrate de metformine dans l'organisme [14].

Due à la grande hydrosolubilité dans les milieux physiologique, le chlorhydrate de metformine n'improvise aucun métabolisme hépatique, il est sécrété de façon rapide, avant qu'il ne soit prêt à être absorbé, par voie urinaire. Il présente une faible biodisponibilité dans l'organisme environ 1,5 à 3 heures; ce qui nécessite plusieurs administration par jours afin de maintenir la concentration thérapeutique [18].

1.6. Pharmacocinétiques du chlorhydrate de metformine

Il s'agit d'une base très polaire et extrêmement soluble dans l'eau. Elle est absorbée au niveau de l'intestin grêle provoquant un pic de concentration d'une à deux heures. Sa biodisponibilité est de 50 à 60 %. La metformine est indépendante des protéines. Sa demi-vie plasmatique est estimée de 1,5 à 5 heures. L'excrétion se fait par voie rénale avec une clairance de 440 ml/min en impliquant une filtration glomérulaire et une sécrétion tubulaire [1].

I.7. Encapsulation

I.7.1 Historique de l'encapsulation

On se réfère aux observations faites par les deux chimistes chercheurs Bungenburg de Jong et Kaas, et d'après les premiers essais d'encapsulation qui ont été effectués, on a pu confirmer que ce phénomène physique permet de réaliser des systèmes colloïdaux. L'amélioration de ce système de l'échelle du laboratoire à la création industrielle aura duré une vingtaine d'année [19].

La première utilisation de microparticules dans l'industrie pharmaceutique a été réalisée par W. M. Hollyday en 1970, elle est apparue comme une composition à la libération prolongée administrée par voie orale comprenant de l'acide acétylsalicylique encapsulé dans un revêtement mince continu d'éthyle cellulose. Cette nouvelle innovation pharmaceutique est approvisionnée comme une stratégie visant la réduction d'effet irritant de l'acide acétylsalicylique sur la muqueuse gastrique, afin de diminuer la fréquence de l'administration et d'améliorer l'observation du patient. Dans l'industrie, encapsuler est une volonté et un défi permanent que ce soit pour protéger une espèce face à un milieu agressif ou en contrôler la libération dans le temps [5, 20, 21].

I.7.2 Définition de l'encapsulation

L'encapsulation désigne une technologie de conditionnement des substances solides, liquides ou gazeuses dans des capsules miniatures et scellées pouvant libérer leur contenu à des vitesses limitées sous l'impact des conditions quasi-spécifiques. Une microcapsule consiste en une membrane semi-perméable, sphérique, mince et solide entourant un noyau solide ou liquide, avec un diamètre qui varie de quelques microns à un millimètre [22].

Le fait d'encapsuler une substance peut permettre d'augmenter sa densité, ou encore de la diminuer en incluant de l'air dans la capsule. Un solide dense peut ainsi être converti en un produit flottant dans l'eau [23].

I.7.3 Intérêts de la microencapsulation

La technologie d'encapsulation est largement utilisée dans l'industrie alimentaire incluant la stabilisation de la substance encapsulée, contrôle des réactions d'oxydation, assure une libération spatiale et temporelle prolongée ou contrôlée, masquage du goût, couleur ou odeur, prolonge la durée de conservation et protège les substances contre la dégradation nutritionnelle. Elle est aussi largement employée dans le domaine pharmaceutique pour le contrôle de la libération des substances actives, protège les ingrédients de l'environnement. Faible perte d'arôme durant la conservation, prolonge la perception d'arômes et la sensation buccale sur une longue période de temps, et améliore la biodisponibilité et l'efficacité des substances actives [22].

I.7.4 Morphologie des microcapsules

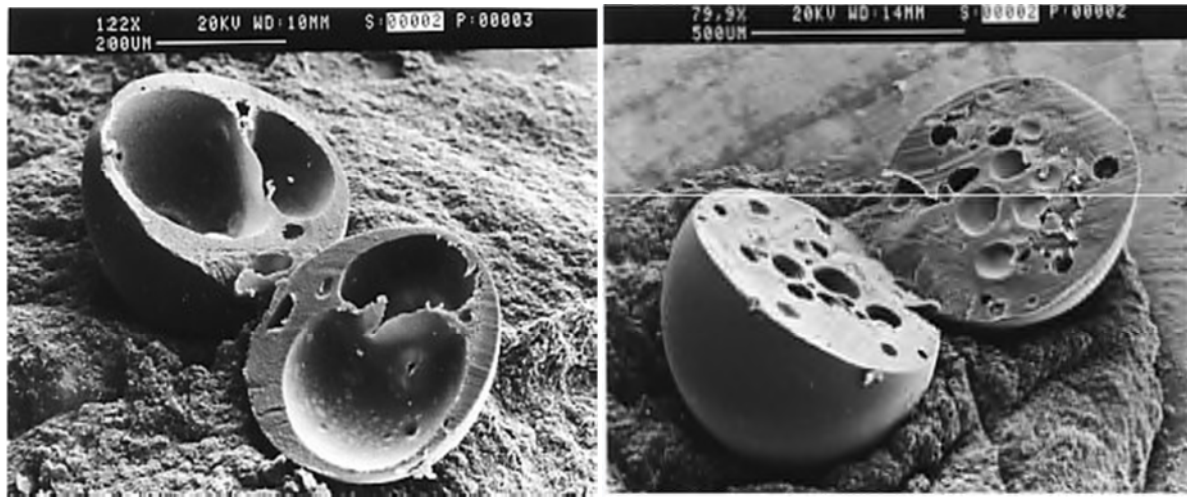
Selon leur microstructure, les microparticules ainsi obtenus par cette technique peuvent être classés en deux grandes catégories de morphologies, les microsphères et les microcapsules [23].

I.7.4.1 Les microcapsules

Les microcapsules sont des particules réservoirs, sphériques composés d'une enveloppe polymérique continue entourant un cœur liquide (huileux ou aqueux), le principe actif est généralement dissous dans le cœur mais peut également être adsorbé à la surface des microcapsules (**Figure I.3**).

I.7.4.2 Les microsphères

Les microsphères sont des particules sphérique composée d'un réseau macromoléculaire tout en formant une matrice polymérique dans laquelle le principe actif est dispersé durant la formation des microsphères, soit adsorbé à leur surface après préparation par l'intermédiaire de liaison électrostatique ou covalente (**Figure I.3**).



Microcapsule

Microsphère

Figure I.3 : Morphologie des microparticules [24].

Chacun de ses systèmes a des avantages et des inconvénients. Le **tableau I.1** regroupe quelques avantages et inconvénients [4].

Tableau I.1: Avantages et inconvénients des systèmes réservoir et matriciel

	Système réservoirs	Système matriciels
Fragilité	Oui	Non
Rapport composé/polymère cinétique de libération	50 à 95% constante au cours du temps	< 30 % diminue au cours du temps
Considérations	procédés complexes souvent	procédés simples
Economiques	Couteux	couteux

I.7.5 Techniques de la microencapsulation

Les différentes méthodes de microencapsulation peuvent être classifiées selon différents critères, quatre manières différentes ont été proposées :

- Les procédés peuvent être classés selon l'emploi ou non de solvant organique.
- La nature du milieu dispersant : liquide, gazeux, ou encore à l'état supercritique.
- La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule ((polymères préformés, des lipides, ou encore des monomères).
- la nature du principe actif.

Les différentes méthodes d'encapsulation sont récapitulées dans le tableau présenté ci-dessous selon la dernière classification présentée précédemment [23].

Tableau I.2 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé. (D'après Richard et benoit, 2009 et Finch et Bodmeier, 2005) [25,26].

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Gamme de taille de microcapsules obtenues	Type de produits obtenus
procédés physico-chimiques	séparation de phase ou	2-1200 μm	Microcapsule
	coacervation (simple ou complexe)	Microsphère	
	évaporation-extraction de solvant	0,5-200 μm	Microsphères
	Gélification thermique d'émulsion (hot melt)	Microsphères	
Procédés chimique	Polycondensation interfaciale	2 - 2000 μm	Microcapsules
	Polymérisation interfaciale	2 - 2000 μm	Microcapsules
	Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique	Microsphères	
Procédés mécaniques	Nébulisation/séchage (spray drying)	1 - 200 μm	Microsphères
	Gélification ou congélation de gouttes (priling)	200 - 800 μm	Microsphères
	Enrobage en lit fluidisé (spray- coating)	35 - 5000 μm	Microcapsules
	Extrusion/sphéronisation	$\geq 200 \mu\text{m}$	Microsphères

I.8. Encapsulation par évaporation du solvant/émulsion

Plusieurs méthodes ont été développées et décrites dans la littérature pour la préparation de microparticules. Parmi elles ; la méthode d'émulsion / évaporation du solvant, le procédé d'évaporation du solvant permet d'encapsuler une grande variété du principe actif solide ou liquide, hydrophile ou lipophile. Dans le cas d'un principe actif lipophile, cette technique se focalise sur l'utilisation d'un solvant non miscible à l'eau (dichlorométhane, chloroforme, ou acétate d'éthyle), à travers lequel le polymère et le principe actif sont solubilisés, puis émulsionnés dans une phase aqueuse contenant un tensioactif, poly (alcool vinylique)) afin de rendre la formation des émulsions plus facile et améliorer leurs stabilités. La formation des microsphères est obtenue après évaporation du solvant, le principe actif étant incorporé dans la matrice [27].

Cette technique est fréquemment appliquée dans les industries pharmaceutiques afin d'obtenir la libération contrôlée des principes actifs [7].

Les propriétés physico-chimiques du polymère utilisé, ainsi que de celles du principe actif incorporé, du site d'action du principe actif et de la durée envisagée de l'action thérapeutique détermine la méthode de préparation des microsphères.

I.8.1. Emulsion

Les émulsions font partie de notre vie quotidienne, elle se manifeste soit comme un intermédiaire pour des produits tels que les polymères, soit sous la forme d'autres produits consommables [28].

I.8.2. Définition d'émulsion

Le terme émulsion désigne un système hétérogène qui comprend au moins un liquide immiscible dispersé dans un autre sous la forme de gouttelettes dont les diamètres sont en général supérieurs à 0,1 μm . Un tel système se distingue par une stabilité minimale qui se réalise par l'addition des tensioactifs, tout en évitant la séparation des phases. Les deux liquides ou phases formant l'émulsion sont appelées symboliquement eau (E ou W) et huile (H ou O) [28,29, 30].

I.8.3 Différents types d'émulsion

Une émulsion peut être définie selon plusieurs paramètres : type, qualité de la dispersion, stabilité, rhéologie et éventuellement propriétés organoleptiques. Le sens des émulsions et la solubilité de principe actif dans l'eau sont les critères de classification les plus utilisés dans la littérature [28, 29, 30,].

- Selon leur sens :
 - Emulsion directe ou hydrophile ou bien huile dans l'eau (H/E) si la phase continue est la phase aqueuse ;
 - Emulsion indirecte ou lipophile ou bien eau dans huile (E/H) si la phase continue est la phase huileuse ;
- Selon la solubilité du PA dans l'eau :
 - Emulsion simple, eau dans l'huile (E/H) ou huile dans l'eau (H/E) ;
 - Emulsion double ou complexe, eau dans huile dans eau (E/H/E).

I.8.3.1. Émulsion doubles

Les émulsions doubles, par leurs structures compartimentées, ont été depuis longtemps envisagées comme un matériau idéal pour jouer le rôle de microréservoirs [5].

La spécificité des émulsions doubles directes vient du fait qu'ils contiennent à la fois des films interfaciaux inverses (entre deux gouttes internes) et des films directs (entre deux globules) (**figure I.4**).

Généralement, les émulsions doubles directes font intervenir dans leur composition deux agents de surface : l'un hydrosoluble qui stabilise les films directs et l'autre liposoluble qui stabilise les films inverses [5].

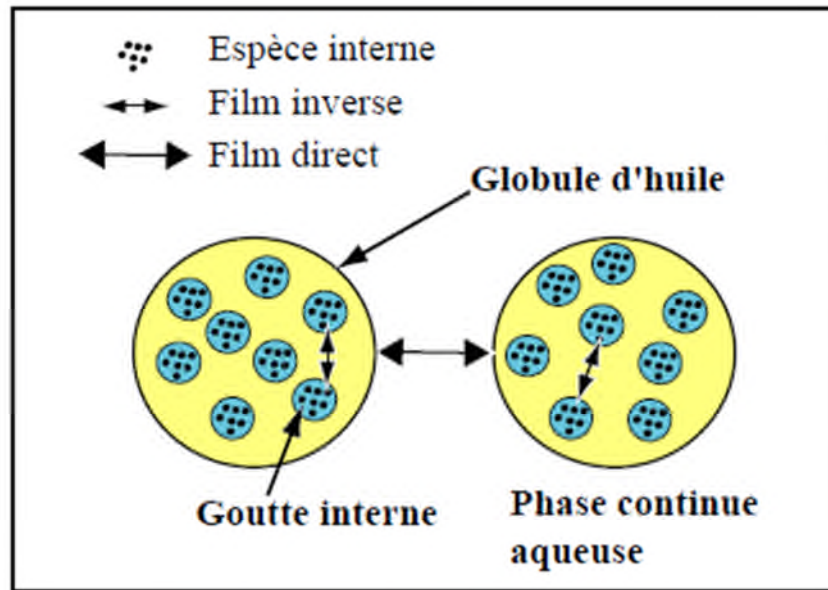


Figure I.4 : Description d'une émulsion double directe [5].

Les émulsions doubles (appelées aussi multiples) sont des émulsions particulières, dans le sens où la phase dispersée est elle aussi une émulsion. Ces émulsions doubles sont qualifiées de « directes » ou « inverses », selon la nature aqueuse ou huileuse de la phase continue. Ces différents systèmes sont schématisés sur la **figure (I.5)**.

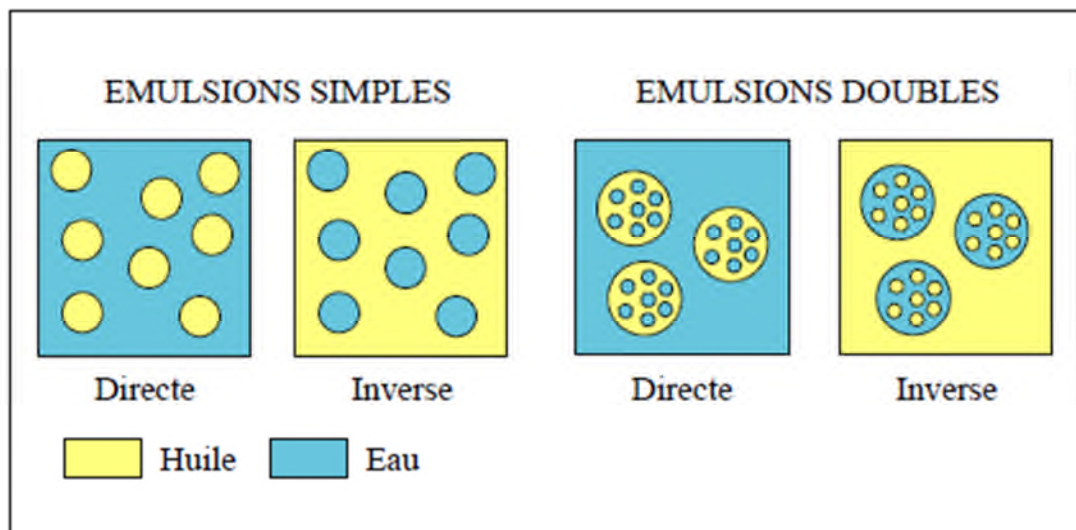


Figure I.5: Représentation des différents types d'émulsion [5].

Le recours à un tensioactif hydrosoluble permet de former préférentiellement une émulsion directe, alors qu'un tensioactif liposoluble favorise une émulsion inverse [5].

La technique de double émulsion est la méthode la plus répandue, elle se réalise en quatre étapes [7,31].

1. Emulsification primaire : une solution de l'agent actif (phase aqueuse interne E_1) est émulsionnée dans une solution organique contenant le polymère biodégradable (phase huileuse H) ;
2. Ré-émulsification: l'émulsion primaire (E_1/H) est ensuite émulsionnée dans une deuxième phase aqueuse contenant un stabilisateur (phase aqueuse externe E_2) pour former la double émulsion ($E_1/H/E_2$) ;
3. Solidification : le solvant organique est éliminé par évaporation ou extraction, puis des microparticules solides sont formées ;
4. Séparation et purification : les microparticules sont recueillies par centrifugation ou filtration, ensuite lyophilisées. La **figure (I.6)** récapitule le processus de la double émulsion.

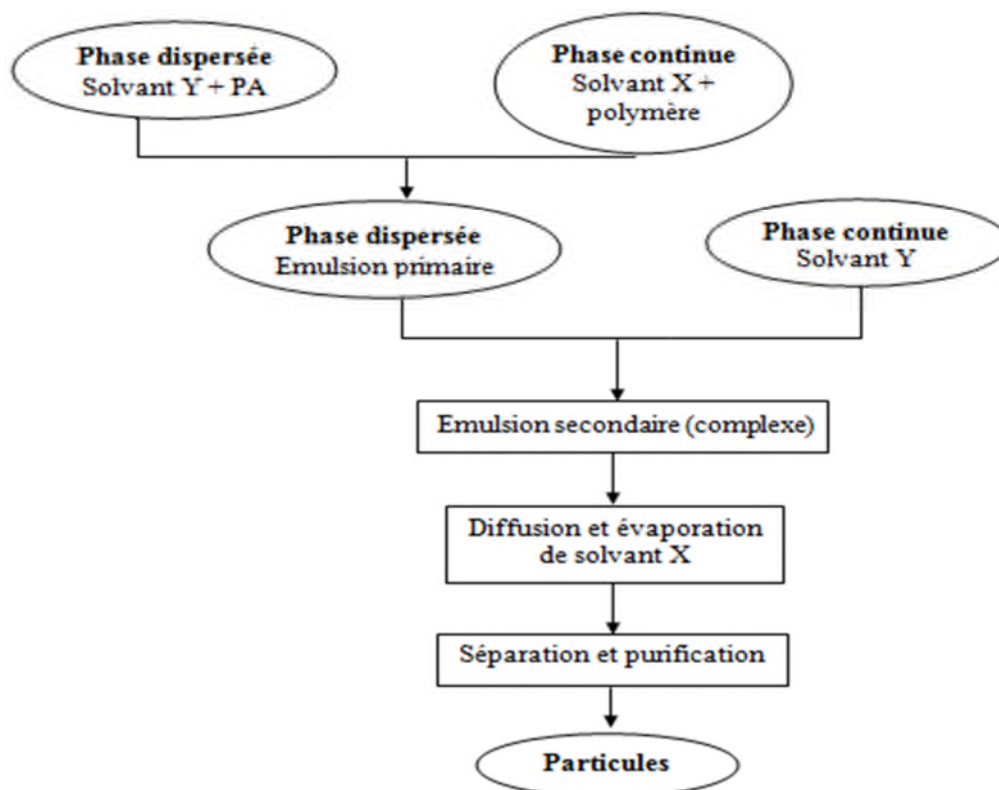


Figure I.6 : Représentation schématique de processus de double émulsion.

I.9. Les polymères utilisés en micro encapsulation

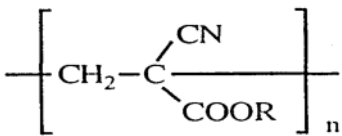
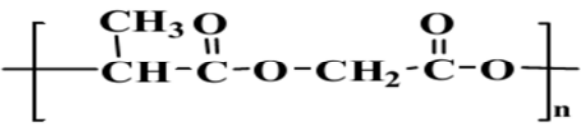
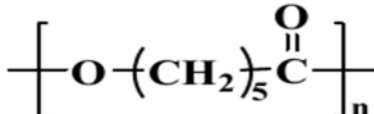
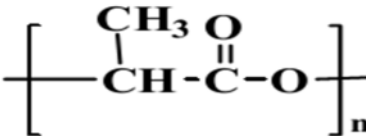
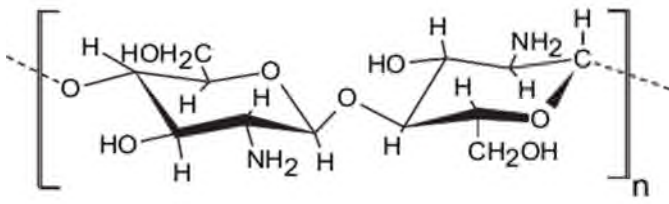
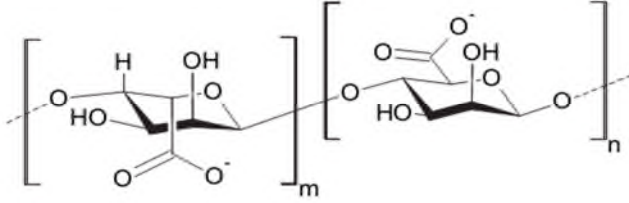
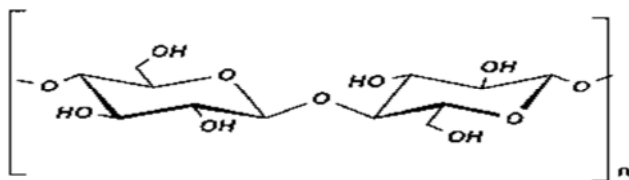
Les polymères biodégradables sont largement utilisés pour la conception des formes orales à libération prolongée [32, 33, 34]. Souvent, un noyau contenant le médicament est recouvert d'un polymère, qui agit en tant que barrière à travers laquelle le médicament doit diffuser. Une autre possibilité consiste à incorporer un médicament dans le polymère lui-même, formant ainsi un système matriciel.

Les polymères biodégradables à base de sources renouvelables utilisées jusqu'à présent pour la préparation des nano compositions sont :

- Polymères synthétiques comme : le poly (alkyl cyanoacrylate), le poly acide (lactique) (PLA) et glycolique (PLGA), le poly-ε-caprolactone et ces copolymères.
- Polymères naturels comme : Chitosane, Alginate et L'éthyle cellulose.

Le tableau regroupe les principaux polymères utilisés en microencapsulation.

Tableau I.3 : Polymère utilisé en microencapsulation.

Polymère	Motif de répétition	Références
Poly (alkyl cyanoacrylate) (PACA)		[35]
Poly (acide lactique Co glycolique) (PLGA)		[36]
Poly-ε-caprolactone (PCL)		[36]
Poly (acide lactique) (PLA)		[36]
Chitosane		[37]
Alginate		[37]
L'éthyle cellulose		[38]

I.9.1. Polymère de l'acide lactique

Le poly (acide-lactique), aussi dénommé polylactide (PLA), est un polyester aliphatique linéaire composé d'éléments constitutifs d'acide lactique (acide 2-hydroxyde-propénoïque). Il s'agit d'un thermoplastique biodégradable, compostable, et biorésorbable, il est entièrement synthétisé, dérivé des ressources renouvelables, telles que l'amidon ou le sucre [39].



Figure. I.7: Aspect physique de poly (acide lactique) (PLA).

I.9.2. Composition chimique de l'acide lactique (PLA)

L'acide lactique, monomère du PLA, est un acide carboxylique hydroxylé de formule $(C_3H_4O_2)_n$. Le motif de répétition de PLA est donné par la **figure(I.8)**.

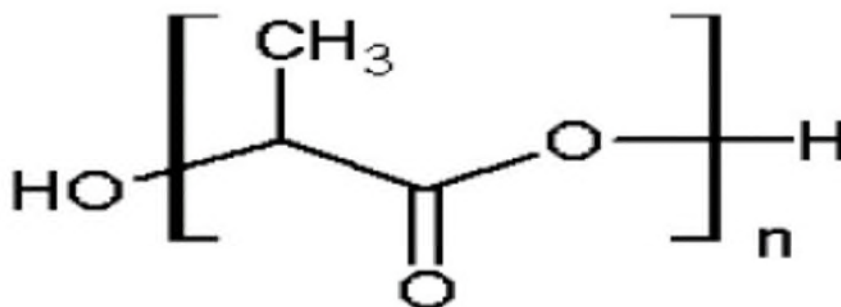


Figure I.8 : Structure chimique de PLA.

L'atome de carbone 2 portant le groupe hydroxyle est asymétrique rendant la molécule d'acide lactique chirale. Il se présente sous forme de deux énantiomères **Figure(I.9)** [40].

- D-(-)-acide lactique ou (R)-acide lactique(R pour «Rectus»);
- L-(+)-acide lactique ou (S)-acide lactique(S pour «Sinister»);

Ces deux énantiomères sont représentés sur la **figure(I.9)** Ci –dessous, tel que, le L-lactide (a) et D-lactide (b).

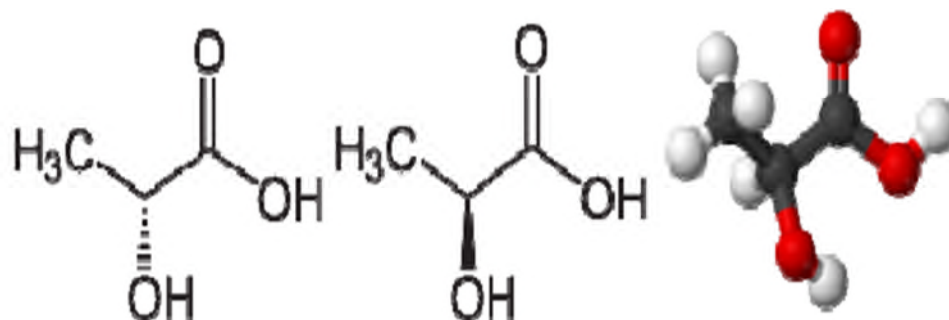


Figure I.9 : Stéréo-isomères de l'acide lactique [40].

Selon la dimérisation (condensation de deux unités monomères), trois configurations différentes peuvent être observées : LL (L-lactide), DD (D-lactide) ou LD (méso) qui est sans activité optique, (voir la **figure I.10**) [40].

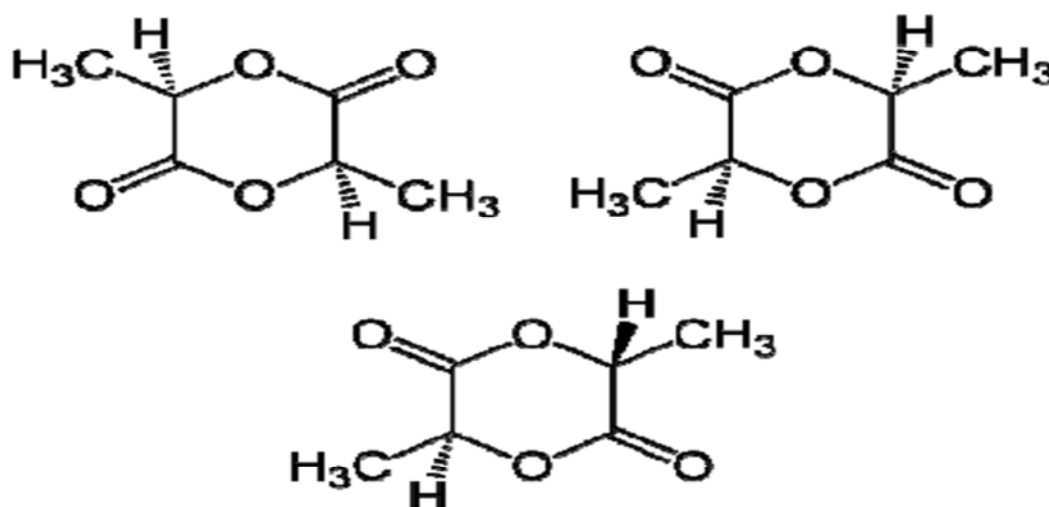


Figure I.10 : Les trois isomères du lactide [40].

I.9.3. Propriétés du PLA

Le polylactide est bien connu pour sa facilité de mise en œuvre, sa biocompatibilité et sa biodégradabilité (principalement par hydrolyse). Le PLA peut présenter différentes propriétés physiques et chimiques en raison de la présence d'un groupe méthyle sur l'atome de carbone alpha. Les propriétés du PLA sont fortement liées au rapport entre les deux méso-formes D-lactide et L-lactide. La masse volumique du P (L-LA) se situe aux alentours de 1,25-1,29 g/cm³ tandis que celle du P (D, L-LA) est de 1,27 g/cm³. Il est complètement soluble dans le chloroforme et dans d'autres solvants organiques comme : les fluorés, les chlorés, dioxane, dioxolane, furane, xylène, acétone etc. La masse molaire du PLA varie entre 100 et 300 Kg/mol. Sa résistance aux huiles et aux graisses ainsi que ses propriétés barrières aux arômes sont excellentes. Cependant, il n'est approprié à l'emballage des liquides carbonatés dû à sa faible barrière à l'oxygène O₂, à la vapeur d'eau ainsi qu'au dioxyde de carbone (CO₂) [39].

I.9.4. Application du PLA

Le poly (acide lactique) (PLA) peut être utilisé dans diverses applications, parmi ces applications on cite en premier lieu l'application médicale et pharmaceutique, Ce polymère s'adapte à une utilisation comme matériel orthopédique à cause de leur biodégradabilité, biocompatibilité et thermo élasticité. Il est généralement utilisé pour fabriquer des prothèses pour le remplacement des os, des pièces plates d'acier, des broches. L'une des caractéristiques de ce polymère est la possibilité de contrôler la vitesse de dégradation de façon à ajuster la diminution de résistance du matériel polymère de support en même temps que se produit la réparation de l'os fracturé. Cette spécificité nous permet d'éviter la nécessité de retirer la pièce après réparation par rapport à l'utilisation d'une pièce de métal [41]. En deuxième lieu l'application comme films/emballages, dans ce cas le PLA est utilisé dans des sacs (champs) de nombreux procédés : extrusion, thermoformage, injection : soufflage, filage et étirage [42].

Des applications ont été améliorées dans la production de nappes pour la fabrication de film de paillage agricole ou pour la conversion en produits d'hygiène comme les couches, les robes ou blouses pour les hôpitaux ou applications similaires [42].

I.9.6. Application des polymères biodégradables

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères: la médecine, l'agriculture et les emballages.

I.9.6.1. En médecine et pharmacie

Plusieurs types de bio polymère sont actuellement employés dans le domaine médical. Les polyesters de synthèse tels que les polyacides (PLA) et les polyglycolides (PGA) ainsi que leurs copolymères polylactides-coglycolides (PLGA) sont connus et utilisés pour les fils de suture et les implants médicaux. Ces biopolymères sont bien tolérés et ne présentent aucune toxicité pour l'organisme. D'autres biopolymères comme les polyhydroxyalcanoates (PHA), la cellulose ou les polyacides aminés conviennent également pour les applications médicales [43, 44, 45].

I.9.6.2. En agriculture

En agriculture, la propriété de biodégradabilité des biopolymères est essentielle dans les applications [46]. Leur fonction principale est de réduire l'évaporation de l'eau et d'accroître la température du sol pour favoriser la croissance des jeunes plantes au printemps.

I.9.6.3. En emballage

Le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables. Ces derniers apportent une solution aux problèmes de déchets mais nécessitent toutefois la mise en place d'une filière de gestion de déchets adéquate à ce type de produits, ainsi l'organisation d'une filière de compostage est indispensable pour assurer une valorisation optimale de ces emballages biodégradables [47].

I.10. Techniques utilisés pour la caractérisation des microparticules

I.10.1. Spectroscopie UV-visible

Correspond à l'étude des variations de grandeurs photométriques spectrales ou leur équivalent énergétique résultant de l'interaction du rayonnement avec une substance placée sur le faisceau. Le domaine de longueur d'onde de l'UV se situe entre 10 nm à 400 nm, celui du visible se situe entre 400 nm à 800 nm [48].

I.10.1.1. Principe spectroscopie UV-Visible

Le spectrophotomètre fait passer une radiation (lumière) monochromatique (une seule longueur d'onde) à travers une longueur L (longueur de la cuve) de solution et mesure l'absorbance A (grandeur liée à la quantité de lumière absorbée par la solution).

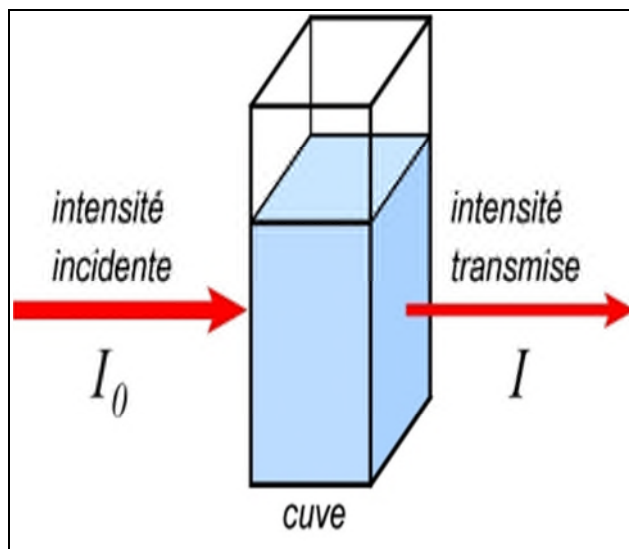


Figure I.11. Schéma représentant d'une radiation à travers la cuve [49].

Pour déterminer la concentration d'une entité chimique en solution en utilisant la loi de Beer –Lambert suivante [50] :

$$A_{\lambda} = \text{Log} \frac{I_0}{I} = \epsilon_{\lambda} \cdot L \cdot C$$

A : L'absorbance optique à une longueur d'onde λ .

ϵ_{λ} : Le coefficient d'extinction molaire ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$).

L : La longueur du trajet optique dans la solution traversée (Cm).

C : La concentration molaire de la solution ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

I_0 : Intensité du faisceau lumineux incident.

I : Intensité du faisceau transmis.

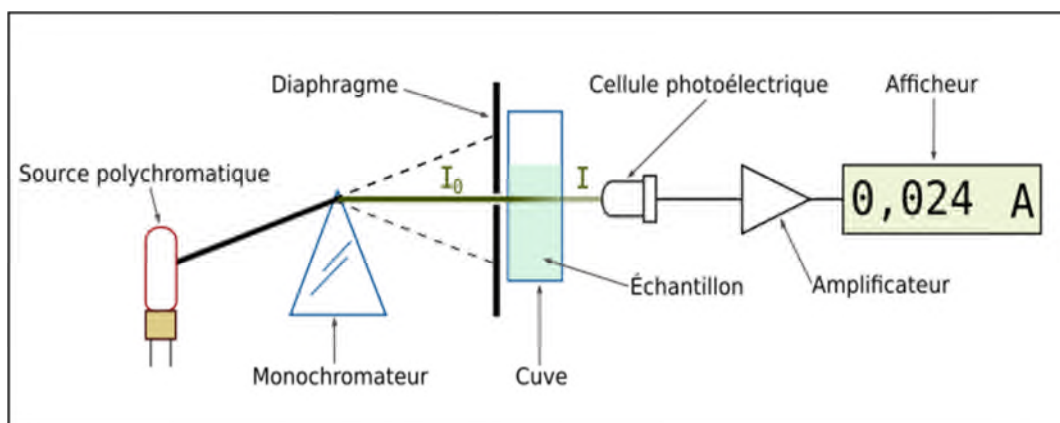


Figure I.12. Schéma de principe du spectrophotomètre UV-Visible [51].

I.10.2. Spectrophotométrie IR-TF

I.10.2.1. La spectrométrie IR

La spectroscopie IR est une méthode analytique, s'utilise principalement pour identifier et quantifier un grand nombre d'espèce chimique de façon non ambiguë. Elle permet de mettre en évidence la présence d'une liaison particulière entre les molécules.

En raison de sa spécificité, l'IR a été souvent employé comme une "norme" pour les études d'inter comparaison de différentes mesures [52, 48].

I.10.2.2. Principe de l'IR-TF

Le principe fonctionnel de la spectrophotométrie IR-TF est le suivant : Une source de lumière IR émet un rayonnement qui est affaibli en fonction des fréquences qui traverse l'échantillon. Le rayonnement résultant est enregistré et transformé électroniquement en un spectre. Il est impératif que la source de rayonnement émette continuellement dans l'ensemble de la zone des fréquences présentant un intérêt. Le détecteur a la charge de saisir le rayonnement sortant et de transformer les signaux optiques en signaux électriques. Le plus utilisé est le détecteur dit DTGS (sulfate de tri glycine deutérié). Tandis que la source lumineuse et le détecteur sont identiques dans les deux types d'appareils, la mesure de l'absorption du rayonnement dépend de la fréquence ainsi que le traitement si le signal est fondamentalement différent. Le schéma de principe d'un spectrophotomètre IR à double faisceau [51].

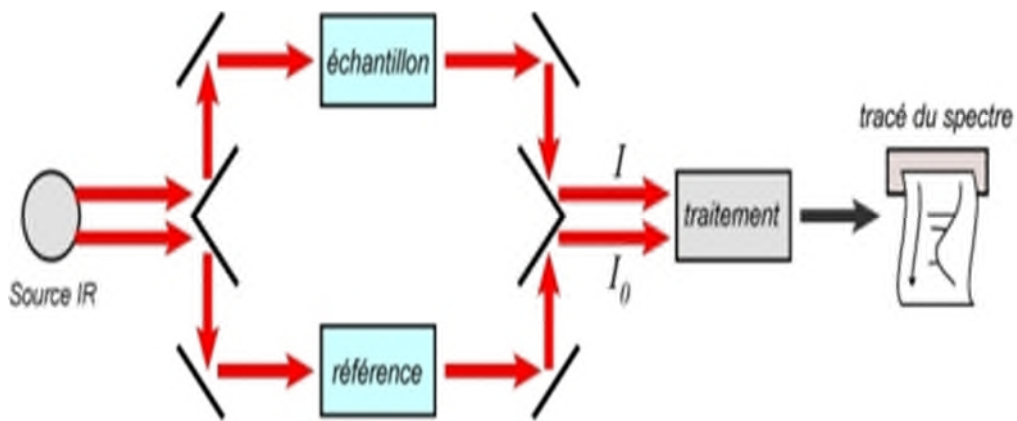


Figure I.13. Schéma de principe de spectrophotomètre IR-TF [48]

I.10.2.3. Préparation de l'échantillon dans l'IR TF

Les spectres infrarouge des différentes formulations sont enregistrés à la température ambiante dans la plage de $400-4000\text{ cm}^{-1}$ sur des pastilles de KBr refermant 2% l'échantillon préparée à l'aide d'un presse hydraulique sous une pression de 90 KN pendant une minute.

I.10.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

I.10.3.1. Définition de MEB

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique traditionnellement utilisée dans l'analyse des surfaces. Elle permet d'analyser la morphologie de la surface et la composition chimique de la plupart des matériaux solides. Cette technique a la particularité d'offrir une très grande profondeur de champ (plusieurs centaines de microns) et donne des vues qualitatives des surfaces d'une grande utilité [53].



Figure I.14. Microscopie électronique à balayage (MEB).

I.10.3.2. Principe de MEB

Cet appareil repose sur le même principe que le microscope optique à la différence qu'il s'agit d'une source d'électrons et non d'une source de lumière visible. Le faisceau d'électrons est focalisé via un jeu de lentilles sur la surface de l'échantillon en un spot très fin. Un jeu de bobines permet de déplacer le faisceau de façon à balayer toute la surface de l'échantillon. Pour faire de l'imagerie électronique, l'échantillon est balayé ligne par ligne selon une matrice rectangulaire. L'interaction entre le faisceau d'électrons et la surface de l'échantillon produit trois types de signaux secondaires : des électrons secondaires, des électrons rétrodiffusés et des rayons X. La détection des deux types d'électrons permet de reconstituer simultanément des images électroniques différentes. La détection des électrons secondaires permettra d'obtenir des informations sur la topographie (relief) de l'échantillon.

La détection des électrons rétrodiffusés permettra quant à elle d'obtenir des informations sur la variabilité qualitative (contraste de densité) de l'échantillon.

Le couplage du MEB avec un détecteur de rayons X permet également de fournir des informations sur la composition élémentaire. La détection des photons X peut se faire soit par dispersion de longueur d'onde (ou WDS –Wavelength Dispersive Spectroscopy) soit par dispersion d'énergie (ou EDS- Energy Dispersive Spectroscopy) [54].

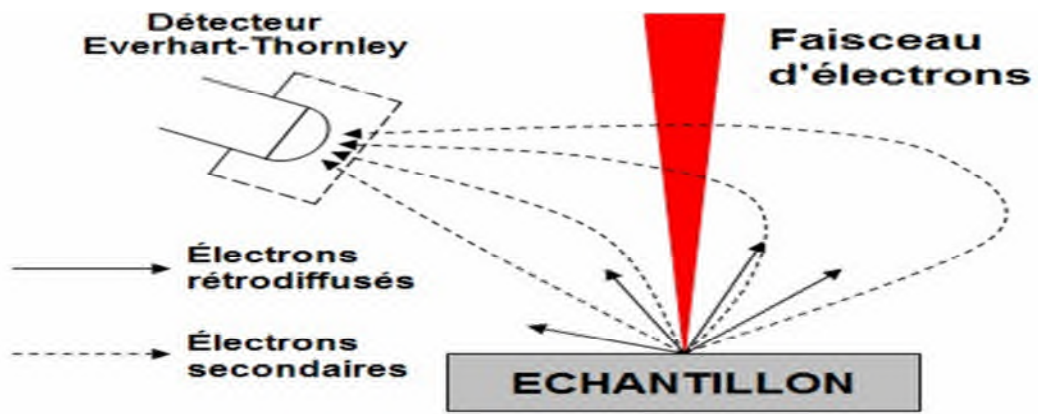


Figure I.15. Principe du microscopie électronique à balayage [55].



CHAPITRE II
SYNTHESE DES
MICROPARTICULES



II. Introduction

La microencapsulation permet de protéger les molécules du principe actif et de contrôler leur libération.

L'objectif de ce chapitre est la préparation des microparticules de poly (acide lactique) contenant la metformine par la méthode d'émulsion multiple (w/o/w) et d'étudier l'influence des paramètres expérimentaux (concentration et nature de la tension active, la vitesse d'agitation) sur le rendement et le taux d'encapsulation.

Cette partie comprend également les techniques expérimentales de caractérisation (UV-Visible, la spectroscopie infrarouge IR-TF, la microscopie électronique à balayage (MEB) et à la fin une discussion des résultats.

II.1. Matériels et méthodes

II.1.1. Matériels

❖ II.1.1.1. Dichlorométhane (CH_2Cl_2)

Le dichlorométhane (CH_2Cl_2) est un composé chimique se présentant à température ambiante comme un liquide incolore et volatil émettant une odeur douceâtre relativement forte. Il est surtout utilisé comme solvant de composés organiques.

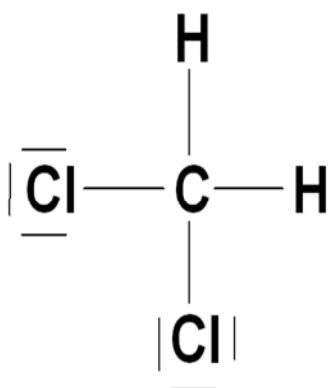


Figure II.1. Formule développée de CH_2Cl_2 .

Figure II.2. Aspect physique de CH_2Cl_2 .

Les propriétés physico-chimiques de dichlorométhane sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau II.1. Propriétés physico-chimiques de dichlorométhane [56].

Caractéristique	Spécification
Masse molaire	84,99 g/mol
Densité	1,33 g/cm ³ à 20°C
Point de fusion	-95,7 °C
Point d'ébullition	39,75°C
La pression de vapeur	435 mm Hg à 25°C
Solubilité dans l'eau	13g/L à 25°C

❖ **II.1.1.2. Polymère : Poly (acide lactique) (PLA)**

Le PLA utilisé dans cette étude est sous forme de grains, de masse moléculaire moyenne de 150 000 g/mol, point de fusion de 160°C et d'une température de transition vitreuse égale à 60°C.



Figure II.3. Aspect physique de PLA.

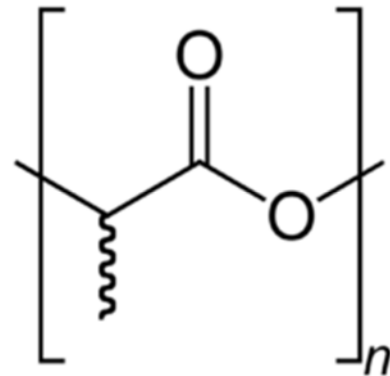


Figure II.4. Formule développée de PLA.

II.1.1.3. Tensioactifs

❖ II.1.1.3.1. Polyvinyl alcool (PVA)

Le PVA se présente sous la forme de cristaux blancs à ivoires. Il possède une excellente solubilité en eau chaude (dissolution totale à 90– 95°C) et dans certaines limite, dans les alcools hydrosolubles tels que l'éthanol et méthanol, il est insoluble dans les solvants organiques.

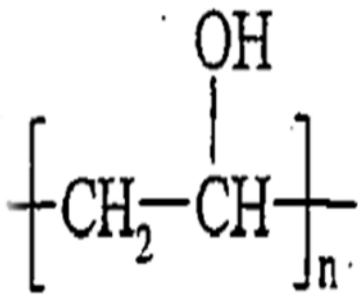


Figure II.5. Formule développée de PVA.

Figure II.6. Aspect physique de PVA.

Les propriétés physico-chimiques de PVA sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau II.2. Propriétés physico-chimiques de PVA [57].

Caractéristique	Spécification
Forme	Paillettes blanchâtre
Odeur	Inodore
Formule chimique	$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$
Densité	1,26g /cm ³
Point de fusion	260°C
Point d'ébullition	228°C

❖ II.1.1.3.2. Sodium dodécyl sulfate (SDS)

Le SDS est une molécule anionique de masse moléculaire 288,38g / mol, se présente sous la forme de poudre blanche [58], sa formule développée est illustré dans la figure (II.9) ci-dessous :

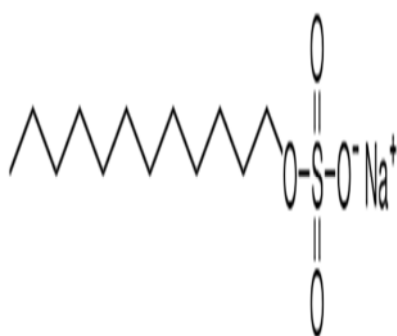


Figure II.7. Formule développée du SDS.

Figure II.8. Aspect physique de SDS.

❖ II.1.1.3.3. Bromure de cétyl-triméthyl ammonium (CTAB)

Le CTAB est une molécule cationique de formule brute $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$ et de masse moléculaire 364,45 g /mol. C'est une poudre cristalline blanche de point de fusion 230°C [58].

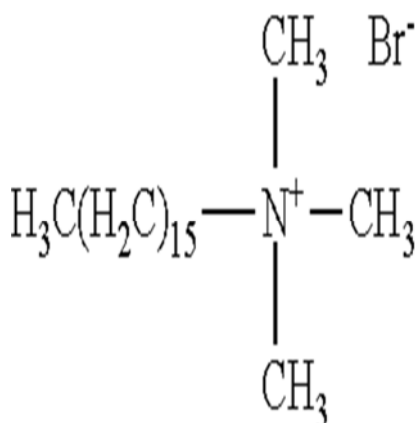


Figure II.9. Formule développée du CTAB.

Figure II.10. Aspect physique du CTAB.

II.1.1.4. Principe actif : Chlorhydrate de metformine

Le chlorhydrate de metformine est un principe actif, son nom chimique est le mono chlorhydrate de N, N-diméthylbiguanidine, caractériser par :

- Masse moléculaire en poids : 165,6 g /mol.
- Solubilité : très soluble dans l'eau.
- Aspect : cristaux blanc.

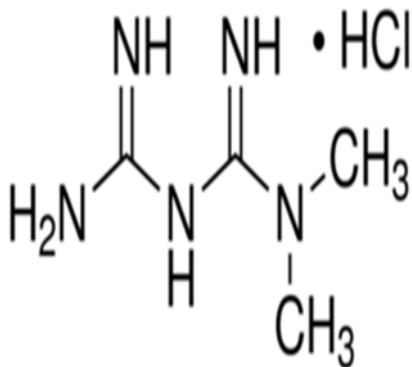


Figure II.11. Formule développée du chlorhydrate de metformine.



Figure II.12. Aspect physique du chlorhydrate de metformine.

II.1.2. Méthodes

II.1.2.1. Préparation des phases aqueuses externes (w₂)

Elle consiste dans la préparation des solutions PVA à (0,01%), (0,1%), (0,25%), (0,5%) ; et la solution CTAB à (0,1%) et SDS à (0,1%).

II.1.2.1.1. Préparation des solutions du PVA

A fin d'étudier l'influence des concentrations de tensioactif du PV, on a préparé des solutions du PVA à des pourcentages différents : (0,01%), (0,1%), (0,25%), (0,5%).

Pour préparer la solution du PVA à (0,1%) on procède ainsi :

En premier lieu, on pèse 0,1g de PVA qu'on introduit dans une fiole jaugé de 100 ml contenant un barreau magnétique, puis on ajoute de l'eau distillé jusqu'au trait de jauge, la

fiolle est en suite déposé sur plaque chauffante agitatrice (a noté que la température doit être à 90°C) afin de dissoudre la poudre de PVA.

La même méthode est utilisé pour préparer les autres concentrations de tensioactifs du PVA la seule différence réside en la masse du PVA à peser :

- Pour 0,01% on pèse 0,01g du PVA.
- Pour 0,25% on pèse 0,25g du PVA.
- Pour 0,5% on pèse 0,5g du PVA.

II.1.2.1.2. Préparation des solutions CTAB et SDS à 0,1%

La préparation de ces deux solutions se réalise avec le même mode opératoire que la solution de PVA à 0,1%.

II.1.2.2. Préparation de la phase aqueuse interne à 0,05 g/ml (w_1)

Pour préparer une solution aqueuse contenant le principe actif (metformine) à une concentration de 0,05 g/ml on procède ainsi :

Dans un petit flacon en verre on introduit 5 ml d'eau distillée et un barreau magnétique puis on ajoute 0,250g de la metformine. Le flacon est ensuite déposé sur un agitateur et on attend jusqu'à ce que ce dernier soit dissous.

II.1.2.3. Préparation de la phase organique (O)

Pour préparer la phase organique on pèse 0,200 g de PLA qu'on dissous dans 10 ml de CH_2Cl_2 le tous est soumis à une agitation pendant 15 min jusqu'à la dissolution complète du PLA.

II.1.3. Mode opératoire de préparation des microparticules

L'encapsulation est effectuée par la méthode de double émulsion / évaporation du solvant [59]. A l'aide d'une micropipette on prélève 1ml de solution de chlorhydrate de metformine (w_1) qu'on verse goutte à goutte dans la phase organique (O), une émulsion huile dans l'eau (W_1/O) est formée par agitation à 300tr/min pendant 3min.

Cette émulsion est introduite dans 40ml d'une solution aqueuse externe (W_2) contenant du PVA 0,1% sous une agitation de 400 tr/min pour former une double émulsion ($W_1 / O / W_2$). Le CH_2Cl_2 est ensuite évaporé sous agitation modérée (300 tr/min) à la température ambiante et sous pression atmosphérique pendant une nuit.

Les microcapsules sont récupérées après centrifugation à 6000 tr/min pendant 1h, lavées avec de l'eau distillée deux fois et séchées dans un dessiccateur.

II.1.3.1. L'influence de la concentration du tensioactif du (PVA)

Pour étudier l'influence de la concentration du tensioactif du PVA sur les microcapsules on utilise le même mode opératoire pour la préparation des microparticules, la seule différence réside dans le changement de la phase aqueuse contenant du PVA tel-que, à chaque fois on change le pourcentage massique de ce dernier ((0,01%), (0,25%), (0,5%)), et la vitesse d'agitation est fixée à 400 tr/min.

II.1.3.2. L'influence du type de tensioactifs

Pour étudier l'influence des tensioactifs CTAB, SDS à 0,1% sur les microparticules on suit toujours le même procédé pour la préparation des microparticules, mais au niveau de la phase aqueuse, le PVA a été remplacé par le SDS ou le CTAB et la vitesse d'agitation est toujours à 400 tr/min.

II.1.3.3.L'influence de la vitesse d'agitation

Pour étudier l'influence de la vitesse d'agitation sur les microparticules, on utilise le même procédé pour la préparation des microparticules mais dans ce protocole la phase aqueuse contient en premier lieu le PVA, en second lieu le CTAB et en dernier lieu le SDS à un pourcentage massique fixe de 0,1% . On fixe trois vitesses d'agitation qui sont: 700 tr/min puis 1000 tr/min et 1200 tr/min.

Ces études sont réalisées dans le but d'étudier l'influence de ces paramètres cité si dessus sur la taille et la forme des particules ainsi le rendement et le taux d'encapsulation des microparticules.

II.1.4. Détermination de taux d'encapsulation

Les taux d'encapsulation sont calculés par dosage indirect, en mesurant la densité optique à la longueur d'onde de 232 nm, du surnageant récupéré après centrifugation de la suspension microparticulaire. La concentration de chlorhydrate de metformine non encapsulé C_n a été dosé.

Les taux d'encapsulation sont ensuite calculés par la relation suivante :

$$EE (\%) = \frac{C_0 - C_n}{C_0} \times 100$$

C_0 : Concentration initiale de chlorhydrate de metformine.

C_n : Concentration de chlorhydrate de metformine non encapsulé.

II.1.5. Rendement d'encapsulation (R%)

A fin de calculer le rendement d'encapsulation nous avons d'abord mesurés la masse des microcapsules récupérées après centrifugation et pour cela on procède comme suit :

On mesure d'abord la masse de la boîte de pétrie vide m_0 , ensuite on dépose dedans les microcapsules et on les laisse séchées dans un dédicateur. Une fois les microcapsules séchées on pèse le tout (c'est-à-dire microcapsules séchées + boîte de pétrie) m_1 .

La soustraction des deux masses mesurées précédemment ($m_1 - m_0$) nous donne la masse des microcapsules récupérées.

Le rendement d'encapsulation est calculé avec la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{masse des microcapsules récupérées}}{\text{masse du polymère} + \text{la masse du principe actif}} \times 100$$

CHAPITRE III
CARACTERISATION DES
MICROPARTICULES



III. Résultats et discussions

III.1. Spectrophotométrie UV-Visible du chlorhydrate de metformine

La bande d'absorption du chlorhydrate de metformine pur est déterminée par balayage pour longueur d'onde comprise entre 200 nm et 400 nm.

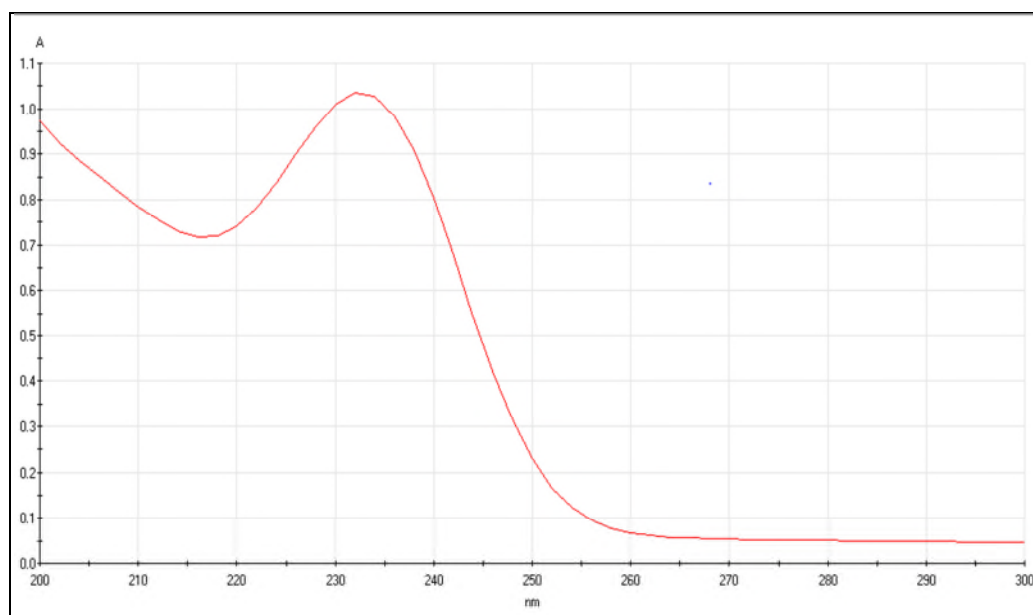


Figure III.1. Spectre UV du chlorhydrate de metformine dans l'eau distillée.

Le chlorhydrate de metformine présente une absorption maximale située à la longueur d'onde 232 nm. Un résultat similaire a été trouvé par **Giovanna Corti** et ces collaborateurs [3].

III.2. Dosage de chlorhydrate de metformine par UV-Visible

La courbe d'étalonnage du chlorhydrate de metformine a été réalisée dans l'eau distillée pour des concentrations allant de 2 à 12 mg /l. (**Figure III.2**)

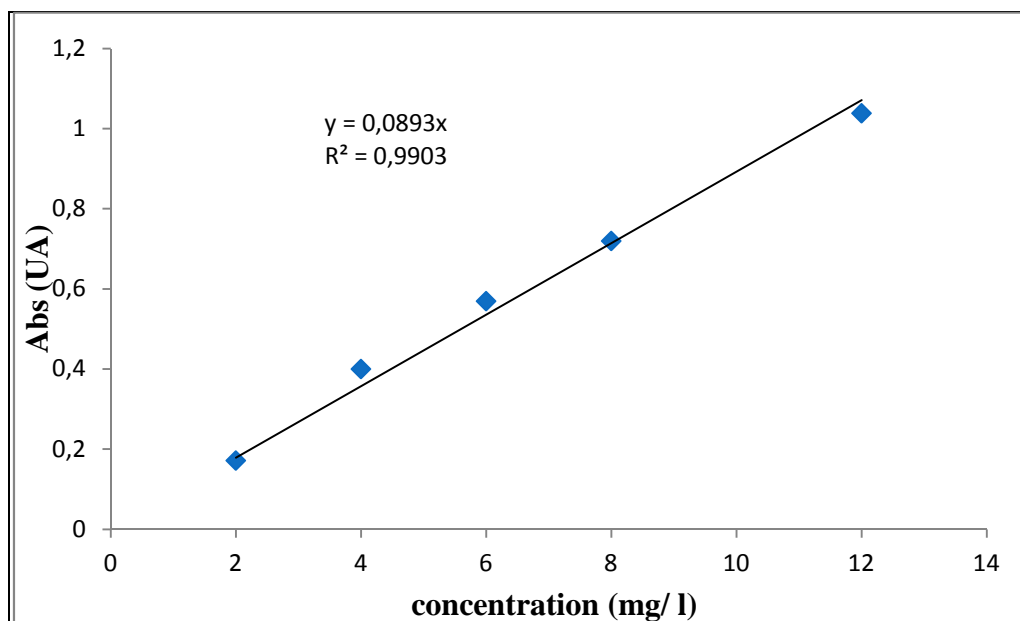


Figure III.2. Courbe d'étalonnage de la metformine HCl dans l'eau distillée à 232 nm.

III.3. Influence des paramètres expérimentaux sur le rendement et le taux d'encapsulation

III.3.1. Influence de la concentration du PVA

Après la manipulation, on a regroupés les taux d'encapsulation et les rendements obtenus dans le tableau suivant :

Tableau III.1. Taux d'encapsulation et rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à différentes concentration du PVA

Formulation	[PVA]%	R(%)	EE (%)
E1	0,01	34,46	99,96
E2	0,1	37,30	99,90
E3	0,25	36,97	99,93
E4	0,5	35,04	99,95

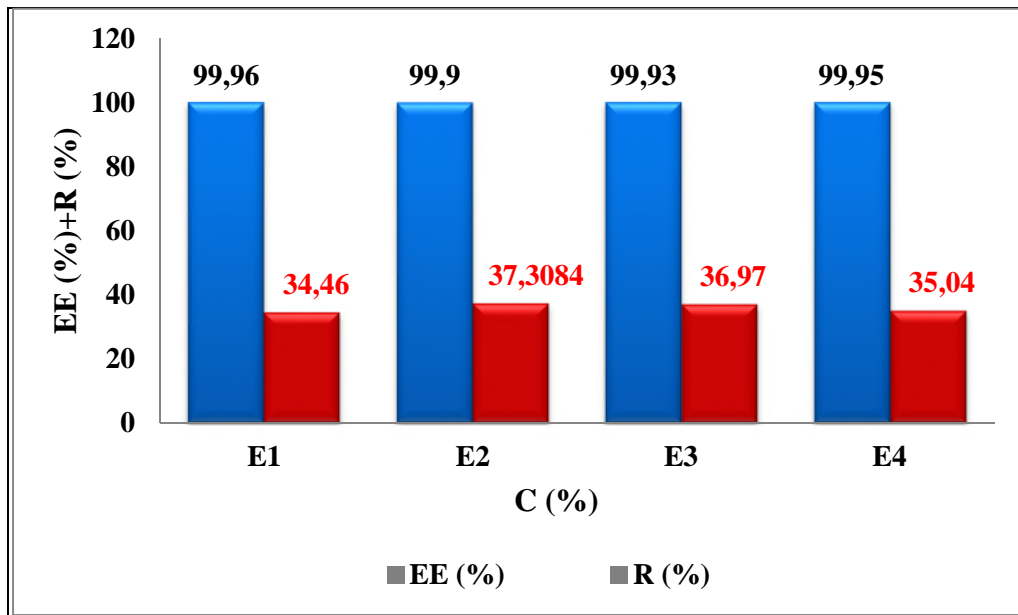


Figure III.3. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de différentes concentrations du PVA à la vitesse d'agitation 400 tr/min.

D'après le **tableau (III.1)** et la **figure (III.3)** on constate d'une part que malgré la augmentation des concentrations du tensioactif PVA (0,01% jusqu'à 0,5%) les taux d'encapsulation ne changent pas ils avoisinent les 99,99%. La variation de la concentration du PVA à la vitesse d'agitation 400 tr/min, n'a pas d'effet significatif sur le taux d'encapsulation. D'autre par, les rendements d'encapsulation varient entre 34 et 37%, le meilleur rendement est obtenu dans le cas où la concentration du PVA est à 0,1%.

On peut justifier ce faible rendement par la formation des films lors de la formation des microparticules.

D'après ces résultats, le meilleur rendement apparaît à une concentration de 0,1%, ce qui nous mène à préparer les autres microparticules à différents types de tensioactifs avec cette concentration.

II.3.2. Rendement des microparticules en absence de la metformine

D'après les résultats obtenus par la comparaison des deux rendements des microparticules, on a remarqué que les résultats obtenus avec le principe actif qui mesure entre 34 à 37% est supérieur à celles obtenus avec l'absence de principe actif et qui est de 27%.

III.3.3. Influence de la nature du tensioactif

Les taux d'encapsulation et le rendement qu'on a obtenu dans l'étude de l'influence de la nature du tensioactif (vitesse d'agitation 400 tr/min) sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.3. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à différents tensioactifs.

Formulation	Tensioactif à 0,1%	R (%)	EE (%)
E2	PVA	37,30	99,90
E6	SDS	39	99,91
E7	CTAB	40,92	99,93

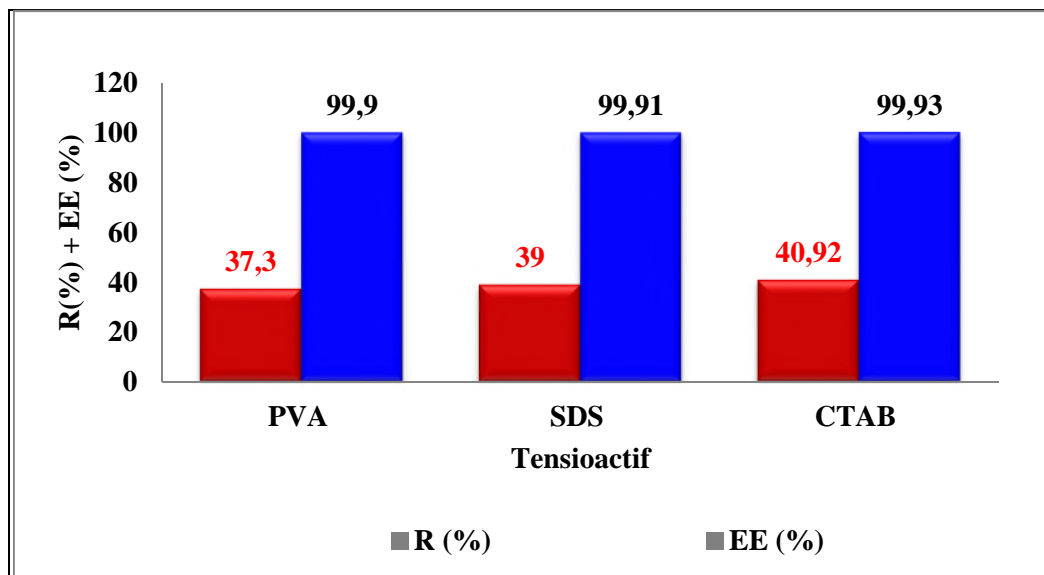


Figure III.4. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à une vitesse d'agitation de 400 tr/min.

D'après les résultats obtenus à partir du **tableau (III.3)** et la **figure (III.4)**, on remarque que la nature de tensioactif n'a pas d'effet significatif sur le taux d'encapsulation, par contre elle influence sur le rendement tel qu'on observe un bon rendement lors de l'utilisation du CTAB (0,1%) comme tensioactif.

La variation de type de tensioactif montre que le CTAB est plus adapté pour obtenir un rendement élevé.

III.3.4. Influence de la vitesse d'agitation

III.3.4.1. La vitesse d'agitation 700 tr/min

Les taux d'encapsulation et le rendement obtenu à la vitesse d'agitation 700 tr/min sont regroupés dans le **tableau III.4**.

Tableau III.4. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à une vitesse d'agitation 700 tr/min.

Formulation	Tensioactif à 0,1%	R (%)	EE (%)
E8	PVA	38,28	99,95
E9	SDS	36,35	99,91
E10	CTAB	36,33	99,93

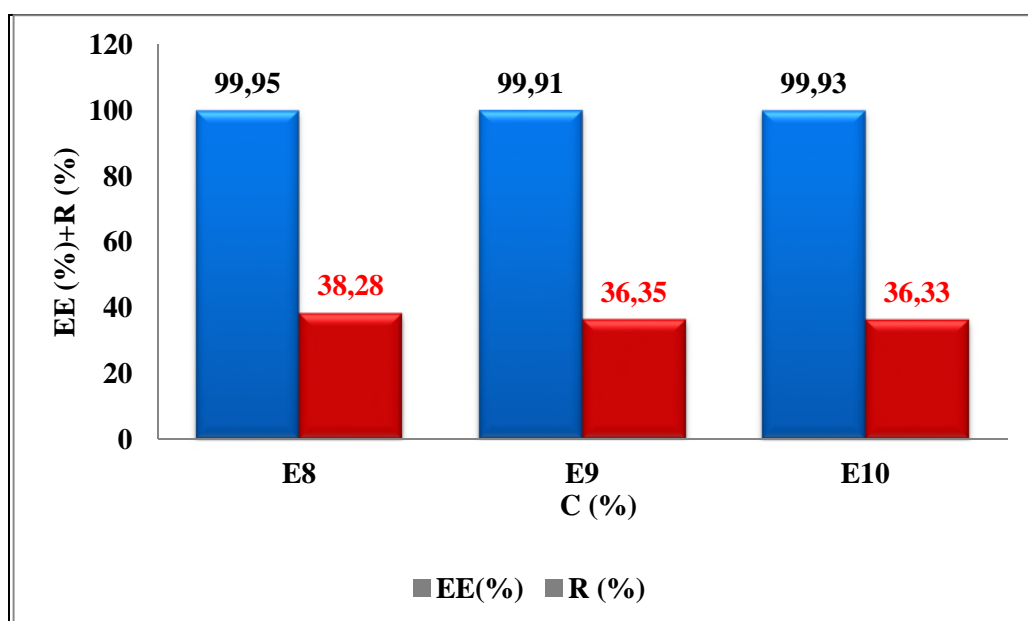


Figure III.5. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à une vitesse d'agitation de 700 tr/min.

Lorsque la vitesse d'agitation est de 700 tr/min, le meilleur rendement (38,28%) est observé dans le cas où le tensioactif utilisé est le PVA (0,1%), le taux d'encapsulation ne varie pas ($\approx 99,99\%$) pour les trois tensioactifs (SDS, PVA, CTAB).

III.3.4.2. La vitesse d'agitation 1000 tr/min

Les taux d'encapsulation et le rendement qu'on a obtenu à la vitesse d'agitation de 1000 tr/min sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.5. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à une vitesse d'agitation de 1000 tr/min.

Formulation	Tensioactif à 0,1%	R (%)	EE (%)
E11	PVA	26,75	99,89
E12	SDS	39,08	99,93
E13	CTAB	43,14	99,94

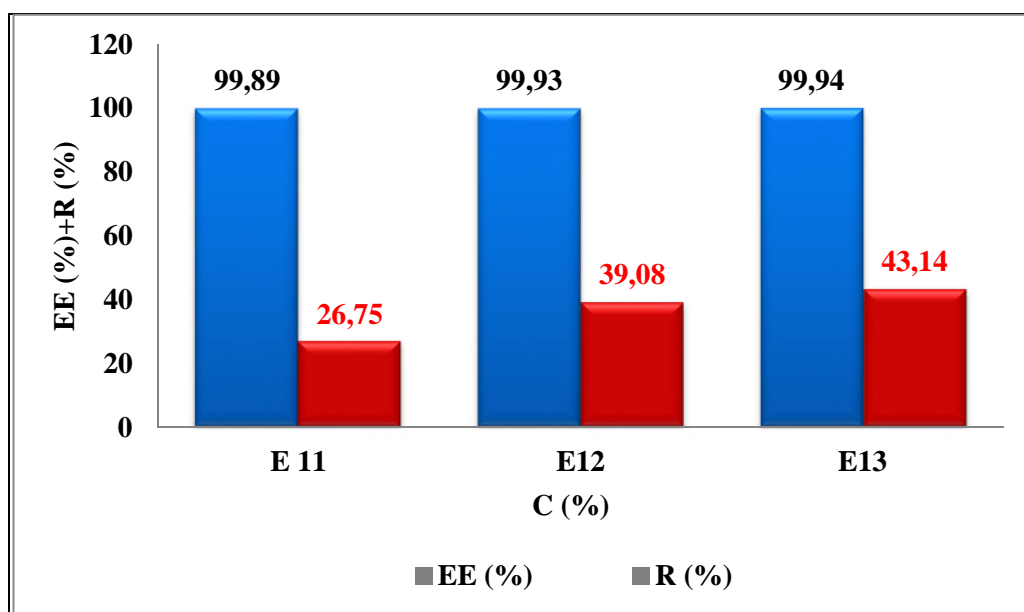


Figure III.6. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à la vitesse d'agitation 1000 tr/min.

A la vitesse d'agitation 1000tr/min, le rendement le plus élevé (43,14%) est obtenu lorsqu'on a utilisé le CTAB (0,1%) comme tensioactif. Le taux d'encapsulation ne change pas ($\approx 99,99\%$).

III.3.4.3. La vitesse d'agitation 1200 tr/min

Les taux d'encapsulation et le rendement qu'on a obtenu à la vitesse d'agitation de 1200 tr/min sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.6. Taux d'encapsulation et le rendement du chlorhydrate de metformine obtenus à la vitesse d'agitation 1200 tr/min.

Formulation	Tensioactif à 0,1%	R (%)	EE (%)
E14	PVA	39,9	99,91
E15	SDS	41,55	99,93
E16	CTAB	36,46	99,92

La figure (III.7) ci –dessous nous fait part des taux d'encapsulation et les rendements des microcapsules en fonction de la nature de tensioactif à la vitesse d'agitation 1200 tr/min.

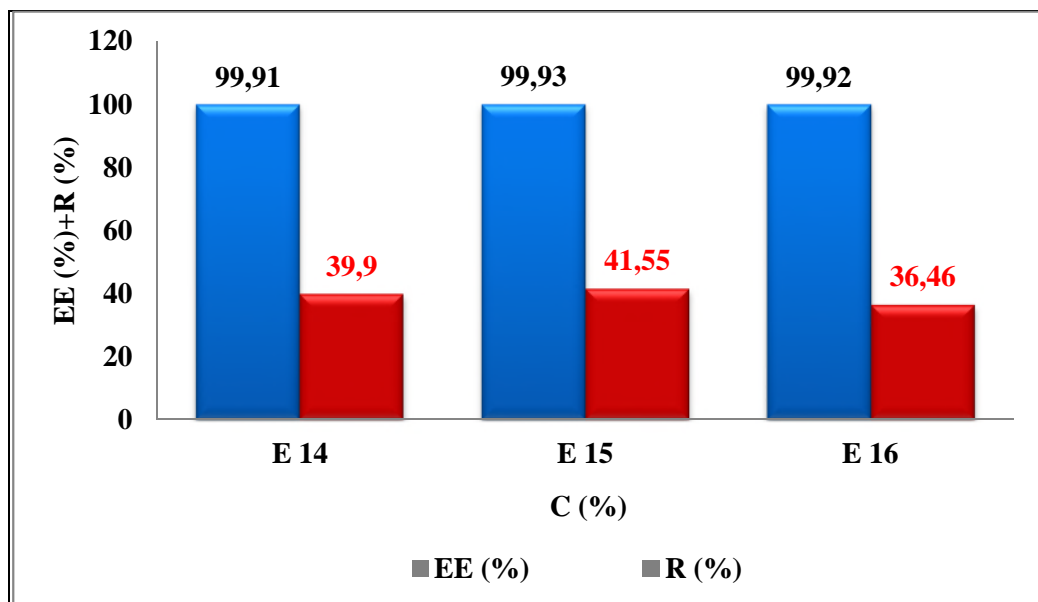


Figure III.7. Taux d'encapsulation et le rendement en fonction de la nature des tensioactifs à la vitesse d'agitation de 1200 tr/min.

D'après les résultats, illustrés dans le tableau (III.6) et la figure (III.7), le bon rendement (41,55%) est observé en présence du SDS (0,1%) comme tensioactif, le taux d'encapsulation ne varie pas ($\approx 99,99\%$).

III.4. Comparaison entre les rendements d'encapsulation à différent vitesse d'agitation

La figure (III.8) permet de faire la comparaison entre les rendements des microparticules préparées à différents tensioactifs et à différentes vitesse d'agitation.

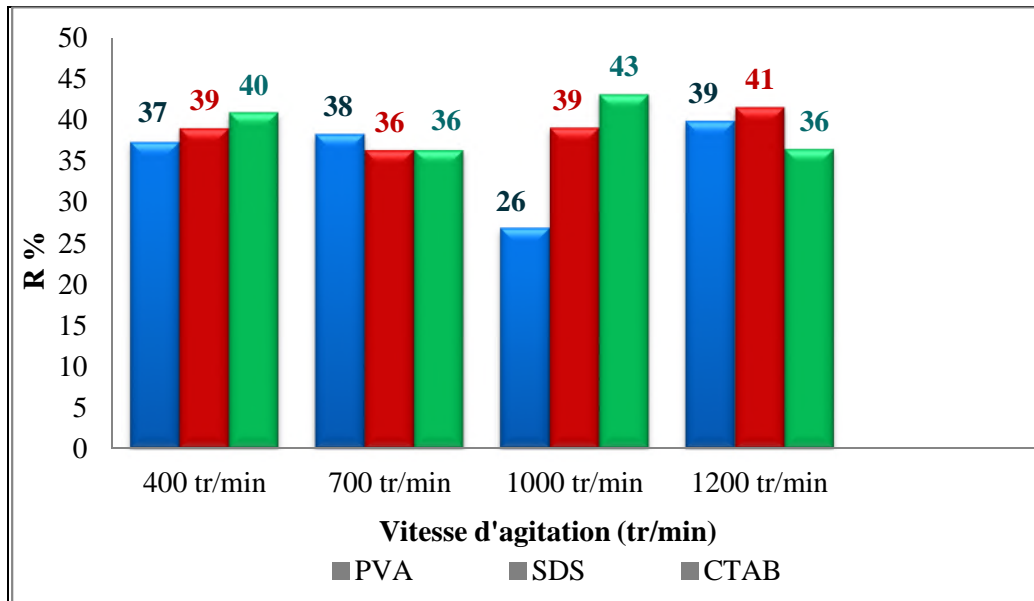


Figure III.8. Rendement en fonction des vitesses d'agitation pour différent tensioactifs.

D'après la **figure (III.8.)**, le meilleur rendement a été observé dans le cas où le tensioactif est le CTAB (0,1%) a une vitesse d'agitation de 1000 tr/min. le rôle principale du CTAB consiste en la stabilisation d'émulsion (c'est le rôle de tous tensioactifs utiliser).

Le rendement ne devrais pas être élève lors de l'utilisation du CTAB comme tensioactif car lui étant chargé positivement (CTAB cationique) et la metformine quand à elle prend la charge positive à un PH=6 (**Hernández et al, 2015**) [60], (le PH=6 est le PH de l'eau distillée) cela devrais donc provoquer une répulsion entre le CTAB et la metformine, cependant on a obtenu un bon rendement. On supposera donc que ce résultat est due peut être a une répulsion entre ces deux réactifs (CTAB et la metformine).

A 700 tr/min, le bon rendement est observé avec le PVA comme tensioactif cela est expliqué par la formation des liaisons Hydrogénés entre l'hydrogène de la fonction alcoolique (OH) du PVA et les doubles liaisons de la molécule d'Amine de la metformine.

A 1200 tr/min, le bon rendement est observé avec SDS comme tensioactif cela est expliqué par l'attraction entre le SDS qui est chargé négativement (anionique) [61] et la metformine chargé positivement à PH=6.

III.5. Analyse spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

L'analyse par spectroscopie IR-TF nous permet de détecter les nouvelles liaisons dans les microparticules préparées et de vérifier si leur fréquences et intensité a changée après la microencapsulation avec différents paramètres étudié. Les spectres IR de polymère du PLA et la metformine sont comparés à ceux des microparticules obtenus dans les différentes formulations.

III.5.1. Spectre IR-TF du PLA

Le spectre IR du PLA nous permet de caractériser les groupements fonctionnels dans le PLA pur en identifiant leurs bandes d'absorption situées entre $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$. Le spectre IR est représenté sur la **figure (III.9)**.

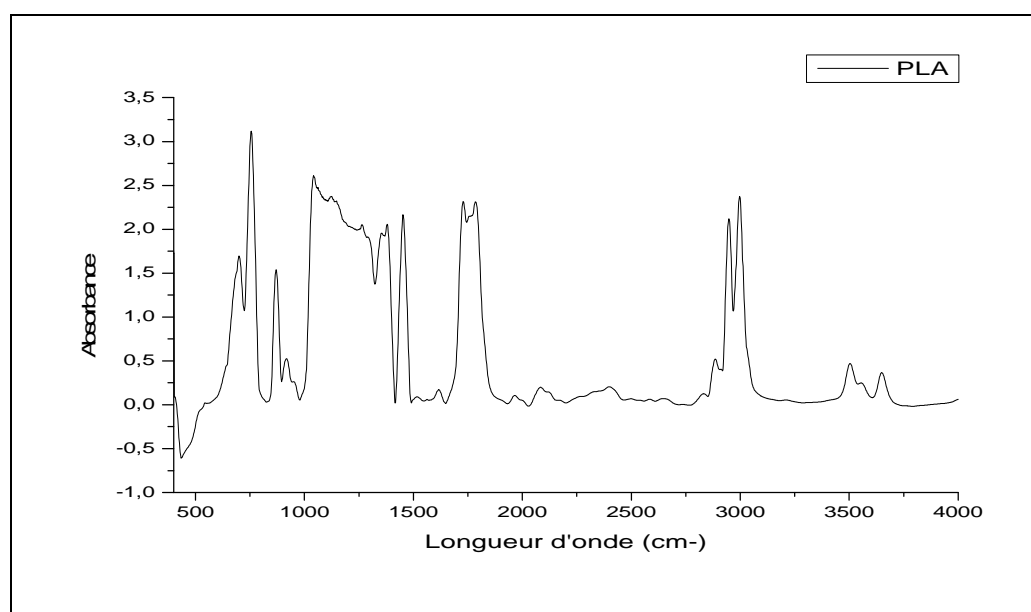


Figure III.9: Spectre IR-TF du PLA.

Le PLA est un polyester aliphatique constitué essentiellement d' α -hydroxyde acide, Le spectre représenté sur la figure révèle l'existence de plusieurs groupements fonctionnels.

- Une bande d'absorption du groupement hydroxyle **-OH** dans la zone $3500\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$;
- Une bande d'absorption d'intensité moyenne à 3000 cm^{-1} **CH** ;
- Une bande d'absorption du groupement carboxylique **-C=O** présente à 1750 cm^{-1} ;

- Une bande d'absorption à 1100 cm^{-1} qui confirme la présence de la fonction ester **-C-O** ;
- Une bande d'absorption dans la zone $750\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ du groupement **CH**.

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par (R.Kassab et al., 2013) [62]. Le **tableau (III.7)** résume les bandes caractéristiques du PLA.

Tableau III.7 : Principales bandes caractéristiques du PLA.

Pic d'absorption (cm^{-1})	Type de bande
2994-2942	CH_3 et CH
1748	-C=O
1451-1382	CH_3 et CH
1180	-C-O

III.5.2. Spectre IR-TF de chlorhydrate de metformine

Le spectre IR-TF représenté en **figure (III.10)** permet de déterminer les bandes caractéristiques du chlorhydrate de metformine.

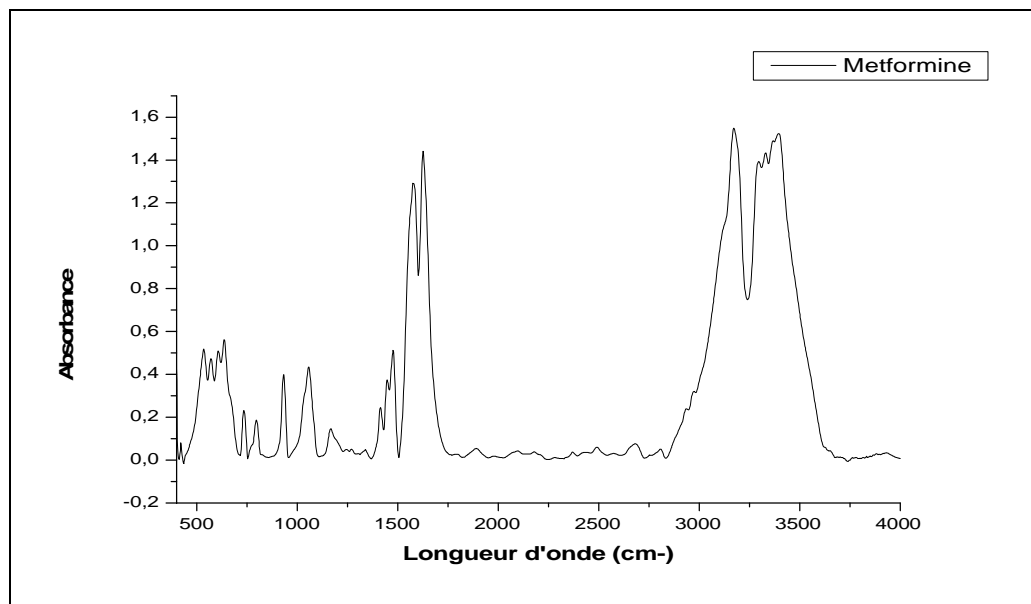


Figure III.10 : Spectre IR-TF du chlorhydrate de metformine entre 400 et 4000 cm^{-1} .

D'après le spectre IR-TF (**Figure III.10**) obtenu, on remarque que la metformine présente deux bandes de vibration de valence du groupement **C=N-H** apparu dans la zone 3100-3400 cm^{-1} . 3175 cm^{-1} correspond aux élongations de (**=N-H**, imine) et d'élongation asymétrique d'une amine primaire (**N-H**). Pic à 2930 cm^{-1} dû au groupement **-CH** du méthyle aliphatique et à 2970 cm^{-1} dû à l'élongation asymétrique de **CH₃**, à 1640 cm^{-1} une forte bande d'absorption qui est attribuée à la vibration d'élongation du groupement **C=N**. Deux bandes de déformation dans le plan et élongation de **CH₃** à 1475 et 730 cm^{-1} . À 1175 et 1040 cm^{-1} deux bandes sont observées dû à la vibration de valence **C-N**, bande notée à 640 cm^{-1} dû à **C-Cl**.

Les bandes caractéristiques du chlorhydrate de metformine pur sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.8 : Principales bandes IR observables pour le chlorhydrate de metformine pur (Kumar Nayak et al.2013) [15].

Pic d'absorption (cm^{-1})	Type de bande
3169	NH, amine primaire ($-\text{NH}_2$)
1063	C-N
1584	N-H

III.5.3. Spectre IR-TF du PLA, metformine, et des formulations E1, E2, E3, E4 à différentes concentration du PVA

Le spectre IR-TF des microparticules de PLA contenant le chlorhydrate de metformine (figure III.11), nous permet d'accéder à voir l'influence de la concentration sur l'intensité des pics ou des bandes d'absorption.

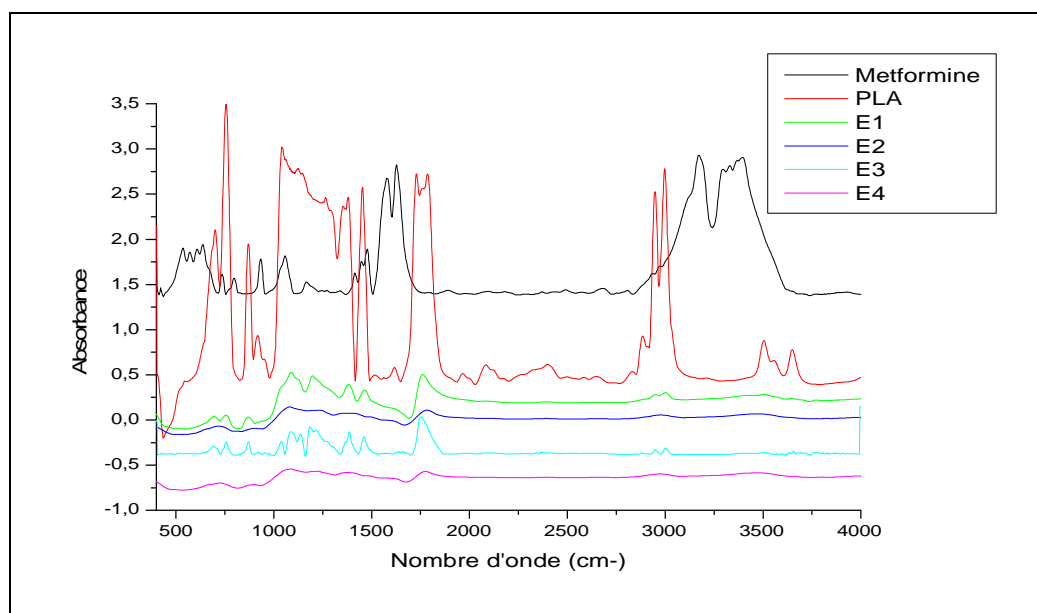


Figure III.11 : Spectre IRTF du PLA, metformine et les microparticules contenant le chlorhydrate de metformine entre 400 et 4000cm^{-1} .

Sur le spectre IRTF des microparticules de PLA contenant la metformine, on remarque une bande caractéristique de PLA à environ de 1730 cm^{-1} de groupement $-\text{C}=\text{O}$ avec une diminution remarquable de leur intensité. Pour la bande qui se situe entre $800-1200\text{ cm}^{-1}$ on remarque aussi qu'elle est décalée et diminué par rapport à l'intensité celle du PLA, tandis que tous les pics de la metformine sont masqués par les bandes du PLA. L'absence de la

liaison N-H caractéristique de la metformine est expliqué par la formation des liaisons d'hydrogène avec les fonctions ester du PLA [63].

La bande observé à environ de 850 cm^{-1} avec un décalage de nombre d'onde et de l'intensité dû à la vibration d'élongation de la liaison C-O. ce décalage et diminution de l'intensité peut être s'expliquer par la formation des liaisons avec les amines de la metformine.

III.5.4. Spectre IRTF de des microparticules préparé avec le SDS (0.1%) à différentes vitesses

Les spectres IR-TF des microcapsules contenant le chlorhydrate de metformine, PLA et metformine pur sont représentés sur la figure suivante (**Figure III.12**).

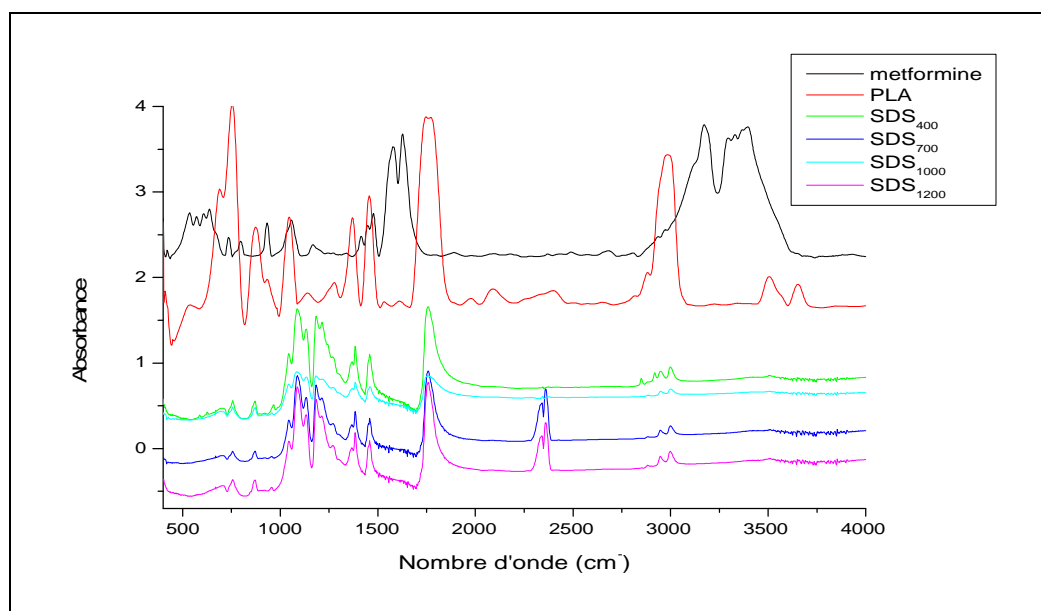


Figure III.12 : Spectres IR-TF du PLA, metformine, et les microparticules contenant la metformine entre 400 cm^{-1} et 4000 cm^{-1} .

D'après le spectre IR-TF des microparticules du PLA contenant le chlorhydrate de metformine représenté sur la figure ci-dessus, on remarque l'apparition des bandes caractéristique du PLA. Les bandes d'absorption observé à 1750 cm^{-1} et à 1050 cm^{-1} sont attribuées respectivement aux groupements carbonyle -C=O (**figure III.12**) et -C-O de l'ester (**figure III.13**). On note une diminution de l'intensité comparé avec celle du PLA pur. Cette variation peut être justifiée par la formation des liaisons hydrogène avec les amines ou imine de chlorhydrate de metformine. L'absence des bandes d'absorption du chlorhydrate de metformine, signifie que le principe actif est encapsulé.

Afin de mieux voir les bandes caractéristiques du PLA dans les microcapsules formées, on s'intéresse à deux régions situées entre $1600-2000\text{ cm}^{-1}$ et $800-1100\text{ cm}^{-1}$ celle de $\text{C}=\text{O}$ (Figure III.13) et celle de $-\text{C}-\text{O}$ (figure III.14).

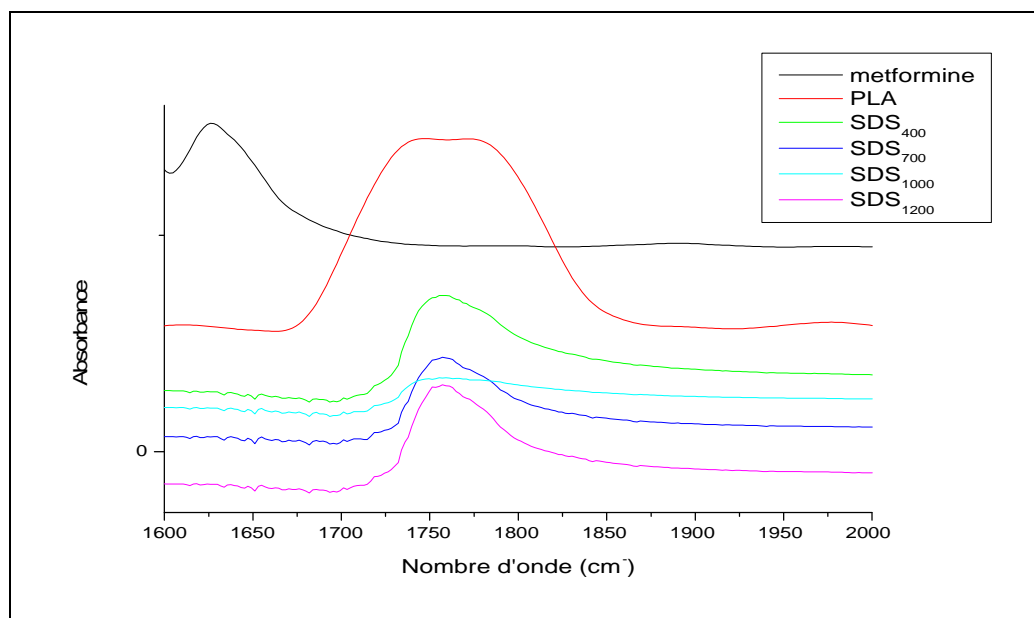


Figure III.13 : Spectre IR-TF des microparticules de PLA contenant la metformine entre 1600 et 2000 cm^{-1} .

En examinant de près ces spectres dans la zone d'absorption des carbonyles du PLA, la bande attribuée au groupement carbonyle $\text{C}=\text{O}$ se trouve décalé vers les basses fréquences. Ceci est dû probablement à la formation des liaisons hydrogène entre les groupements carbonyles de groupement ester du PLA et l'hydrogène de la fonction amine ou imine de la metformine.

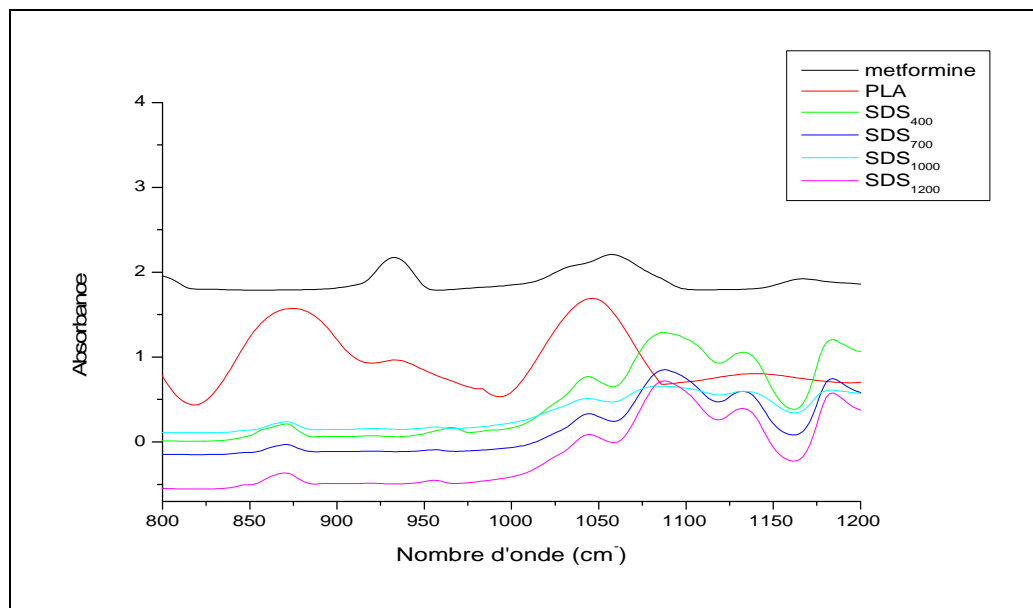


Figure III.14 : Spectre IRTF du PLA, metformine, et les microparticules contenant la metformine entre 800 et 1200 cm^{-1} .

Pour les liaisons -C-O situées entre 800 et 1200 cm^{-1} on remarque un changement du pic d'absorption des microparticules contenant la metformine par rapport à celui du PLA (**Figure III.14**) qui peut être expliqué par l'établissement des liaisons hydrogène avec les amines de la metformine.

III.5.5. Spectre IRTF du PLA, metformine, et les microcapsules contenant la metformine préparé avec le CTAB

La figure ci-dessous montre le spectre IRTF des microparticules PLA chargé en metformine préparé avec le CTAB à différentes vitesses d'agitation.

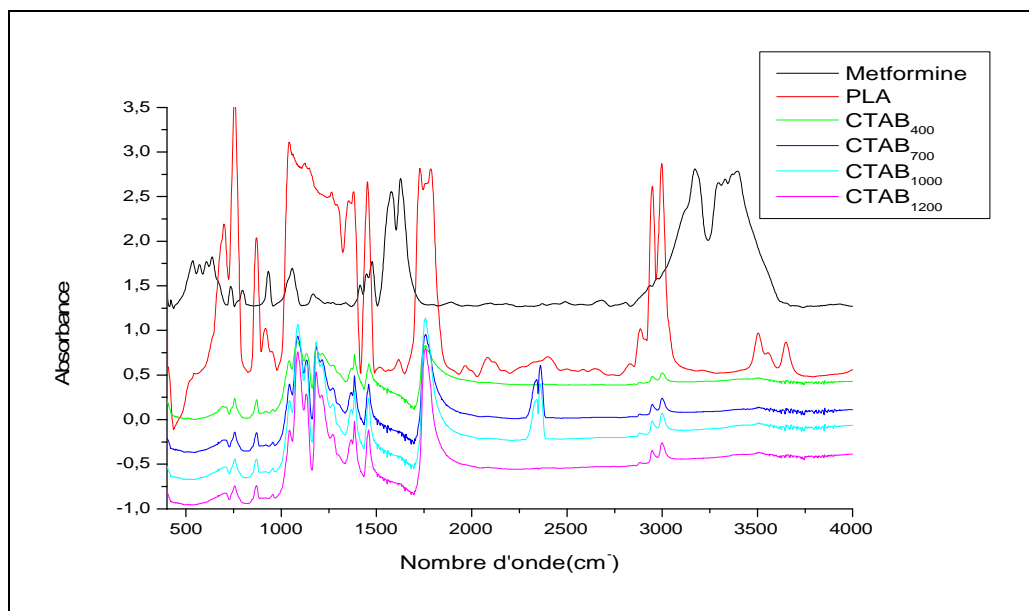


Figure III.15 : Spectre IRTF du PLA, metformine, et les microcapsules contenant la metformine entre 400 et 4000 cm^{-1} .

L'inventaire de ces spectres des microparticules de PLA contenant le chlorhydrate de metformine avec celui du PLA et de chlorhydrate de metformine montre l'absence des bandes caractérisées par la metformine dans la région 3100-3500 cm^{-1} . En revanche, toutes les bandes spécifiques du PLA sont présentes avec une diminution de leur intensité et un décalage de leur longueur d'onde.

Dans la région 900-1300 cm^{-1} , on remarque une diminution de l'intensité de bande caractéristique de la fonction -C-O en comparant avec celui de PLA (**figure III.16**).

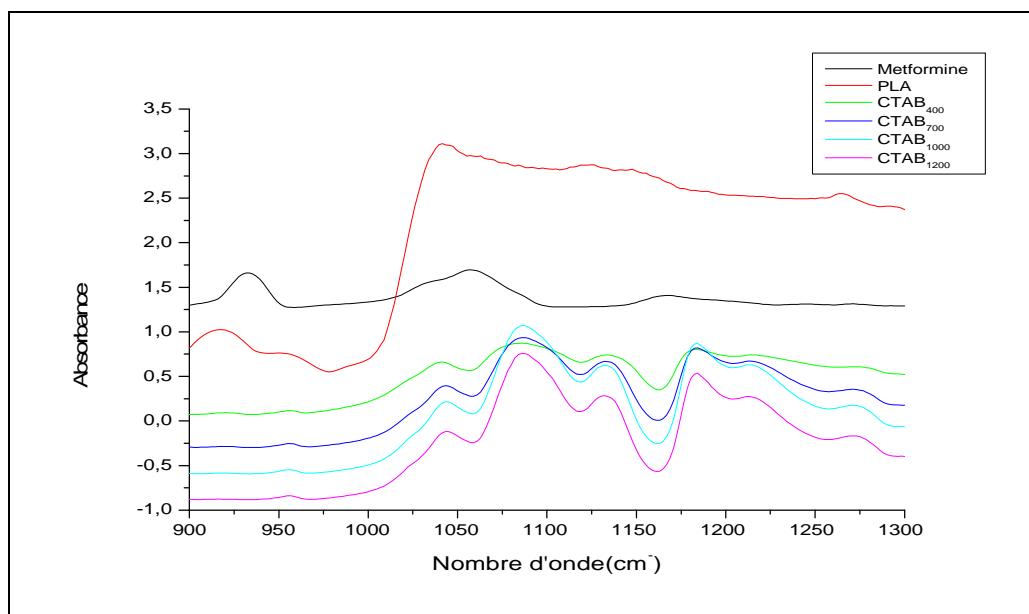


Figure III.16 : Spectre IRFT des microparticules contenant la metformine entre 900 et 1300 cm^{-1} .

Dans la région $1500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, la bande observée ($\text{C}=\text{O}$) est moins intense et un peu décalée on comparant avec celle de PLA et un peu décalée. Ceci peut être expliqué par l'établissement des liaisons hydrogènes entre les groupements carbonyles de la fonction ester du PLA et l'hydrogène de la fonction amine ou imine de la metformine (**Figure III.17**).

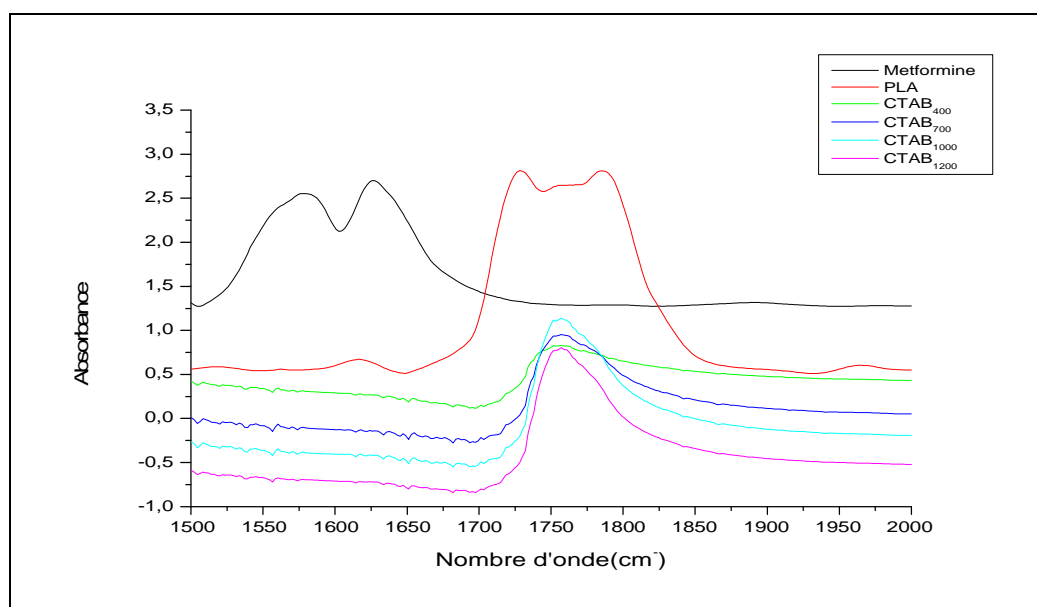


Figure III.17 : Spectre IRTF des microparticules contenant la metformine entre 1500 à 2000 cm^{-1} .

Sur le spectre IRTF des microparticules de PLA contenant le chlorhydrate de metformine. On remarque l'absence de la bande d'absorption caractéristique des groupements amine et imine correspondant à la metformine (**la figure III.17**). Cette absence peut justifiée par la formation des liaisons hydrogène [64].

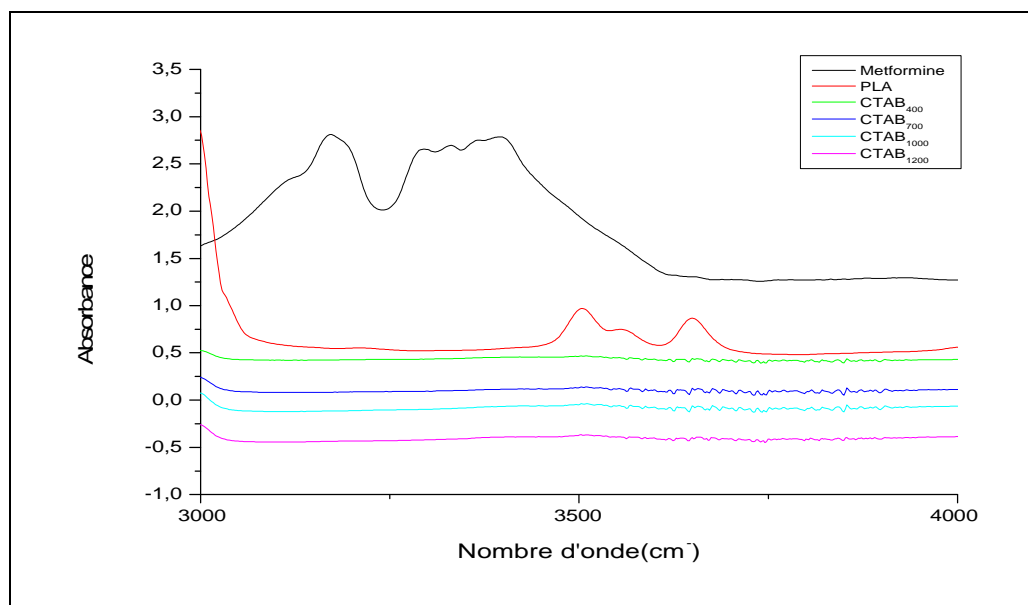


Figure III.18: Spectre IRTF des microparticules PLA/metformine entre 3000 et 4000 cm^{-1} .

Dans cette région de la liaison de la fonction N-H de chlorhydrate de metformine comme la monte la **figure (III.18)**. Cette explication dans la littérature signifie l'établissement des liaisons hydrogène.

III.6. Caractérisations des microparticules par le MEB

III.6.1. Influence des paramètres expérimentaux sur la morphologie des microparticules

III.6.1.1. Influence de la concentration de PVA

Les images MEB des microparticules à des concentrations variables de PVA et à une vitesse d'agitation de 400 tr/min sont représentées sur la **Figure III.23** ci-dessous :

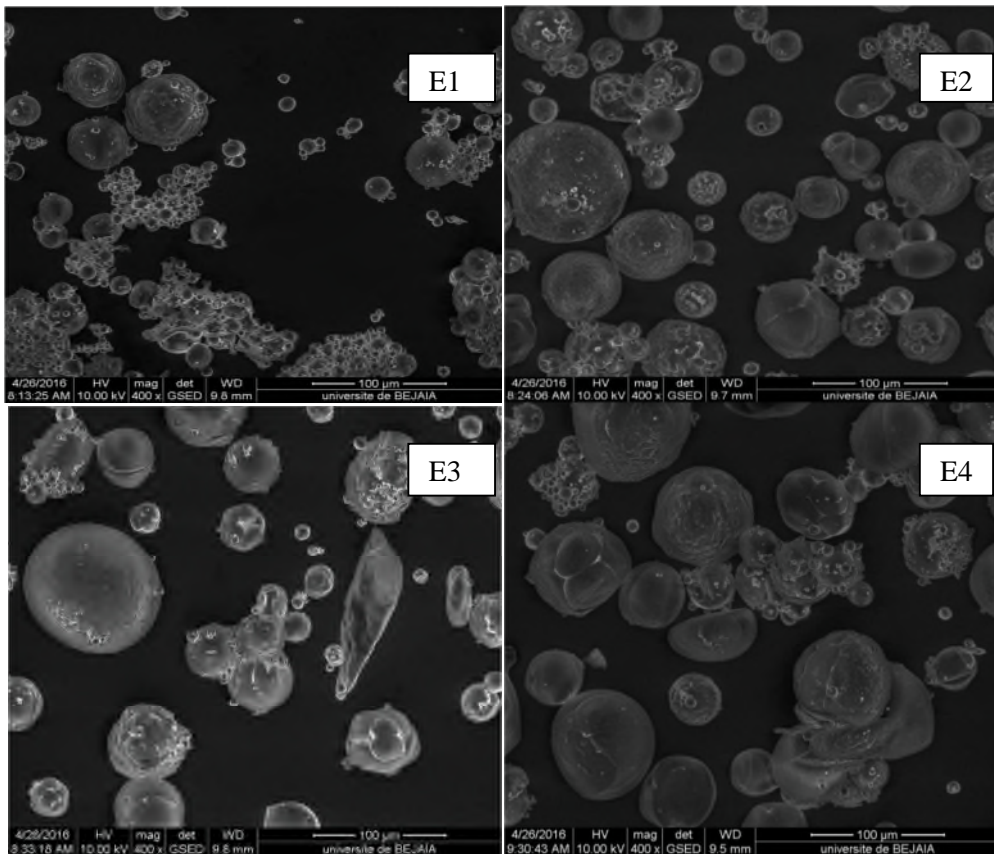


Figure III.19. Micrographie électronique à balayage des microparticules à un grossissement de 100µm pour les différentes concentrations de PVA : E1 (0,01%) ; E2 (0,1%) ; E3 (0,25%) ; E4 (0,5%).

Les formulations E1, E2, E3 et E4 sont les micrographies des échantillons 1,2,3 et 4 respectivement, où la concentration du PVA augmente d'un échantillon à un autre (E1 (0,01%) ; E2 (0,1%) ; E3 (0,25%) ; E4 (0,5%).).

La micrographie MEB de l'échantillon E1, nous permet de visualiser des microparticules accumulés et de petite taille par rapport aux microparticules observés dans les échantillons 2,3 et 4, où on remarque que les microparticules ont tendance à se disperser de plus en plus. Cependant, leurs tailles restent variables.

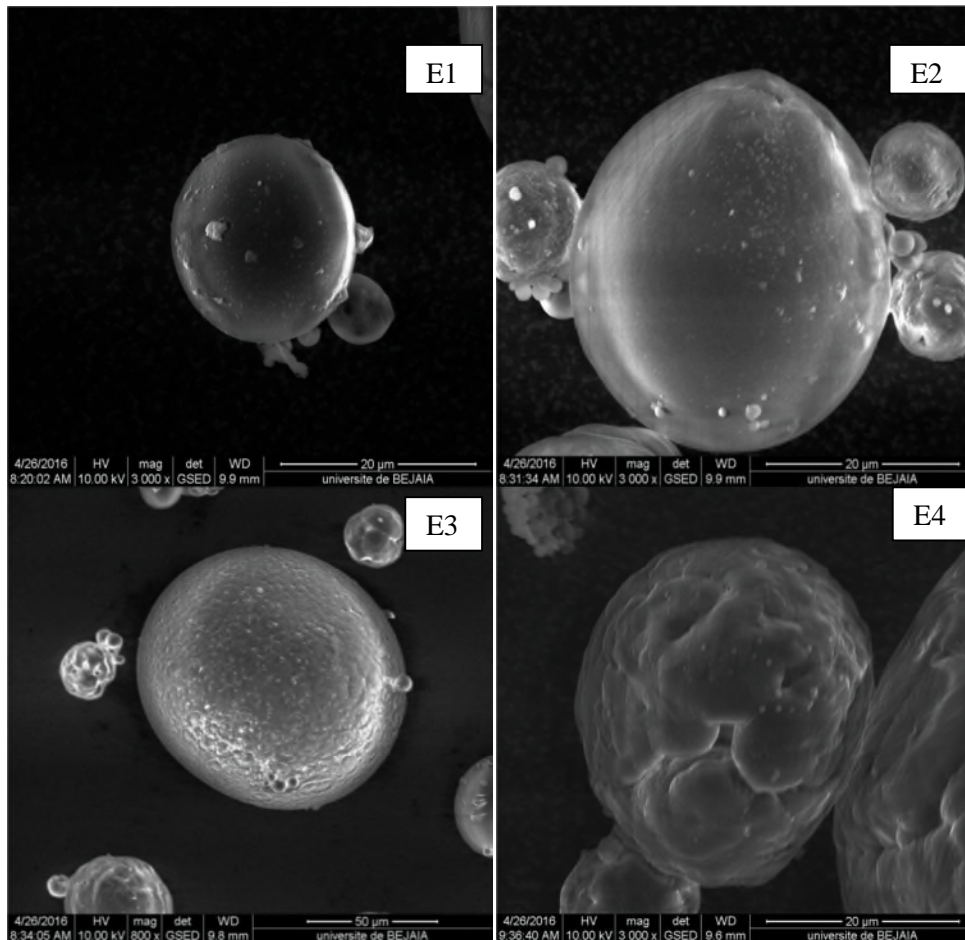


Figure III.20. Micrographie électronique à balayage des microparticules à un grossissement de 20 μ m et 50 μ m pour les différentes concentrations de PVA : E1(0,01%) ; E2 (0,1%) ; E3 (0,25%) ; E4 (0,5%).

Les images illustré dans la **figure (III.24)**. Met en évidence un grossissement à 20 et 50 μ m d'une microcapsule de chaque échantillon. Pour l'échantillon 1et 2 on a observé une microparticule lisse presentant sur sa surface d'autres prtites microcapsules.

Cependant, dans l'échantillon 3 et 4 la microparticule observé a une surfase rigueuse.

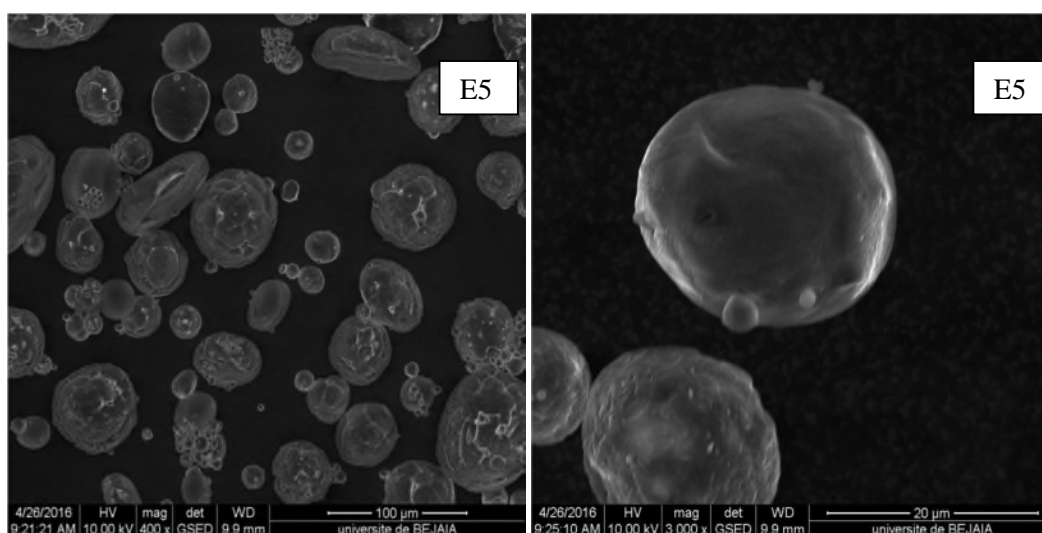
D'après ces resultats on conclus qu'a chaque fois la concentration du PVAest grande, la taille des microparticules augmente(**tableau III.8**) . Nos resultats ne oncorde pas avec ceux rapporté par (**Jeffery et al, 1993** , **Sansdrap and moës, 1993** ,**Carrio et al, 1995** et **Yang et al, 2001**) [65, 66 ,67, 68] où il ont deduit que l'augmentation de la consentration des tensioactifs reduit la taille des microparticules.

Tableau III.9 : Taille des microparticules obtenus

Formulation	E1	E2	E3	E4
Taille μm	2-63	2-100	2-105	2-106

III.6.1.2. Morphologie des microparticules en absence de la metformine

Les deux images illustrées dans la **figure (III.25)** ci-dessous nous montrent l'absence de principe actif, les microparticules apparaissent d'une forme différente par rapport à la microparticule contenant le principe actif, elles ont tendance à prendre une forme ovale. Leur taille varie entre 2- 63 μm et leur surface est beaucoup plus rugueuse que lisse.

**Figure III.21.** Micrographie électronique à balayage des microparticules sans principe actif.

III.6.1.3. Influence de la nature du tensioactif

La morphologie des microparticules à différents tensioactifs (à une concentration fixe de 0,1%) et à une vitesse d'agitation de 400 tr/min sont représentés ci-dessous :

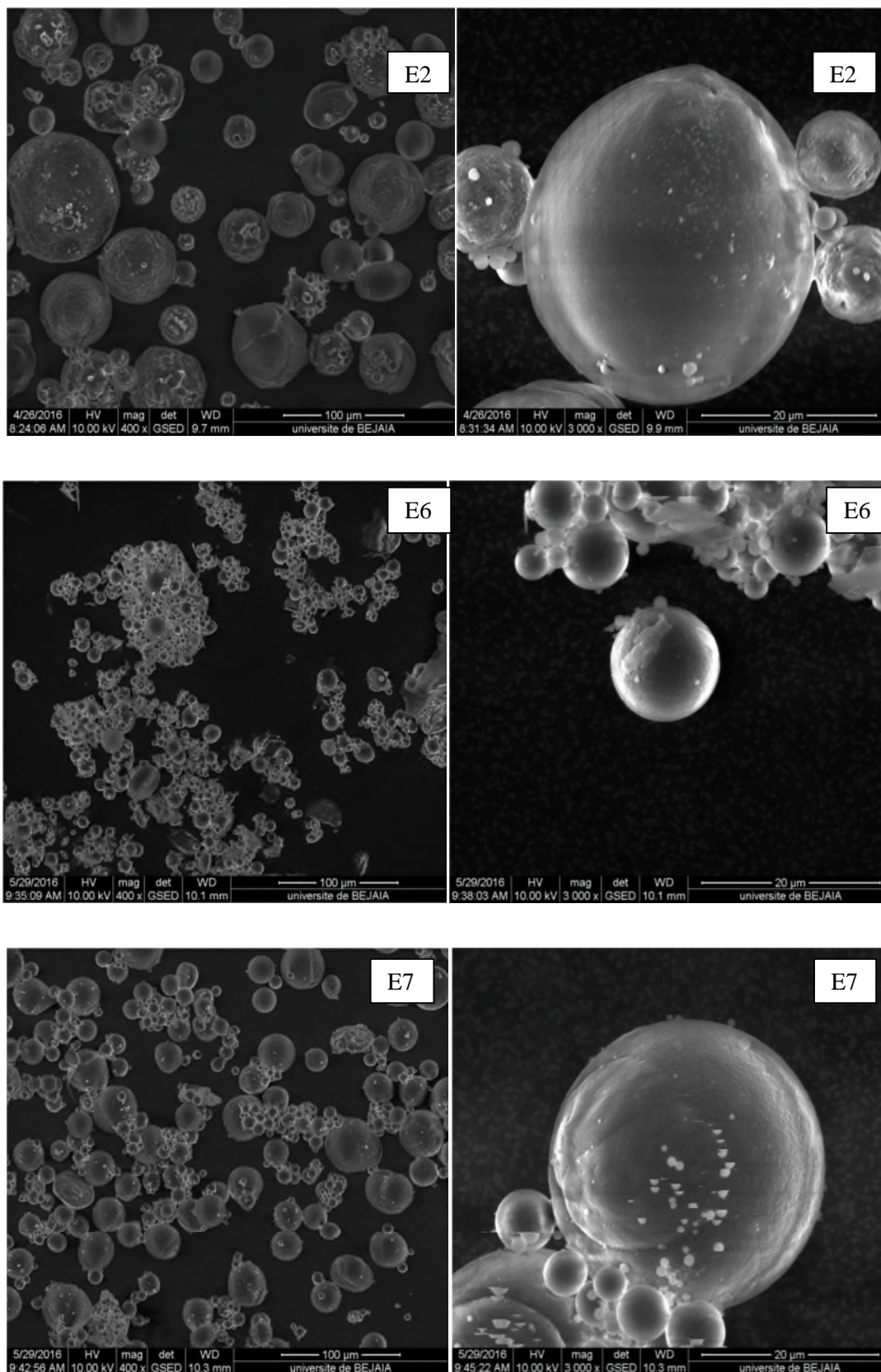


Figure III.22. Micrographie électronique à balayage des microparticules a un grossissement de 100μm et 20 μm à différents tensionactifs : (E2) PVA; (E6) SDS; (E7) CTAB à 0.1%.

L'échantillon (E2) correspond à l'échantillon comportant le PVA comme tensioactif. Les microparticules qu'on a observé apparaissent dispersé de taille variable (2-100 μ m) ayant une surface soit lisse soit rugueuse.

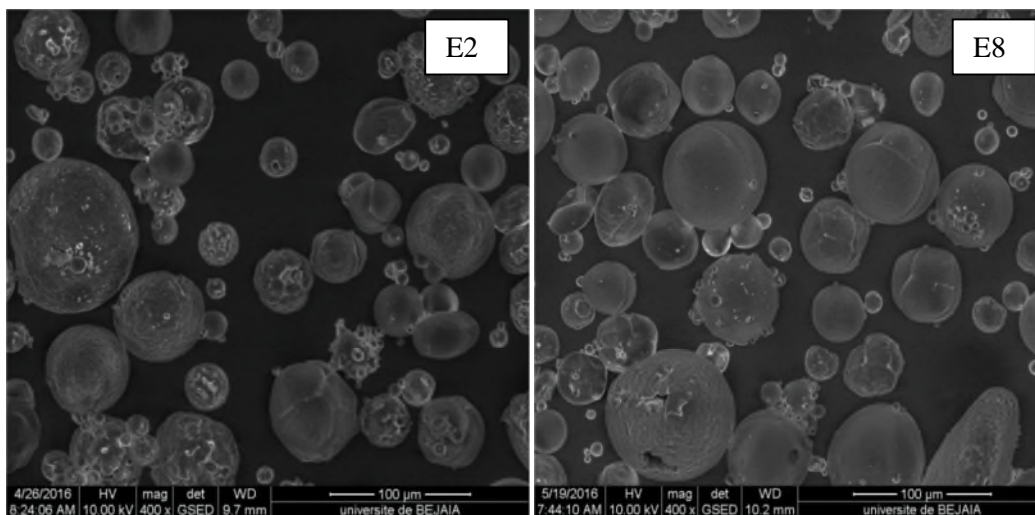
L'échantillon (E6) :les microparticules préparé avec le SDS comme tensioactif. Ces dernières sont des minuscules (2-22 μ m) toutes assemblées et présentant une surface lisse.

L'échantillon (E7) nous fait part des microparticules comportant le CTAB comme tensioactif, elle apparaissent plus au moins dispersé de taille variable (2-43 μ m) et présentant une surface lisse.

D'après ces résultats, on conclut que les microparticules préparé avec le SDS sont les plus petites que celles préparé avec le CTAB ,en fin celles préparé avec le PVA.

III.6.1.4. Influence de la vitesse d'agitation

Les images illustré dans la figure ci-dessous montre l'influence de la vitesse d'agitation sur les microparticules comportant le PVA a une concentration de 0,1% comme principe actif.



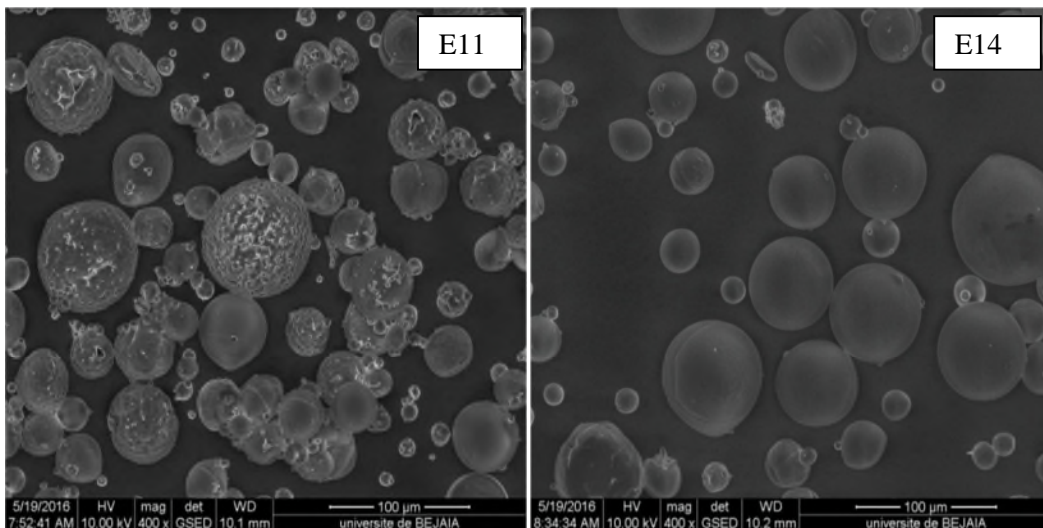


Figure III.23 : Micrographie électronique à balayage des microparticules a un grossissement de 100µm à différentes vitesse d’agitation avec le PVA (0,1%) comme tensioactf: (E2) 400tr/min, (E8) 800 tr/min, (E11) 1000 tr/min, (E14) 1200 tr/min.

Les images illustrés dans la **figure (III.27)** nous montre l’apparence des microencapsules soumise à des vitesse d’agitation croissant.

Les microparticules de l’échantillon (E2) obtenu à une vitesse d’agitation de 400 tr/min, présentent des tailles variables (2-100µm) accumulées avec des surface lisse ou rigueuse.

L’échantillon (E8) comprend les microparticules préparé a une vitesse d’agitation de 700 tr/min, elle sont plus au moin dispersé, de taille variable (2-91µm) avec une surface également soit lisse soit rigueuse.

Les microparticules de l’échantillon (E11) élaboré à une agitation de 1000 tr/min.Sont dispersé et avec des taille variable (2-78µm) mais petite par rapport a celles présentent dans l’échantillon (E2) et (E8). Leurs surface sont plus lisse que rigueuse.

Les microparticules de l’échantillon (E14) préparé a une vitesse d’agitation 1200 tr/min présentent des petites tailles compris entre (2-72µm) avec une surface lisse.

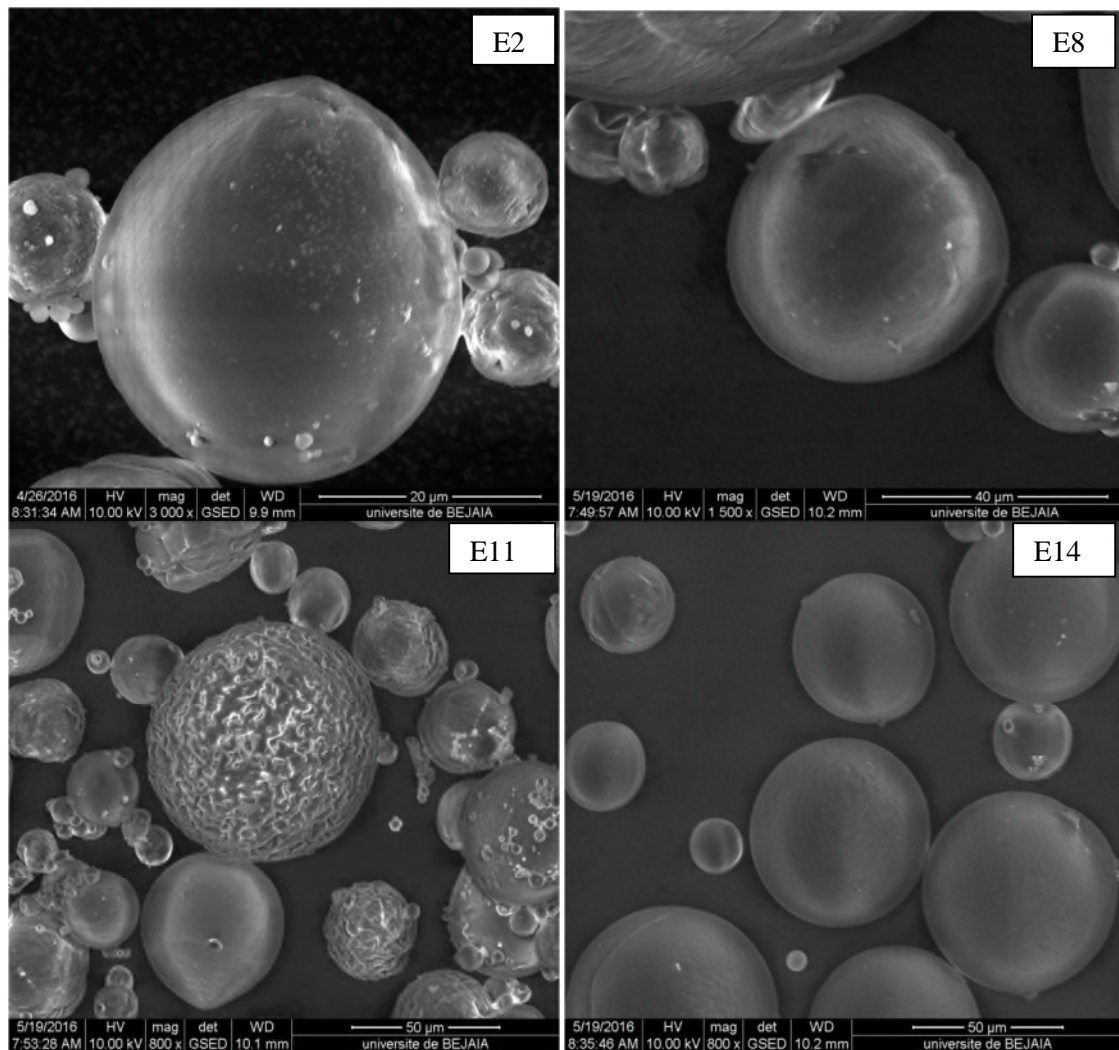


Figure III.24: Micrographie électronique à balayage des microparticules aux grossissements varie entre 20µm et 50 µm à différentes vitesse d'agitation avec PVA (0,1%) comme principe actif : (E2) 400tr/min, (E8) 800 tr/min, (E11) 1000 tr/min, (E14) 1200 tr/min.

Ces quatre images nous illustrent des microparticules balayées à différents grossissements, les microparticules présentes dans l'échantillon (E2) ont pu être détectées à un grossissement de 20 µm, celles présentes dans l'échantillon huit ont été détectées sous un grossissement de 40 µm. Par contre les microparticules présentes dans les échantillons (E11) et (E14) n'ont été détectées qu'à un grossissement de 50 µm.

Cela nous permet de dire que la taille des microparticules présentes dans les échantillons E2 (2-100µm), E8 (2-91µm), E11(2-78µm) et E14 (2-72µm) est différente.

D'après ces résultats, on conclut qu'à chaque fois que la vitesse d'agitation augmente, la taille des microparticules diminue et leur surface devient lisse.

Güles Melike Demir et **ses collaborateurs** en **2014** [69]. Ont trouvés dans une étude sur l'effets de la vitesse sur les caractéristique physique de microsphère de theophylline, où ils ont utilisés l'Eudragit RS 100 dans la phase organique qui a sont tour été introduite dans la solution de PVA. L'ajustement est basé sur l'utilisation d'un agitateur à des vitesses d'agitation différentes : 8000 tr/min ; 13500 tr/min et 20000 tr/min et la taille des microspheré mesure d'après les vitesses d'agitation sont 72,54 μm , 34,81 μm et 13,67 μm respectivement.D'après ces resultats ils ont constaté que plus la vitesse d'agitation est grande plus la taille des microparticules diminu. Leurs resultats oncorde avec ceux rappertés par (**Heisknen H et al, 2012**) [70], où ils ont trouvés que la diminution de la taille des particule depomd de la vitesse d'agitation croissante.

Kamlesh D.(et **ses collaborateurs** en **2006**) [71], ils ont constaté que les diamètres des microparticules diminuées lorsqu'on augmentant la vitesse d'agitationde 500 tr/min jusqu'à 1000 tr/min.



CONCLUSION



Conclusion

Dans la présente étude, nous avons étudiés l'influence des paramètres expérimentaux sur les microparticules de PLA obtenus par la méthode double émulsion (W/O/W).

Le taux d'encapsulation obtenus vis à - vis des différent paramètres ne varie pas, il avoisine les 99,96%.

Le meilleur rendement à été obtenu lors de l'utilisation du CTAB comme tensioactif à une concentration de 0.1% et à une vitesse d'agitation de 1000 tr/min.

L'analyse par IRTF de différentes formulations montre que l'incorporation de la metformine dans le PLA provoque un léger décalage des bandes caractéristiques vers les basses fréquences. En se basant sur la structure des deux matériaux et l'ensemble des résultats obtenus, on peut dire que ces interactions sont de types liaisons par pont hydrogène entre les hydrogènes des amines et/ou imines de la metformine et les oxygènes des groupements carbonyles du PLA.

D'après les micrographies obtenues par le MEB, les tailles des microparticules est comprise entre 1 et 106µm.

En perspectives, il serait bien de poursuivre ce travail en :

- Modifiant les conditions des phases interne et externe ;
- Etude de la cinétique de libération in vitro de la metformine ;
- Etudiant l'influence de rapport PLA/metformine sur les caractéristiques des microparticules ;
- Au niveau préclinique, une étude de libération in vivo est nécessaire afin de confirmer nos résultats préliminaires.



REFFERNCES

BIBLIOGRAPHIQUES



Références

- [1] D. Rinaldi, « La metformine, une vieille molécule pleine d'espoir », Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine, 2012.
- [2] A.K. Nayak, D. pal, S. Das, « Calcium pectinate fenugreek seed mucilage mucoadhesive beads for controlled delivery of metformin HCL » Carbohydrate polymers, 960, 349-357, 2013.
- [3] G. Corti, M. Cirri, F. Maestrelli, N. Mennini, P. Mure, «Sustained-release matrix table of metformine hydrochloride in combination with triacetyl-b-cyclodextrine», European journal of pharmaceutics and biopharmaceutique, 68, 303-309, 2008.
- [4] A. Madene, « Etude des transferts d'arômes encapsulés dans une matrice alimentaire type génoise », Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine, 2006.
- [5] J. Guery, « Emulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation, et relargage », Thèse de doctorat, Université Paris VI, Ecole doctorale de physique et chimie des matériaux, 2006.
- [6] A. Gallos, « Polylactides stéréocomposés et ignifugés : élaboration extrusion réactives et caractérisation », Thèse de doctorat, Université Lille 1, 2011.
- [7] M. LI, O. Rouaud, D. Poncelet, « Microencapsulation by solvent evaporation: state of art for process engineering approaches », international journal of pharmaceutics, 363, 26–39, 2008.
- [8] N. Rojbi, « Renforcer la sensibilisation et améliorer l'accessibilité des médicaments et des technologies essentiels pour traiter et prévenir le diabète » ; document ; L'organisation mondiale de la sante (OMS) ; Monu Vancouver 2016.
- [9] J.E. Blickle, E. Andres, N. Neyrolles, J.M. Brogard, « Actualités dans les traitements du diabète de type 2. Les agents insulinosécréteurs », Rev. Med. Interne, 20, 351-359,1999.
- [10] J.-C.Orban, A. Ghaddab, O. Chatti, C. Ichai, « Metformin-associated lactic acidosis, Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation », 25,1046-1052,2006.
- [11] M. Gerson, « Médicaments anciens, données nouvelles», Hôpital Monod, Le Haver, 2006.
- [12] P.V. Farago, R.P. Raffane, A.R. Pohlmann, S.S. Guterres, S.F. Zawadzki « Physicochemical characterization of a hydrophilic model drug loaded PHBV microparticles obtained by the double emulsion/solvent evaporation technique »,J. Braz.Chem. Soc. 19, 1298-1305,2008.

- [13] E. Beck, A.J. Scheen, « La metformine : une molécule antidiabétique dotée de propriétés anticancéreuses », Rev Med 68 : 9 : 444-449, Liège. 2010.
- [14] M. Zitounilmounachen, « Antidiabétiques oraux : les biguanides », spécialités sous la loupe, l'officiel N°81, 2010.
- [15] K. Nayak, D. Pal, « Triogonella foenum-graecum L. seed mucilage- A gellammucoadhesivebeads for controlled release of metformine HCl », carbohydrate polymers 107, 31-40, 2014.
- [16] Glucophage® (Metformin Hydrochloride) Tablets, Glucophage® XR 5Metformin hydrochloride) Tablets Extended-Release Tablets. Distribué par: Bristol-Myers,Squibb company, princiton, NJ 08543 USA, 1125493A9, Rev January 2009.
- [17] LS. Herman, « Metabolic effects of metformin in relation to clinical effects and side effects. biguanide therapy today International congress and symposium », série publiée par le royal society of medicine, 48,17-43, 1981.
- [18] A. Nayak, D. Pal, S. Das, « Calcuim pectinate fenugreek seed mucilage mocoadhesive beads for controlled delivery of metformine HCl microspheres », Internationel journal of advanced pharmaceutics, 2,102-109, 2012.
- [19] A. Hamache, S. Ghanemi, « Optimisation des paramètres d'encapsulation de chlorhydrates de metformine dans la matrice PLA », Mémoire de fin de cycle, Université de Bejaia, 2015.
- [20] R. Dubey, T.C. Shami, K.U. B. Rao, « Microencapsulation technology and application », Defenses science journal, 82- 95, 2009.
- [21] E. Campos, J. Branquinho, A.S. Carreira, A. Carvalho, P. Coimbra, P. Ferreira, M.H. Gil, « Designing polymeric microparticules for biomedical and industrial application », European polymer journal, 490,2005-2021, 2013.
- [22] A. Hachemi, « Elaboration de microsphères à base de polyesters pour une application thérapeutique : microencapsulation de l'ibuprofène par la polycaprolactone et un copolymère polycaprolactone-g-polyéthylène glycol », Thèse de doctorat, Université de Bejaia, 2015.
- [23] F. Thron, « Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale » thèse de doctorat, université de Toulouse, 2009.
- [24] Dj. Kissoum, H. Dahdah, « Encapsulation de chlorhydrate de metformine par double emulsionn et étude de sa cinétique de libération », mémoire d'ingénieur, Université de bejaia, 2011.

[25] C.A. Finch, R. Bodmeier, « Microencapsulation », Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

KGaA, Weinheim 10.1002/14356007.a16_575,2005.

[26] J. Richard, J.P. Benoit, « Microencapsulation », Techniques de l'Ingenieur, J 2210, 1 –

20,2000.

[27] A. Merakchi, « Etude de la formulation d'un principe actif (la metformine) dans des polymères biodégradables », Mémoire de magister, Université de Bejaia, 2012.

[28] M. P. Rodriguez Rojas, « Emulsification en cuve agitée : rôle du protocole opératoire sur l'inversion de phase catastrophique », Thèse de doctorat, Université de Los Andes Mérida-Venezuela, 2007.

[29] A.H. Boudendouna, « Méthodologie de la formulation d'une orale solide à libération prolongée », thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. Science Génie Matériaux, 2010.

[30] A. L. Hir. C. Chaumeil, D. Brossard, « Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments », 9^{ème} édition, Masson, Paris, 2009.

[31] F. T. Meng, G.H. Ma, W. Qiu, Z.G. Su, « W/O/W double emulsion technique using ethyl acetate as organic solvent: effects of this diffusion rate on the characteristics of microparticles », journal of controlled release, 91, 407-416, 2003.

[32] S-J. Park, S-H. Kim, « Preparation and characterization of biodegradable poly (L-lactide)/Poly (ethylene glycol) microcapsules containing erythromycin by emulsion solvent evaporation technique », Journal of Colloid and Interface science, 271 336-341, 2004.

[33] Y. Lu, S.C. Chen, « Micro and nano-Fabrication of biodegradable polymers for drug delivery », Advanced Drug Delivery Reviews, 56 1621-1633, 2004.

[34] L. Brannon-Peppas, « Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug delivery », International Journal of pharmaceuticals, 1161-9, 1995.

[35] K. Alhareth, C. Vauthier, C. Gueutin, G. Ponchel, F. Moussa, « HPLC quantification of doxorubicin in plasma and tissues of rats treated with doxorubicin loaded poly (alkylcyanoacrylate) nanoparticles », J. Chromatogr. B, 887 128-132, 2012.

[36] J. H. Park, M. Ye, K. Park, « Biodegradable polymers for microencapsulation of drugs, Molecules », 10 146-161, 2005.

- [37] S. Vrignaud, J-P. Benoit, P. Saulnier, «Strategies for the nanoencapsulation of hydrophilic molecules in polymer-based nanoparticles», *Biomaterials*, 32 8593-8604.2011
- [38] A-F. Metaxa, E. K. Efthimiadou, N. Boukos, G. Kordas, «Polysacchrides as a source of advanced materials: Cellulose hollow microspheres for drug delivery in cancer therapy» *Journal of Colloid and Interface Science*, 384, 198-206, 2012.
- [39] J. Mario, « Développement de polymères et composites alvéolaires bio-sourcés à base de poly (acide lactique) ».Thèse de doctorat, Université de Lille 1, 2011.
- [40] J. Lucwertz, «L'amidon et le PLA: deux biopolymères sur le marché, Document Val Biom-Gembloux Agro-Bio Tech», Document FARR- Wal-avec le soutien de la Region wallonne, 2011.
- [41] S. Dimitriu, « Polysaccharides.Structural diversity and factional versatility», Marcel Dekker, Sherbrooke, Canada, 1998.
- [42] W.K. Wong, G. Ourieva, M.F., Tse and H.C Wang, «Filler-Filler interaction and filler-polymer interaction in carbon black and silica filled expropolymer», *Macromol. Symp*, 194)175-184, 2003.
- [43] O. Pillai, « Polymers in drug delivery», *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 5 447-451, 2001.
- [44] L. Jameslee, «Polymer Nanoengineering for Biomedical Applications», *Ann. Biomed. Eng*, 34 75-88, 2006.
- [45] G. Q. Chen, Q. Wu, « The application of polyhydroxyalcanoates as tissue engineering materials», *biomaterials*, 266565-6578, 2005.
- [46] E. Chiellini, R. Solaro, « Biodegradable polymers and plastic», Kluwer Academic/ plenum Publishers, New-York, USA, 2003.
- [47] G. Davis, J.H. Song, « Biodegradable packaging based on raw materials from crop and their impact on waste management», *Ind. Crop. Prod*, 23147-161, 2006.
- [48] A. Camut, « Mise en place du contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectable par spectroscopie UV-Visible_ IRTF, multis pec® à l'unité de pharmacie clinique técancérologique de l'Hôpital Bonsecours de Metz : Aspects analytiques et organisationnels», Thèse de doctorat, 2009.
- [49] M. Dames, « Approche anthropologique pour analyser les connaissances de chimie mises en jeu lorsque des étudiants conçoivent un protocole avec le logiciel copex- chimie», thèse de doctorat , Université Joseph Fourier, 2011.

[50] N. Kerboua, K. Bouras, D Chebli., N. Gharzouli, « Des rapports sur les méthodes spectrales », présentés par les post-gradués de Sétif, 1998.

[51] S. Hamri, « Etude thermo physique de la diffusion de molécules de bas poids moléculaire dans réseaux de polymères acryliques », Thèse de doctorat, 2013.

[52] A. Gratien, «Spectroscopie ultraviolet-Visible et infrarouge de molécules clé atmosphériques», thèse de doctorat, Université de paris 12-Val de marne, 2008.

[53] A. Benatmane, « Développement de la microscopie interférométrique pour une meilleure analyse morphologique des couches minces et épaisses des matériaux semi-conducteurs et optique», Thèse de doctorat, Université louis pasteur, Laboratoire PHASE, 2002.

[54] M. Loustau Cazalet, « Caractérisation physico-chimique d'un sédiment marin traité aux liants hydraulique- Evaluation de la mobilité potentielle des polluants inorganiques », Thèse de doctorat, Université de Lyon, 2012.

[55] J. Faeber, «Microscopie électronique à balayage microanalyse X par sonde électronique », thèse de doctorat, Institut de physique et chimique des Matériaux de Strasbourg, 2004.

[56] WWW.CSSSt.qc.ca/CH₂Cl₂, propriété physico-chimiques de dichlorométhane.

[57] F. Badoui, « Comportement rhéologique de solutions de biopolymères- Application au Chitosane, ou poly (Vinyle alcool) et à leurs mélanges», mémoire de magister, 2012.

[58] S. Bouriche, « Encapsulation de la metformine dans des polymères biodégradables», Mémoire de magister, Université de Bejaia, 2013.

[59] B. P. Luana, B.P. Laize, H. A. Pedro, S. Claudia, « Solid lipid nanoparticles for encapsulation of hydrophilic drugs by an organic solvent free double emulsion technique », Chemical Engineering Department, Federal university of santa catarina, 140 317-323, 2016.

[60] B. Hernández, F. Pflüger, S. Kruglik, M. Ghomi, «Protonation- deprotonation and structural dynamics of antidiabetic drug metformine», Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis, 114 42-48, 2015.

[61] D. Desai, B. N.Wong, Y. Huang, Q. Ye, D.g Tang, H. Gvo, M. Huang, P. Timmins, «Surfactant-Mediated Dissolution of Metformin Hydrochloride Tablets: Wetting Effects Versus Lon Pairs Diffusivity», Research Article-Pharmaceutics, Drug Delivery and Pharmaceutical Technology, 2014.

[62] R. kassab, P. Yammine, D. Moussa, N. Safi, «Microspheres containing doxycyline: Properties and in vitro study», International Journal of Drug Delivery, 5 264-269, 2013.

[63] N. Wang, X. Shen Wu, H. Lujan-Upton, E. Donahue et A. Siddique, «Synthesis, characterisation, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid oligomers : I. Synthesis and characterization» ,J. Biomater.Sci. polymer Edn, 8(12), 905-917, 1997.

[64] M.S Refat, F. M. Al-Azab, H.H.A. Al-maydama, R.R. Amin, Y.M.S. Jamil et Mohamed I. Kobeasy, « Synthesis, spectroscopic and antimicrobial studies of La (III), Ce (III), Sm (III) and Y (III) Metformin HCl chelates », spectrochimicaActa Part A: molecular and biomolecular spectroscopy 142 392-404, 2015.

[65] A. Carrio, G. Schwach, J. Coudane, M. Vert, « Preparation and degradation of surfactant- Free PLAGA microspheres».J. Contr. Rel, 37 113-121, 1995.

[66] H. Jeffery, S.S. Davis, D.T. O'Hagan, «The preparation and characterization of poly (lactide-co-glycolide) microparticles: II.The entrapment of a model protein using a (water-in-oil)-in water emulsion solvent evaporation technique».Pharm.Res, 10 417-423, 1993.

[67] P. Sansdrap, A.J. Moës, « Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedipine from poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres», Int.J.Pharm, 98 157-164,1993.

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

[69] D. Gülen Melike, k. Alptuğ, D. Zelihagül, B. Derya, Ç. Özlem, G. Ezgi, T. Sematuna, «Stirring Speed Effects on Physical Characteristics of Theaphylline Microsphere», 41 11-13,2014.

[70] H. Heiskanen, P. Denifl, Pitkänen P., Hurme M., «Effect of preparation conditions on the properties of microspheres prepared using an emulsion-solvent extraction process», Chemical Engineering Research and Design, 90 1517-1526 , 2012 .

[71] Kamlesh Dashora,« shailendra saraf and Swarnlata Saraf; Effect of Processing Variables on Microparticulate System of Nimesulide», The Chinese Pharmaceutical Journal, 58 67-74, 2006.