

Mémoire

Présenté par

OULMOU Fadila

Pour l'obtention du diplôme de Magister

Filière : Génie des procédés

Option : Génie des polymères

Thème

**Fonctionnalisation sélective de la
 β -Cyclodextrine en vue de la complexation de l'amlopidine**

Soutenu le : 06 Novembre 2014

Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mr F. REZGUI	Professeur	Univ. de A.M. BEJAIA	Président
Mr T. SADOON	Professeur	Univ. de A.M. BEJAIA	Rapporteur
M^{me} L. ZOUIOUECHE	Professeur	Univ. de ANNABA	Examineur
M^{me} O. SENHADJI	MCA	Univ. de A.M. BEJAIA	Examineur
M^{me} H. BELKACEMI	MCA	Univ. de A.M. BEJAIA	Examineur

Année Universitaire : 2014

Remerciements

*Je remercie en premier lieu ALLAH le tout puissant de m'avoir donné,
La force et le courage d'achever ce mémoire.*

*Je tiens à exprimer mon respect et mes
remerciements les plus sincères à mon promoteur
Pr. SADOUN Tahar et à ma co-promotrice M^{me} BELKACEMI Hayet
qui m'ont orientés et aidés tout au
long du travail.*

*Mes remerciements s'adressent également au Pr. REZGUI qui a
accepté de présider le jury*

*Je suis reconnaissante à M^{me} ZOUIOUËCHE, M^{me} SENHADJI et
M^{me} AIT BRAHAM pour avoir accepté d'être membres
du jury et d'examiner mon travail.*

*Ma profonde gratitude et mes vifs remerciements à toutes les personnes
qui ont contribué à la réalisation de ce travail, en particulier :*

*M^{me} LEFDJAH, M^{elle} BAKOURI,
et tous les membres*

*du laboratoire de Méthodes physiques d'analyses,
ainsi que toutes les techniciennes et ingénieurs des labos du bloc 11
(chimie industrielle).*

Merci

Dédicaces

*A La Mémoire de Mon Père,
A Ma Très Chère et Adorable Mère,
A Mon Très Cher Frère et Très Chère Sœur,
A Mon Beau Frère et Belle Sœur
A Mes Adorables Neuneus
A Toute Ma Famille
A Toutes Mes Amies*

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. CYCLODEXTRINE.....	4
I.1.1. Structures	4
I.1.2. Propriétés physico-chimiques.....	6
I.1.2. a. Solubilité dans l'eau.....	6
I.1.2. b. Solubilité dans les solvants	7
I.1.2. c. Stabilité en solution	7
I.2. LES CYCLODEXTRINES MODIFIEES	7
I.2.1. But de la modification.....	8
I.2.2. Facteurs qui influencent les modifications sélectives d'une CD	8
✓ Réactivité des hydroxyles	8
✓ Influence de la nature des réactifs	9
✓ Influence de la cavité et du solvant	9
II.2.3. Exemples de CDs modifiées.....	10
II.2.4. Méthodes de fonctionnalisation sélectives des CDs modifiées.....	11
II.2.4.1. Permodification des hydroxyles primaires en position 6 des CDs.....	12
II.2.4.1.a. Les cyclodextrines per-6-tosylées	12
II.2.4.1.b. Les cyclodextrines per-6-halogénées	14
II.2.4.2. Perazidation et Peramination en position 6 des cyclodextrin.....	16
I. 3. COMPLEXES D'INCLUSION.....	18
I. 3.1. Principe de formation des complexes d'inclusion.....	19
I.3.2. Conséquence de la complexation.....	20
I.3.3. Techniques de préparation des complexes de Cyclodextrine.....	21
I.3.3. a. Mélange physique.....	21
I.3.3.b. Kneading.....	21
I.3.3.c. Evaporation du solvant.....	22

I.3.4. Technique de caractérisation des complexes d'inclusion.....	22
I.3.4.a. Spectroscopie UV-visible.....	22
I.3.4.b. Spectroscopie Infrarouge (IR)	24
I.3.4.c. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	26
I.3.4.d. La diffraction des rayons X (DRX)	28
I.3.5. Diagrammes de solubilité (Méthode d'HIGUCHI-CONNORS)	29
I.4. APPLICATION DES CYCLODEXTRINE.....	31
I.4.1. Domaine pharmaceutique.....	31
I.4.2. Domaine alimentaire.....	33
I.4.3. Applications diverses.....	33

CHAPITRE II : FONCTIONNALISATION ET CARACTERISATION DE LA B-CD ET DE SES DERIVES

II.1. MATERIELS	34
II.2. METHODES.....	37
II.2.1. Préparation du dérivé iodé de la β -CD, le « Per-6-Iodo- β -CD»	37
II.2.2. Préparation du dérivé azidé de la β -CD, le « per-6-azido- β -CD»	42
II.2.3. Synthèse du dérivé aminé de la β -CD, le « per-6-amino- β -CD»	44
II.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	46
II.3.1. Caractérisation de la β -CD native et des réactifs intervenants dans la synthèse.....	46
II. 3.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)	46
II. 3.1.2. Caractérisation par Diffraction des rayons X (DRX).....	52
II. 3.1.3. Caractérisation par Résonance Magnétique Nucléaire	54
II.3.2. Caractérisation du dérivé iode de la β -CD, le « Per-6-Iodo- β -CD»	56
II.3.2.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)	56
II.3.2.2. Caractérisation par spectrophotométrie d'absorption UV-Visible.....	63
II.3.3. Caractérisation du dérivé azidé de la β -CD, le « Per-6-Azido- β -CD»	64
II.3.3.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)	64
II.3.4. Caractérisation du dérivé aminé de la β -CD, le « Per-6-Amino- β -CD»	66
II.3.4.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)	66

CHAPITRE III: ETUDE DES COMPLEXES D'INCLUSION DE L'AMLODIPINE AVEC LES DERIVES MODIFIES DE LA B-CD

III.1. MATIERES PREMIERES.....	68
III.2. ETUDE DES COMPLEXES.....	69
III.2.1. Détermination de la stœchiométrie et de la constante d'association des complexes ...	69
III.2.1.a. Courbe d'étalonnage de l'amlopidine dans le tampon à pH=6,8.....	69
III.2.1.b. Diagramme de solubilité.....	71
III.2.2. Préparation des complexes d'inclusion en solution et caractérisation UV-visible.....	72
III.2.3. Préparation et caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR) des complexes d'inclusion en phase solide	72
III.2.3.a. Malaxage (Kneading).....	72
III.2.3.b. Mélange physique.....	72
III.2.3.c. Evaporation du solvant.....	72
III.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	73
III.3.1. Diagramme de solubilité.....	73
III.3.1.a. Diagramme de solubilité avec la β -CD native.....	73
III.3.1.b. Diagramme de solubilité avec la β -CD-I.....	75
III.3.1.c. Diagramme de solubilité avec la β -CD-NH ₂	76
III.3.1.d. Comparaison de la complexation de l'amlopidine avec la β -CD native et avec la β -CD-NH ₂	78
III.3.2. Caractérisation des complexes d'inclusion en solution par UV-visible.....	81
III.3.2.a. Complexe β -CD/Amlo.....	81
III.3.2.b. Complexe β -CD-I/Amlo.....	82
III.3.2.c. Complexe β -CD-NH ₂ /Amlo.....	83
III.3.3. Caractérisation par infrarouge des complexes d'inclusion	84
III.3.3.a. Caractérisation de l'amlopidine.....	84
III.3.3.b. Caractérisation du complexe β -CD/Amlo préparé par la méthode Kneading (Kn).....	86
III.3.3.c. Caractérisation du complexe β -CD/Amlo préparé par mélange physique (MP).....	89
III.3.3.d. Caractérisation du complexe β -CD/Amlo préparé par évaporation solvant (Evap).....	91

III.3.3.e. Caractérisation du complexe β -CD-I/Amlo préparé par la méthode Kneading (Kn).....	94
III.3.3.f. Caractérisation du complexe β -CD-I/Amlo préparé par mélange physique (MP).....	96
III.3.3.g. Caractérisation du complexe β -CD-I/Amlo préparé par évaporation solvant (évap).....	98
III.3.3.h. Caractérisation du complexe β -CD-NH ₂ /Amlo préparé par la méthode Kneading (Kn).....	100
III.3.3.i. Caractérisation du complexe β -CD-NH ₂ /Amlo préparé par évaporation solvant (évap).....	102
CONCLUSION GENERALE.....	104
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Figure I.1 : Représentation schématique et tridimensionnelle de la β -cyclodextrine.....	4
Figure I.2 : Localisation des hydroxyles sur une des unités glucoses d'une cyclodextrine native.....	9
Figure I.3 : Présentation générale des perfonctionnalisations possibles à partir des CDs persulfonfylées et perhalogénées sur la face primaire.....	12
Figure I.4 : Réaction de tosylation de la β -CD.....	13
Figure I.5 : Perhalogénéation des cyclodextrines par la méthode de Gabelle et <i>al.</i> et mécanisme de formation du réactif de Vilsmeier-Haack généré in-situ.....	14
Figure I.6 : Perhalogénéation des cyclodextrines par la méthode de Chmurski et al.....	15
Figure I.7 : Représentation schématique de la formation d'un complexe d'inclusion.....	19
Figure I.8 : Description schématique des trois complexes d'inclusions a-1 :1, b-1 : 2, c-2 :1.....	20
Figure I.9 : Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV d'une solution aqueuse d'un principe actif, le piroxicam à 95 μ M et à pH 5.....	23
Figure I.10 : Spectre d'absorption UV-visible de l'azomethine avec variation de la concentration en β -CD. (a) 0 M, (b) 3×10^{-5} M, (c) 4×10^{-5} M, (d) 5×10^{-5} M, (e) 6×10^{-5} M.....	24
Figure I.11 : Spectres FT-IR (a) d'un principe actif, la cladribine (b) du mélange physique (c) du complexe et (d) de la 2HP- β -cyclodextrine.....	25
Figure I.12 : Spectres d'IRTF superposés de l'amoxicilline, du complexe β -CD/amox (1 :1), et du mélange physique de l'amoxicilline.....	26
Figure I. 13 : Spectres RMN 1 H de (a) la β -CD et (b) du complexe inclusion.....	27
Figure I. 14 : Spectres obtenus par diffraction des rayons X (a) d'un principe actif, l'ibuprofène (sel de trométhamine), (b) de la β -cyclodextrine, (c) du mélange physique et (d) du complexe.....	28
Figure I.15 : Types de diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors.....	29
Figure II.1 : Structure chimique de la β -Cyclodextrine.....	34
Figure II.2 : Structure chimique de l'azoture de sodium.....	35
Figure II.3 : Structure chimique de la triphénylphosphine.....	35

Figure II.4 : Schéma illustrant les 3 étapes suivies pour la synthèse de la β -CD aminée.....	37
Figure II.5 : Iodation sélective des positions alcools primaires des β -CD.....	38
Figure II.6 : Déplacement nucléophile des alcools primaires par l'iodure de Vilsmeier.....	38
Figure II.7 : Mécanisme de formation de l'iodure de Vilsmeier.....	39
Figure II.8 : Azidation sélective de la « Per-6-Iodo- β -CD ».....	42
Figure II.9 : Schéma du mécanisme de substitution SN_2 de l'azoture sur le dérivé iodé.....	43
Figure II.10 : Mécanisme de la réaction de Staudinger.....	44
Figure II.11 : Amination sélective de la « Per-6-Azido- β -CD ».....	45
Figure II. 12 : Spectre IR de la β -CD native dans le KBr	47
Figure II. 13 : Spectre IR de référence de la β -CD native dans le KBr	49
Figure II. 14 : Spectre IR de la Triphénylphosphine $P(Ph)_3$ dans le KBr	49
Figure II.15 : Spectre IR de référence de la Triphénylphosphine $P(Ph)_3$	51
Figure II.16 : Spectre IR de référence de l'oxyde de triphénylphosphine $P(Ph)_3=O$	51
Figure II.17 : Analyse par DRX de la β -CD, a) diffractogramme X ; b) après indexation ...	53
Figure II.18-a : Spectre RMN ¹ H de la β -CD native dans le DMSO-d ₆	54
Figure II.18-b : Spectre RMN ¹ H de la β -CD native de 2 à 6 ppm dans le DMSO-d ₆	55
Figure II.19 : Spectres IR des β -CD-Iodé (sans extraction) et de la β -CD native	56
Figure II.20 : Spectres IR de la β -CD-I (5) et du précipité après centrifugation du filtrat de la β -CD-I.....	59
Figure II.21 : Spectres IR des β -CD-I (4) et (2) avec extraction.....	60
Figure II.22 : Spectres IR des β -CD-I(6) et de la β -CD native dans le KBr	62
Figure II.23 : Spectres UV-visible de la β -CD native et de la β -CD-I.....	63
Figure II.24 : Spectres IR-TF des β -CD- N ₃ (1) et (2) et des β -CD- I (3) et (5).....	64
Figure II.25 : a) Spectres IR de la β -CD-Aminée β -CD-NH ₂ (1), (2) et (3), b) zone de 1650 à 1550cm ⁻¹ après agrandissement de l'image.....	66
Figure III.1 : Structure chimique de l'amlodipine bésylate.....	69
Figure III.2 : Spectre UV-visible de l'amlodipine entre 190nm et 600nm.....	70
Figure III.3 : Spectre UV-visible de l'amlodipine et des trois cyclodextrines utilisées entre 190nm et 600nm.....	70
Figure III.4 : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le milieu tampon (pH=6,8) à $\lambda_{max}= 367nm$	71
Figure III.5 : Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la β -CD (Higuchi-Connors)...	73

Figure III.6 : Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine dans le tampon (pH=6,8)	74
Figure III.7 : Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la β -CD-I(Higuchi-Connors)..	75
Figure III.8 : Diagramme de solubilité avec la β -CD-NH ₂	77
Figure III.9 : Influence de l'addition de la β -CD-NH ₂ sur le spectre UV-visible de l'amlodipine à tampon (pH=6,8).....	77
Figure III.10 : Superposition des diagrammes de Higuchi-Connors avec la β -CD native et la β -CD-NH ₂	78
Figure III.11 : schéma du complexe montrant l'insertion de la partie hydrophobe (radical ether et la fonction ethyle ester) de l'amlodipine dans la cavité de la β -CD, et la partie hydrophile (dihydropyridine) à l'extérieur de la cavité	80
Figure III.12 : Spectres UV-visible de l'Amlodipine, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo	81
Figure III.13 : Spectres UV-visible de la β -CD-I, de l'Amlodipine et du complexe β -CD-I/Amlo.....	82
Figure III.14 : Spectres UV-visible de la β -CD-NH ₂ , de l'Amlodipine et du complexe β -CD-NH ₂ /Amlo.....	83
Figure III.15: Spectre IR de l'amlodipine bésylate en pastille de KBr.....	84
Figure III.16 : Représentation schématique (3D) d'une molécule d'amlodipine bésylate avec la numérotation de ces atomes moléculaires.....	85
Figure III.17: Spectre IR de l'amlodipine bésylate en pastille de KBr.....	86
Figure III.18: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(Kn) dans le KBr.....	87
Figure III. 19: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(Kn) entre 1800 et 900cm ⁻¹	87
Figure III.20: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(PM) dans le KBr.....	89
Figure III. 21: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(MP) entre 1800 et 900cm ⁻¹	90
Figure III.22: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(évap) dans le KBr.....	91
Figure III. 23: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(évap) entre 1800 et 900cm ⁻¹	92

Figure III.24: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD-I/Amlo(Kn) dans le KBr.....	94
Figure III. 25: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD-I/Amlo(Kn) entre 1800 et 900 cm^{-1}	95
Figure III.26: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-I et du complexe β -CD-I/Amlo(PM) dans le KBr.....	96
Figure III. 27: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-I et du complexe β -CD-I/Amlo(MP) entre 1800 et 900 cm^{-1}	97
Figure III.28: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD-I/Amlo(évap) dans le KBr.....	98
Figure III. 29: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-I et du complexe β -CD-I/Amlo(Evap) entre 1800 et 500 cm^{-1}	99
Figure III.30: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-NH ₂ et du complexe β -CD-NH ₂ /Amlo (Kn) dans le KBr.....	100
Figure III. 31: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-NH ₂ et du complexe β -CD-NH ₂ /Amlo (Kn) entre 1800 et 900 cm^{-1}	101
Figure III.32: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-NH ₂ et du complexe β -CD NH ₂ /Amlo (évap) dans le KBr.....	102

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau I.1: Propriétés structurales des cyclodextrines natives.....	5
Tableau I.2 : Caractéristiques physicochimiques des principales CDs natives.....	6
Tableau I.3 : Rendements des perhalogénations des CDs par la méthode de Chmurski et <i>al.</i>	15
Tableau I.4 : Per-azidation et per-amination des CDs.....	17
Tableau I.5 : Déplacements chimiques (ppm) des protons de la β -CD et du complexe Inclusion.....	28
Tableau II.1 : les conditions expérimentales de l'iodation de la β -CD native.....	40
Tableau II.2 : les conditions expérimentales de l'azidation du « Per-6-Iodo- β -CD».....	44
Tableau II.3 : les conditions expérimentales de l'amination du « Per-6-Amino- β -CD ».....	46
Tableau II.4 : Attribution des principales bandes observées sur le spectre IR pour la β -CD..	48
Tableau II.5 : Attribution des principales bandes observées sur le spectre IR de la Triphénylphosphine P(Ph) ₃	50
Tableau II.6 : Paramètres de maille, réseau et groupe spatial de la β -CD native.....	53
Tableau II.7: Caractéristiques RMN ¹ H de la β -CD native dans le DMSO-d ₆	55
Tableau II.8: Comparaison entre les déplacements chimiques de la β -CD trouvés et ceux rapportés dans la littérature par Clarissa <i>al.</i>	56
Tableau II.9: Attribution des principales bandes observées sur les spectres IR des dérivés β -CD-I (1), (3) et (5).....	58
Tableau II.10: Attribution des principales bandes observées sur les spectres IR des dérivés β -CD-N ₃ (1) et β -CD-N ₃ (2).....	65
Tableau II.11: Attribution des principales bandes observées sur les spectres IR des dérivés β -CD-NH ₂ (1), (2) et (3).....	67
Tableau III.1 : Quantification par spectroscopie UV-visible des solutions du test de Higuchi- Connors avec la β -CD.....	73
Tableau III.2 : Quantification de l'amlodipine par spectroscopie UV-visible des solutions du complexe β -CD-I/amlo du test de Higuchi-Connors	75
Tableau III.3 : Quantification de l'amlodipine par spectroscopie UV-visible des solutions du complexe β -CD-NH ₂ /amlo du test de Higuchi-Connors	76
Tableau III.4 : Résumé des équations des droites de régression et des valeurs des constantes de stabilité K _s	79

Tableau III.5 : Attribution des principales bandes observées sur le spectre IR de l'amlodipine (bésylate)	85
Tableau III.6 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD/Amlo(Kn)	88
Tableau III.7 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD/Amlo(MP)	90
Tableau III.8 : Comparaison entre les positions des bandes de l'Amlodipine seul et associée dans le complexe β -CD/Amlo(évap)	92
Tableau III.9 : Comparaison entre les positions des bandes de la β -CD seul et dans le complexe β -CD/Amlo(évap)	93
Tableau III.10 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-I/Amlo(Kn)	95
Tableau III.11 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-I/Amlo(MP)	97
Tableau III.12 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-I/Amlo(évap)	99
Tableau III.13 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-NH ₂ /Amlo(Kn)	101
Tableau III.14 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-NH ₂ /Amlo(évap)	103

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations

CD:	Cyclodextrine
CDs :	Cyclodextrines
CGTase :	Cyclodextrine glucosyltransférase
DMF :	Diméthylformamide
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
P(Ph)₃ :	Triphénylphosphine
Ts :	Tosyle
Rdt :	Rendement
Ks :	Constante de stabilité
K_D :	Constante de dissociation
DRX:	Diffraction des rayons X
UV-Visible :	Ultraviolet-Visible
FTIR :	Infra Rouge à Transformée de Fourier
ACD :	Analyse Calorimétrique Différentielle
TG :	Thermogravimétrie
Ph :	Phényle
SN₂ :	Substitution nucléophile bimoléculaire
NaOCH₃ :	Méthanolate de sodium
β-CD-I:	Per-6-iodo-β-Cyclodextrine
β-CD-N₃:	Per-6-azido-β-Cyclodextrine
β-CD-NH₂:	Per-6-amino-β-Cyclodextrine
T°_{ébullition} :	Température d'ébullition
T°_{amb} :	Température ambiante
RMN¹H :	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
TMS :	Tetraméthylsilane
DMSO-d₆ :	Diméthylsulfoxyde deutéré
δ(ppm) :	Déplacement chimique en partie par million
Amlo :	Amlodipine bésylate
Kn :	Kneading
MP:	Mélange physique
Évap:	Évaporation solvant
S₀ :	Solubilité aqueuse du principe actif sans la cyclodextrine.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'amlodipine est un antagoniste du calcium de la classe des dihydropyridines. C'est une classe médicamenteuse qui joue un rôle important dans le traitement de l'hypertension artérielle. L'inconvénient de cette molécule est qu'elle a une faible biodisponibilité, du fait de sa faible solubilité dans l'eau et dans les liquides biologiques. Ce qui implique une forte augmentation des doses administrées aux patients pour atteindre l'objectif thérapeutique fixé, et donc un accroissement des possibles effets secondaires liés aux traitements médicaux [1].

La faible dissolution dans l'eau de médicaments liposolubles est toujours un problème important confrontant l'industrie pharmaceutique à la mise au point d'un médicament. Pour y remédier, plusieurs techniques ont été élaborées. Parmi celles-ci, nous pouvons citer la complexation avec les cyclodextrines [2].

Depuis leur découverte, les cyclodextrines (CDs) font l'objet d'un grand intérêt de la part de la communauté scientifique. Ce sont des composés d'origine naturelle, obtenus par dégradation enzymatique de l'amidon, Il existe trois types majeurs α , β et γ formées par l'enchaînement de 6, 7 ou 8 unités glucose liées en α -1,4 [3].

Les cyclodextrines sont des molécules intéressantes dans le domaine de la technologie pharmaceutique, vu leur capacité à former des complexes avec des molécules peu hydrosolubles. Elles sont notamment utilisées pour favoriser la solubilité de substances actives insolubles en milieu aqueux, pour augmenter leur biodisponibilité, pour améliorer dans certains cas la stabilité (de molécules ou de formulations), pour diminuer les effets indésirables ainsi que pour leurs propriétés promotrices d'absorption.

Parmi les CDs utilisables, la β -CD est la plus adaptée au niveau de la taille de sa cavité et de loin la moins coûteuse des trois. Toutefois, son utilisation pose certains problèmes, car elle est moins soluble que les autres cyclodextrines, et présente un caractère hémolytique [4,5].

Des travaux antérieurs ont ciblé l'amélioration des propriétés de la β -CD, en la modifiant chimiquement pour la rendre plus adaptée [4]. Plusieurs solutions ont été envisagées et ont conduit à l'utilisation de dérivés méthylés ou de dérivés hydroxyalkylés.

Les dérivés méthylés sont beaucoup plus solubles que la cyclodextrine d'origine et ils possèdent de bonnes propriétés de solubilisation de composés organiques hydrophobes. Néanmoins, ces dérivés méthylés, outre qu'ils sont difficiles à obtenir à l'état pur, sont inutilisables pour des applications pharmaceutiques, en particulier pour les formes injectables, en raison de leur très fort caractère hémolytique.

On a envisagé plus récemment d'utiliser d'autres dérivés de cyclodextrines, parmi ces derniers, nous trouvons des dérivés substitués par une diamine [4]. Mais les résultats obtenus avec les dérivés diamino, ne donnent pas entièrement satisfaction pour des applications pharmaceutiques.

Notre travail a précisément pour objet d'étudier le protocole de fonctionnalisation pour obtenir des dérivés de cyclodextrines, utilisables pour solubiliser des composés chimiques hydrophobes, et remédier ainsi aux inconvénients posés par ces molécules.

Ces dérivés de β -CD sont obtenus par substitution des OH primaires en position 6 par des groupements tels que, l'iode, la fonction azide et le groupement amino. Le dérivé amino persubstitué est particulièrement intéressant du fait qu'il a un très faible caractère hémolytique [4], et la présence de plusieurs groupements NH_2 permet d'augmenter fortement la solubilité dans l'eau, de certains principes actifs hydrophobes. Ce qui présente l'avantage d'améliorer leurs stabilités et leurs biodisponibilités, sous diverses formes d'administration.

Dans cette optique, les objectifs essentiels de ce travail consistent :

- à mettre au point le protocole de synthèse et de purification afin de fonctionnaliser sélectivement la β -CD, en remplaçant les OH primaires en position 6 par une fonction amine,
- à améliorer la solubilité d'un principe actif (l'amlodipine), qui est pratiquement insoluble dans l'eau, en le complexant avec les dérivés de la β -CD synthétisés, et ce à l'aide de trois méthodes de complexation, à savoir: le mélange physique, le kneading et l'évaporation de solvant.

Pour cela nous avons divisé notre travail en deux grandes parties :

La première partie est composée d'un premier chapitre qui est consacré aux rappels bibliographiques, sur les propriétés des cyclodextrines en général, sur les cyclodextrines modifiées et sur les méthodes de fonctionnalisation sélectives des β -cyclodextrines, en terminant ce chapitre par un rappel bibliographique sur les complexes d'inclusion.

La partie expérimentale comporte essentiellement deux chapitres qui sont :

- le chapitre II dans lequel nous décrivons la méthodologie suivie afin de fonctionnaliser la β -CD native, ainsi que la caractérisation de la β -CD native et des produits intervenant dans la synthèse (par IR, UV-visible DRX, RMN ^1H).

Nous développerons les trois étapes de la fonctionnalisation et de la caractérisation :

- La modification chimique de la β -CD native afin d'obtenir le dérivé iodé, le « per-6-iodo- β -CD ».
 - La préparation du dérivé azoture, le « per-6-azido- β -CD ».
 - La synthèse du dérivé amine, le « per-6-amino- β -CD ».
- ✓ Le chapitre III est consacré à l'étude des complexes d'inclusion de l'amlodipine avec les dérivés de la β -CD, en comparaison avec la native.

Enfin, nous terminerons notre étude par une conclusion générale qui résume les résultats essentiels et les perspectives qui découlent de ce travail.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

RAPPELS

BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. CYCLODEXTRINE

I.1.1. Structures

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques constituées d'unités α -D-glucose liées en position α -1,4 ; issues de la dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) par la cyclodextrine glucosyltransférase (CGTase).

Il existe trois types de ces mêmes dérivés : α , β et γ -cyclodextrine constituées respectivement de six, sept et huit unités glucose [7].

Ces composés sont caractérisés par une structure en « couronne » et se présentent sous forme d'un anneau tronconique, avec à l'extérieur des hydroxyles primaires et secondaires, et dans la partie interne des atomes d'hydrogène, de carbone et des liaisons éther-oxydes [8] (Voir Figure I.1). Les structures tridimensionnelles des CD ont pu être obtenues à partir de l'étude de leurs monocristaux par diffraction des rayons X (et même, de quelques monocristaux de complexes CD) ce qui a permis de mettre en évidence la structure tronconique des CD ainsi que de déterminer les dimensions des cavités de chacune d'elles [9].

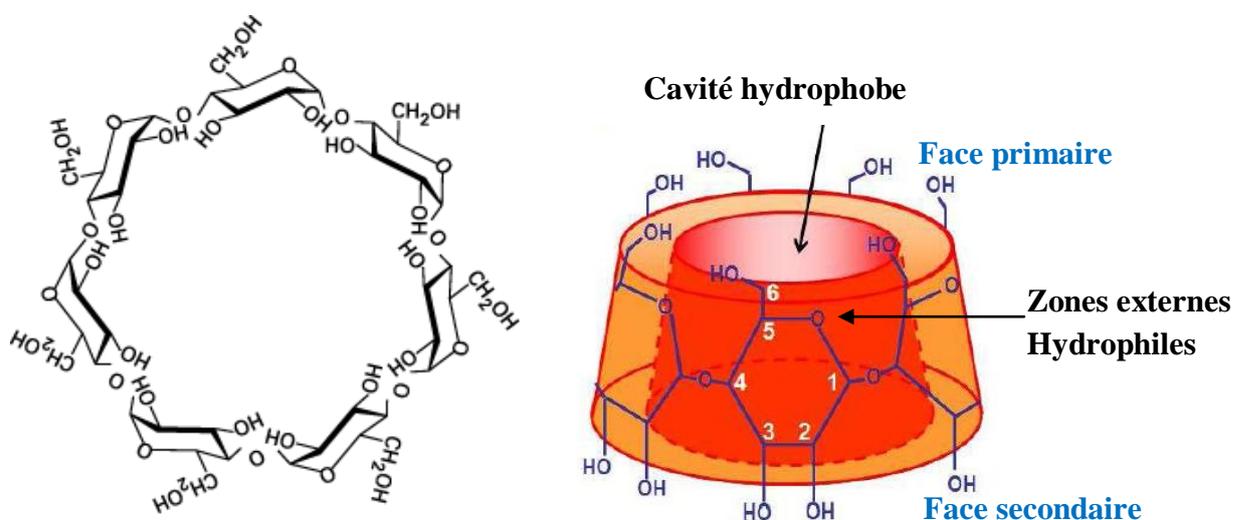


Figure I.1: Représentation schématique et tridimensionnelle de la β -Cyclodextrine [10].

Du fait de la configuration chaise des unités glucoses liées en (α -1,4), tous les groupements hydroxyles secondaires (portés par les carbones C2 et C3) sont situés sur le côté le plus ouvert de l'anneau appelé face secondaire, tandis que les hydroxyles primaires (C6) se trouvent du côté opposé à celle-ci, constituant les substituants de la face primaire. Les fonctions hydroxyles primaires peuvent tourner légèrement, de façon à bloquer partiellement la cavité, alors que les hydroxyles secondaires, situés sur des chaînes relativement rigides ne le peuvent pas [8]. Ces nombreux groupes hydroxyles procurent à l'extérieur des CDs un caractère hydrophile [11].

La forme arrondie de ces macromolécules est stabilisée par des liaisons hydrogènes entre les hydroxyles secondaires portés par les carbones C2 et C3 de deux résidus glucoses adjacents [8].

La cavité interne du tore est relativement apolaire car tapissée de deux couronnes de groupes CH (protons **H3** près de la face secondaire et protons **H5** près de la face primaire), séparée par les oxygènes glucosidiques. On peut distinguer sur la figure I.1 que tous les protons **H3** et **H5** des différentes unités glucose pointent vers l'intérieur de la cavité des CDs, particularité importante pour l'étude par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) des propriétés d'inclusion de ces molécules [9].

Les structures de ces dérivés sont apparentées à celles des macrocycliques dont l'extérieur est hydrophile et l'intérieur hydrophobe. Ces caractéristiques structurales sont à l'origine des propriétés très particulières des CDs (tableau I.1); Entre autres, leur grand pouvoir d'inclusion au sein de leur cavité, de molécules hydrophobes (lipophiles) très diversifiées pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau [12, 3].

Tableau I.1: Propriétés structurales des cyclodextrines natives [9].

Cyclodextrines	α	β	γ
Nombre d'unités glucoses	6	7	8
Diamètre intérieur de la cavité (Å°)	4,9 ± 0,3	6,2 ± 0,3	7,9±0,3
Diamètre extérieur de la cavité (Å°)	12,5± 0,4	13,8 ±0,4	15,5 ±0,4
Hauteur (Å°)	7,9 ±0,1	7,9 ±0,1	7,9 ±0,1
Volume de la cavité (nm ³)	0,174	0,262	0,472

La hauteur de ces trois molécules est la même mais les autres dimensions varient avec le nombre d'unités glucose. Ainsi, le diamètre externe et le volume de la cavité augmentent de l' α -CD à la γ -CD. De par la taille de sa cavité, la β -CD et ses dérivés sont ceux qui complexent le plus grand nombre de composés et sont les plus utilisés de toutes les CDs [3].

I.1.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des cyclodextrines ont été étudiées essentiellement des années 1930 à 1970. Les Cyclodextrines natives les plus utilisées dans le domaine industriel sont α -, β - et γ -CD. Leurs caractéristiques physico-chimiques les plus importantes sont décrites dans le tableau I.2.

Tableau I.2. Caractéristiques physicochimiques des principales CDs natives [13].

CD	α	β	γ
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse molaire ($g \cdot mol^{-1}$)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau ($g \cdot l^{-1}$ à $25^{\circ}C$)	145	18,5	232
pKa	12,33	12,2	12,08
Hydratation (CD, nH_2O)	n= 6 à 7	n=10 à 12	n=7 à 13

I.1.2. a. Solubilité dans l'eau

La solubilité des cyclodextrines dans l'eau est relativement élevée, excepté pour la β -CD. Cette perte de solubilité, dont les causes n'ont pas été totalement éclaircies, semble dû au réseau de liaisons hydrogènes intramoléculaires particulièrement fortes dans le cas de la CD à 7 unités [6]. Pour β -CD, une fonction hydroxyle portée par le carbone C2 d'une unité glucose peut former une liaison hydrogène avec la fonction hydroxyle portée par le carbone C3 de l'unité voisine [10]. Ces liaisons Hydrogène forment une ceinture à la périphérie de la face secondaire, ce qui lui confère une structure rigide. Ceci explique aussi la moins bonne solubilité de cette cyclodextrine par rapport aux autres [10].

En effet, dans l' α - et γ -CD, les liaisons hydrogènes ne sont pas toutes orientées sur la face secondaire. Il reste donc des fonctions hydroxyles libres pour interagir avec les molécules d'eau. Par conséquent, ces deux cyclodextrines sont moins rigides mais plus solubles dans l'eau [10].

La β -CD étant la plus intéressante du point de vue de la complexation, plusieurs méthodes ont été développées pour améliorer sa solubilité en solution. L'une d'elles consiste à substituer les groupes hydroxyles par divers autres groupements fonctionnels [3].

I.1.2. b. Solubilité dans les solvants :

En ce qui concerne les solvants organiques, α -CD et β -CD sont insolubles dans le méthanol, l'éthanol, l'isopropanol, l'acétone, le chloroforme et le tétrahydrofurane [12]. En revanche elles sont solubles dans les solvants polaires aprotiques tels que le diméthylformamide (DMF), le diméthylsulfoxyde (DMSO) et la pyridine. [14]

I.1.2. c. Stabilité en solution :

La stabilité des CDs en solution est relativement peu influencée par les conditions de pH et de température. Selon Stella et Rajewski (1997) [15], l'hydrolyse des cyclodextrines peut avoir lieu dans certaines conditions de pH très acide (< 1) et à 80 °C. En milieu très basique ($\text{pH} > \text{pKa}$), il y a possibilité de former des ions alcoolates plus solubles que les CD neutres. Les valeurs des constantes pKa sont données dans le tableau I.2 pour les trois cyclodextrines natives [5].

I.2.LES CYCLODEXTRINES MODIFIEES

Les cyclodextrines, à l'état native, présentent un intérêt relatif du fait de leur polarité élevée, leur faible solubilité dans les solvants organiques et leur rigidité structurelle. La modification contrôlée des hydroxyles en position 2, 3 et 6 a ouvert la voie à une multitude d'applications nouvelles [16].

Parmi les trois cyclodextrines natives les plus utilisées (α -, β -, γ -CD), la β -CD est celle qui complexe le plus grand nombre de composés ce qui fait qu'elle est la plus utilisée de toutes les CDs pour la complexation, favorisée par la taille de sa cavité et son coût plus réduit.

Toutefois, son utilisation est généralement limitée en raison de sa faible solubilité aqueuse. La modification chimique de la β -CD permet d'obtenir des dérivés possédant des propriétés physico-chimiques différentes de celle de la forme native et d'élargir ainsi son champ d'application [5].

L'exploitation des propriétés des CDs chimiquement modifiées est aussi poursuivie en raison de leur faible toxicité et de leur aptitude à former des complexes d'inclusion dans l'eau et dans les émulsions [17].

Ces modifications chimiques portent sur :

- La substitution d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles par des halogènes, des groupements amines, carboxyles, carbonyles, amides...
- L'oxydation des alcools primaires pour former des aldéhydes ou des acides carboxyliques.
- La substitution nucléophile interne avec formation d'époxyde.
- La substitution d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène (des hydroxyles primaires ou secondaires) pour former des éthers ou des esters.

Il s'agit des modifications les plus courantes [5].

La consultation de la liste quasi-exhaustive [18] de tous les dérivés de cyclodextrines synthétisés jusqu'en 1996, permet de réaliser tout l'intérêt et l'attrait dont bénéficie ce type de composés.

I.2.1. But de la modification

Parmi les objectifs visés lors de ces modifications, on peut citer :

- L'amélioration de la solubilité de la CD (en particulier celle de la β -CD),
- L'amélioration de la capacité de complexation,
- La fixation d'un groupe spécifique (par exemple pour la modélisation enzymatique),
- La formation de polymères de CDs, etc... [19].

I.2.2. Facteurs qui influencent les modifications sélectives d'une CD

Des facteurs, propres à la nature structurale des CDs, sont susceptibles d'influencer la sélectivité de ces modifications. Les principaux facteurs sont la différence de nucléophilie des groupements hydroxyles et la capacité des CDs à former des complexes avec les réactifs et solvants utilisés [20].

✓ *Réactivité des hydroxyles :*

Les cyclodextrines possèdent trois types de fonctions hydroxyles situées sur les positions 2, 3 et 6 des unités glucoses (figure I.2).

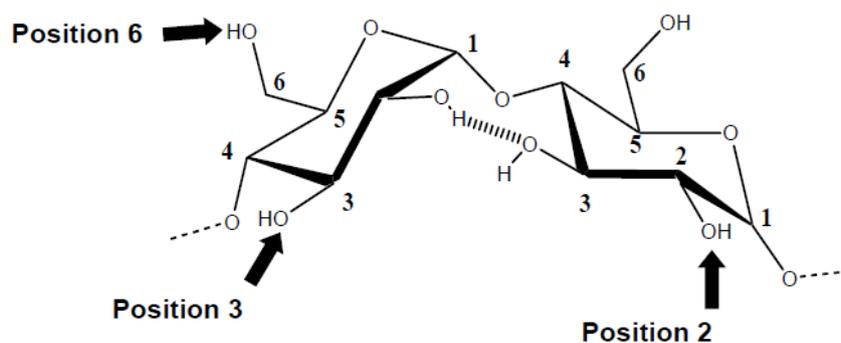


Figure I.2. Localisation des hydroxyles sur une des unités glucoses d'une cyclodextrine native [20].

Les hydroxyles en 6 sont dits primaires, plus réactifs que les hydroxyles secondaires en position 2 et 3. De plus, ceux de la position 6 sont aussi les plus basiques, les plus accessibles et souvent les plus nucléophiles. En revanche, ceux de la position 2 sont les plus acides tandis que ceux de la position 3 sont les moins accessibles et les moins réactifs, d'autant plus que la couronne d'hydroxyles secondaires est encombrée, moins flexible et rigidifiée par la ceinture de liaisons hydrogènes [21]. De plus, la réactivité est souvent modifiée lors de per-substitutions, en raison de problèmes d'encombrement stérique dus à la structure tridimensionnelle cyclique de la CD.

✓ *Influence de la nature des réactifs :*

Un réactif électrophile privilégiera les positions primaires en 6. Toutefois, il est important de noter qu'un réactif peut réagir non seulement avec les hydroxyles en 6 mais aussi avec ceux de la position 2. Pour être très sélectif, il vaut mieux choisir un réactif avec une réactivité modérée [21] et adopter des conditions douces de modification chimique.

Les hydroxyles situés sur la position 2 sont les plus acides et donc les premiers à être déprotonés. Les alcoolates formés sont alors plus nucléophiles que les hydroxyles primaires en 6. Une base forte permettra donc une meilleure sélectivité en 2 sans toutefois éliminer totalement une substitution en 3 et 6, conduisant à des mélanges complexes [21].

✓ *Influence de la cavité et du solvant :*

La capacité des cyclodextrines à former des complexes peut jouer un rôle important dans la sélectivité réactionnelle. Si un réactif électrophile forme avec la CD native un

complexe fort, alors le produit formé sera dicté par l'orientation de ce réactif au sein du complexe.

La nature du solvant et la taille de la cavité ont une influence importante sur la force et l'orientation du complexe formé entre le réactif et la cyclodextrine, et affectent ainsi le produit de réaction. Par exemple, la réaction du chlorure de *p*-toluène sulfonyle en milieu aqueux basique, avec l' α -CD et la β -CD donne respectivement les dérivés 2- et 6-tosylés. Dans la pyridine, le dérivé 6-tosylé est obtenu aussi avec l' α -CD [21].

Pour éviter les complications dues à l'orientation inattendue de l'attaque chimique d'un réactif, soumise à l'influence de la cavité de la CD, la méthode la plus souvent employée consiste à protéger temporairement certaines positions hydroxyles [21].

L'ensemble des critères influençant la sélectivité des CDs décrits précédemment ainsi que le très grand nombre de groupes hydroxyles portés par celles-ci (18 pour l' α -CD, 21 pour la β -CD, 24 pour la γ -CD) rendent compliquée l'obtention de CDs sélectivement modifiées, avec un haut degré de pureté et de bons rendements [20].

La purification des produits issus de la modification chimique des cyclodextrines pose de nombreux problèmes. En effet, l'élimination des réactifs et des produits secondaires inclus dans la cavité de la CD (ex : PPh_3 , OPPh_3 , I_2 , Br_2 ,...) est très difficile. Il en va de même pour les solvants couramment utilisés dans les réactions (pyridine, DMF, DMSO), qui sont, par définition, ceux ayant une grande affinité pour la cavité (condition *sine qua non* à la solubilisation des CDs). Par ailleurs, les CDs non protégées sont beaucoup trop polaires pour être purifiées sur silice. Seules les techniques de précipitations sélectives sont efficaces [20].

La modification sélective étant difficile et coûteuse à réaliser, les CDs commerciales sont généralement des mélanges de dérivés qui diffèrent non seulement par le nombre de substituants mais aussi par leurs positions sur le cycle [3].

II.2.3. Exemples de CDs modifiées

Plus de 1500 dérivés de CDs ont été décrits dans la littérature mais la plupart d'entre eux ne connaîtront aucune utilisation à grande échelle à cause des difficultés liées aux procédés de synthèse et au coût élevé qui en résulte [22]. On peut dénombrer une centaine de dérivés commercialement disponibles, principalement utilisés en chimie analytique ou comme intermédiaire de synthèse.

En terme de quantité produite ou d'utilisation, les CDs les plus importantes sont les dérivés ayant une grande solubilité dans l'eau, en particulier [23]:

- Les β -CDs méthylées,
- Les β - et γ -CDs hydroxypropylées,
- Les β -CDs sulfobutylées,
- Les CDs branchées (glucosylées, maltosylées),
- Les CDs sulfatées.

II.2.4. Méthodes de fonctionnalisation sélectives des CDs modifiées

Dans la littérature, les principaux types recensés de fonctionnalisations chimiques effectués sur les CDs, peuvent être classés de la façon suivante [20] :

- ✓ Ethérisation (dérivés alkylés et silylés) ;
- ✓ Estérisation (dérivés acylés et sulfonylés) ;
- ✓ Halogénéation ;
- ✓ Substitution nucléophile de groupes partants (tosylates, halogénures) pour donner des dérivés azotures, amines, thioalkyles,...

Pour obtenir ces dérivés, les méthodes utilisées peuvent être divisées en trois catégories:

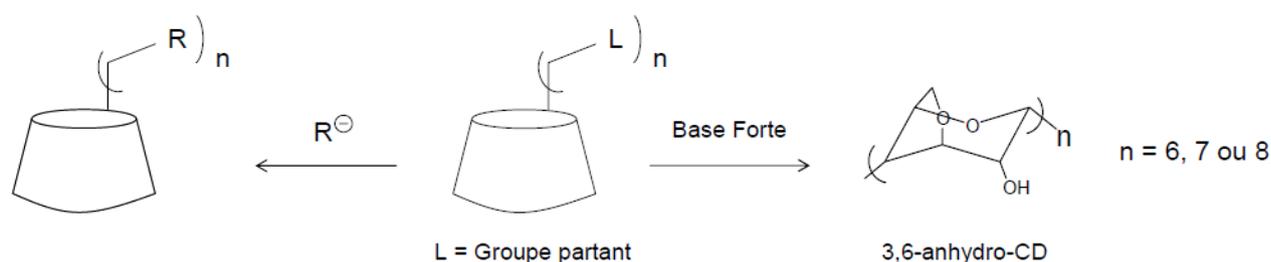
1. La méthode dite "**intelligente**" exploite la chimie de la CD pour obtenir le produit désiré à partir d'un schéma réactionnel le plus court possible.
2. La méthode dite "**longue**" consiste à réaliser une série d'étapes de protection et de déprotection afin de modifier sélectivement des positions qui n'auraient pas pu être atteintes autrement.
3. La méthode du "**rouleau compresseur**" où la CD est soumise à un réactif non discriminatoire, conduisant à un mélange de composés. Le produit désiré est alors isolé de ses isomères et homologues, de façon souvent laborieuse, par des méthodes chromatographiques [21].

L'objectif de ce travail est de substituer tous les hydroxyles primaires en position 6 des β -CDs par des amines, le but de ce chapitre ne sera donc pas de recenser de manière exhaustive tous les dérivés substitués décrits jusqu'à ce jour, il existe de nombreuses revues traitant de ce sujet [21, 24] ; mais il s'agira plutôt de présenter les différentes méthodes possibles de Per-modification de la face primaire des CDs.

II.2.4.1. Permodification des hydroxyles primaires en position 6 des CDs

Les hydroxyles primaires, situés en position 6, sont plus nucléophiles et plus réactifs que leurs homologues secondaires en 2 et 3. Il est donc facile de modifier directement et de manière sélective ces positions en employant des électrophiles tels que les halogénures d'alkyle, de silyle, de sulfonyle, ou d'acide carboxylique pour donner des dérivés alkylés, silylés, sulfonés ou acylés. L'utilisation d'une base faible ou d'un solvant basique permet de neutraliser l'acide formé lors de la réaction et ainsi, d'éviter la décomposition de la CD, instable en milieu acide [21].

L'introduction de dérivés sulfonés ou halogénés est une méthode très utilisée pour obtenir des per-fonctionnalisations variées sur la face primaire des CDs, par substitution nucléophile de type S_N2 (figure I.3).



$R = -N_3, -NHR, -H, -SR, -SAr, -SOR', -SC_nF_{2n+1}, \text{Thioglycosyl, acide aminé} \dots$

Figure I.3: Présentation générale des perfonctionnalisations possibles à partir des CDs persulfonés et perhalogénés sur la face primaire [20].

II.2.4.1.a. Les cyclodextrines per-6-tosylées :

Les dérivés persulfonés ont été synthétisés pour servir d'intermédiaires de synthèse à la préparation d'autres dérivés principalement azidés et aminés. Ces réactions sont délicates car l'encombrement stérique créé en particulier par les groupes tosyloxy augmente au fur et à mesure de la substitution des hydroxyles primaires de la CD et il devient alors possible qu'un groupe hydroxyle secondaire en position 2 puisse réagir plus vite que les derniers hydroxyles primaires à substituer [7].

La réaction de tosylation (figure I.4) est, la plupart du temps, nécessaire à la modification ultérieure des CDs. Le plus souvent, elle s'effectue avec le *chlorure de 4-toluènesulfonyle*, habituellement appelé chlorure de tosyloxy TsCl ($CH_3C_6H_4SO_2Cl$).

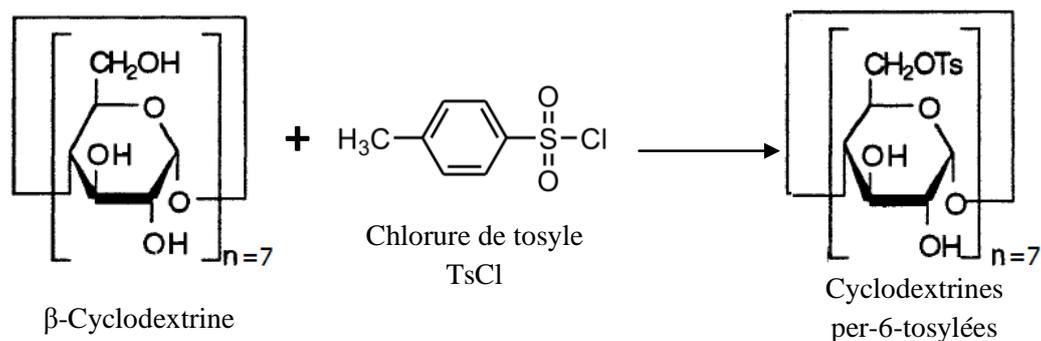


Figure I.4 : Réaction de tosylation de la β -CD [7].

La synthèse des β -CDs pertosylées (per(6-*O*-*p*toluènesulfonyl) β -CD) est reportée pour la première fois dans la littérature en 1954 par LAUTSCH *et al.* [25]. Le chlorure de para-toluènesulfonyl réagit en présence de pyridine sur la cyclodextrine pendant 24 h à température ambiante.

Ces mêmes dérivés ont, par la suite, été synthétisés par d'autres auteurs par modifications de la méthode initiale, en particulier, en effectuant la réaction à froid ou avec excès de chlorure de tosylye et en purifiant les produits par chromatographie. En effet, la pureté des produits obtenus par LAUTSCH avait été remise en question car sa méthode de purification n'impliquait pas de chromatographie [7].

Des modifications ont ensuite été apportées à cette procédure par Umezawa *et al.* [26], Cramer *et al.* [25], Breslow *et al.* [26]. Cependant, les données analytiques fournies par les auteurs (pouvoir rotatoire, point de fusion, analyses élémentaires) sont rares et en désaccord. Seul Umezawa apporte des précisions sur une procédure de purification par colonne de silice (Benzène / EtOH 4/1 v/v), les autres utilisant des méthodes de recristallisation comme moyen de purification [20].

En 1991, Ashton *et al.* [29,30] ont synthétisé des dérivés per-3,6-anhydro d' α -CD et de β -CD à partir de dérivés per-6-tosylés. Ils ont mis en évidence le manque de sélectivité de la réaction de tosylation, qui conduit à un mélange de dérivés sous-tosylés et sur-tosylés. Ils n'ont pu obtenir des composés purs qu'après des étapes répétées de purification par HPLC en polarité de phase inversée, la purification sur colonne de Umezawa et les recristallisations se révélant infructueuses selon eux [19].

En présence d'un large excès de chlorure de tosylye, YAMAMURA *et al.* [31] ont montré qu'une tosylation en position 2 peut se produire bien que la réaction de tosylation dans la pyridine soit sélective des hydroxyles primaires. Ainsi, nous pouvons supposer que la

tosylation en position 6 se fait d'abord, suivie de celle en position 2 du fait de l'acidité de cet hydroxyle. Les deux produits sont séparés par HPLC à polarité de phase inversée. Le dérivé monotosylé en position 2 est obtenu avec un rendement de 15%. La structure de ces composés a été déterminée, par les auteurs, sur la base des spectres de masse et de RMN ^1H et ^{13}C [7].

Le manque de sélectivité de la pertosylation en position 6 conduit à des mélanges de composés, nécessitant une purification difficile avec des rendements trop faibles. C'est pourquoi les dérivés per-6-tosylés ont été abandonnés au profit des dérivés per-6-halogénés.

II.2.4.1.b. Les cyclodextrines per-6-halogénées

L'introduction de groupes halogénés sur la face primaire de la CD est une alternative aux groupes tosylés qui s'avère très intéressante pour la modification sélective des CDs.

En 1974, des α -CD et β -CD per-6-bromées ont été réalisées par **Takeo *et al.*** [32] de manière originale par réaction du bromure de méthanesulfonyle sur la CD dans le DMF, à température élevée. Les auteurs observent malheureusement un degré de bromation très inférieur à 100 %. Des produits secondaires sulfonates sont également formés durant la réaction.

En 1991, **Gadelle *et al.*** [33] montrent que des cyclodextrines non protégées peuvent être directement halogénées en position 6, avec de hauts rendements, par un réactif de type Vilsmeier-Haack généré *in-situ*, à partir de brome ou d'iode en présence de triphénylphosphine $\text{P}(\text{Ph})_3$ dans le DMF, en chauffant à 80°C pendant 15 h (figure I.5). La réaction est ensuite traitée avec du méthanolate de sodium pour détruire les esters de formiate formés lors de la réaction [33].

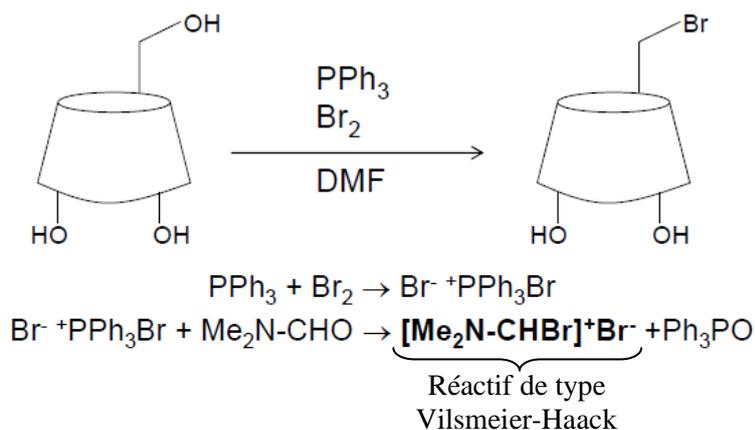


Figure I.5 : Perhalogénéation des cyclodextrines par la méthode de Gadelle *et al.* et mécanisme de formation du réactif de Vilsmeier-Haack généré *in-situ* [20].

Pour éviter les réactions secondaires de sulfonylation et de formylation, **Kahn et al.** [21] forment un complexe de type Vilsmeier-Haack avec des chlorures d'alkylsulfonyle dans le DMF, en passant par un complexe imidazole-sulfonyle. Cette réaction fonctionne très bien avec les dérivés chlorés, donnant de très bons rendements (~ 90 %).

Le réactif de type Vilsmeier-Haack a encore été isolé sous forme d'un sel de bromure ($[(\text{CH}_3)_2\text{NCHBr}]^+ \text{Br}^-$) [34]. L'avantage de cette méthode est d'éliminer les produits secondaires apparaissant lors de la formation du réactif de Vilsmeier-Haack, en particulier l'oxyde de triphénylphosphine, avant de le faire réagir avec la CD.

Une autre méthode de synthèse a été proposée par **Chmurski et al.** [35], utilisant comme réactif de type Vilsmeier-Haack un chlorure ou un bromure d'halométhylènemorpholinium avec la CD dans le DMF. Cette réaction est réalisable dans d'autres solvants aprotiques dipolaires (N-méthyl-2-pyrrolidinone, N-N'-diméthylpropylèneurée, N-diméthylacétamide et pyridine) mais avec des rendements plus faibles.

Les per(6-halogéno-6-désoxy)-CD ont récemment été obtenues avec d'excellents rendements et une très bonne sélectivité par le traitement d'une CD native avec du N-halosuccinimide et de la triphénylphosphine dans le DMF [36] (figure I.6, tableau I.3), le tableau indique les rendements obtenus pour chaque produit final.

Tableau I.3 : Rendements des perhalogénations des CDs par la méthode de **Chmurski et al.** [36, 20].

	α -CD	β -CD	γ -CD
X=Cl	85%	96%	88%
X=Br	76%	93%	93%
X=I	81%	89%	81%

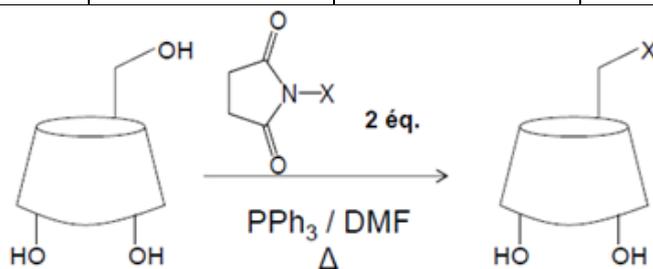


Figure I.6: Perhalogénéation des cyclodextrines par la méthode de **Chmurski et al.** [36, 20].

Suite à ces travaux d'halogénéation, l'iodation directe de la β -cyclodextrine a été réalisée selon la méthode mise au point par Gadelle et Defaye en 1991 [33] et que nous développerons dans le chapitre II.

II.2.4.2. Perazidation et Peramination en position 6 des cyclodextrines:

Les méthodes principales de peramination des CDs sont décrites par **BOGER *et al.*** 1978 [37] dans leur étude sur la substitution sélective de tous les hydroxyles primaires de l' α - et de la β -CD. Pour cela, deux stratégies de synthèse différentes sont utilisées :

- Une indirecte, avec cette méthode, la peramino- α -CD est préparée en six étapes (perbenzoylation, déprotection sélective, pertosylation, perazidation puis réduction) à partir de la α -CD native.

L'intérêt de cette méthode réside dans son étape de déprotection sélective des hydroxyles primaires de l' α -CD perbenzoylée. Ainsi, un produit entièrement protégé sur ses hydroxyles secondaires, dont les hydroxyles primaires sont libres de réagir est obtenu.

Le groupe benzoyle a été choisi en fonction de sa réactivité et de considérations d'ordre stérique. En effet, les groupes benzoyles créent un encombrement stérique plus important sur la face des hydroxyles secondaires de la CD (diamètres des deux faces peu différents). La protection de tous les hydroxyles devrait encombrer la face supérieure beaucoup plus que la face inférieure de la CD. La déprotection des hydroxyles primaires devient dès lors plus facile [7].

Cette méthode a permis aux auteurs d'obtenir les dérivés per-méthylés azidés et aminés de l' α -CD correspondants, avec de très bons rendements ainsi que des dérivés sélectivement perméthylés sur la face des hydroxyles primaires.

- En ce qui concerne la stratégie directe, elle permet d'obtenir la per-amino- α -CD en quatre étapes à partir de l' α -CD native.

Ici, la per-azidation s'effectue directement sur la CD native, dans le DMF, à température ambiante avec de la triphénylphosphine, l'azoture de lithium en excès et du tétrabromure de carbone. La réaction procède *via* l'activation progressive des hydroxyles sous forme de sels de phosphoniums suivie de leur déplacement nucléophile par l'azoture de lithium, ceci permet d'éviter un encombrement stérique trop important.

Cette méthode entraîne la formation d'un mélange d'isomères en plus du dérivé per-azidé souhaité. Ce mélange est acétylé avant purification. Le dérivé per-azidé est ainsi obtenu sous sa forme per-acétylée avec un rendement de 25% donc très nettement inférieur à celui de la première méthode. La méthode de réduction de l'azide reste identique à celle décrite précédemment.

Ces deux stratégies ont aussi été appliquées à la β -CD. La stratégie indirecte n'a donné aucun résultat, les tentatives de déprotection sélective de la face primaire de la β -CD, dans les mêmes conditions que pour l' α -CD, ne fournissent qu'un mélange de produits. Ceci indique une mauvaise sélectivité qui pourrait s'expliquer par une diminution de l'encombrement stérique de la face des hydroxyles secondaires ou une approche favorisée des réactifs par l'intérieur de la cavité d'où un clivage non sélectif des esters [7].

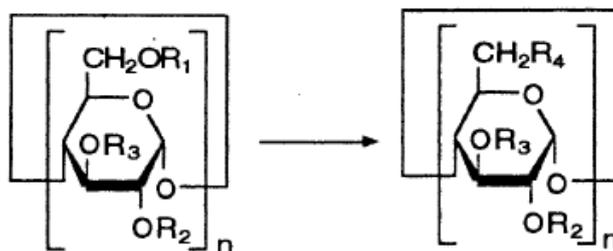
La méthode directe, quant à elle, fournit de meilleurs rendements avec la β -CD (double pour la per-azidation), la sélectivité pour les hydroxyles primaires est plus grande dans les cas de la β -CD. Ceci est dû à un réseau de liaisons hydrogènes plus dense entre les hydroxyles secondaires de la β CD les rendant moins réactifs.

Donc, les auteurs ont développé deux méthodes de persubstitution sélectives, chacune plus adaptée à un type de CD en fonction de la taille des cycles et des effets stériques des réactifs par rapport à la CD.

Il existe d'autres méthodes pour fonctionnaliser toute les position 6 des CDs par les groupements azido ou amino, elles sont rassemblées dans le tableau I.4:

Tableau I.4 : Per-azidation et per-amination des CDs

n	R ₁	R ₂ =R ₃	R ₄	Conditions	Rdt	Réf
7	Br	H	N ₃ , NH ₂	NaN ₃ puis P(Ph) ₃ - NH ₃ conc	93% (N ₃)	[42]
7	I	H	N ₃ , NH ₂	DMF-NaN ₃ puis P(Ph) ₃ - NH ₃ conc	NP	[43]
7	Br	H	N ₃ , NH ₂	DMF-NaN ₃ puis P(Ph) ₃ -DMF- NH ₃ conc	94-98%(N ₃)	[36]



D'après le tableau I.4, il apparaît que le brome est suffisamment bon nucléofuge pour être déplacé par l'azoture de sodium bien que d'autres auteurs aient utilisé une per-iodo- β -CD [38], l'iode étant meilleur nucléofuge que le brome mais ceci implique une étape supplémentaire d'iodation de la per-bromo- β -CD ou de la β -CD native.

En 1992, **PARROT-LOPEZ *et al.*** [39] synthétisent une per-amino- β -CD amphiphile substituée sur ses hydroxyles secondaires par des chaînes alkyléthers. Ce dérivé est synthétisé à partir de la per-bromo- β -CD *via* le dérivé perazidé suivi de l'alkylation des hydroxyles secondaires et de la réduction des fonctions azides.

Il apparaît donc que ces fonctions permettent aisément la substitution sélective des hydroxyles de la face secondaire ce qui a l'avantage d'éviter une stratégie plus longue de protection- déprotection-substitution de la face hydroxyles primaires.

Gorin *et al.* [34] ont décrit en 1996 un protocole permettant d'obtenir Per-6-azido-CD par réaction du per-6-bromo-CD avec de l'azoture de sodium dans du DMF à 65°C pendant 24h, Il réduit ensuite l'azide avec de la triphenylphosphine dans du DMF pour obtenir le per-6-amino-CD.

Ashton *et al.* [40] ont rapporté une méthode où le dérivé per halogéné de la CD (dans ce cas c'est un dérivé per iodé) a été traité avec NaN_3 dans du DMF pour obtenir le Per-6-azido-CD, qui se révèle être un composé stable et facile à manipuler. Le traitement du Per-6-azido-CD avec un catalyseur Pd / C sous 1 atm de H_2 ne s'est pas avéré satisfaisant en tant que moyen de réduire les groupements azides fonctionnels pour les fonctions aminés correspondants. Toutefois, une procédure de réduction différente, employant $\text{P}(\text{Ph})_3$, était un succès. Cette réduction de dérivé perazido a procédé de manière très efficace, et le traitement ultérieur de l'intermédiaire avec une solution aqueuse de NH_3 a permis l'isolement de la per-6-amino-CD.

I. 3. COMPLEXES D'INCLUSION

La bipolarité des CDs, hydrophile à l'extérieur et hydrophobe à l'intérieur, est l'une des plus importantes caractéristiques de ces molécules. En effet, cette propriété permet aux CDs de former des complexes d'inclusion à l'état solide ou en solution avec une grande variété de substances allant des composés organiques ou inorganique, neutres ou ioniques, polaires ou apolaires aux gaz nobles [14].

Le terme de complexe d'inclusion est introduit pour la première fois par **Schlenk** en 1950, il désigne l'association de deux ou de plusieurs composés dont l'un, le substrat ou « molécule invitée » est encapsulée totalement ou partiellement par l'autre appelée le récepteur ou « molécule hôte », sous l'effet d'interactions faibles. Aucune liaison covalente n'est créée, ce qui permet une dissociation aisée et douce du complexe formé [14].

La faculté de complexation des CDs peut être améliorée par une modification chimique de ces dernières, notamment par substitution des atomes d'hydrogène des fonctions hydroxyle ou des groupements hydroxyle eux-mêmes.

I. 3.1. Principe de formation des complexes d'inclusion

Le principe général d'inclusion d'un invité dans la cavité moléculaire de la CD est basé sur le gain énergétique réalisé par le système hôte-invité lors du processus. En effet, en solution aqueuse, la cavité légèrement apolaire de la CD est occupée par des molécules d'eau qui engendrent des interactions énergétiques défavorables de type polaire/apolaire [41]. Ainsi ces molécules d'eau peuvent être substituées par une molécule invitée moins polaire que les molécules d'eau (figure I.7).

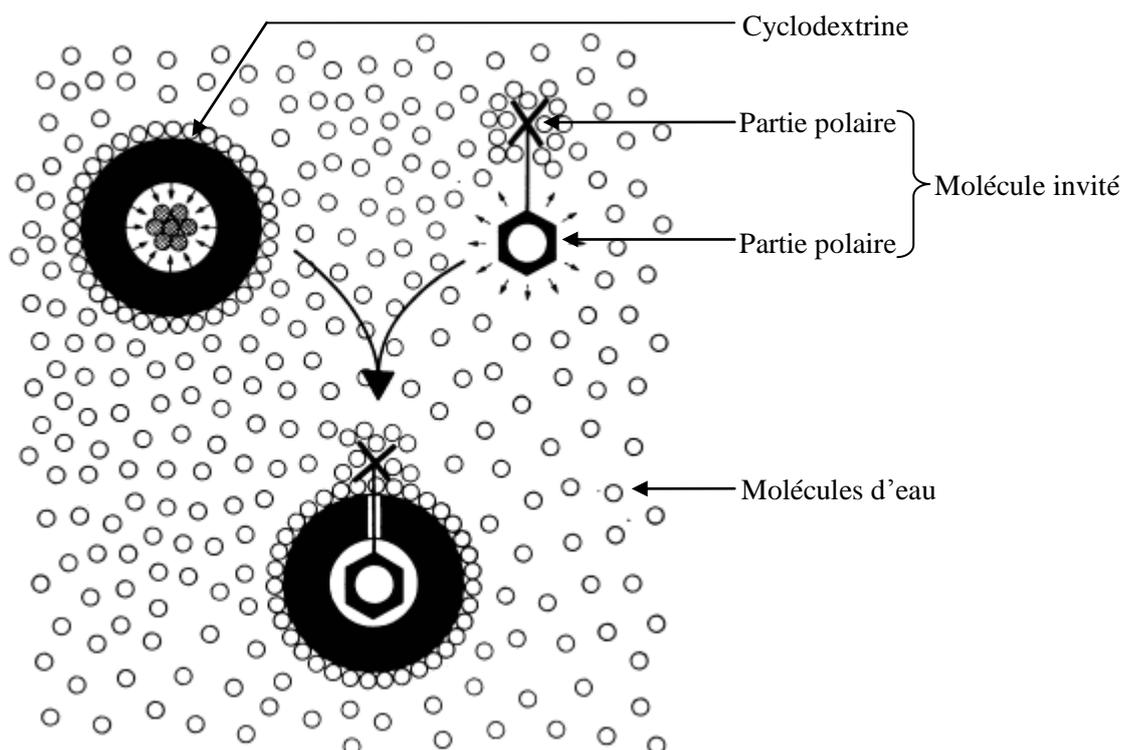


Figure I.7 : Représentation schématique de la formation d'un complexe d'inclusion [14].

Les molécules invitées pénètrent dans la cavité par la plus grande ouverture (face secondaire), le côté le plus accessible; Cette molécule invitée est incluse de manière à éloigner sa portion non polaire pour avoir un maximum de contact avec la cavité hydrophobe, et sa partie polaire interagit avec la surface hydrophile de la CD [12].

L'association d'une CD et d'une molécule invitée S, ainsi que la dissociation du complexe formé CD-S, obéit à un équilibre thermodynamique de la forme:



La stabilité du complexe peut être exprimée par la constante de stabilité K_S ou la constante de dissociation K_D :

$$K_S = \frac{1}{K_D} = \frac{[\text{CD-S}]}{[\text{CD}] [\text{S}]}$$

Où, [CD-S], [CD] et [S] sont respectivement les concentrations : du complexe, de la CD et du soluté libre.

Les complexes CD-S formés sont généralement du type 1:1, comme celui décrit précédemment, c'est-à-dire que l'entité CD complexe une seule molécule de soluté ou invitée (figure I.8-a). Cependant le complexe peut aussi comporter plusieurs molécules invitées (figure I.8-b) ou inversement plusieurs CD (figure I.8-c), il existe aussi les complexes de stoechiométrie 2:2, et plus rarement des complexes d'ordre supérieur.

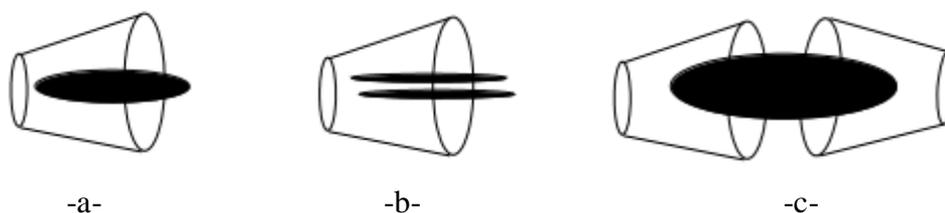


Figure I.8: Description schématique des trois complexes d'inclusions a-1 :1, b-1 :2, c-2 :1.

I.3.2. Conséquence de la complexation

L'inclusion des molécules invitées dans la cavité des CDs constitue une encapsulation moléculaire et ces molécules voient leurs propriétés physicochimiques modifiées. Parmi ces modifications, on peut citer [11,42].

- L'amélioration de la dissolution et de la solubilité du soluté et l'augmentation de sa biodisponibilité (dans le cas de principes actifs),
- La modification de ses propriétés spectrales (déplacements chimiques en RMN, longueur d'onde du maximum d'absorption UV-visible, intensité de la fluorescence, etc.),
- La modification de sa réactivité (en règle générale diminuée). Le soluté bénéficie ainsi d'une protection contre la dégradation thermique ou photochimique, l'oxydation, l'hydrolyse et voit sa stabilité chimique accrue,
- La diminution de sa diffusion, de sa volatilité et de sa sublimation [3].

I.3.3. Techniques de préparation des complexes de Cyclodextrine

Plusieurs méthodes permettent la formation de complexes avec la CD, nous ne citons que les méthodes qui nous permettront de préparer notre complexe d'inclusion avec la molécule active (Amlodipine).

I.3.3. a. Mélange physique

Certaines molécules invitées peuvent être complexées par simple mélange des deux poudres ensemble. Le temps de mélange nécessaire dépend de l'invité. Généralement, ce protocole est réalisé à température ambiante. Son principal avantage est de ne pas utiliser d'eau et ses inconvénients sont l'obtention d'un mélange incomplet conduisant à une complexation insuffisante [8].

Cette technique a été utilisée par **Paravin *et al.*** [43] afin de préparer le complexe d'inclusion du valsartan avec la β -CD-méthylé.

I.3.3.b. Kneading

Une petite quantité de solvant (l'eau, eau-alcool, tampon,...) est ajoutée à la molécule invitée pour obtenir une pâte. Cette dernière est mélangée à la CD en utilisant un mortier et un pilon. Le complexe formé peut être séché directement puis pulvérisé si la masse formée est agglomérée [44].

Cette technique a été très appliquée dans la littérature pour former des complexes d'inclusion ; **Nagabhushanam** [45] a appliqué ce procédé pour complexer la β -CD et la HP- β -CD avec le piroxicam (AINS), **Dua et al.** [46] l'ont utilisé pour préparer le complexe β -CD avec l'Acéclofénac (AINS) en utilisant l'eau comme solvant, Et **Paravin et al.** [43] citent également l'emploi de cette technique pour préparer le complexe d'inclusion du valsartan avec la β -CD-méthylé.

I.3.3.c. Evaporation du solvant

C'est la méthode la plus couramment utilisée, la CD est dissoute dans de l'eau ou dans un autre solvant, sous agitation, et l'invité (principe actif) ou sa solution est ajouté à la solution de CD, l'invité doit être dissout dans un solvant commun et miscible à la CD [8]. Le solvant est ensuite éliminé par évaporation ; l'utilisation de la température peut accélérer l'évaporation du solvant [47].

I.3.4. Techniques de caractérisation des complexes d'inclusion

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée peut être vérifiée à l'aide de différentes méthodes d'analyse. On trouve dans la littérature des caractérisations par fluorimétrie, diffraction de rayons X, spectroscopie UV-visible, spectroscopie Infrarouge (IR), Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), Analyse Calorimétrique Différentielle (ACD), Thermogravimétrie (TG) [12].

Ces techniques ont des approches qualitatives (il s'agit juste de mettre en évidence qu'il y a eu inclusion) et/ou quantitatives si elles permettent de déterminer la constante d'association K (ou de complexation) [12].

I.3.4.a. Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie d'absorption UV-visible est une technique fréquemment utilisée pour la détermination de la constante d'équilibre d'association. Elle est particulièrement intéressante pour la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion pour les composés qui absorbent dans le domaine UV-visible. Souvent, la formation d'un complexe produit des modifications du spectre d'absorption de la molécule invitée. Ces modifications se manifestent sous la forme d'un déplacement et/ou d'un élargissement de bande. Ce déplacement peut être attribué au changement d'environnement (effet s'apparentant à un effet de solvant) [48].

Acerbi *et al.* [49] ont réalisé une étude par UV-Visible sur la formation du complexe d'inclusion de la β -CD avec le piroxicam, les résultats (Figure I.9) montre l'influence de l'addition de la β -CD dans un rapport molaire variant de 0 à 100 mM sur le spectre du principe actif. L'ajout de la CD entraîne un effet hypsochrome et hypochrome sur le spectre UV du piroxicam.

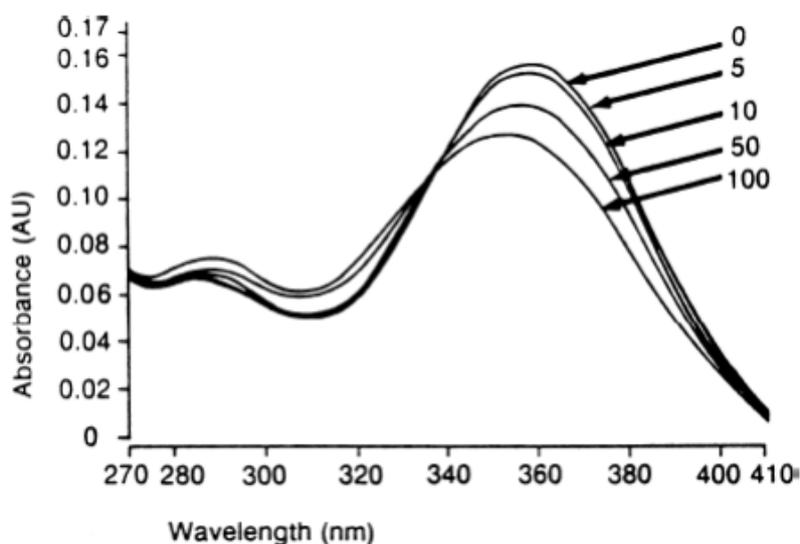


Figure I.9 : Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV d'une solution aqueuse d'un principe actif, le piroxicam à 95 μ M et à pH 5 [49].

En mesurant les variations de λ_{\max} ou de l'absorbance en fonction de la concentration en CD, la constante d'association d'un complexe 1 : 1 peut être déterminée selon la méthode de Benesis-Hildebrand [50].

Kavirajaa *et al.* [51] ont également étudié la formation du complexe d'inclusion entre la β -CD et de l'azométhine par la méthode UV-Visible les résultats obtenus sont montrés sur la figure I.10.

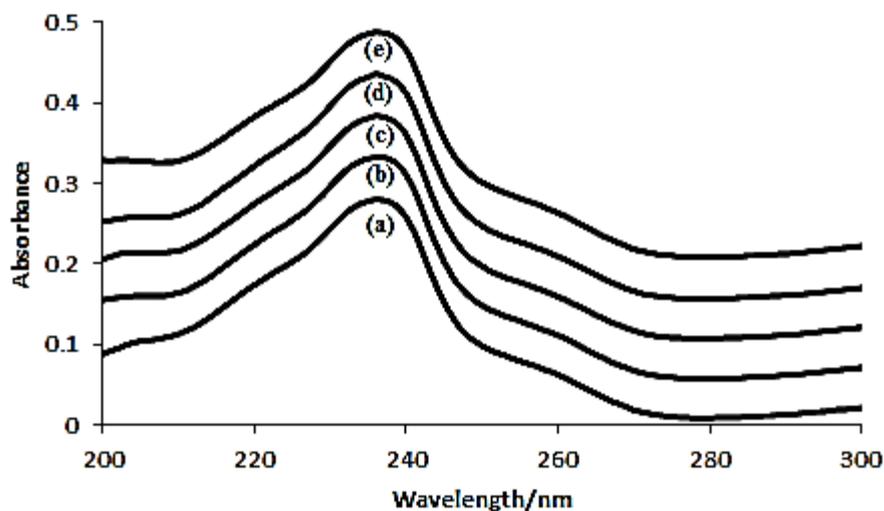


Figure I.10: Spectre d'absorption UV-visible de l'azomethine avec variation de la concentration en β -CD. (a) 0 M, (b) 3×10^{-5} M, (c) 4×10^{-5} M, (d) 5×10^{-5} M, (e) 6×10^{-5} M [51].

Ils ont remarqué que l'absorbance de l'invité augmente avec l'augmentation de la concentration de CD ajoutée, ce qui confirme la formation du complexe β -CD / azomethine.

I.3.4.b. Spectroscopie Infrarouge (IR)

L'infrarouge est une technique qui peut être également utilisée pour caractériser les complexes d'inclusion. D'après la littérature, la bande OH caractéristique des CD est influencée par la formation du complexe et les bandes de la partie incluse de la molécule invitée sont généralement déplacées ou leur intensité diminuée suite à la modification de l'environnement de l'invité [12].

Les spectres des complexes présente généralement un léger déplacement des pics, ce qui indique qu'il n'y a pas de liaison chimique forte (covalente) entre les composés mais juste une interaction. Chaque bande du spectre caractérise un groupement fonctionnel de la molécule et sont déplacement permet de désigner quelle partie de la molécule invitée a interagit avec la CD [8].

Cela dit les groupements de la CD changent très peu au cours de l'inclusion, et si la molécule invitée ne représente que le quart du complexe formé, les groupements de cette dernière seront masqués par ceux de la CD. C'est pourquoi cette technique n'est généralement pas adéquate pour la détection des complexes, sauf dans le cas où la molécule invitée possède quelques groupement caractéristiques (tels que les groupements carbonyle ou sulfonyle) [41].

C'est sur ces bases que **Van Axel Castelli et al.** [52] ont montré la formation du complexe d'inclusion entre la cladribine et la 2HP- β -cyclodextrine. La figure I.11 montre les spectres FT-IR du principe actif, la cladribine (a), du mélange physique (b), du complexe (c) et de la 2HP- β -cyclodextrine (d). Les flèches noires marquent des bandes de vibration caractéristiques du principe actif à l'état non complexé. Ces bandes de vibration deviennent peu visibles dans le mélange physique et disparaissent dans le complexe.

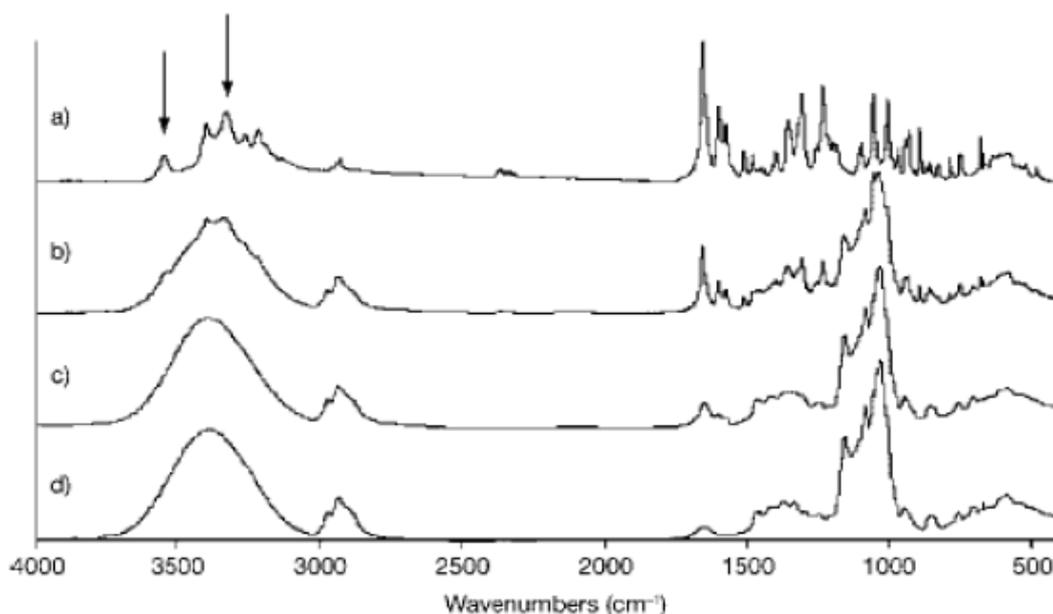


Figure I.11 : Spectres FT-IR (a) d'un principe actif, la cladribine (b) du mélange physique (c) du complexe et (d) de la 2HP- β -cyclodextrine [52].

Bisson-boutelliez [8] a montré la formation du complexe β -CD/amoxicilline en utilisant la spectroscopie infrarouge, la superposition des spectres de l'amoxicilline seule et du complexe β -CD/amox est donnée dans la figure I.12.

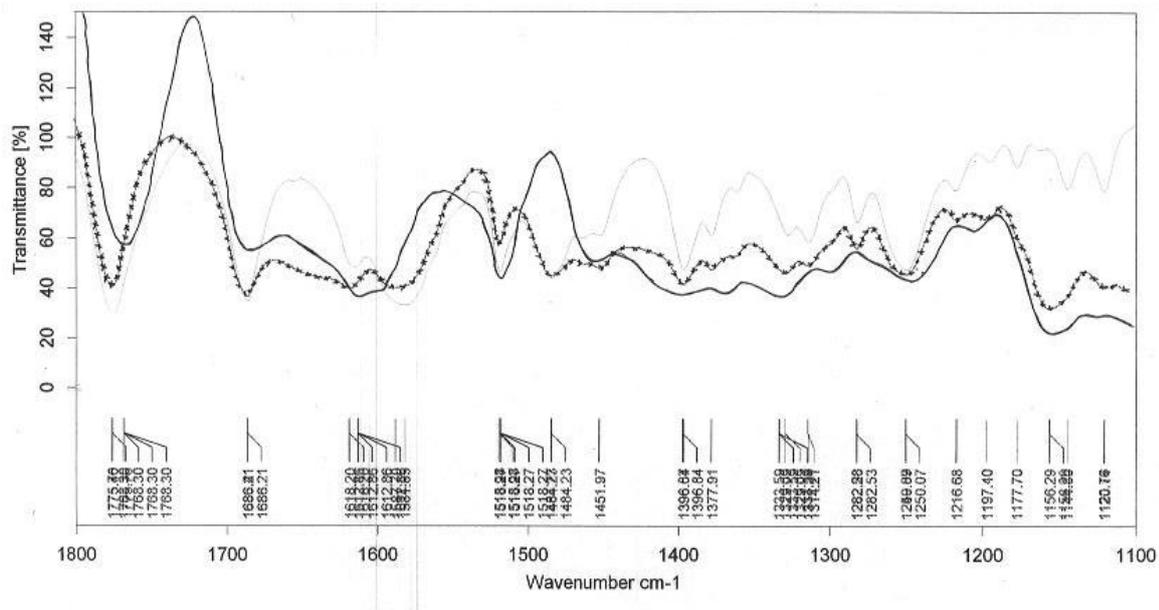


Figure I.12 : Spectres d'IRTF superposés de l'amoxicilline, du complexe β -CD/amox (1 :1), et du mélange physique de l'amoxicilline.
 -----amoxicilline, ----- β -CD/amox (1 :1), xxxxxx mélange physique [8].

La bande correspondant à la vibration du carbonyle du cycle β -lactame est déplacée vers un nombre d'onde plus faible pour un complexe β -CD/amox de rapport (1 :1). Tandis que pour le mélange physique, il n'y a pas de déplacement. Et la bande du carboxylate est déplacée vers un nombre d'ondes plus élevé pour le complexe de rapport 1 :1. Par contre pour le mélange physique elle présente très peu ou pas de déplacement. Ces déplacements sont la preuve de la complexation de l'amoxicilline avec la β -CD.

I.3.4.c. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire en milieu liquide est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules biochimiques. Elle est aujourd'hui considérée comme une méthode de choix dans l'étude des complexes formés par les cyclodextrines.

En effet, la RMN, du proton notamment, permet d'observer des changements de déplacements chimiques dus à la complexation. Après inclusion, les protons situés à l'intérieur de la cavité de la β -CD (H-3, H-5) voient leur environnement électronique modifié du fait de la présence d'une molécule invitée dans la cavité, tandis que les protons localisés à l'extérieur (H-2, H-4 et H-6) de la cavité restent pratiquement inchangés [12].

La molécule invitée présente quant à elle, des modifications de déplacements chimiques au niveau de la plupart de ses protons. On peut considérer, en première approximation, que la molécule cage constitue le solvant de la molécule invitée [12].

Par exemple, **Kavirajaa et al.**[51] ont analysé par RMN des complexes d'inclusion entre la β -CD native et l'azométhine, la figure I. 13 montre, les spectres RMN ^1H de β -CD et du complexe Inclusion.

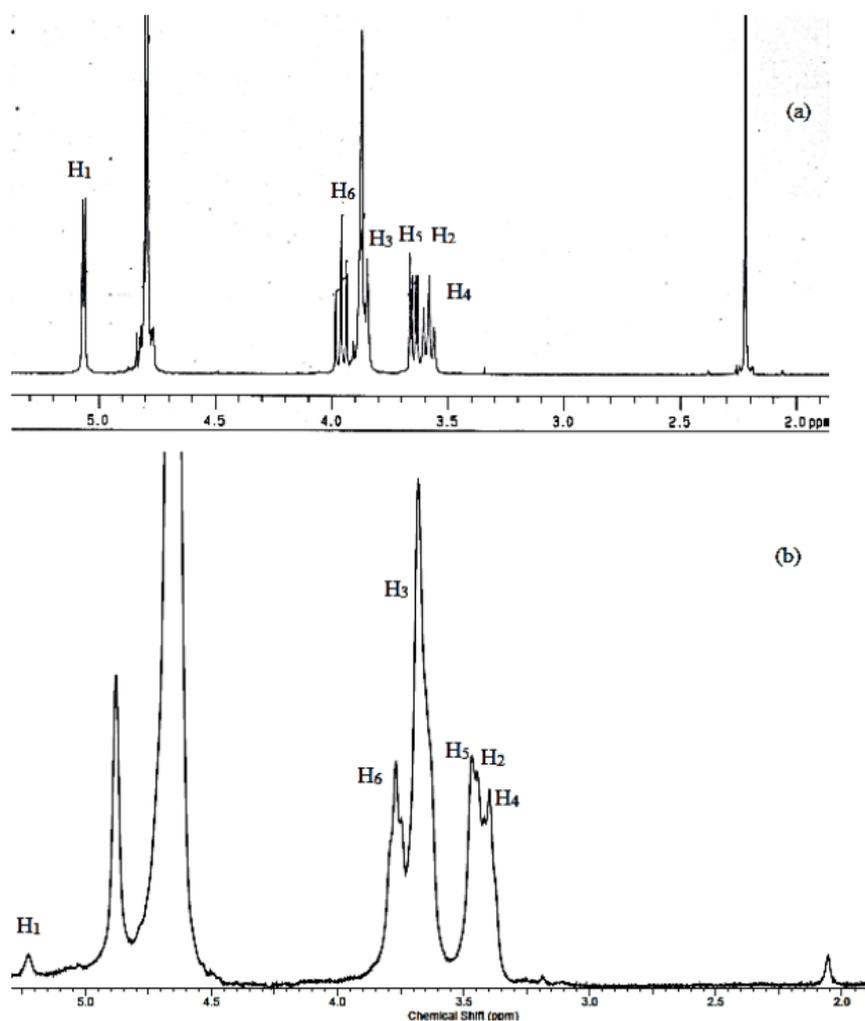


Figure I. 13 : Spectres RMN ^1H de (a) la β -CD et (b) du complexe inclusion [51].

Kavirajaa et al.[51] ont remarqué que les déplacements chimiques des protons H1, H2, H3, H4, H5 et H6 changent après ajout de l'azométhine (tableau I.5); Toutefois, les déplacements chimiques des protons tels que H3 et H5 (qui se trouvent à l'intérieur de la cavité de la β -CD) sont légèrement supérieurs à comparer à d'autres protons, qui sont situés sur le côté extérieur de la cavité. Par conséquent, ce changement fournit l'indication de la formation du complexe d'inclusion entre la β -CD et l'azométhine.

Tableau I.5 : Déplacements chimiques (ppm) des protons de la β -CD et du complexe inclusion [51].

	H1	H2	H3	H4	H5	H6
β -Cyd	5.0642	3.6309	3.9616	3.5833	3.6650	3.9616
Inclusion complex	5.0300	3.4400	3.6800	3.4000	3.3900	3.7700
$\Delta\delta$	0.0342	0.1909	0.2816	0.1833	0.2750	0.1916

I.3.4.d. La diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X permet d'observer un changement du réseau cristallin lors de la formation d'un complexe. En général, on observe la disparition ou la diminution des raies de diffraction du substrat synonyme, d'une perte de cristallinité et donc d'une possible complexation. La figure I.14 montre le spectre obtenu par diffraction des rayons X d'un principe actif, le sel de trométhamine de l'ibuprofène (a), de la β -cyclodextrine (b), du mélange physique (c) et du complexe (d). Le spectre obtenu pour le mélange physique comporte des raies caractéristiques du principe actif et de la β -cyclodextrine avec une prédominance de cette dernière. Le spectre obtenu pour le complexe est complètement différent dû à la perte de cristallinité qui est généralement associée à la formation d'un complexe d'inclusion [53].

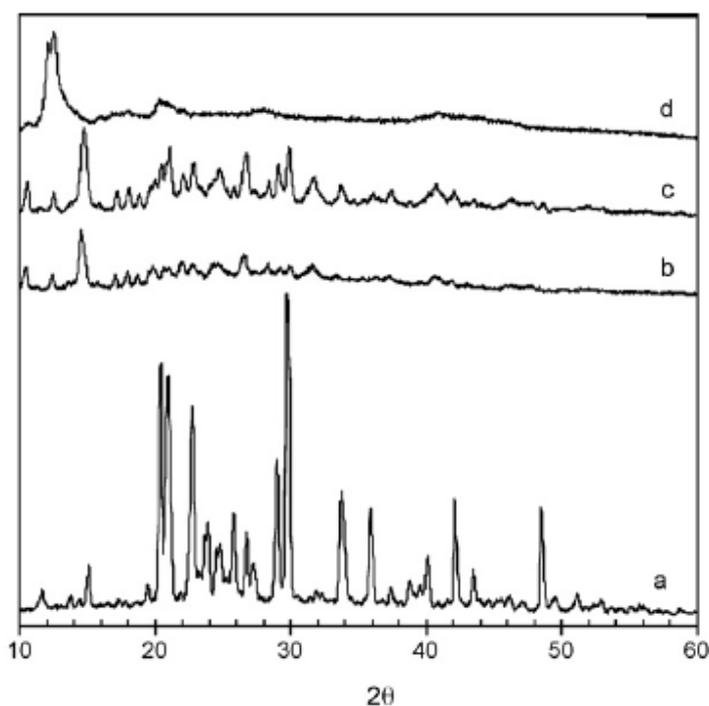


Figure I. 14 : Spectres obtenus par diffraction des rayons X (a) d'un principe actif, l'ibuprofène (sel de trométhamine), (b) de la β -cyclodextrine, (c) du mélange physique et (d) du complexe [53].

I.3.5. Diagrammes de solubilité (Méthode d'HIGUCHI-CONNORS)

Cette approche, telle que développée par Higuchi et Connors [54], est très couramment utilisée pour l'évaluation de l'utilisation potentielle des CDs afin d'augmenter la solubilité de composés hydrophobes en milieu aqueux [9].

Le principe de cette méthode consiste à ajouter le composé invité en quantité excédentaire à des solutions de CD de concentrations croissantes. Après un temps d'agitation nécessaire pour atteindre l'équilibre de la complexation (de plusieurs heures à plusieurs jours), les suspensions sont filtrées et la quantité de composé invité dissous est dosé par une méthode de dosage appropriée [9]. Un diagramme de solubilité est alors réalisé en reportant sur un graphique la concentration molaire du soluté sur l'axe vertical et la concentration molaire en agent complexant sur l'axe horizontal [19].

Higuchi et Connors ont classé les différents types de diagrammes caractérisant les interactions CD-molécule invitée (Figure I.15) en deux profils majeurs ; les courbes de type A et de types B [19].

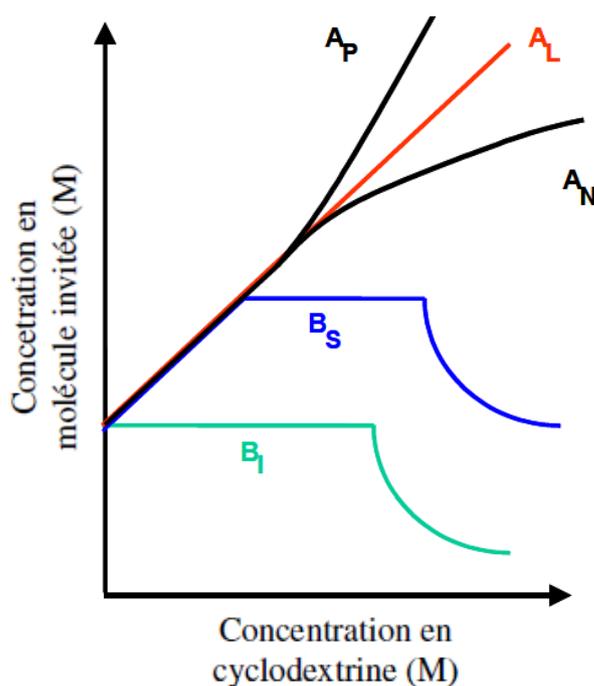


Figure I.15: Types de diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors [54].

Le profil A

Le profil A est obtenu lorsque la solubilité du substrat augmente avec des concentrations croissantes en CD. Trois sous types ont été définis : le type A_L , A_P , et A_N .

Les profils de type A_L indiquent que la solubilité apparente de la substance augmente de façon linéaire en fonction de la concentration de CD. Ces profils sont généralement attribués à la formation de complexes 1:1 [55].

Les profils de type A_P indiquent une déviation positive de l'isotherme; c'est-à-dire que la CD est proportionnellement plus effective à de haute concentration. Ce profil traduit la formation simultanée de complexes de stœchiométries différentes (1:1 à l'origine, puis 1:2 ou 1:3, ...) [19].

Les profils de type A_N indiquent une dérivation négative par rapport à la linéarité, en d'autres termes, la CD est proportionnellement moins effective à de haute concentration. Cependant ces profils peuvent être difficiles à interpréter. La chute de solubilité par rapport au profil linéaire peut être liée à des modifications de la solubilité du complexe, de la constante diélectrique du milieu ou à l'association de molécules de CDs entre elles [19].

Le profil B

Le profil de type B indique la formation d'un complexe à solubilité limitée. On distingue deux sous types.

Le profil type B_S suit au départ le profil de type A_L puis à partir d'un certain point, tout ajout de CD entraîne une précipitation du complexe (au fur et à mesure que le complexe précipite, le principe actif non encore dissout se solubilise sous forme libre). La courbe décroît ensuite (tout l'excès de principe actif est dissout, et cette fraction est progressivement complexée et précipitée).

Le profil B_I peut être interprété de la même manière sauf que dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de la solubilité ne peut être détectée [55,19].

Dans le cas des complexes de rapport molaire 1:1, la constante d'association peut être calculée de la manière suivante [56].

$$K_C = \frac{\alpha}{S_0(1-\alpha)}$$

Avec : α : la pente de la portion linéaire de la courbe.

S_0 : la solubilité apparente en mol/l du principe actif sans la CD.

K_C : la constante de stabilité en M^{-1} .

La méthode d'HIGUCHI-CONNORS a été utilisée dans plusieurs travaux de recherche, **Paravin et al.** [43] ont appliqué cette méthode pour étudier le complexe d'inclusion du valsartan avec la β -CD-méthylé, ils ont montré que le profil est de type A_L , donc la stœchiométrie est 1 :1 et ils ont pu déterminer la constante de stabilité.

Piel et al. [57] ont aussi appliqué cette méthode pour étudier la complexation du miconazole et de la betamethazone avec des CDs, ils ont obtenu des valeurs comparables à celles qui sont obtenues par RMN.

I.4. APPLICATION DES CYCLODEXTRINE

De nombreuses et diverses applications des CD sont décrites dans la littérature, ainsi que dans les registres de brevets [58]. Toutes ces applications tirent profit des propriétés complexantes en milieu aqueux des CD, avec un nombre impressionnant de molécules invitées. Des applications technologiques découlent de l'observation faite à l'égard de : la formation du complexe d'inclusion, la stabilité, la solubilité, la biodisponibilité, la durée de vie, la toxicité et de l'odeur de la molécule invitée, qui sont favorablement modifiées [9].

I.4.1. Domaine pharmaceutique

Les cyclodextrines sont des molécules intéressantes pour la formulation de médicaments. Les principales applications de ces excipients résident dans leur capacité à solubiliser des substances actives, peu solubles en milieu aqueux et à améliorer potentiellement la biodisponibilité de molécules hydrophobes. Elles permettent parfois d'augmenter la stabilité, de diminuer la perception du mauvais goût voire les effets indésirables de certains principes actifs [19].

Dans cette partie, nous présenterons quelques exemples d'utilisation de cyclodextrines dans l'industrie pharmaceutique.

✓ *L'augmentation de la stabilité*

Certaines molécules ont une faible stabilité. Par exemple, la vitamine E est connue pour être très sensible à la lumière et à l'air. **Regiert et al.** [59] ont montré que l'inclusion de cette vitamine dans la cavité de la γ -CD a permis de la protéger des agressions du milieu

extérieur. D'autres publications montrent que l'encapsulation d'un composé dans les cyclodextrines permet d'augmenter sa stabilité vis-à-vis de la lumière, la température, l'hydrolyse, l'oxydation, les réarrangements stériques, la racémisation et autres formes d'isomérisation, la polymérisation et même la décomposition enzymatique de nombreuses molécules [60,61].

✓ *Le masquage du goût et de l'odeur*

Certaines molécules ont un goût ou une odeur désagréable. C'est le cas par exemple de l'eszopiclone. Ce principe actif utilisé pour traiter les insomnies possède un mauvais goût amer qui reste en bouche. **Linde G.A. et al.** [62] qui ont formé des complexes d'inclusion de ce principe actif avec la α -CD ont trouvé que l'inclusion de la molécule dans la cavité de la cyclodextrine permet de la masquer aux papilles gustatives et d'atténuer ainsi son amertume.

✓ *L'augmentation de la solubilité et de la biodisponibilité*

C'est dans ce domaine que les cyclodextrines sont les plus employées en pharmacie. La biodisponibilité se définit par la quantité de principe actif qui parvient à son site d'action et la vitesse avec laquelle il y accède. La mesure au niveau du site d'action étant difficile à obtenir, on considère plus généralement la biodisponibilité comme la fraction du médicament qui atteint la circulation générale. Elle dépend de plusieurs facteurs comme sa vitesse de dissolution, sa solubilité ou sa vitesse d'absorption intestinale. L'encapsulation d'un principe actif par une cyclodextrine permet d'augmenter sa solubilité aqueuse, sa vitesse de dissolution et par conséquent d'accroître sa biodisponibilité [47]. C'est le cas pour un anticancéreux, l'imatinibe dont la solubilité est 10 fois supérieure après complexation avec la β -CD [63], ou encore pour un anti inflammatoire, le diclofénac, qui voit sa solubilité augmentée par complexation avec la HP β -CD [64, 8].

✓ *La diminution des effets indésirables*

Le principal effet secondaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens est l'irritation des muqueuses gastro-intestinales. L'encapsulation de ces anti-inflammatoires par des cyclodextrines permet de diminuer les effets secondaires pour plusieurs raisons. L'augmentation de la solubilité et par conséquent de la biodisponibilité de la molécule permet de réduire les doses et ainsi les effets secondaires. De plus, la dissolution rapide de la molécule évite le contact direct des cristaux de principe actif avec la muqueuse gastrique et donc diminue son irritation [47].

✓ *Le ciblage moléculaire*

Une application très différente est le « ciblage moléculaire ». Cette technique consiste à diriger le principe actif vers le site biologique où il pourra exprimer son activité. Dans cette

approche, le transporteur doit permettre d'acheminer le médicament vers un site précis. Des cyclodextrines peuvent ainsi être greffées avec des molécules ayant un récepteur spécifique dans l'organisme et devenir un excellent vecteur moléculaire [47]. La β -cyclodextrine greffée d'un peptide enképhaline ou endorphine est destinée au ciblage de médicaments neurotropes c'est à dire agissant directement au niveau cérébral. L'enképhaline ou endorphine présentent une très grande affinité pour les récepteurs cérébraux de la morphine [65].

I.4.2. Domaine alimentaire

Les cyclodextrines peuvent notamment être utilisées pour l'encapsulation des arômes vanille, Huile de thym, benzaldéhyde, Huile d'anis [66]. Ces composés volatils peuvent être encapsulés dans le but de limiter leur dégradation ou les pertes durant les étapes de fabrication et de stockage (protection contre l'oxydation, la lumière, la chaleur). L'utilisation de complexes d'inclusion cyclodextrines-arômes peut aussi permettre d'utiliser les arômes en quantité moindre [19].

On peut également utiliser des cyclodextrines pour enlever ou masquer des composés conférant une odeur ou un goût désagréable, mais aussi pour enlever le cholestérol de produits d'origine animale comme les œufs et les produits laitiers. Ainsi, les caractéristiques nutritionnelles de nombreux produits laitiers comme le lait, la mayonnaise ou la crème, ont pu être améliorées via l'utilisation des propriétés complexantes de la β -CD [19].

I .4.3. Applications diverses

En raison de leurs excellentes propriétés, les cyclodextrines trouvent des applications non seulement dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire mais aussi dans le domaine de l'agriculture et dans l'industrie textile, cosmétique ou chimique. Elles peuvent être utilisées dans les méthodes séparatives (séparation d'isomères et d'énantiomères) et les réactions catalytiques vu leur faculté à mimer les enzymes [19].

PARTIE

EXPERIMENTALE

Chapitre II

FONCTIONNALISATION ET CARACTERISATION DE LA β -CD ET DE SES DERIVES

Chapitre II : Fonctionnalisation et caractérisation de la β -CD et de ses dérivés

Ce second chapitre est divisé en deux parties, la première consiste à présenter les caractéristiques des différentes matières premières ayant servi à la fonctionnalisation à savoir: la β -Cyclodextrine (β -CD), l'azoture de sodium (NaN_3), la Triphénylphosphine $\text{P}(\text{Ph})_3$, le Diiodure (I_2) et les solvants; puis décrire le mode opératoire suivi. La deuxième partie est consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

L'objectif de ce travail est de mettre au point une méthode efficace et d'optimiser les paramètres afin de fonctionnaliser la β -CD native ; Dans le but d'obtenir une Cyclodextrine dont le pouvoir de complexation et de solubilisation des molécules invitées seront supérieurs à ceux de la β -CD native.

II.1. MATERIELS

II.1.1. β -Cyclodextrine

La β -Cyclodextrine (β -CD) a été fournie par Roquette Frères (Lestrem, France).

Elle se présente sous forme d'une poudre blanche, très fine. Soluble dans le diméthylformamide (DMF) [12] et peu soluble dans l'eau (solubilité dans l'eau à 25°C est de 18,5 g/l [13]).

Elle est aussi insoluble dans le méthanol, l'éthanol, l'isopropanol, l'acétone, le chloroforme et le tétrahydrofurane[12].

Sa masse molaire est de 1 135 g. mol⁻¹, et sa formule chimique est représentée sur la figure II.1 :

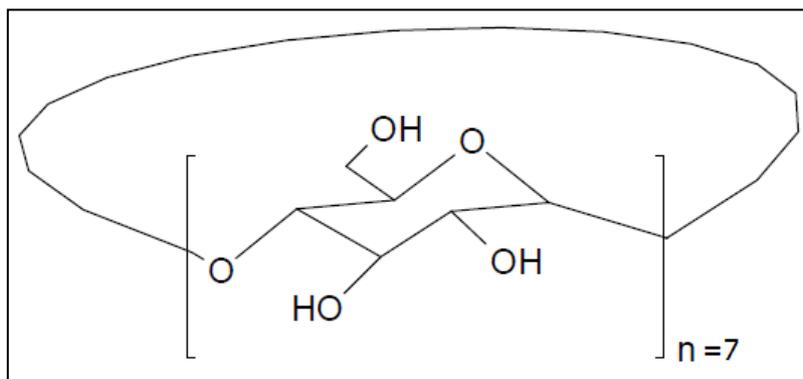


Figure II.1 : Structure chimique de la β -Cyclodextrine [17].

II.1.2. Azoture de sodium

L'azoture de sodium (NaN_3) (99%), est un solide cristallin, blanc et inodore, il est utilisé dans la synthèse organique pour introduire le groupe fonctionnel de l'azoture par déplacement d'halogénures.

Il provient de Sigma-Aldrich (Allemagne), sa masse molaire est de $65,01 \text{ g. mol}^{-1}$, et sa formule chimique est représentée sur la figure suivante :

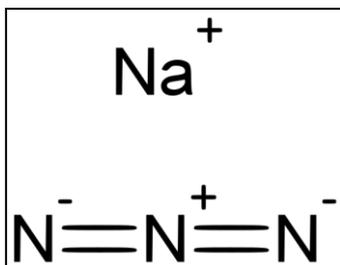


Figure II.2 : Structure chimique de l'azoture de sodium.

II.1.3. Triphénylphosphine $\text{P}(\text{Ph})_3$

La triphénylphosphine est un composé organophosphoré de formule $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, parfois abrégé en $\text{P}(\text{Ph})_3$.

Il est largement utilisé dans la synthèse de composés organiques. Dans notre étude il rentre dans le mécanisme de formation de l'iodure de Vilsmeier et il joue aussi le rôle de réducteur des azotures dans la réaction de Staudinger.

C'est un composé relativement stable qui existe sous la forme d'un solide cristallin à température ambiante, sa masse molaire est de $262,29 \text{ g. mol}^{-1}$ et sa formule chimique est représentée sur la figure suivante :

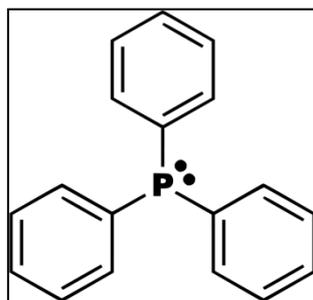


Figure II.3: Structure chimique de la triphénylphosphine

Ce produit est d'origine BIOCHEM, Chemopharma (Québec).

II.1.4. Diode (I₂)

Le Diode (I₂) (99.5%) provient de PROLABO (France).

II.1.5. Les solvants

❖ Diméthylformamide (DMF)

Le diméthylformamide ou N,N-diméthylméthanamide est un solvant courant en chimie organique de formule CHON(CH₃)₂.

Communément abrégé DMF, ce liquide incolore est miscible à l'eau et à la majorité des liquides organiques. C'est un solvant aprotique polaire à haut point d'ébullition (T° ébullition = 153 °C), utilisé couramment pour les réactions chimiques. Il facilite notamment les réactions de SN₂, et il a été fourni par BIOCHEM, Chemopharma (France).

❖ L'éthanol

L'éthanol (CH₃-CH₂-OH), pur à 96% en volume, a été fourni par Biochem Chemopharma (France).

❖ Le méthanolate de sodium (NaOCH₃)

Le méthanolate de sodium (Na⁺, ⁻OCH₃) a été préparé à partir de l'hydroxyde sodium (NaOH) (99%) et du méthanol (pur à 99,5% en volume) qui proviennent tous les deux de PROLABO, (France).

La solution de méthanolate de sodium (NaOCH₃) a pour rôle de détruire les formiates (les esters de formiate) formés au cours de la réaction d'iodation.

❖ L'ammoniaque

L'ammoniaque (30-33% NH₃) est obtenue auprès de la société Sigma-Aldrich (Allemagne).

II.2. METHODES

Le protocole opératoire suivi afin de fonctionnaliser la β -CD est réalisé en trois étapes, comme le montre la figure II.4 :

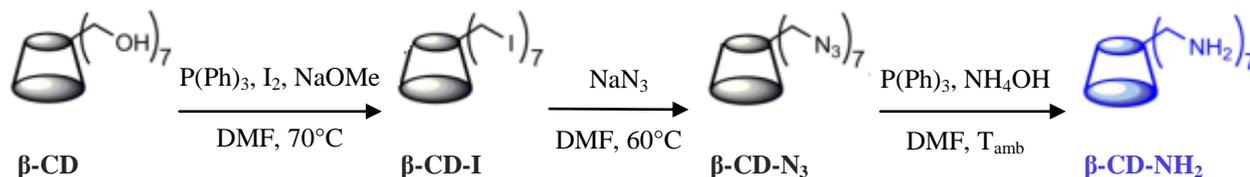


Figure II.4 : Schéma illustrant les 3 étapes suivies pour la synthèse de la β -CD aminée [67].

- La 1^{ère} étape consiste à synthétiser le dérivé Iodé de la β -CD dont le nom est « Per-6-iodo- β -CD » ou bien selon la dénomination conventionnelle « heptakis-(6-désoxy-6-iodo) cyclo-malto-heptaose ».
- La 2^{ème} étape permettra de synthétiser le dérivé Azoture, le « Per-6-azido- β -CD », à partir du « Per-6-iodo- β -CD ».
- La 3^{ème} étape servira à synthétiser le dérivé aminé, le « Per-6-amino- β -CD », à partir du « Per-6-azido- β -CD ».

II.2.1. Préparation du dérivé iodé de la β -CD, le « Per-6-Iodo- β -CD »

Les conditions de réaction utilisées afin de préparer ce composé sont analogues à celles décrites par **Defaye et Gadelle** [33] ; en y ajoutant une méthode de purification plus appropriée par précipitation sélective, suivie d'une extraction Soxhlet, développée par **Ashton et al.** [40] et **Alker et Harding** [68].

Afin de pouvoir optimiser les paramètres de la synthèse et obtenir une méthode efficace qui aboutirait à de bons résultats, nous avons aussi fait varier des paramètres tels que : le temps d'agitation et nous avons aussi testé deux solvants pour la précipitation ainsi que deux méthodes d'ajout des réactifs.

Cependant les modes opératoires qui ont été recommandés par **Gadelle, Ashton et Alker** [33, 40, 68] se sont avérés insatisfaisants, nous avons donc décidé de suivre le même protocole en modifiant les quantités des réactifs de départ et en modifiant la méthode de purification en se basant sur une méthode décrite par **Hui Zhao et al.** [69].

La réaction d'iodation permet une halogénéation sélective des 6 positions de la fonction alcool primaire des β -CD (sans protection des alcools secondaires). Elle permettra ainsi un remplacement sélectif de tous les groupes hydroxyles primaires de la β -CD native, par un des atomes d'iode et donnera le composé « Per-6-Iodo- β -CD » (Figure II.5) :

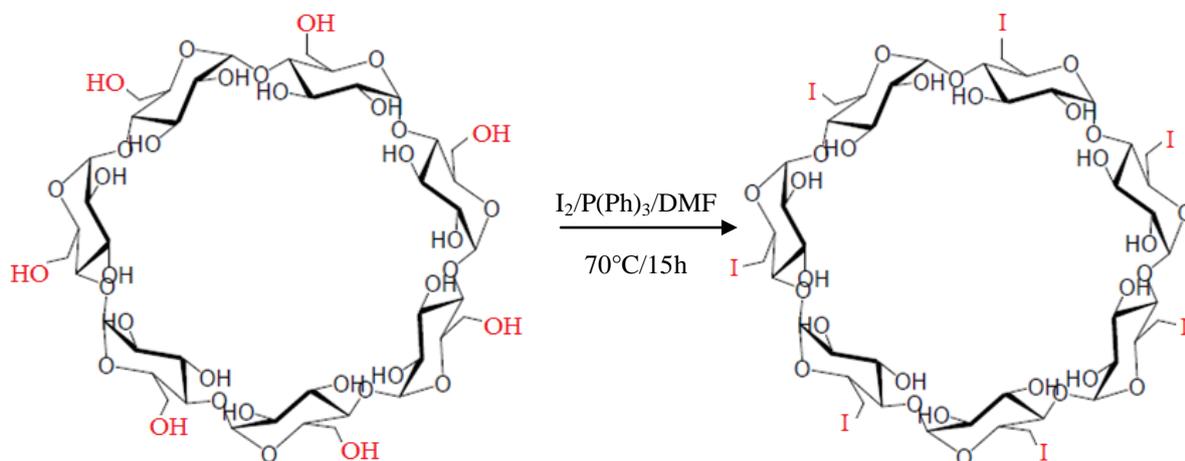


Figure II.5 : Iodation sélective des positions alcools primaires des β -CD.

La réaction d'iodation est réalisée *in situ* par déplacement nucléophile des alcools primaires de la β -CD activés par l'iodure de Vilsmeier, comme le montre la Figure II.6 :

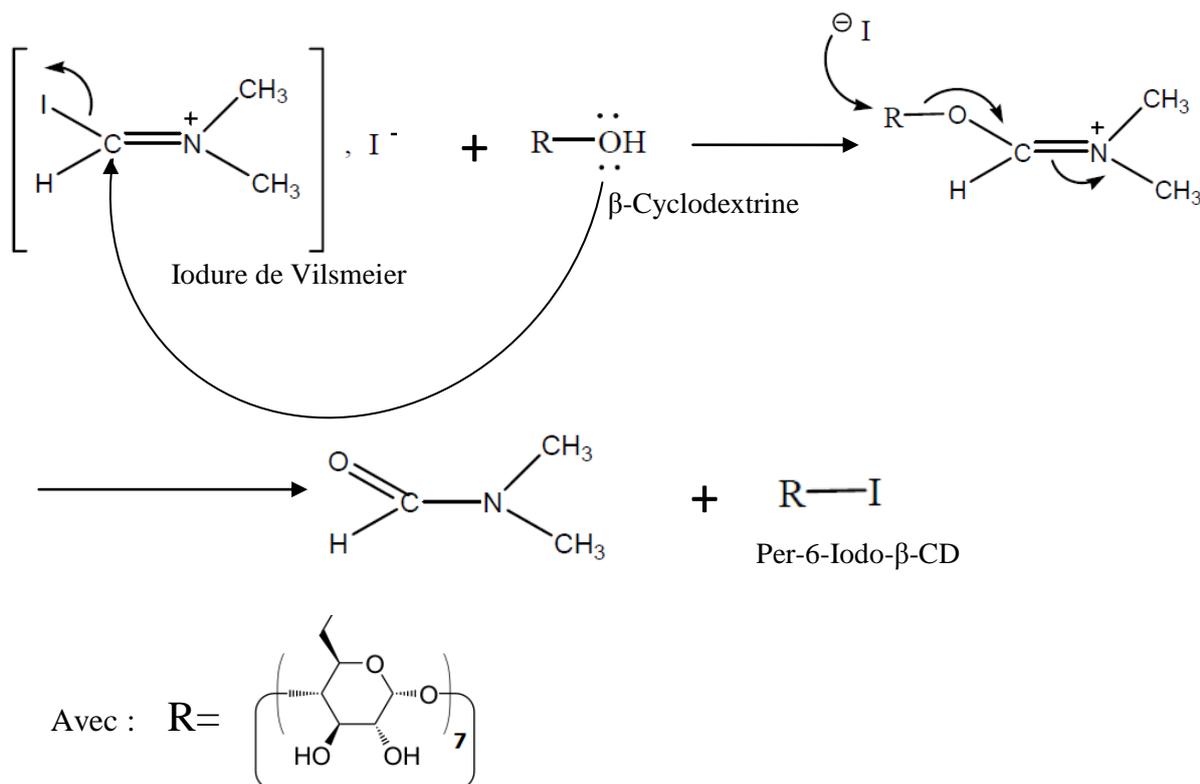


Figure II.6 : Déplacement nucléophile des alcools primaires par l'iodure de Vilsmeier [67].

L'iodure de Vilsmeier (iodure de iodométhylène diméthylammonium) est isolé à partir de la réaction de l'iode et de la $P(Ph)_3$ dans le DMF, selon le mécanisme suivant (Figure II.7) :

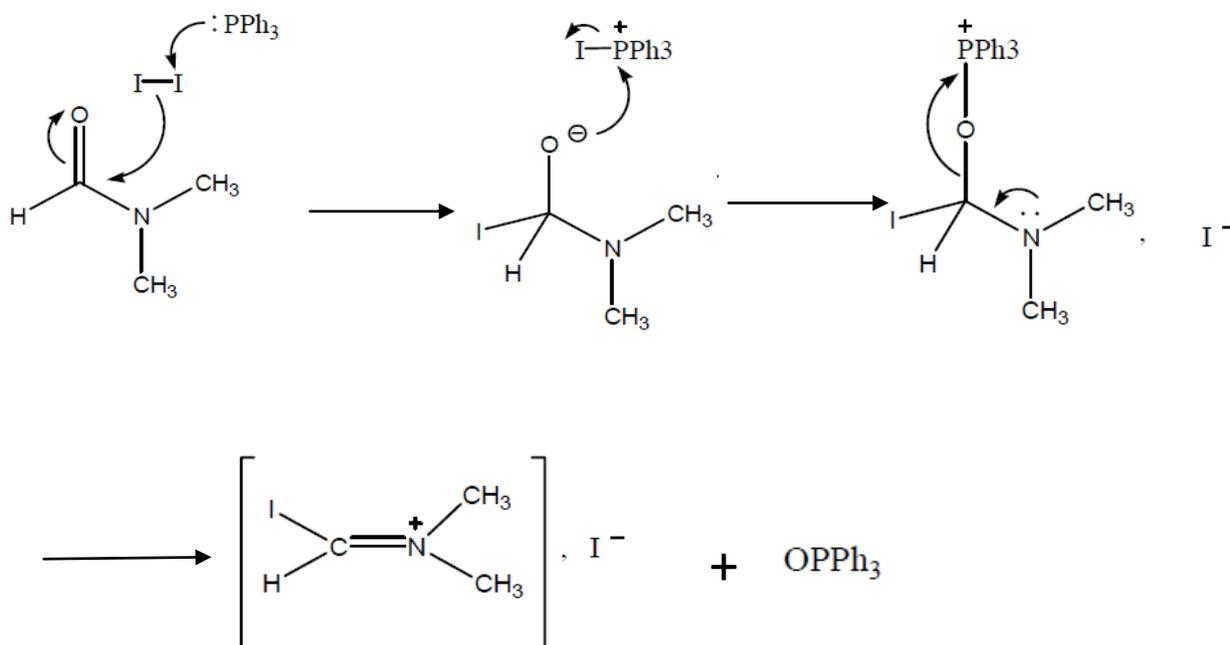


Figure II.7 : Mécanisme de formation de l'iodure de Vilsmeier [67].

- Dans un tricol de 250mL, surmonté d'un réfrigérant et baignant dans un bain Marie, on dissout 17,2844g (65,89mmole) de $P(Ph)_3$ dans 35ml de DMF, sous agitation magnétique. A cette solution, on ajoute 17,4568g (68,88mmole) de I_2 lentement (on fait varier le temps d'ajout t_1), on laisse sous agitation vigoureuse et on augmente la température jusqu'à atteindre approximativement $50^\circ C$. On introduit ensuite 5g (4,4mmole) de la β -CD au mélange obtenu, et on maintient la température à $70^\circ C$ sous atmosphère contrôlée d'azote (N_2) pendant un temps t_2 (20h, 18h, 15h).
- Le mélange réactionnel est refroidi puis traité, sous agitation dans un bain de glace, pendant 30mn à 1h, par 157,5ml d'une solution de méthanolate de sodium (3M).

- On ajoute ensuite 345ml d'eau froide ou de méthanol, on observe un précipité. Après filtration on récupère un produit solide sous forme de poudre, qui est ensuite lavé avec 20 ml de méthanol.
- On sèche le résidu à 60°C pendant 24h, et on le conserve sous vide dans un dessiccateur.
- Après séchage, le résidu est introduit dans la cartouche de l'extracteur sohxlet et on met 500ml de méthanol dans le ballon, Le solvant est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur serpentin, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans la cartouche de papier épais. Le contact entre le solvant et le solide dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, on ouvre le robinet pour évacuer le solvant contenant les impuretés. On effectue plusieurs cycles jusqu'à décoloration du solvant récupéré.
- On récupère le contenu de la cartouche, on le sèche à 60°C pendant 24h, puis on le conserve sous vide dans un dessiccateur.
- La β -CD-I est obtenue sous forme de poudre.

Remarque :

Nous avons effectué quatre essais afin d'optimiser les paramètres de synthèse du « Per-6-Iodo- β -CD », Le tableau II.1 résume les différentes conditions de chaque manipulation.

Tableau II.1 : les conditions expérimentales de l'iodation de la β -CD native.

	Nom du dérivé Iodé				
	β -CD-I (1)	β -CD-I (2)	β -CD-I (3)	β -CD-I (4)	β -CD-I (5)
Méthodes utilisées pour l'ajout de I ₂	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 2	Méthode 2	Méthode 1
t ₁	10mn	30mn	3h	3h	3h
t ₂	20h	18h	15h	15h	15h
t ₃	30mn	1h	1h	1h	1h
Solvant de précipitation	Méthanol	Méthanol	Eau glacée	Eau glacée	Eau glacée
Masse du produit	/	/	21,4844g	21,4844g	21,7633g
Extraction sohxlet	Pas d'extraction	Avec extraction	pas d'extraction	avec extraction	Pas d'extraction

Méthode1 : on ajoute goutte à goutte (grâce à une ampoule à décanter) une solution préalablement préparée avec la masse de I₂ dans un volume précis de DMF.

Méthode2 : on ajoute par petite fraction (grain par grain) la masse de I₂.

t₁: Temps d'agitation pendant lequel on ajoute I₂.

t₂: Temps d'agitation pendant lequel on maintient la réaction sous azote.

t₃ : Temps d'agitation pour le traitement avec la solution de méthanolate de sodium.

Après avoir choisis les meilleurs paramètres de la synthèse en utilisant les protocoles méthodes de **Gadelle, Ashton et Alker [33, 40, 68]**, nous avons donc introduit des modifications concernant les quantités des réactifs de départ et nous avons modifié la méthode de purification en s'inspirant de celle décrite par **Hui Zhao et al. [69]**.

Les calculs effectués pour trouver les quantités nécessaires des réactifs, afin de réaliser une réaction d'iodation correcte, en respectant la stœchiométrie sont donnés dans **l'annexe A**.

- Dans un tricol de 250mL, surmonté d'un réfrigérant et baignant dans un bain Marie, on dissout 8,0877g (30,83mmole) de P(Ph)₃ dans 20ml de DMF, sous agitation magnétique. A cette solution, on ajoute goutte à goutte, pendant 3h, une solution contenant 7,8640g (30,83mmole) de I₂ dans 15ml de DMF, sous agitation vigoureuse et on augmente la température jusqu'à atteindre approximativement 50°C.
- On introduit ensuite 5g (4,4mmole) de la β-CD au mélange obtenu, et on maintient la température à 70°C sous atmosphère contrôlée d'azote (N₂) pendant 15h.
- Avant d'ajouter le méthanolate de sodium, on réduit le volume de la solution obtenue de moitié, grâce au rotavapor (150tr/min, 80°C).
- Le mélange réactionnel obtenu après réduction est refroidi puis traité, sous agitation dans un bain de glace, On ajoute goutte à goutte une solution de Méthanolate de sodium (3M) pour ajuster le pH à 9-10.
- On laisse le mélange réactionnel à température ambiante pendant 30min (pour réduire les formiates).

- Après les 30 min, on verse le mélange dans 200ml de méthanol froid, on ajoute ensuite 500ml d'eau froide, on observe un précipité, après filtration on récupère un produit solide sous forme de poudre, qui est ensuite lavé avec de l'eau et du méthanol.
- On sèche le résidu à 60°C pendant 24h, et on le conserve sous vide dans un dessiccateur.
- La β -CD-I (6) est obtenue sous forme de poudre, sa masse est $m_{\beta\text{-CD-I (6)}} = 7,7624\text{g}$.

II.2.2. Préparation du dérivé azidé de la β -CD, le « per-6-azido- β -CD »

Les conditions de réaction utilisées afin de préparer ce composé sont analogues à celles décrites par Ashton *et al.* [38], avec quelques modifications du point de vue de la purification du produit désiré. Cette réaction permet de remplacer sélectivement tous les atomes d'iode du dérivé iodé de la « Per-6-Iodo- β -CD », par un azoture (N_3) et donnera ainsi la « Per-6-Azido- β -CD » (figure II.8).

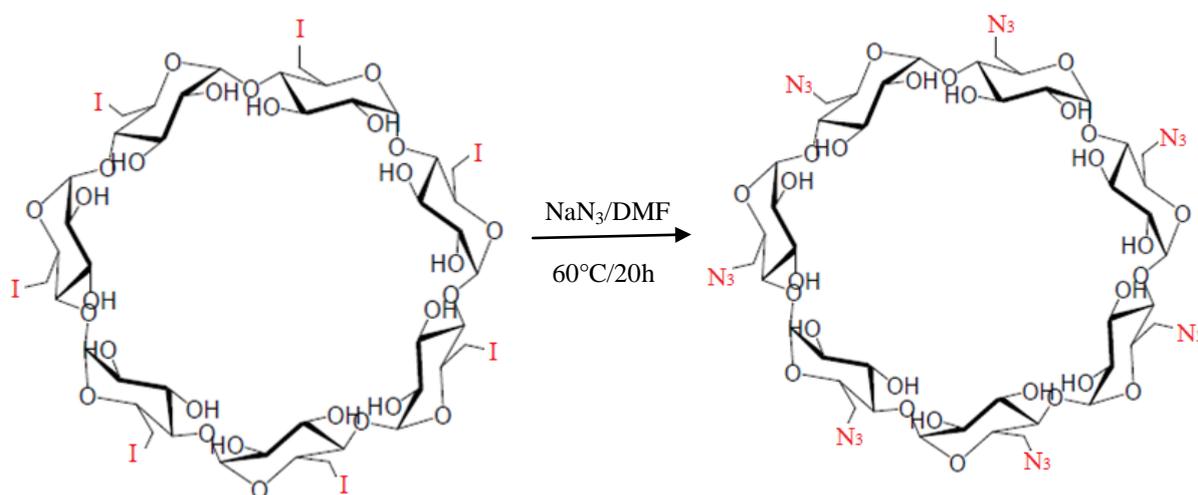


Figure II.8: Azidation sélective de la « Per-6-Iodo- β -CD ».

Le mécanisme de substitution nucléophile est de type $\text{S}_{\text{N}}2$, se fait en une seule étape chimique, par attaque nucléophile de l'azote chargé négativement de l'azoture sur l'halogénure ($\text{R-X}=\text{Per-6-Iodo-}\beta\text{-CD}$), pour aboutir au dérivé azoture Per-6-Azidé- β -CD (Figure II.9) :

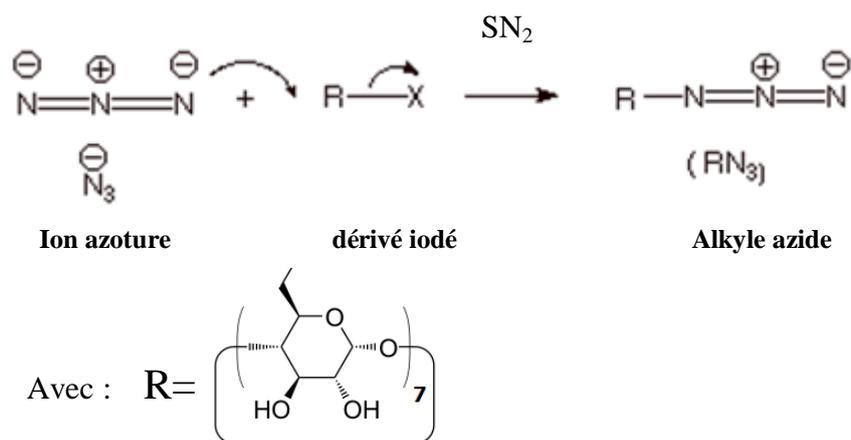


Figure II.9 : Schéma du mécanisme de substitution SN_2 de l'azoture sur le dérivé iodé.

- On dissout 3g (1,75mmole) de la β -CD-I dans 50ml de DMF, puis on ajoute 1g (15,38mmole) de NaN_3 , on maintient le mélange réactionnel à 60°C , sous agitation magnétique et sous azote pendant 20h.
- Le mélange précédent est ensuite distillé sous vide afin de réduire le volume de la solution finale.

Remarque :

Dans le protocole décrit par **Ashton et al.** [40], après réduction du volume, on ajoute un large excès d'eau distillée, suivi d'une filtration sous vide pour séparer et purifier le produit obtenu. Mais cette méthode n'est pas efficace, car nous avons remarqué après filtration une perte presque totale du produit par dissolution. Donc, nous avons opté pour une séparation par centrifugation à la place de la filtration.

- on ajoute donc au volume réduit, un large excès d'eau distillée (500ml) et on le laisse sous agitation, puis on fait une centrifugation pendant 30mn à une vitesse de 6000tr/mn.
- on sèche la phase solide obtenue (le culot) dans une étuve à 60°C pendant 24 heures.
- Le produit « Per-6-Azido- β -CD » est donc obtenu sous forme de poudre.

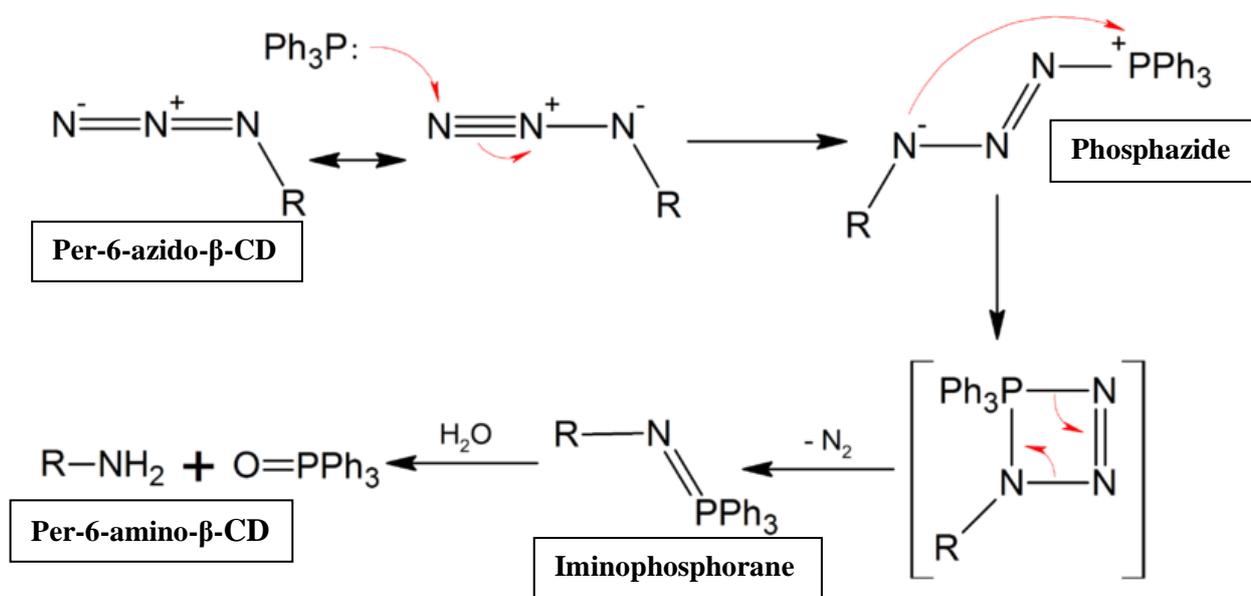
Tableau II.2 : les conditions expérimentales de l'azidation du « Per-6-Iodo-β-CD »

Nom du dérivé azoture	Le dérivé iodé utilisé	Aspect avant séparation	Méthode de séparation	Masse après séchage	Rdt	Aspect après séchage
β-CD-N₃(1)	β-CD-I(3)	précipité blanc	Filtration puis centrifugation	1,1869g	51,65%	Poudre (jaune clair)
β-CD-N₃(2)	β-CD-I(5)	précipité blanc	centrifugation	1,9816g	86,23%	poudre (marron clair)

II.2.3. synthèse du dérivé aminé de la β-CD, le « per-6-amino-β-CD »

Pour la synthèse du dérivé aminé, nous nous sommes basés sur les conditions de la réaction de Staudinger [70] et nous nous sommes inspirés des conditions de réaction décrites par Ashton *et al.* [40] en modifiant la méthode de purification.

La réaction de Staudinger est une réaction chimique dans laquelle un azoture organique, dans notre cas le « Per-6-Azido-β-CD », réagit avec un dérivé de phosphore(III), comme la P(Ph)₃, cette dernière s'additionne sur le groupe azoture et forme ainsi un phosphazène, qui élimine une molécule d'azote pour conduire à l'iminophosphorane. Ce dernier est hydrolysé, ce qui conduit à l'obtention d'une amine primaire, (figure II.10) [70].

**Figure II.10** : Mécanisme de la réaction de Staudinger [70].

Cette réaction permet de remplacer sélectivement tous les azotures de la « Per-6-Azido- β -CD » par des groupements amines (NH_2) et donner enfin la « Per-6-Amino- β -CD » figure II.11 :

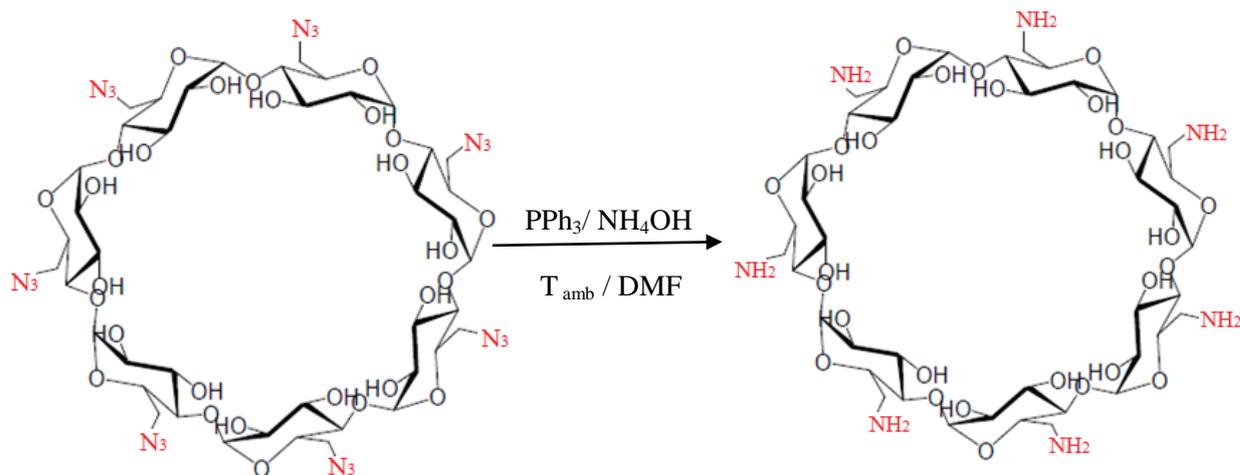


Figure II.11: Amination sélective de la « Per-6-Azido- β -CD ».

La réaction de Staudinger est une méthode très douce pour réduire les azotures en amines. Le principal inconvénient est qu'il est souvent difficile d'éliminer l'oxyde de triphénylphosphine formé lors de la réaction. C'est une des raisons pour lesquelles on utilise généralement l'hydrogénation catalytique pour réduire un azoture lorsque la molécule ne comporte pas d'autres groupements fonctionnels hydrogénolysables [70, 71].

- Dans un ballon bicol de 250ml, on dissout 1,3g (0,99mmole) de « Per-6-Azido- β -CD » dans 25ml de DMF. On ajoute ensuite 3,136g (11,96mmole) $\text{P}(\text{Ph})_3$ et on laisse le mélange sous agitation continue et modérée pendant 1h.
- On ajoute ensuite goutte à goutte au mélange réactionnel 5,5ml d'ammoniaque (25%) ; Après l'ajout de toute la quantité d'ammoniaque, on laisse le mélange à température ambiante et sous agitation pendant 18h.
- Pour purifier le produit obtenu, nous utilisons deux méthodes : la première décrite par **Ashton et al.** [40] qui consiste à précipiter le produit obtenu avec 18,66ml d'éthanol et la seconde consiste à faire une centrifugation pendant 1h à 6000tr/mn, puis on lave le produit précipité avec un peu d'éthanol.

- Le produit « Per-6-Amino-β-CD » est séché sous vide à 60°C pendant 24h, on obtient une poudre blanche.

Tableau II.3 : les conditions expérimentales de l'amination du « Per-6-Amino-β-CD »

Nom du dérivé aminé	Le dérivé azoture utilisé	Aspect du mélange après ajout de P(Ph) ₃	Méthode de séparation	Masse du produit aminé
β-CD-NH₂(1)	β-CD-N ₃ (1)	Pendant l'ajout de P(Ph) ₃ on a un dégagement de N ₂	Précipitation avec de l'éthanol	0,3125g
β-CD-NH₂(2)	β-CD-N ₃ (1)	Pendant l'ajout de P(Ph) ₃ on a un dégagement de N ₂	centrifugation	2,6777g
β-CD-NH₂(3)	β-CD-N ₃ (2)	Pendant l'ajout de P(Ph) ₃ on a un dégagement de N ₂	centrifugation	2,8276g

II.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Afin de savoir si nous avons amélioré la méthode de fonctionnalisation et optimisé les paramètres, nous devons déterminer les structures des produits obtenus et confirmer la présence des produits attendus en fin de réaction. Pour cela on effectuera des analyses par spectroscopie IRTF, par diffraction des rayons X et par résonance magnétique nucléaire RMN¹H de tous les produits obtenus mais aussi des réactifs intervenants dans la synthèse.

II.3.1. Caractérisation de la β-CD native et de certains réactifs intervenants dans la synthèse

II. 3.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge a été réalisée dans le but de caractériser la β-CD et ses dérivés, grâce à l'intensité et à la fréquence de vibration des liaisons qui unissent les différents atomes.

Les spectres (IR) ont été enregistrés avec un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) de marque SHIMADZU et de modèle Affinity.

Les échantillons de poudres ont été préparés dans des pastilles de KBr, obtenues en dispersant 1 mg des dérivés de la β-CD dans 80 mg de KBr anhydre. Le spectre IR-TF de

chaque échantillon est enregistré à la température ambiante dans la plage de fréquence 400-4000 cm^{-1} .

❖ Spectre IR de la β -CD native

Le spectre IR de la β -CD native ainsi que sa structure chimique sont représentés sur la figure II.12.

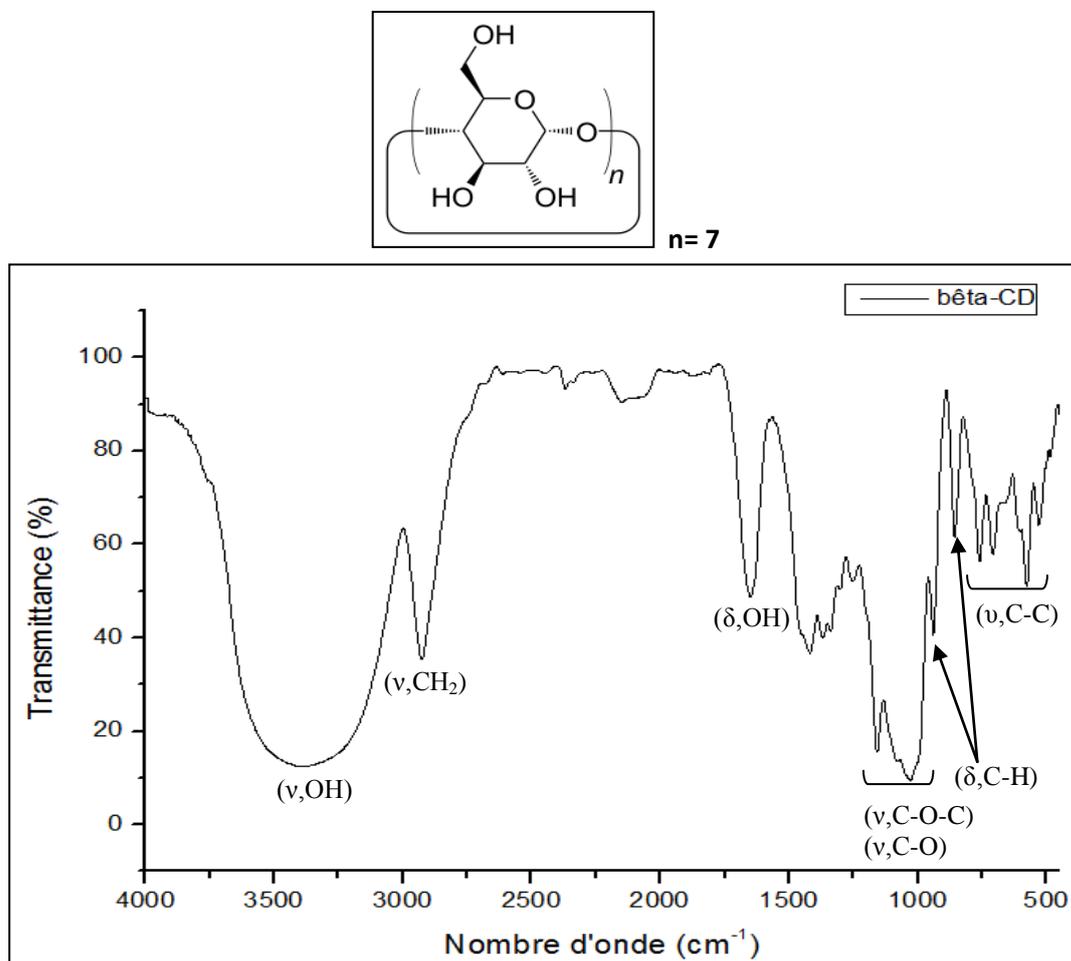


Figure II. 12 : Spectre IR de la β -CD native dans le KBr

- D'après le spectre IR-TF obtenu, on observe que la β -CD présente une bande large et intense à 3383cm^{-1} et une bande à 2926 cm^{-1} . Ces bandes sont attribuées, respectivement aux élongations des liaisons O-H et C-H de CH_2 d'un alcool primaire [72].
- Une bande intense est observée à 1649 cm^{-1} , correspondant à la déformation dans le plan de O-H de l'eau de cristallisation de la β -CD [73].

- Les bandes successives à 1157 cm^{-1} et à 1080 cm^{-1} sont attribuées, selon **Goodfellow et al. [74]** aux élongations symétriques et asymétriques des liaisons C-O-C $\alpha(1,4)$ glucosides en résonance avec la liaison éther C-O-C cyclique de l'unité glucose, et de C-O-H.
- L'absorbance à 1028 cm^{-1} est attribuée, selon **Van Soest et al. [75]**, à la vibration de l'élongation de la liaison C-O du groupement C-O-H.
- Les bandes à 939 cm^{-1} et à 856 cm^{-1} sont toutes les deux attribuées, selon **Irudayaraj et al. [76]**, à la déformation de la liaison C-H du carbone secondaire du cycle.
- Entre 800 et 500 cm^{-1} , on retrouve plusieurs bandes de faibles intensités attribuées aux vibrations des liaisons C-C du squelette du cycle glucoside [77].

Les principales bandes caractéristiques de la β -CD ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes, sont donnés sur le tableau II.4 :

Tableau II.4 : Attribution des principales bandes observées sur le spectre IR pour la β -CD

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution	Vibration
3383	O-H	Elongation
2926	CH ₂ d'un alcool primaire	Elongation
1649	O-H de l'eau	Déformation
1157	C-O-C $\alpha(1,4)$ liaison glucose	Elongation
1080	C-O-C unité glucose	Elongation
1028	C-O-H	Elongation (C-O)
939 et 856	C-H secondaire du cycle	Déformation
800- 500	C-C du squelette du cycle glucoside	Vibrations

En comparant le spectre IRFT de la β -CD obtenu à celui de la littérature (figure II.13 [78]), on peut remarquer que nous avons les mêmes bandes caractéristiques que celles de la littérature, donc notre produit correspond bien à la β -CD.

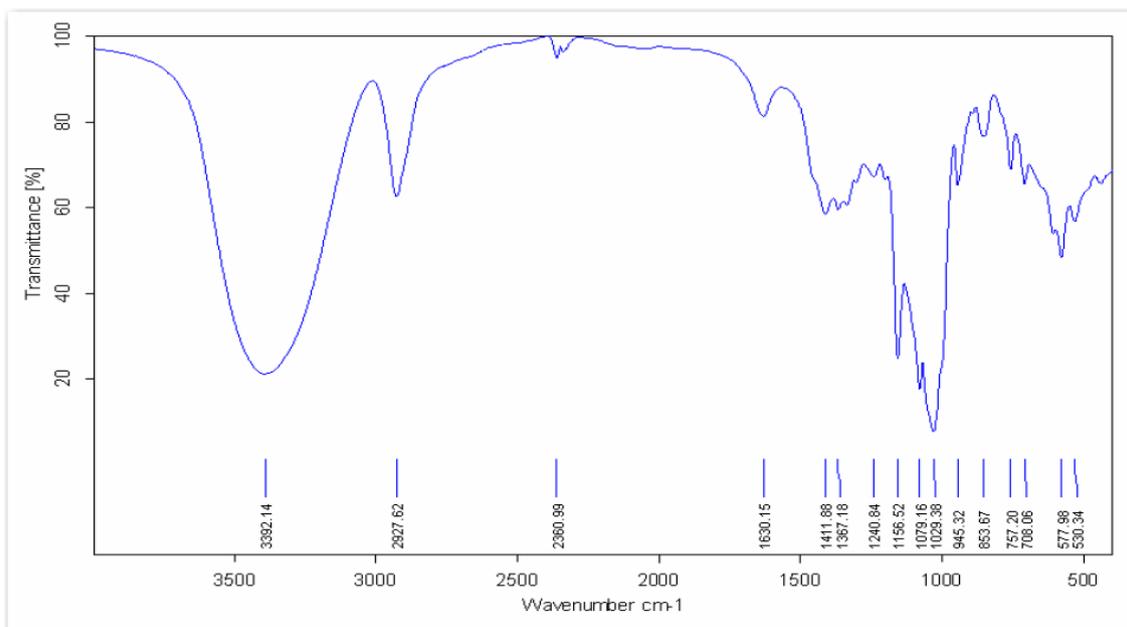


Figure II. 13 : Spectre IR de référence de la β -CD native dans le KBr [78].

❖ Spectre IR de la Triphénylphosphine $P(Ph)_3$

Le spectre IR de la $P(Ph)_3$ est représenté sur la figure II.14 :

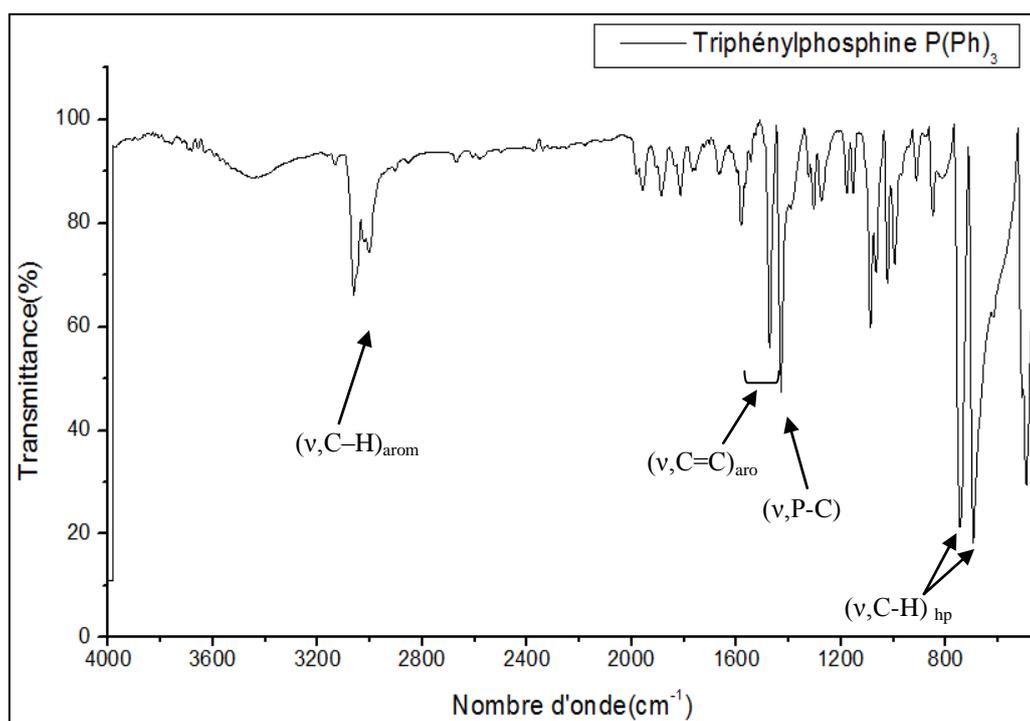


Figure II. 14 : Spectre IR de la Triphénylphosphine $P(Ph)_3$ dans le KBr.

- Une bande intense et fine à 1429cm^{-1} est attribuée à l'élongation de la liaison P-C du P(Ph)_3 [72].
- La bande d'absorption à 3059 cm^{-1} est attribuée à l'élongation de la liaison C–H (aromatique) des doubles liaisons conjuguées du cycle benzénique [79].
- Les 3 bandes entre 1620 cm^{-1} et 1450 cm^{-1} d'intensités variables sont dues à l'élongation des liaisons C=C (aromatique) conjuguées des 3 cycles aromatiques [79].
- Deux bandes à 748 et à 692cm^{-1} sont attribuées respectivement aux déformations angulaires hors du plan des liaisons C—H du cycle benzénique monosubstitué [72].

Les principales bandes caractéristiques de la Triphénylphosphine P(Ph)_3 ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes, sont regroupés sur le tableau IV.2

Tableau II.5 : Attribution des principales bandes observées sur le spectre IR de la Triphénylphosphine P(Ph)_3

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution	Vibration
1429	P-C du P(Ph)_3	Elongation
3059	C–H (aromatique) du benzène	Elongation
1 600-1 450	C=C (aromatique) du benzène	Elongation
748, 692	C-H (du cycle benzénique monosubstitué)	Déformations hors du plan

En comparant le spectre IR-FT de la Triphénylphosphine P(Ph)_3 obtenu à celui de la littérature (figure II.15 [80]et[80a,80b] cité dans [80]), on peut remarquer que nous avons les mêmes bandes caractéristiques que celles citées en référence, donc notre produit correspond bien à la Triphénylphosphine P(Ph)_3 .

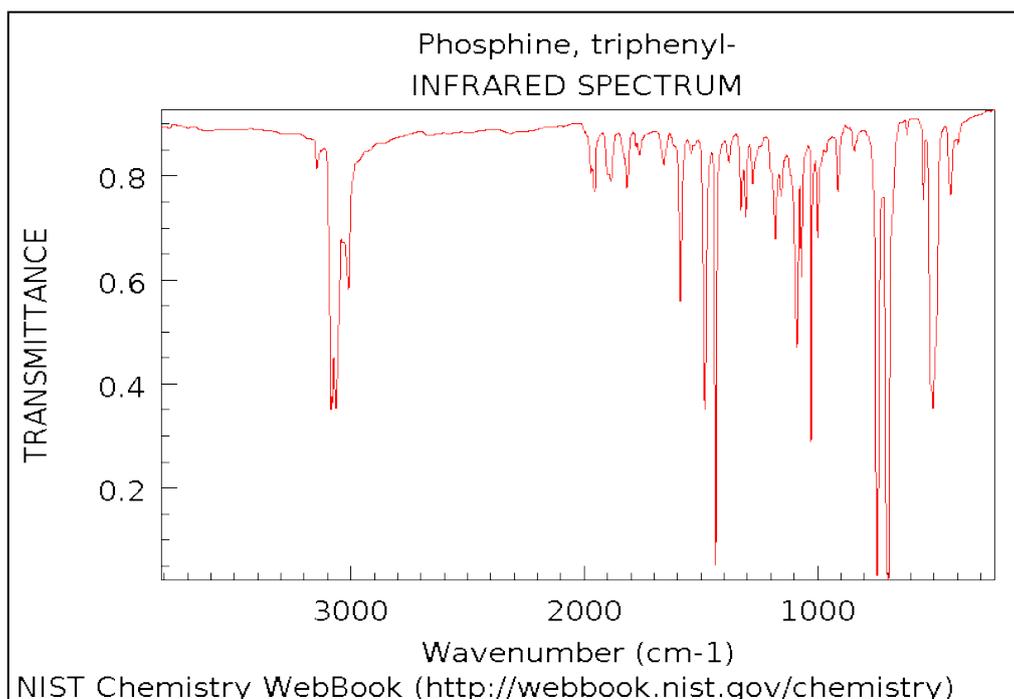


Figure II.15 : Spectre IR de référence de la Triphénylphosphine $P(Ph)_3$ [80, 80a,80b].

❖ **Spectre IR de l'oxyde de triphénylphosphine $P(Ph)_3=O$**

Le spectre IR de $P(Ph)_3=O$ retrouvé dans la littérature ainsi que sa structure chimique sont représentés dans la figure II.16 :

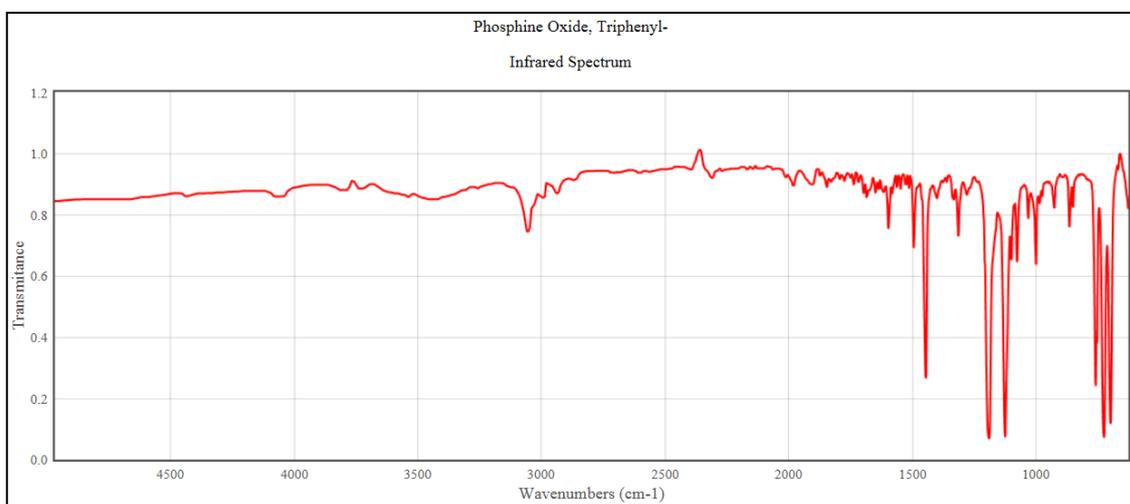
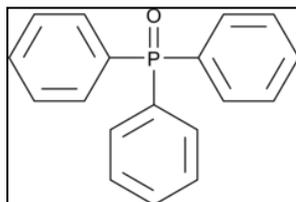


Figure II.16: Spectre IR de référence de l'oxyde de triphénylphosphine $P(Ph)_3=O$ [81].

A part les principales bandes caractéristiques des cycles benzéniques monosubstitués, on retrouve aussi une bande vers 1190 cm^{-1} (entre 1200 et 1250cm^{-1}) qui correspond à l'élongation de la liaison P=O.

II. 3.1.2. Caractérisation par Diffraction des rayons X (DRX) :

La diffraction des rayons X est une technique qui permet de déterminer la structure cristallographique de la β -CD et de ses dérivées.

L'analyse par diffraction de rayon X de la β -CD et de ses dérivés a été réalisée en utilisant un appareil de type PANALytical, le traitement des données a été fait avec le programme X Pert HighScore .

La raie $K\alpha$ du cuivre ($K_{\alpha 1}=1.540598\text{ \AA}$) a été utilisée comme source monochromatique d'excitation par les rayons X des échantillons analysés. Les spectres DRX des échantillons ont été enregistrés entre 0° et 80° avec un pas de $0,01^\circ/s$, sous un potentiel de 40 kV et une intensité du courant de 30 mA .

❖ Analyse DRX de la β -CD native

Le système cristallin du réseau de la β -CD a été identifié comme étant de type monoclinique appartenant au groupe spatial $P2_1$. Ce qui signifie que la maille de ce réseau présente un axe de symétrie hélicoïdal d'ordre 2 parallèle à la direction \vec{b} avec une translation de 1 parallèlement à celle-ci (Figure II.17-a).

L'indexation des raies du diffractogramme X (Figure II.17-b) permettent de retrouver les paramètres de maille de la β -CD, linéaires a , b et c , et angulaires tels que l'angle β estimé à $112,4^\circ$, tandis que les autres angles α et γ sont égaux à 90° .

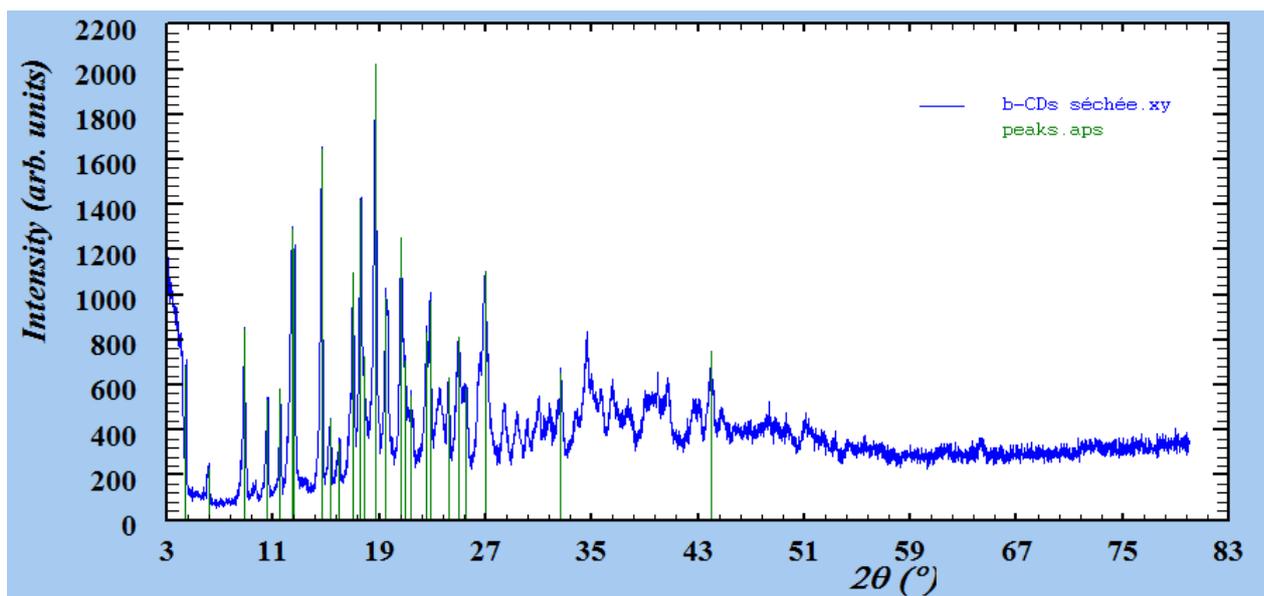


Figure II.17 : Analyse par DRX de la β -CD, a) diffractogramme X ; b) après indexation

Les valeurs des paramètres cristallographiques de la maille sont regroupées dans le tableau II.6 [82].

Tableau II.6 : Paramètres de maille, réseau et groupe spatial de la β -CD native [82].

Paramètres	Valeurs
Formule chimique	• $C_{42}H_{70}O_{35} \cdot 10 H_2O$
Mm	1322.53g/mole
Réseau, groupe spatial	• Monoclinique, $P2_1$
maille	<ul style="list-style-type: none"> • $a = 20.8353 \text{ \AA}$ • $b = 9.9397 \text{ \AA}$ • $c = 15.2043 \text{ \AA}$ • $\beta = 110.630^\circ, \alpha = \gamma = 90^\circ$
Volume	2946.84 \AA^3
Z	2

II. 3.1.3. Caractérisation par Résonance Magnétique Nucléaire :

La résonance magnétique nucléaire en milieu liquide est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules biochimiques. C'est une technique qui permet d'identifier une molécule d'après le déplacement chimique de ses protons et ainsi nous l'utiliserons pour déterminer la structure de la β -CD et de ses dérivés.

Les spectres RMN ont été enregistrés avec un appareil Bruker à 400.13 MHz pour la RMN du proton (RMN ^1H), le tetraméthylsilane (TMS) est utilisé comme référence interne. Les déplacements chimiques pour les spectres dans DMSO- d_6 sont donnés en ppm par rapport au TMS.

❖ Spectre RMN du proton de la β -CD native

Les spectres RMN du proton (NMR ^1H) obtenus pour la β -CD native dans le DMSO- d_6 ainsi que sa structure chimique sont représentés dans les Figures II.18-a et -b :

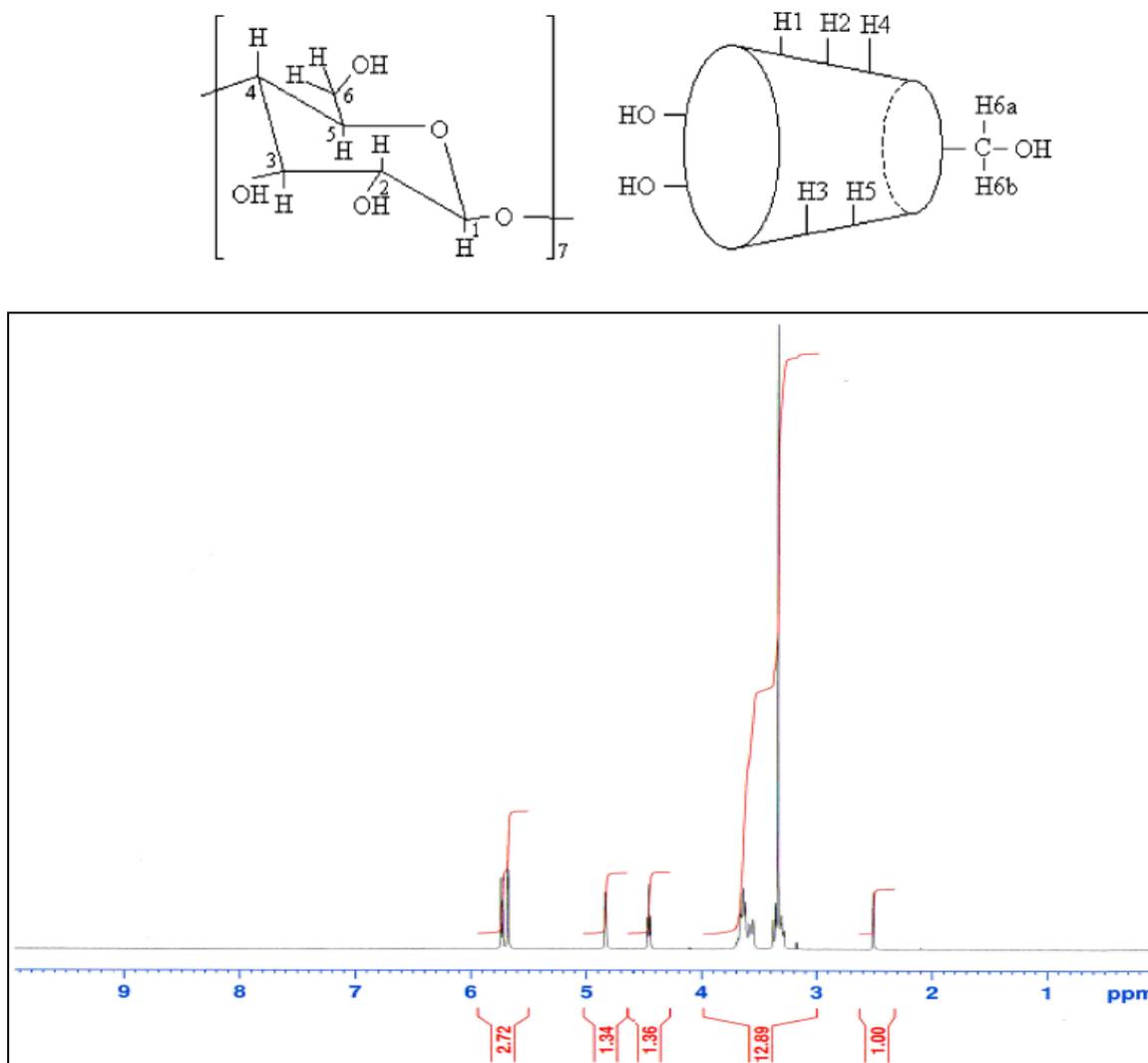


Figure II.18-a: Spectre RMN ^1H de la β -CD native dans le DMSO- d_6

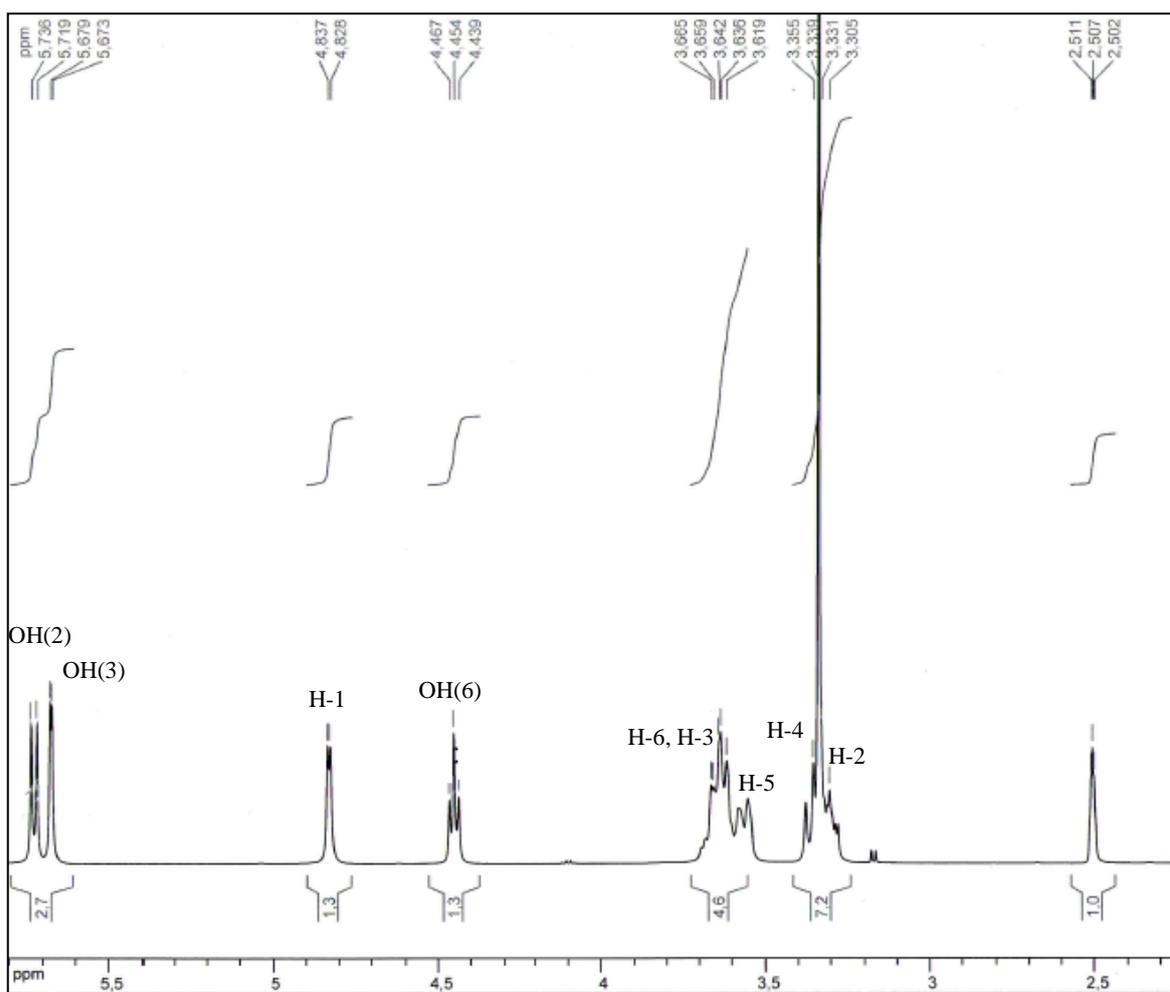


Figure II.18-b : Spectre RMN¹ H de la β -CD native de 2 à 6 ppm dans le DMSO-d₆

Les valeurs des déplacements chimiques de la β -CD sont données dans le tableau II.7.

Tableau II.7: Caractéristiques RMN¹H de la β -CD native dans le DMSO-d₆

δ (ppm)	5,728	5,676	4,833	4,454	3,650	3,566	3,335	3,293
Attribution	OH(2)	OH(3)	H-1	OH(6)	H-3, H-6	H-5	H-4	H-2
Type de signal	Doublet	Doublet	Doublet	Doublet dédoublé	Doublet de triplet	Doublet dédoublé	Doublet dédoublé	Doublet dédoublé
Intensité du signal	7H	7H	7H	7H	7H, 14H	7H	7H	7H

En comparant les déplacements chimiques trouvés à partir de notre spectre RMN¹H de la β -CD à ceux rapportés dans la littérature [83] (tableau II.8), on peut remarquer que nous avons pratiquement les mêmes déplacements chimiques que ceux donnés par **Clarissa al.** [83], donc notre produit correspond bien à la β -CD.

Tableau II.8: Comparaison entre les déplacements chimiques de la β -CD trouvés et ceux rapportés dans la littérature par **Clarissa *al.*** [83]

Attribution	OH(2)	OH(3)	H-1	OH(6)	H-3, H-6	H-5	H-4	H-2
δ (ppm)	5,728	5,676	4,833	4,454	3,650	3,566	3,335	3,293
δ (ppm)[83]	5,70	5,66	4,83	4,44	3,61-3,67	3,55-3,61	3,32-3,38	3,28-3,30

II.3.2. Caractérisation du dérivé iode de la β -CD, le « Per-6-Iodo- β -CD »

II.3.2.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)

Les dérivés de la β -CD obtenus dans notre étude possèdent dans leurs structures certains groupements caractéristiques, qui peuvent être mis en évidence aisément par spectroscopie IR.

❖ Etude structurale par spectroscopie IR des β -CD-I(1), (3) et (5) (sans extraction)

Sur le spectre IR présenté dans la figure II.19, on observe une série de bandes d'absorption IR qui permettent de caractériser le dérivé « Per-6-Iodo- β -CD ».

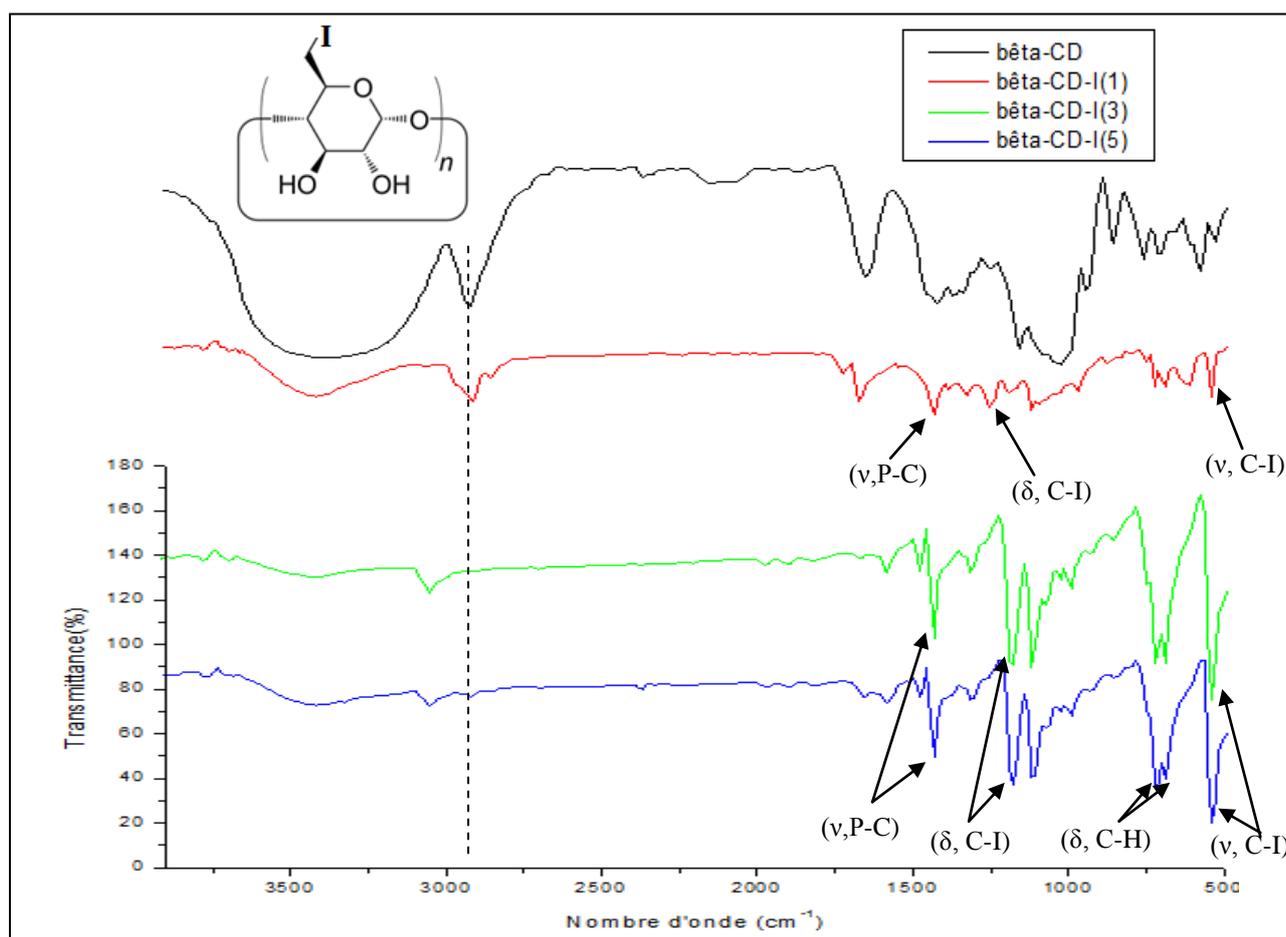


Figure II.19 : Spectres IR des β -CD-Iodé (sans extraction) et de la β -CD native

- En comparant le spectre IR-TF de la β -CD native aux spectres de β -CD-I (3) et (5), on remarque que la bande de CH_2 de l'alcool primaire (située vers 2926 cm^{-1}), s'est un peu décalée vers des nombres d'ondes plus élevés, cela peut supposer que les OH, portés par le groupement CH_2 de la β -CD, ont été substitués par des groupements plus électronégatifs dans notre cas, ils ont été substitués par l'iode.
- On remarque aussi une diminution de l'intensité de la bande caractéristique des fonctions hydroxyles, pour les trois dérivés β -CD-Iodée (sans extraction). Cela laisse supposer que les OH primaires en position C-6 du cycle glucoside ont été substitués.
- Sur les spectres des dérivées β -CD-I (3) et β -CD-I (5), on a l'apparition d'une bande intense située autour de 540cm^{-1} correspondant à l'élongation de la liaison C-I de $\text{CH}_2\text{-I}$ [71]. Cette bande est moins intense dans le spectre de la β -CD-I (1) et elle est quasiment inexistante dans la β -CD native.
- Il apparait aussi dans les trois spectres, des bandes de déformation symétrique et antisymétrique entre 1300cm^{-1} (balancement) et 1150cm^{-1} (torsion) de CH_2 , attribuées aux groupements CH_2I . La première est située plus précisément à 1255cm^{-1} pour la β -CD-I (1), la seconde apparait à environ 1182 cm^{-1} pour la β -CD-I (3) et à 1180 cm^{-1} pour la β -CD-I (5) [64].
- Enfin, on remarque que pour les trois spectres on a :
 - Une bande intense et fine vers 1435cm^{-1} attribuée à l'élongation de la liaison P-C du P(Ph)_3 (catalyseur) résiduel subsistant après réaction et purification .
 - Deux bandes vers 720 et 690cm^{-1} , qui sont attribuées respectivement aux déformations hors du plan des liaisons C-H (du cycle benzénique monosubstitué) de P(Ph)_3 .

Les principales bandes caractéristiques des dérivés β -CD-I (1), (3) et (5), ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes, sont donnés sur le tableau II.9 :

Tableau II.9: Attribution des principales bandes observées sur les spectres IR des dérivés β -CD-I (1), (3) et (5)

P(Ph) ₃	Nombre d'onde (cm ⁻¹)			Attribution	vibration
	β -CD-I (1)	β -CD-I (3)	β -CD-I (5)		
/	542	540	540	CH ₂ -I	Elongation
/	1255	1182	1180	CH ₂ pour les groupements CH ₂ I	Déformations
1429	1436	1433	1433	P-C de P(Ph) ₃	Elongation
748	723	721	740	C-H(du cycle benzénique monosubstitué)	Déformations hors du plan

En conclusion, nous pouvons dire que les trois produits β -CD-I (1) (3) (5), sont de même structure qui correspond bien au dérivé iodé de la β -CD, mais avec la présence d'impuretés identifiées comme étant des résidus de P(Ph)₃ (catalyseur).

Cependant, pour le reste de notre travail, nous opterons pour les conditions utilisées pour la préparation de β -CD-I (3) (5), et non pas celles de la β -CD-I (1). Car, pour cette dernière, la bande de CH₂ de l'alcool primaire (située vers 2926 cm⁻¹), ne s'est pas décalée vers des nombres d'ondes plus élevés et la bande située à 540cm⁻¹ de l'élongation de la liaison CH₂-I est plus faible. Ce qui met en évidence, une substitution moins importante pour la β -CD-I (1), sur le Carbone C-6 primaire de l'unité glucoside.

On peut expliquer ces résultats, par l'augmentation du temps d'agitation t_1 pendant lequel on ajoute l'iode I₂. Pour la β -CD-I (1) le temps $t_1=10$ mn, par contre pour la β -CD-I (3) et (5) le temps d'agitation est nettement plus élevé, estimé à $t_1=3$ h. Ce qui signifie que l'augmentation de ce temps améliore la formation de l'iodure de Vilsmeier (iodure de iodométhylène diméthylammonium).

Et du fait que la réaction d'iodation de la β -CD est réalisée *in situ*, par déplacement nucléophile des alcools primaires activés par l'iodure de Vilsmeier, il s'ensuit que si nous améliorons la formation de l'iodure de Vilsmeier, nous favoriserons aussi le déplacement nucléophile des alcools primaires, et par conséquent la réaction d'iodation de la β -CD sera favorisée.

❖ Comparaison des spectres IR de β -CD-I (5) et du précipité obtenu après centrifugation du filtrat de β -CD-I (5)

Comme nous l'avons décrit précédemment, nous avons fait précipiter les produits du mélange réactionnel avec de l'eau glacée, puis nous avons filtré le précipité et lavé avec 20ml (2 fois) de méthanol, pour aboutir à la β -CD-I (5). Un dépôt se forme dans le filtrat, celui-ci a été isolé par centrifugation (1h, 6000tr/mn) et analysé par IR, après séchage à 105°C pendant 24heures. Les résultats de l'analyse IR-TF réalisés sur le dépôt solide du filtrat, sont comparés à ceux de la β -CD-I (5) et représentés par les spectres de la figure II.20 :

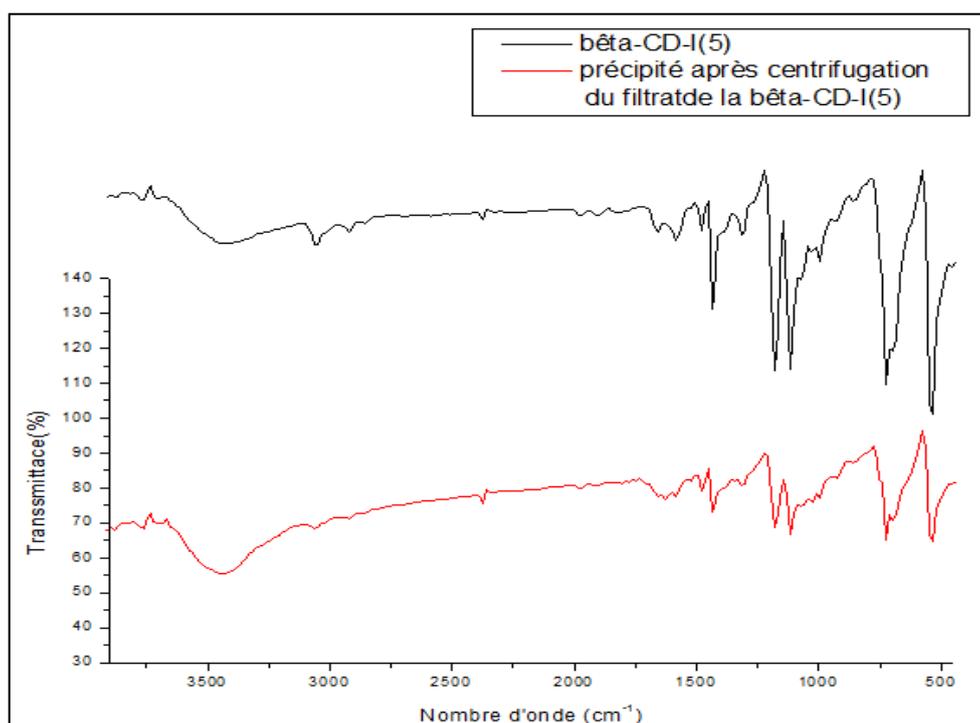


Figure II.20 : Spectres IR de la β -CD-I (5) et du précipité après centrifugation du filtrat de la β -CD-I (5)

- Grâce à la superposition des spectres de la β -CD-I (5) et du précipité obtenu après centrifugation du filtrat de la β -CD-I (5), nous remarquons que nous avons pratiquement les mêmes bandes caractéristiques. Donc, ces résultats confirment qu'il s'agit d'un même composé, une partie du produit de la β -CD-I (5) est dissoute dans le filtrat (à travers le filtre de porosité 20-25 μm), il est donc important d'utiliser un filtre dont la porosité et moins élevée pour éviter les pertes du produit et augmenter les rendements de la synthèse.

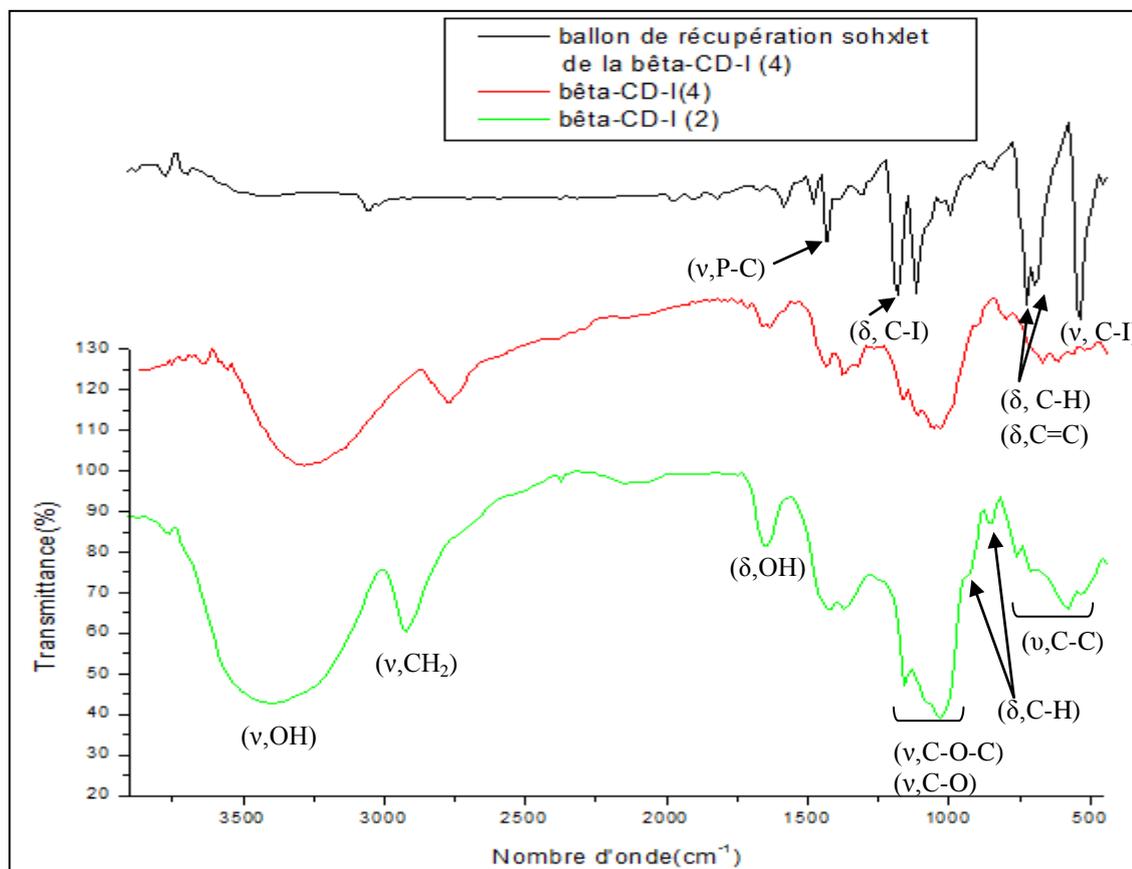
❖ Etude des spectres IR des β -CD-I(4) et (2) (séparés avec extraction sohxlet)

Figure II.21 : Spectres IR des β -CD-I (4) et (2) avec extraction

Nous remarquons que les spectres de la β -CD-I (4) et la β -CD-I (2) sont identiques, de plus nous retrouvons la plupart des bandes caractéristiques du squelette de la β -CD native.

On remarque aussi que pour ces deux spectres on ne retrouve pas la bande intense à 500cm^{-1} , correspondant à l'élongation de la liaison $\text{CH}_2\text{-I}$.

On conclut, que les deux composés β -CD-I (4) et β -CD-I (2) obtenus après extraction sohxlet, ne sont pas des dérivés iodés de la β -CD, mais ceux sont plutôt les résidus de la β -CD native qui subsistent après la synthèse.

Nous avons analysé la solution contenue dans le ballon de récupération du solvant de l'extracteur sohxlet, issue de la préparation de la β -CD-I (2), après avoir réduit le volume

avec un rotavapeur, de marque LABOROTA 4002, ($T=80^{\circ}$, $Vide=850\text{mmHg}$, $vitesse=125\text{tr/min}$). Ensuite, nous avons séché le volume réduit à l'étuve (60°C) pendant 24h.

Le produit obtenu, est analysé par IR-TF et les résultats obtenus sont donnés dans la figure II.21.

On remarque que le spectre du produit contenu dans le ballon de récupération sohxlet de la $\beta\text{-CD-I (2)}$ est pratiquement identique à celui de la $\beta\text{-CD-I (3) et (5)}$ sans extraction :

- On a l'apparition d'une bande intense située à 542 cm^{-1} correspondant à l'élongation de la liaison C-I.
- Une bande à 1180 cm^{-1} (entre 1300 et 1150cm^{-1}) de balancement CH_2 des groupements CH_2I .
- Une bande intense et fine vers 1435cm^{-1} qui est attribuée à l'élongation de la liaison P-C du P(Ph)_3 (catalyseur) subsistant à la fin de la réaction.
- Deux bandes vers 721 et 692cm^{-1} qui sont attribuées respectivement aux déformations hors du plan des liaisons C-H (du cycle benzénique monosubstitué) du P(Ph)_3 (catalyseur).

Donc le produit contenu dans le ballon de récupération de l'extracteur sohxlet correspond bien à la $\beta\text{-CD-I (5)}$, on peut donc dire que la méthode d'extraction sohxlet n'est pas adéquate pour séparer les impuretés (catalyseur) du produit désiré.

❖ Caractérisation du dérivé iode Synthétisé

Après avoir choisis les meilleurs paramètres de la synthèse et introduit des modifications concernant les quantités des réactifs de départ et modifié la méthode de purification nous avons obtenu un dérivé iodé « $\beta\text{-CD-I(6)}$ » son spectre ainsi que celui de la $\beta\text{-CD}$ native sont représentés dans la figure II.22.

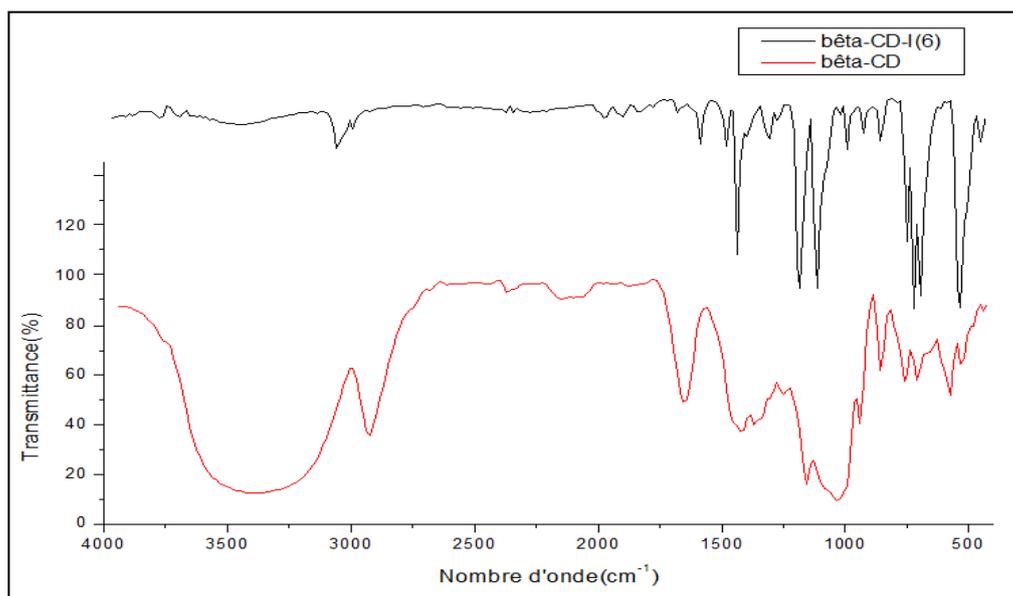


Figure II.22 : Spectres IR des β -CD-I(6) et de la β -CD native dans le KBr

- En comparant le spectre IR-TF de la β -CD native aux spectres de **β -CD-I (6)**, on remarque que la bande de CH_2 de l'alcool primaire (située vers 2926 cm^{-1}), s'est un peu décalée vers des nombres d'ondes plus élevés, cela peut supposer que les OH, portés par le groupement CH_2 de la β -CD, ont été substitués par des groupements plus électro-négatifs dans notre cas, ils ont été substitués par l'iode.
- On remarque aussi une diminution de l'intensité de la bande caractéristique des fonctions hydroxyles, pour le dérivé β -CD-Iodée. Cela laisse supposer que les OH primaires en position C-6 du cycle glucoside ont été substitués.
- Sur les spectres des dérivées **β -CD-I (6)**, on a l'apparition d'une bande intense située autour de 540 cm^{-1} correspondant à l'élongation de la liaison C-I de $\text{CH}_2\text{-I}$ [79]. Cette bande est quasiment inexistante dans la β -CD native.
- Il apparaît aussi des bandes de déformation symétrique et antisymétrique entre 1300 cm^{-1} (balancement) et 1150 cm^{-1} (torsion) de CH_2 , attribuées aux groupements CH_2I . [72].
- Enfin, on remarque une bande intense et fine vers 1435 cm^{-1} attribuée à l'élongation de la liaison P-C du P(Ph)_3 (catalyseur) mais qui est moins intense que celle obtenue avec les premiers dérivés iodés.

II.3.2.2. Caractérisation par spectrophotométrie d'absorption UV-Visible

Pour mettre en évidence la fonctionnalisation de la β -CD nous avons préparé deux solutions de même concentration ($8,8176 \cdot 10^{-3}$ mM) de β -CD et de β -CD-I, dans une solution tampon à pH=6,8.

Les solutions sont mises sous agitation, puis filtrées avec des filtres seringue de $0,2\mu\text{m}$, leurs spectres UV-visible ont été enregistrés entre 190nm et 600nm.

Les spectres UV-visible de la β -CD et de la β -CD-I sont représentés dans la figure II.23.

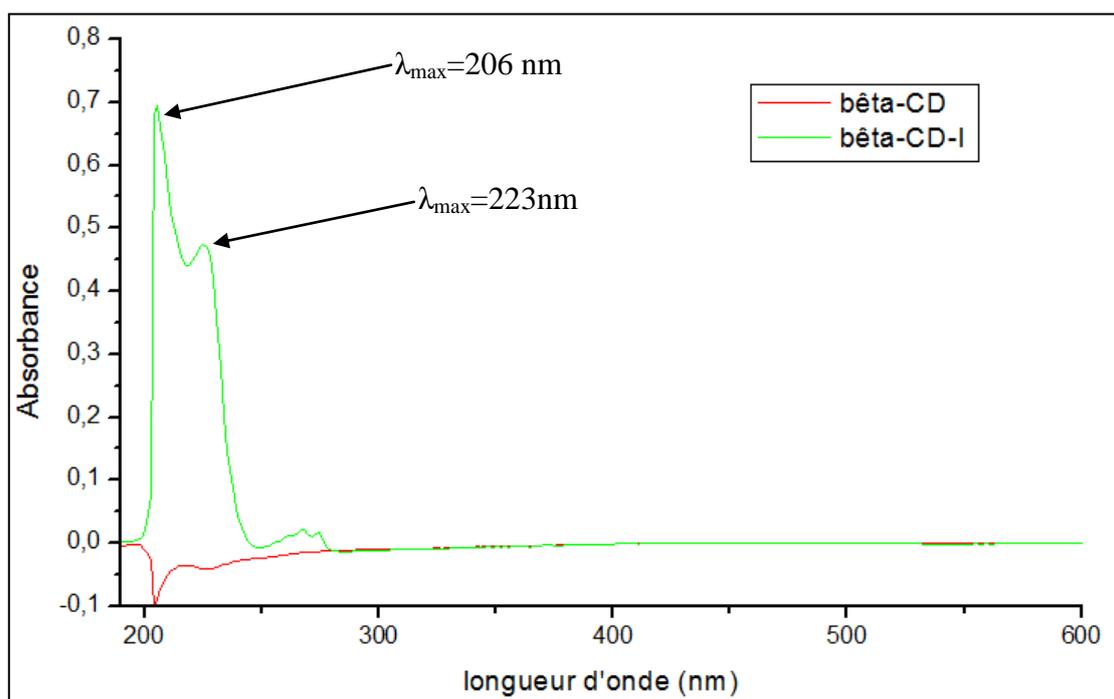


Figure II.23 : Spectres UV-visible de la β -CD native et de la β -CD-I entre 600 et 190nm.

On remarque d'après la figure II.23 que la β -CD n'absorbe pas en UV par contre la β -CD-I a deux bandes intenses $\lambda_{\text{max}} = 206$ nm et 223 nm, selon ZAIDOUN S. [84] les dérivés halogénés donnent une bande intense moyenne qui se situe à l'extrême limite du proche UV.

Donc l'apparition de bande d'absorbance dans le dérivé iodé montre que nous avons substitué les groupements OH par un groupement chromophore tels que l'iode.

II.3.3. Caractérisation du dérivé azidé de la β -CD, le « Per-6-Azido- β -CD »

II.3.3.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR) :

❖ Spectres IR des β -CD- $N_3(1)$ et β -CD- $N_3(2)$

Les spectres IR de la β -CD- $N_3(1)$ et la β -CD- $N_3(2)$ ainsi que leurs structures chimiques sont représentés dans la figure II.24.

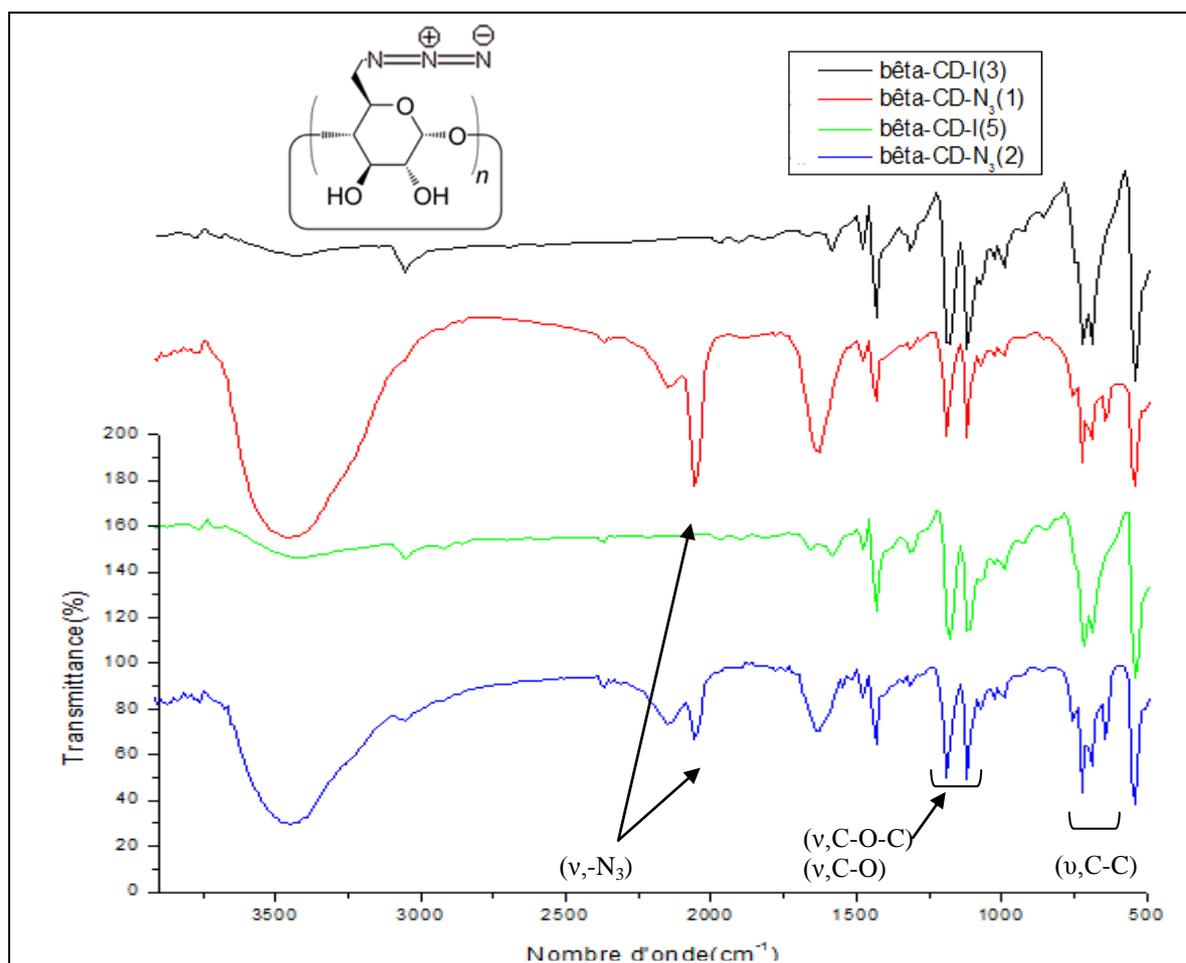


Figure II.24 : Spectres IR-TF des β -CD- N_3 (1) et (2) et des β -CD- I (3) et (5)

- Après examen des spectres de la figure II.25, on déduit que les spectres de la β -CD- $N_3(1)$ et de la β -CD- $N_3(2)$ sont pratiquement les mêmes et correspondent à la même structure azotée.
- Sur ces spectres, on a l'apparition d'une bande située à 2054 cm^{-1} correspondant, selon **Bencini et al. [85]**, à l'élongation de l'azoture en position 6.
- On observe également une bande située entre 2100 cm^{-1} et 2270 cm^{-1} correspondant, selon **Galez et al. [86]** à l'élongation de l'azoture. Cette dernière peut être due à la substitution

des autres positions 2 ou 3, mais d'intensité beaucoup plus faible que la première à 2054cm^{-1} ce qui confirme que nous avons peu de substitutions sur ces 2 carbones.

- Il existe aussi quelques bandes caractéristiques du cycle de la β -CD et des quantités faibles des réactifs et du catalyseur (P(Ph)_3) qui sont décelables par l'infrarouge :
- Les bandes successives à 1118 cm^{-1} et à 1070 cm^{-1} pour la β -CD- N_3 (1) et à 1116 cm^{-1} et à 1070 cm^{-1} pour la β -CD- N_3 (2) sont attribuées aux élongations symétriques et asymétriques des liaisons C-O-C $\alpha(1,4)$ glucosides en résonance avec celles du groupement C-O-C de l'unité glucose, et de la liaison C-O du groupement C-O-H de l'alcool secondaire du cycle.
 - L'absorbance à 1026 cm^{-1} qui est attribuée à l'élongation de la liaison C-O du groupement C-O-H de l'alcool.
 - Les bandes à 997cm^{-1} et 854 cm^{-1} sont toutes les deux attribuées à la déformation de la liaison C-H secondaire du cycle
 - Entre 800 et 500 cm^{-1} on retrouve plusieurs bandes de faibles intensités attribuées aux vibrations des liaisons C-C du squelette du cycle glucoside

Les principales bandes caractéristiques des dérivés β -CD- N_3 (1) et β -CD- N_3 (2) ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes, sont données sur le tableau II.10.

Tableau II.10: Attribution des principales bandes observées sur les spectres IR des dérivés β -CD- N_3 (1) et β -CD- N_3 (2)

Nombre d'onde (cm^{-1})		Attribution	vibration
β -CD- N_3 (1)	β -CD- N_3 (2)		
2146	2146	- N_3 (l'azoture) position 2 ou 3	Elongation
2054	2054	- N_3 (l'azoture) position 6	Elongation
1631	1625	O-H de l'eau	Déformation
1118	1116	C-O-C $\alpha(1,4)$ liaison glucose	Elongation
1070	1070	C-O-C unité glucose	Elongation
1026	1026	C-O-H	Elongation
997 et 854	995 et 854	C-H secondaire du cycle	Déformation
800 - 500	800 - 500	C-C du squelette du cycle glucoside	Vibrations

Donc nous pouvons dire que les deux produits $\beta\text{-CD-N}_3$ (1) et $\beta\text{-CD-N}_3$ (3) possèdent la même structure identifiée comme étant celle de l'azoture de la $\beta\text{-CD}$. Cependant, en plus de la substitution des positions 6 primaires, il est aussi possible d'avoir substitué d'autres positions avec de faibles pourcentages, ainsi que la subsistance de résidus de la $\beta\text{-CD-I}$ et de P(Ph)_3 .

II.3.4. Caractérisation du dérivé aminé de la $\beta\text{-CD}$, le « Per-6-Amino- $\beta\text{-CD}$ »

II.3.4.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR)

❖ Spectres IR des $\beta\text{-CD-NH}_2$ (1), $\beta\text{-CD-NH}_2$ (2) et $\beta\text{-CD-NH}_2$ (3)

L'analyse infrarouge des 3 produits obtenus par amination a aboutit aux spectres infrarouges de la figure II.25.

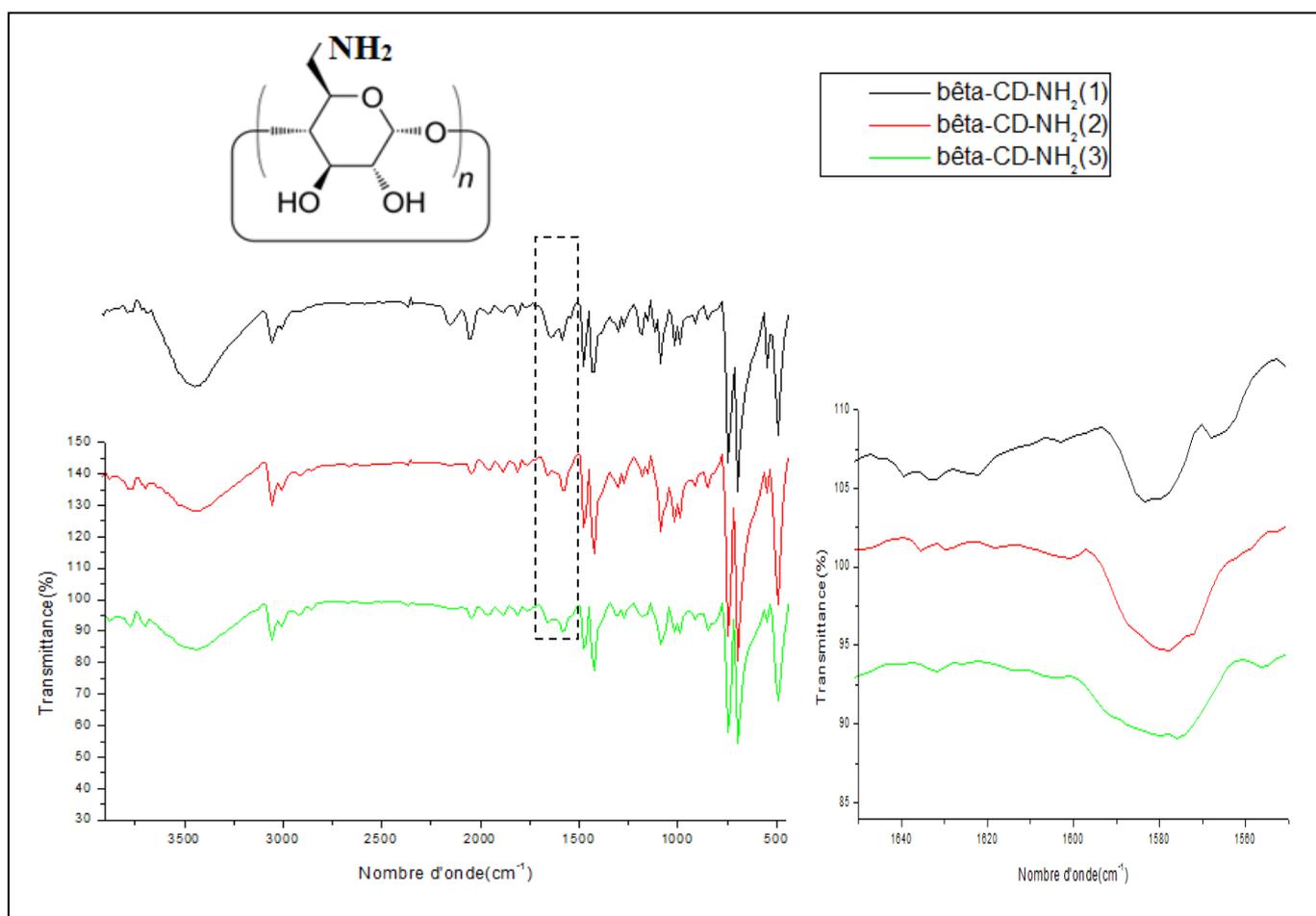


Figure II.25: a) Spectres IR de la $\beta\text{-CD}$ -Aminée $\beta\text{-CD-NH}_2$ (1), (2) et (3), b) zone de 1650 à 1550 cm^{-1} après agrandissement de l'image.

- D'après le spectre IR-TF (Figures II.25 -a et -b) obtenu, on remarque que les spectres de la β -CD-NH₂(1), (2) et (3) sont pratiquement les mêmes, ce qui montre que ces composés correspondent à une même structure.
- Dans le domaine 3500-3400 cm⁻¹, nous observons une bande large mais moins intense correspondant aux OH secondaires des positions 2 et 3. On ne remarque pas la bande de l'élongation du groupement NH₂, probablement masquée par la bande OH.
- Les bandes correspondant à la déformation de la liaison N-H sont de faibles intensités, cependant en réalisant un zoom sur la zone 1650-1550 cm⁻¹ [85] (Figure II.25-b), on remarque qu'elles correspondent bien aux déformations dans le plan du groupement amino NH₂.
- On note également la présence des bandes de faibles intensités entre 1350-1250 cm⁻¹ correspondant à l'élongation de la liaison C-N.
- On remarque aussi l'existence de quelques bandes caractéristiques correspondant au squelette de la β -CD.

Les principales bandes caractéristiques des dérivés β -CD-NH₂(1), (2) et (3) ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes, sont regroupés dans le tableau II.11.

Tableau II.11: Attribution des principales bandes observées sur les spectres IR des dérivés β -CD-NH₂ (1), (2) et (3)

Nombre d'onde (cm ⁻¹)			Attribution	vibration
β -CD-NH ₂ (1)	β -CD-NH ₂ (2)	β -CD-N ₃ (3)		
1583	1577	1575	N-H	Déformation dans le plan
1350-1250	1350-1250	1350-1250	C-N	Elongation
1654	1658	1662	O-H de l'eau	Déformation
1116	1112	1114	C-O-C α (1,4) liaison glucose	Elongation
1087	1087	1082	C-O-C unité glucose	Elongation
1022	1022	1020	C-O-H	Elongation
995 et 848	995 et 848	993 et 846	C-H secondaire du cycle	Déformation
800 - 500	800 - 500	800 - 500	C-C du squelette du cycle glucoside	Vibrations

En résumé, les produits β -CD-NH₂ (1), (2) et (3) sont identifiés en tant que dérivés aminés de la β -CD, mais avec la présence de quelques impuretés.

Chapitre III

ETUDE DES COMPLEXES D'INCLUSION DE L'AMLODIPINE AVEC LES DERIVES MODIFIES DE LA β -CD

Chapitre III: Etude des complexes d'inclusion de l'Amlodipine avec les dérivés modifiés de la β -CD

L'amlodipine est un principe actif qui joue un rôle important dans le traitement de l'hypertension artérielle. L'inconvénient de cette molécule est qu'elle a une faible biodisponibilité du fait de sa faible solubilité dans l'eau et dans les liquides biologiques. Ce qui implique une forte augmentation des doses administrées aux patients et donc un accroissement des possibles effets secondaires liés aux traitements médicaux. Pour remédier à ce problème, nous proposons de la complexer avec les CDs.

Le présent chapitre sera consacré à l'utilisation des cyclodextrines synthétisées au sein de notre laboratoire, afin de former un complexe d'inclusion avec l'amlodipine bésylate. L'objectif de ce chapitre sera donc de comparer l'efficacité de la complexation en utilisant la β -CD native ou un des dérivés synthétisés. Pour cela nous avons divisé ce chapitre en deux parties, la première consiste à présenter les différentes matières premières ayant servi à l'étude de la complexation; puis décrire l'étude des propriétés physico-chimiques des complexes d'inclusion, leurs préparation et leurs caractérisation, la deuxième partie est consacrée à la présentation et à la discussion des résultats obtenus.

III.1. MATIERES PREMIERES

Pour la complexation de l'amlodipine, nous avons utilisé la β -CD native, la β -CD-I et la β -CD-NH₂.

❖ Amlodipine Bésylate

L'amlodipine bésylate, (C₂₆H₃₁ClN₂O₈S) nommé aussi : Benzène sulfonate de (4*RS*)-2-[(2-aminoéthoxy)méthyl]-4-(2-chlorophényl)-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de 3-éthyle et de 5-méthyle [87], est un inhibiteur de l'entrée des ions calcium dans la cellule (antagoniste du calcium ou inhibiteur calcique). L'amlodipine est un antagoniste du calcium de la classe des dihydropyridines [88].

Il se présente sous forme d'une poudre blanche, il est peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans le méthanol et assez soluble dans l'éthanol, sa masse molaire est de 567.1 g.mole⁻¹ [87], et sa formule chimique est représentée sur la figure III.1.

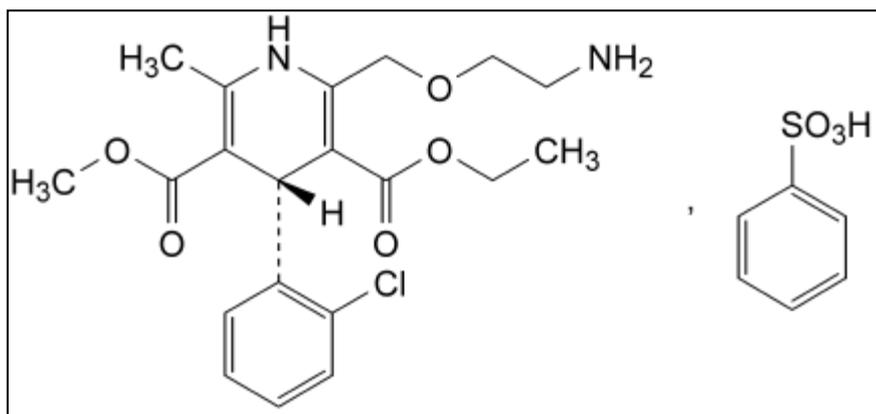


Figure III.1 : Structure chimique de l'amlodipine bésylate [87].

Ce produit a été gracieusement fourni par le Centre de Recherche et de Développement (CRD) affilié à SAIDAL (ALGER).

III.2. ETUDE DES COMPLEXES

III.2.1. Détermination de la stœchiométrie et de la constante d'association des complexes

L'étude des propriétés physico-chimiques du complexe d'inclusion constitue une large partie de la chimie organique moderne. La première étape consiste à déterminer la stœchiométrie du complexe formé. Après avoir déterminé la stœchiométrie, il faut évaluer la constante d'association qui reflète la force d'interaction entre les deux espèces moléculaires (molécule invitée – molécule cage) et permet de connaître la proportion de la molécule complexée. La méthode que nous utiliserons pour pouvoir évaluer ces paramètres est celle du diagramme de solubilité de Higuchi-Connors. Mais avant cela nous devons déterminer la courbe d'étalonnage qui nous permettra de doser la quantité d'amlodipine solubilisée.

III.2.1.a. Courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le tampon à pH=6,8

Pour déterminer les bandes caractéristiques de l'amlodipine dans le domaine de l'UV-visible, un balayage de longueur d'onde est effectué sur une solution d'amlodipine entre 190nm et 600nm.

La figure III.2 montre le spectre UV-visible de l'amlodipine enregistré entre 190nm et 600nm.

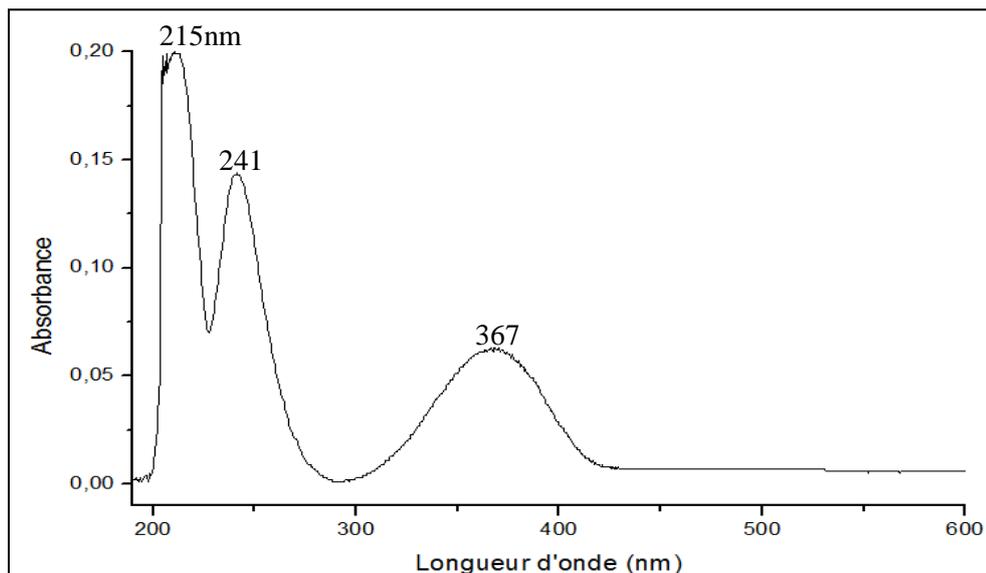


Figure III.2 : Spectre UV-visible de l'amlodipine entre 190nm et 600nm.

Le spectre obtenu (figure III.2) indique que l'amlodipine présente trois bandes, mais l'analyse UV-visible des différentes CDs seules ont montré (figure III.3) que ces dernières n'absorbent pas à 367nm, nous pourrions alors analyser nos complexes d'inclusion à la longueur d'onde la plus spécifique de l'Amlodipine, c'est-à-dire $\lambda_{\max} = 367\text{nm}$, et quantifier ainsi la solubilité de l'amlodipine sans interférences avec les signaux des CDs.

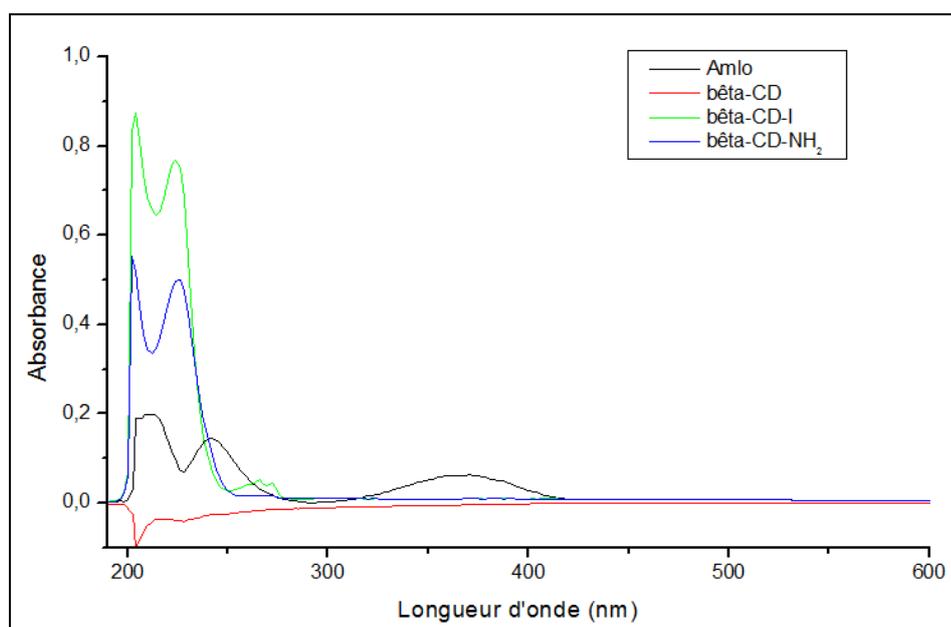


Figure III.3 : Spectre UV-visible de l'amlodipine et des trois cyclodextrines utilisées entre 190nm et 600nm.

La courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le milieu tampon (pH=6,8) a été réalisée à l'aide de neuf standards dont les absorbances sont mesurées à la longueur d'onde $\lambda_{\max}=367\text{nm}$ (voir Annexe C). Les résultats sont représentés sur la figure III.4.

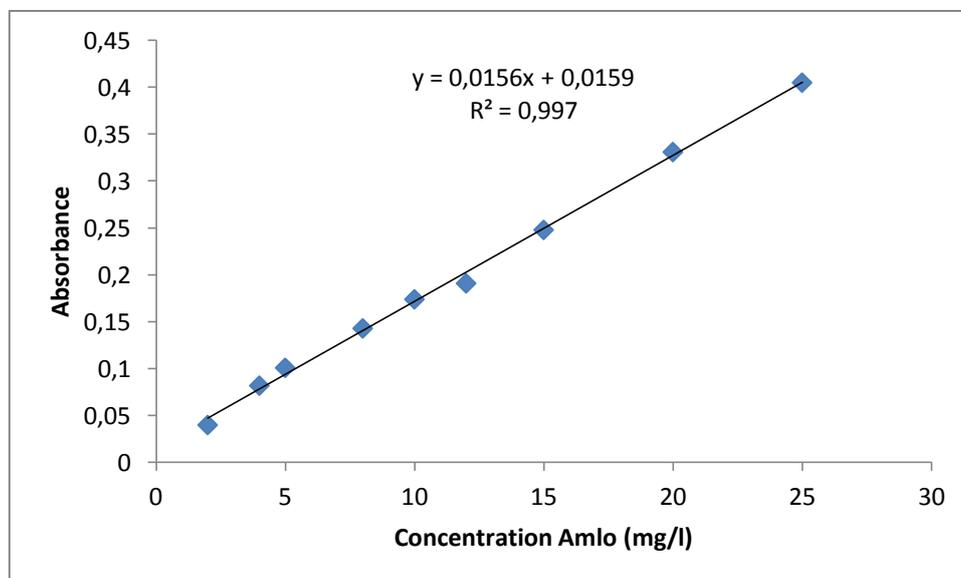


Figure III.4 : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le milieu tampon (pH=6,8)
à $\lambda_{\max}= 367 \text{ nm}$

III.2.1.b. Diagramme de solubilité

La mise en évidence de l'association des cyclodextrines avec l'amlodipine se fait essentiellement par l'observation de la dissolution progressive du principe actif en solution aqueuse.

Les diagrammes de solubilité de la β -CD, de la β -CD-I et de la β -CD-NH₂ sont réalisés selon la méthode d'Higuchi-Connors ; nous avons préparé des solutions de 5ml de concentrations croissantes en CD (0- 2,2- 4,4- 8,81- 10,57- 13,22- 16,3mM) ou (0-2,5-5-10-12-15-18,5g/l), dans une solution tampon à pH=6,8. Nous avons ensuite ajouté un excès d'amlodipine (50mg, 8,81mM) à ces solutions. Ces dernières sont placées à l'obscurité, à température ambiante et sous agitation magnétique pendant deux jours.

Après avoir atteint l'équilibre, les solutions sont filtrées en utilisant des filtres seringue de 0,22 μm . Les échantillons filtrés sont ensuite dilués de manière appropriée, et l'amlodipine dissoute par formation du complexe avec les CD est quantifiée en utilisant la spectroscopie UV-visible, par lecture des absorbances à la longueur d'onde $\lambda_{\max}=367\text{nm}$.

Remarque : pour chaque cyclodextrine, le test de solubilité de l'amlodipine a été refait trois fois pour chaque analyse afin de s'assurer de la répétabilité de celle-ci, puis les résultats ont été exprimés par la moyenne des trois valeurs de concentrations.

III.2.2. Préparation des complexes d'inclusion en solution et caractérisation par UV-visible

Nous avons préparé une solution tampon phosphaté d'Amlodipine seule à pH=6,8 avec une concentration $8,817.10^{-3}$ mM, puis des mélanges équimolaire ($8,817.10^{-3}$ mM) d'amlodipine et de chacune des CDs (CDs/Amlodipine) dans le même milieu. Ces derniers sont laissés sous agitation pendant 48h. Les spectres UV-visible de l'Amlodipine seul et des trois complexes (β -CD/Amlo, β -CD-I/Amlo et β -CD- NH₂ /Amlo) sont ensuite enregistrés entre 190nm- 600nm.

III.2.3. Préparation et caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR) des complexes d'inclusion en phase solide

Les complexes β -CD/Amlo, β -CD-I/Amlo et β -CD- NH₂ /Amlo ont été préparés par trois méthodes différentes, le Malaxage (Kneading), le mélange physique, et l'évaporation solvant, en suivant les protocoles opératoires suivants:

III.2.3.a. Malaxage (Kneading)

Pour préparer les trois complexes nous avons mélangé dans un mortier en agate 5mg ($8,817.10^{-3}$ mM) d'amlodipine avec une quantité équivalente en nombre de mole de chaque CDs, soit en masse: 10mg de β -CD ; 16,8mg de β -CD-I ; 9,9mg de β -CD- NH₂, et en ajoutant quelques gouttes de la solution tampon à pH=6,8. Nous avons malaxé jusqu'à l'obtention d'une pâte puis séché le composé obtenu à l'étuve (38°C, pendant 6h) [89].

III.2.3.b. Mélange physique

Nous avons mélangé dans un mortier les mêmes quantités d'amlodipine et de CD que celles précédemment utilisées pour la méthode Kneading, mais sans ajouter de solvant; nous avons ensuite conservé les mélanges dans un dessiccateur.

III.2.3.c. Evaporation de solvant

Nous avons préparé des mélanges équimolaires ($8,817.10^{-3}$ mM) d'amlodipine et de chacune des CDs dans un tampon phosphaté à pH=6,8. Ces derniers sont laissés sous

agitation pendant 48h. Les solutions sont filtrées en utilisant des filtres seringue de $0,22\mu\text{m}$ et le solvant est ensuite évaporé à 38°C pendant 24h.

III.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.3.1. Diagramme de solubilité

III.3.1.a. Diagramme de solubilité avec la β -CD native

Après deux jours d'agitation à l'abri de la lumière et à température ambiante, les solutions sont quantifiées par spectroscopie UV-visible à $\lambda_{\text{max}} = 367 \text{ nm}$. Grâce à la courbe d'étalonnage, nous avons déterminé les concentrations en Amlodipine correspondant aux absorbances obtenues, les résultats sont reportés dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Quantification par spectroscopie UV-visible des solutions du test de Higuchi-Connors avec la β -CD

Concentration β-CD (mM)	0	2,20	4,40	8,81	10,57	13,22	16,3
Concentration Amlo (mM)	1,754	2,109	2,763	3,855	4,088	5,158	6,064

Le diagramme de Higuchi-Connors, qui donne la concentration de la molécule invitée (Amlo) dans le complexe, en fonction de la concentration de la molécule hôte (β -CD) est représenté dans la figure III.5.

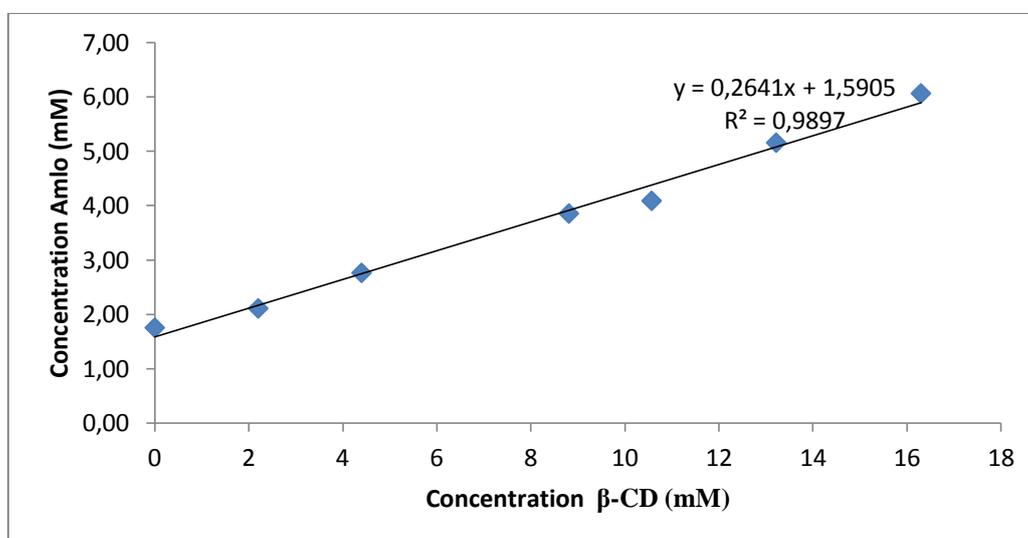


Figure III.5 : Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la β -CD (Higuchi-Connors).

Le diagramme de solubilité de la β -CD est une droite ne passant pas par l'origine ayant pour équation $y = 0,2641 x + 1,5905$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,989$. Cela indique que la concentration en Amlo augmente proportionnellement avec la croissance des concentrations en β -CD.

Selon Higuchi-Connors, il s'agit d'une isotherme de type A_L , car la solubilité de l'Amlo augmente de façon linéaire en fonction de la concentration en β -CD. Ces profils sont attribués à la formation de complexe 1 :1, ceci est en accord avec les travaux de **Bradea et al.** [89] qui ont aussi vérifié la stœchiométrie 1 :1 par fluorescence moléculaire, pour le même complexe d'inclusion.

❖ Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine

La figure III.6 représente les spectres UV-visible obtenus en faisant varier la concentration de β -CD.

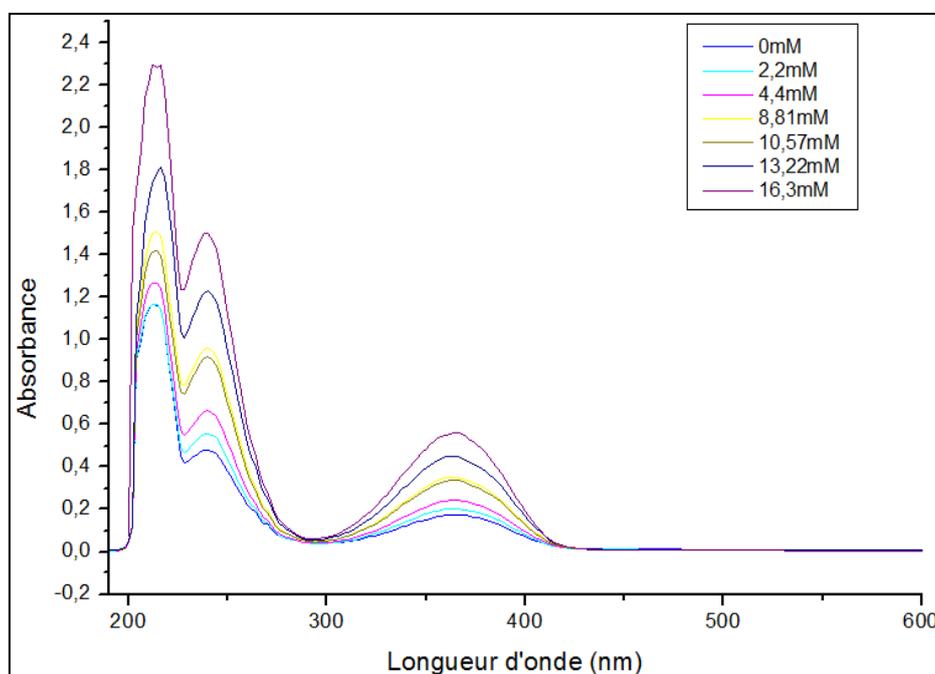


Figure III.6 : Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine dans le tampon (pH=6,8).

On remarque que la valeur de l'absorbance de l'amlodipine à 367 nm augmente avec l'augmentation de la concentration de cyclodextrine ajoutée, bien que la concentration de l'amlodipine introduite soit la même. Ceci indique que la solubilité de la molécule invitée

(amlodipine) augmente par formation du complexe d'inclusion plus soluble dans le milieu. Un résultat similaire a été observé par **Kavirajaa et al. [51]**, lors de l'étude du complexe d'inclusion entre la β -CD et l'azométhine par spectroscopie UV-Visible.

Les résultats obtenus montrent que l'ajout de la β -CD entraîne un effet hyperchrome sur le spectre UV de l'amlodipine, ce qui se traduit par l'augmentation de la solubilité de la molécule hôte lors de la formation du complexe d'inclusion.

III.3.1.b. Diagramme de solubilité avec la β -CD-I

Après deux jours d'agitation à l'abri de la lumière et à température ambiante, les solutions sont analysées par spectroscopie UV-visible à $\lambda_{\max} = 367$ nm pour quantifier l'amlodipine dans le complexe. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau III.2.

Tableau III.2 : Quantification de l'amlodipine par spectroscopie UV-visible des solutions du complexe β -CD-I/amlo du test de Higuchi-Connors.

Concentration β-CD-I (mM)	0	1,10	2,20	4,40	10,57	13,22	16,3
Concentration Amlo (mM)	1,754	2,549	3,344	3,525	3,693	2,963	2,083

Le diagramme d'Higuchi-Connors qui donne la concentration de la molécule invitée (Amlo) en fonction de la concentration de la molécule hôte (β -CD-I) est représenté dans la figure III.7.

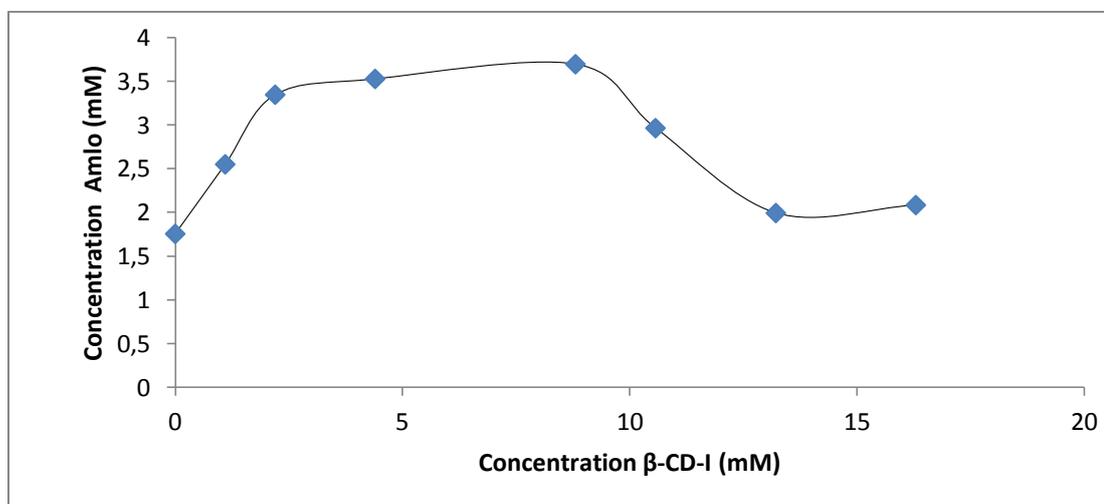


Figure III.7 : Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la β -CD-I (Higuchi-Connors).

En comparant le diagramme de solubilité de la β -CD-I obtenu (figure III.7) aux diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi-Connors, on remarque qu'il correspond à un profil de type Bs qui indique la formation d'un complexe à solubilité limitée.

Le profil type Bs suit au départ le profil de type A_L puis à partir d'un certain point, tout ajout de CD entraîne une précipitation du complexe (au fur et à mesure que le complexe précipite, le principe actif non encore dissout se solubilise sous forme libre). La courbe décroît ensuite (tout l'excès de principe actif est dissout, et cette fraction est progressivement complexée et précipitée).

Ce qui signifie que le complexe de l'amlodipine avec l'iodo-CD est moins soluble dans l'eau, en raison de la substitution des OH de la face primaire par l'iode. Celui-ci est un élément électro-négatif et polaire mais non hydrophile.

III.3.1.c. Diagramme de solubilité avec la β -CD-NH₂

Après deux jours d'agitation à l'abri de la lumière et à température ambiante, les solutions sont quantifiées par spectroscopie UV-visible à $\lambda_{\text{max}} = 367$ nm, et les résultats obtenus sont portés dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Quantification de l'amlodipine par spectroscopie UV-visible des solutions du complexe β -CD-NH₂/amlo du test de Higuchi-Connors.

Concentration β-CD-NH₂ (mM)	0	2,20	4,40	8,81	10,57	13,22	16,3
Concentration Amlo (mM)	1,754	2,563	3,458	4,352	4,275	4,918	5,837

Le diagramme de Higuchi-Connors qui donne la concentration de la molécule invitée (Amlo) dans le complexe d'inclusion, en fonction de la concentration de la molécule hôte (β -CD-NH₂) est représenté dans la figure III.8.

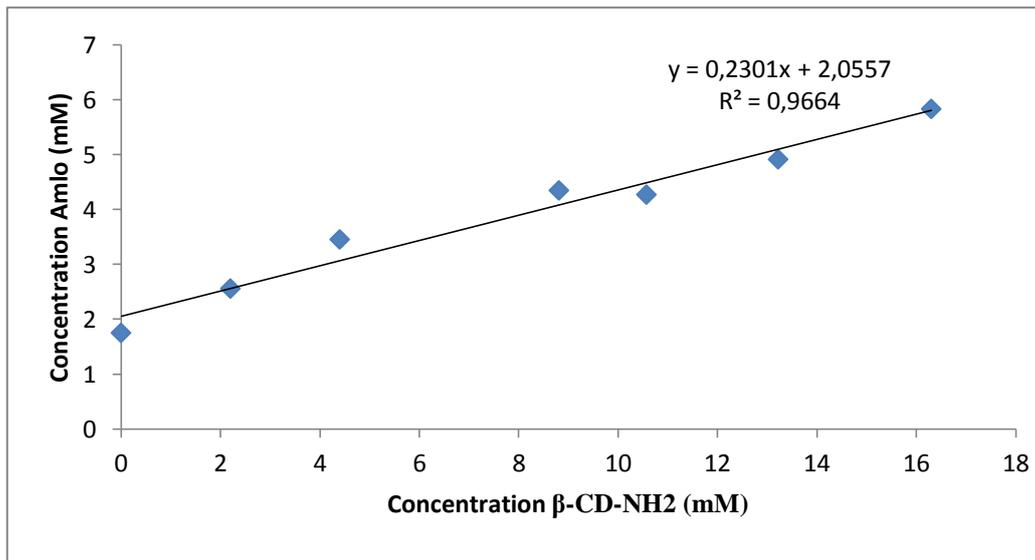


Figure III.8 : Diagramme de solubilité avec la β -CD-NH₂.

Le diagramme de solubilité de Higuchi-Connors de la β -CD-NH₂/amlo est linéaire, ce qui montre que le profil de variation tend vers celui d'une isotherme de type A_L, car la solubilité de l'Amlo augmente de façon linéaire en fonction de la concentration en β -CD-NH₂, attribué à la formation du complexe 1 :1.

❖ **Influence de l'addition de la β -CD-NH₂ sur le spectre UV-visible de l'amlodipine**

La figure III.9 représente les spectres UV-visible obtenus en faisant varier la concentration de β -CD-NH₂.

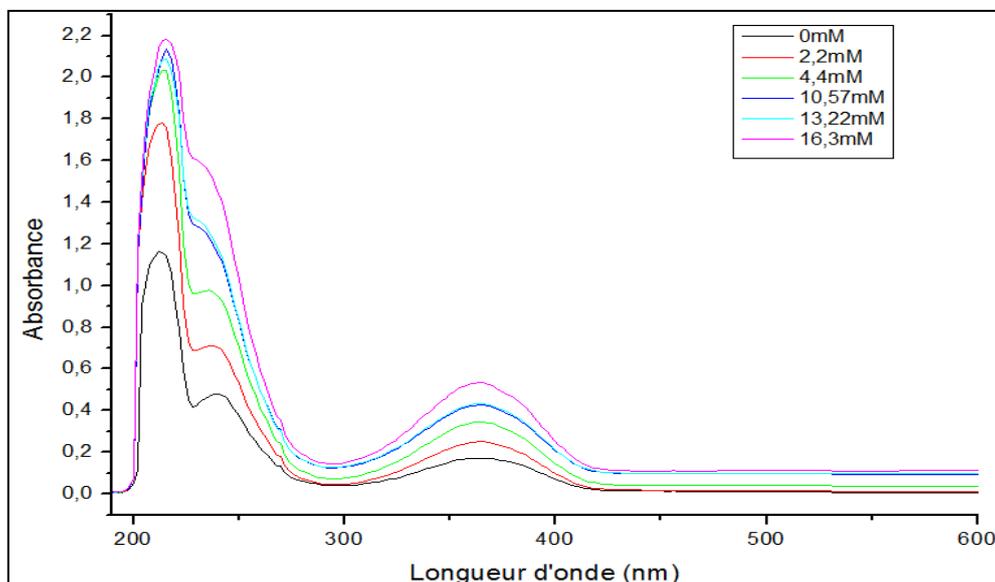


Figure III.9 : Influence de l'addition de la β -CD-NH₂ sur le spectre UV-visible de l'amlodipine à tampon (pH=6,8).

On remarque que la valeur de l'absorbance de l'amlodipine à 367 nm augmente avec l'augmentation de la concentration de cyclodextrine ajoutée. Ceci indique que la solubilité de la molécule hôte (amlodipine) augmente par formation du complexe d'inclusion (β -CD-NH₂/Amlo) plus soluble dans le milieu.

III.3.1.d. Comparaison de la complexation de l'amlodipine avec la β -CD native et avec la β -CD-NH₂

La figure III.10 représente la superposition des deux diagrammes de Higuchi-Connors obtenus avec la β -CD native et la β -CD-NH₂.

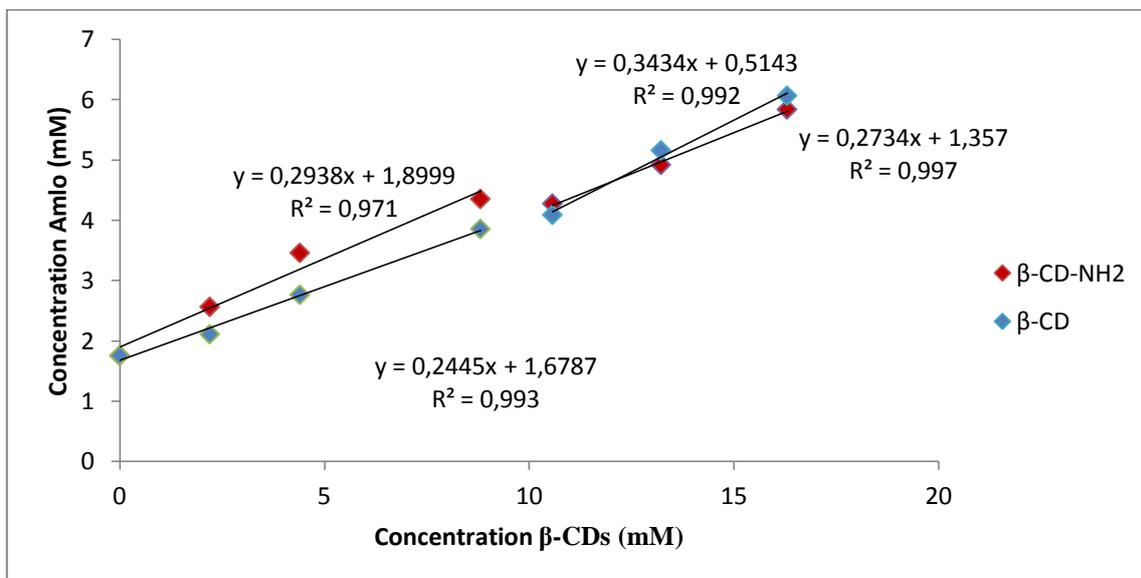


Figure III.10 : Superposition des diagrammes de Higuchi-Connors avec la β -CD native et la β -CD- NH₂

La superposition des diagrammes de Higuchi-Connors de la β -CD native et de la β -CD-NH₂ montre que nous avons deux domaines de linéarité et deux comportements de la solubilité de l'amlodipine en fonction de l'ajout des cyclodextrines.

Comme la stœchiométrie des deux complexes est de type 1 :1, nous utiliserons pour le calcul de la constante de stabilité K_s l'équation suivante :

$$K_s = \frac{\alpha}{S_0(1-\alpha)}$$

Avec α : la pente de la partie linéaire de la courbe.

S_0 : la solubilité aqueuse en mol.l⁻¹ du principe actif sans la cyclodextrine.

K_s : la constante de stabilité en M⁻¹.

L'amlodipine a une solubilité maximale égale à 1,754 mM au bout de deux jours d'agitation.

Les valeurs des K_s ont été obtenues en utilisant les pentes des équations des droites, respectivement pour chaque complexe et dans les deux domaines de concentrations des CDs. Les différents résultats sont regroupés dans le tableau III.4.

Tableau III.4 : Résumé des équations des droites de régression et des valeurs des constantes de stabilité K_s

	1 ^{er} domaine : [CDs]= [0 - 8,81mM]		2 ^{ème} domaine : [CDs]=[10,57-16,3mM]	
Type de cyclodextrine	β -CD-NH ₂	β -CD	β -CD-NH ₂	β -CD
Equation de la droite de régression	y=0,2938x+1,8999	y=0,2445x+1,6787	y=0,2734x+1,357	y=0,3434x+0,5143
K_s (M ⁻¹)	237,19	184,50	214,52	298,17

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que dans le 1^{er} domaine de concentration (0 - 8,81mM), la constante de stabilité du complexe est plus grande avec la β -CD-NH₂, inversement pour le 2^{ème} domaine (10,57-16,3mM) nous avons une plus grande constante de stabilité avec la β -CD native.

Par conséquent, pour de plus faibles concentrations en cyclodextrine, la complexation avec la β -CD-NH₂ semble solubiliser mieux l'amlodipine, par contre pour des concentrations plus élevées (ratio>1) nous aurons une meilleure solubilité de l'amlodipine par complexation avec la β -CD native.

Ces résultats sont expliqués d'une part par la présence de groupements amino en position 6, qui favorisent la stabilisation de la molécule invitée dans la cavité de l'agent d'inclusion par des liaisons hydrogènes. D'autre part, l'augmentation de la concentration de l'amino cyclodextrine (ratio > 1) favoriserait beaucoup plus les interactions de type soluté-soluté entre les espèces β -CD-NH₂, ce qui favorise la formation de liaisons hydrogènes

intermoléculaires entre les groupements amino de deux espèces cyclodextrines, en induisant leur agrégation et leur précipitation.

Par contre avec la β -CD native, nous observons des effets opposés aux précédents, nous remarquons ainsi une baisse de la stabilité des complexes d'inclusion aux plus faibles concentrations de la β -CD, du fait que les groupements OH de la face primaire s'associent moins par des liaisons hydrogènes, en raison de leur éloignement des fonctions polaires de l'amlodipine qui existent à l'extérieur de la cavité de la β -CD (figure III.11). Lorsque la concentration en β -CD augmente, les molécules de celle-ci ont tendance à former moins d'agrégats et donc à être plus solubles dans l'eau.

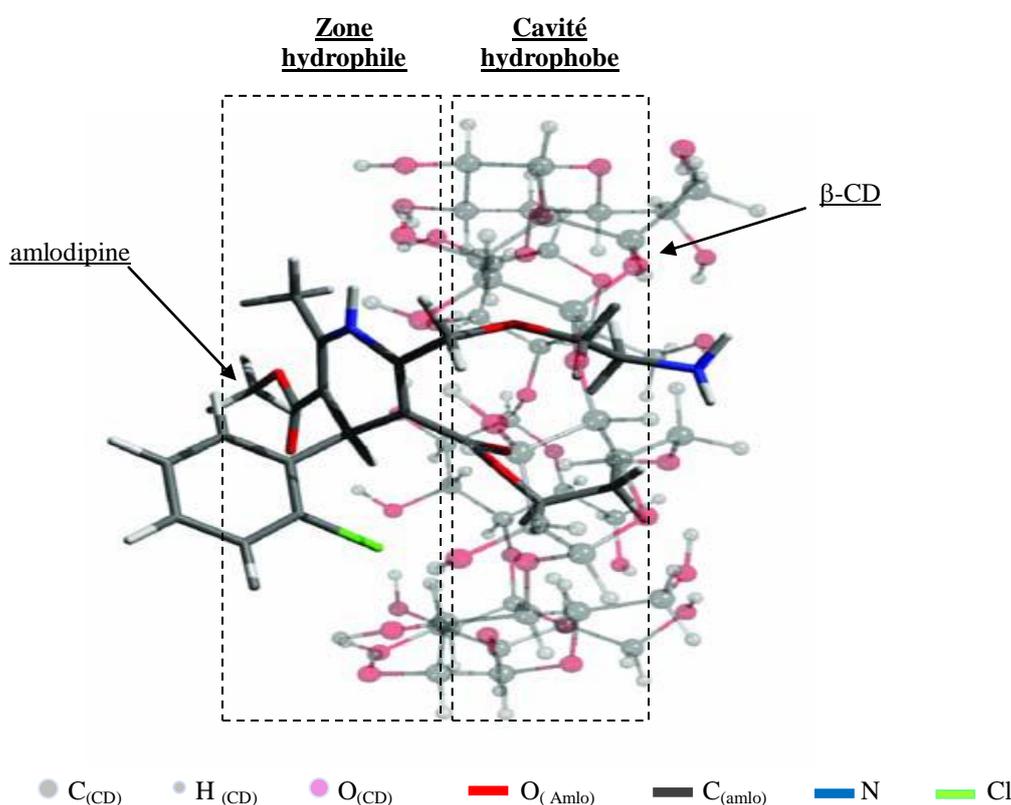


Figure III.11 : schéma du complexe montrant l'insertion de la partie hydrophobe (radical ether et la fonction ethyle ester) de l'amlodipine dans la cavité de la β -CD, et la partie hydrophile (dihydropyridine) à l'extérieur de la cavité [89].

III.3.2. Caractérisation des complexes d'inclusion en solution par UV-visible

III.3.2.a. Complexe β -CD/Aml

- ❖ Les spectres UV-visible enregistrés pour les trois solutions préparées : Amlodipine seule, β -CD seule et le complexe β -CD/Aml sont représentés dans la figure III.12.

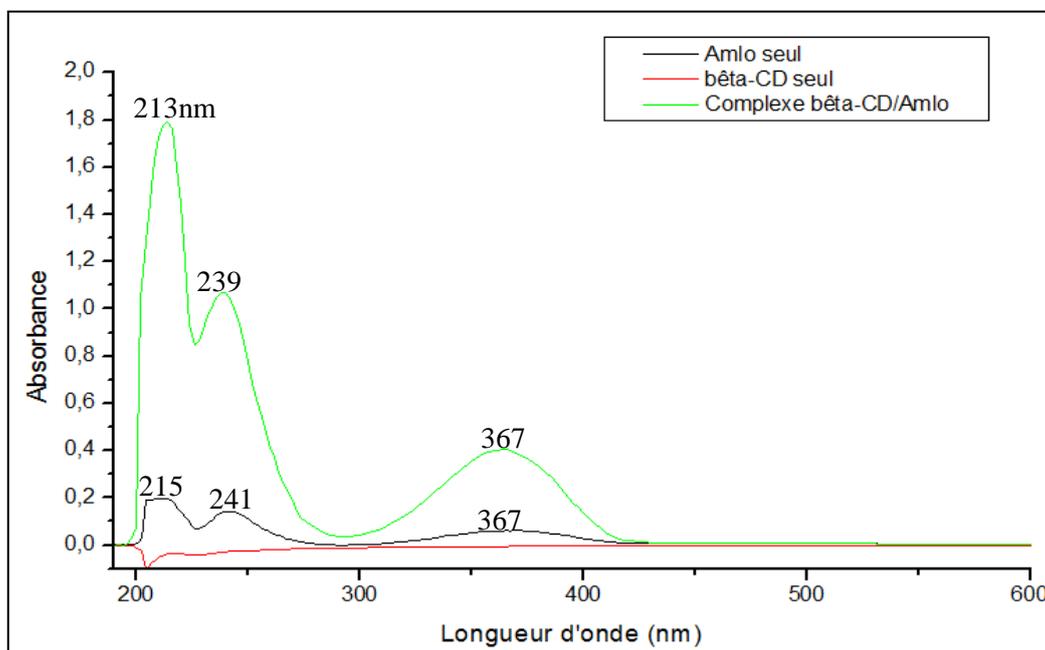


Figure III.12 : Spectres UV-visible de l'Amlodipine, de la β -CD et du complexe β -CD/Aml.

La formation du complexe est confirmée par l'enregistrement d'une augmentation de l'intensité du maximum d'absorption de l'amlodipine à 367nm, due à l'augmentation des électronégativités des deux groupements fonctionnels considérés par inclusion dans la cavité hydrophobe de la cyclodextrine.

Le déplacement hypsochrome, bathochrome ou hyperchrome sans changement de la valeur de λ_{\max} sont considérés selon **Ramnik Singh et al. [90]** comme des preuves de l'interaction entre la cyclodextrine et un principe actif dans la formation du complexe.

Pour cela, nous attribuons selon les règles de calculs de Woodward-Fieser la longueur d'onde maximale 215nm aux fonctions esters, la deuxième longueur d'onde 241nm correspond au groupement 2-chlorophényle, tandis que la longueur d'onde 367 nm

correspond au chromophore le plus important qui est le noyau dihydropyridine substitué en 2, 3, 4, 5 et 6.

Les calculs effectués sur les longueurs d'onde maximales, en utilisant les règles de Woodward-Fieser, sont reportés dans l'annexe D.

III.3.2.b. Complexe β -CD-I/Amlo

- ❖ Les spectres UV-visible enregistrés pour les trois solutions préparées : Amlodipine seul, β -CD-I seul et le complexe β -CD-I/Amlo sont représentés dans la figure III.13.

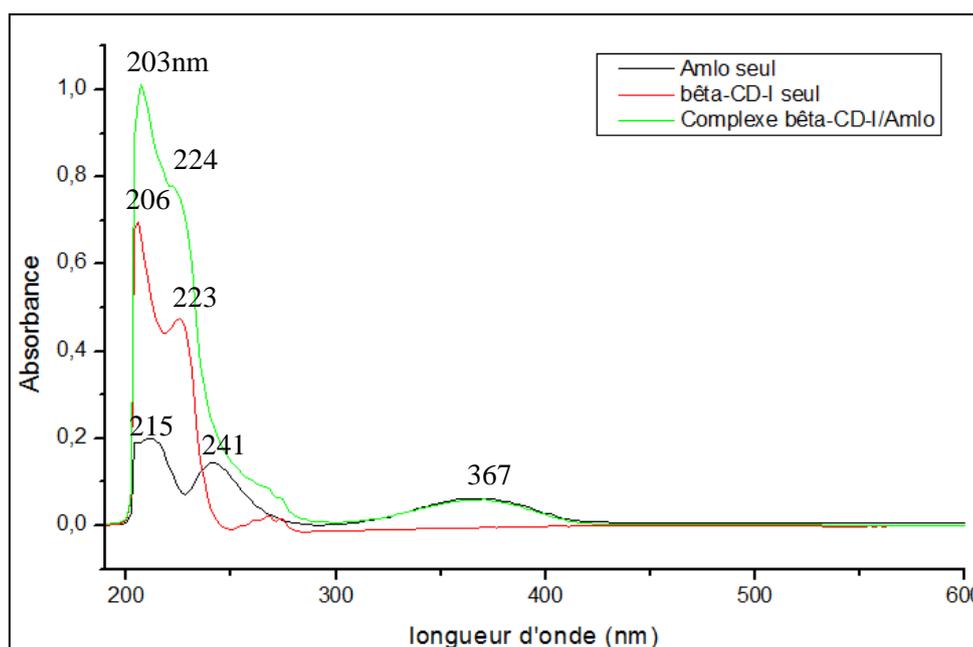


Figure III.13 : Spectres UV-visible de la β -CD-I, de l'Amlodipine et du complexe β -CD-I/Amlo.

Nous observons (figure III.13) aucune augmentation de l'intensité du maximum d'absorption de l'Amlodipine lorsque la β -CD-I est ajouté à ce dernier. Par contre, nous avons observé un effet hypsochrome pour les longueurs à 241 et à 215nm; ceci confirme la formation du complexe β -CD-I/Amlo par inclusion de la fonction éthyle ester dans la cavité de la cyclodextrine, tandis que le radical 2-chlorophényle subit un effet électro attracteur du au groupement éthyle ester situé dans la cavité hydrophobe. Ce qui entraîne l'augmentation de l'électronégativité sur le carbone du phényle lié au cycle dihydropyridine, et l'apparition d'un excédent de charge positive sur le carbone en ortho portant le chlore. De plus, en raison de l'électronégativité de l'iode en position 6 dans la β -CD-I, il découle de ceci un second effet

électro inductif en ortho, ce qui fait diminuer la longueur d'onde maximale du noyau phényle (effet hypsochrome) de 241 à 224 nm.

D'autre part, la substitution par 7 atomes d'iode très électronégatifs en position 6 sur la cyclodextrine fait diminuer le caractère hydrophobe de la cavité, ce qui fait baisser aussi la stabilité du complexe β -CD-I/Amlo.

III.3.2.c. Complexe β -CD-NH₂/Amlo

- ❖ Les spectres UV-visible enregistrés pour les trois solutions préparées : Amlodipine seule, β -CD-NH₂ seule et le complexe β -CD-NH₂/Amlo sont représentés dans la figure III.14.

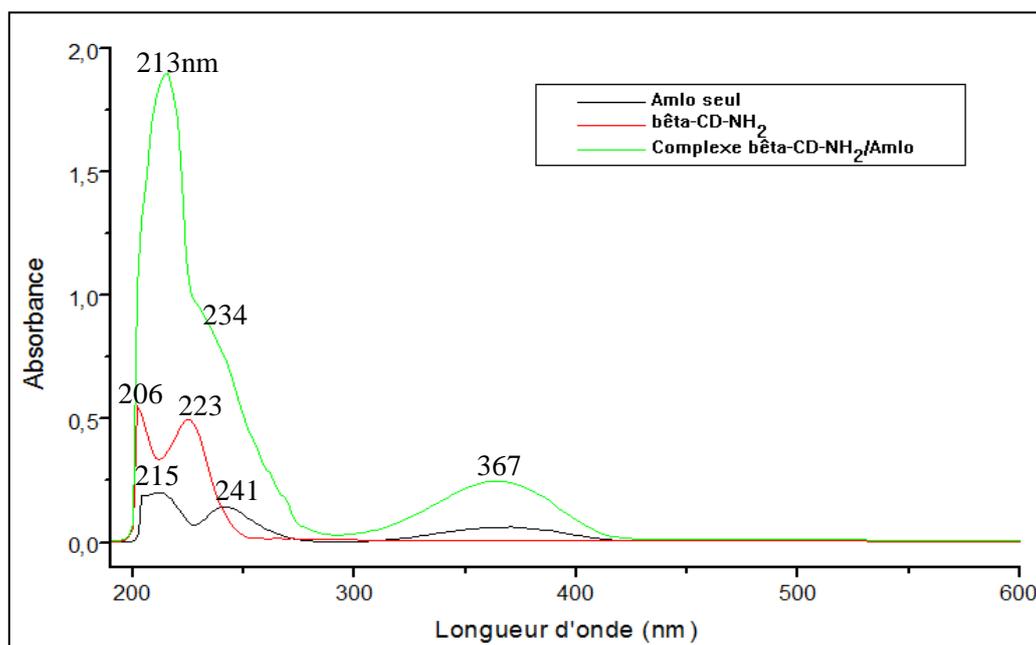


Figure III.14 : Spectres UV-visible de la β -CD-NH₂, de l'Amlodipine et du complexe β -CD-NH₂/Amlo

Pour le complexe β -CD-NH₂/Amlo, on observe une augmentation de l'intensité du maximum d'absorption de l'Amlodipine à 367nm et un effet hypsochrome pour les longueurs à 241 et 215nm, ce qui confirme la formation du complexe β -CD-NH₂/Amlo. Mais les effets hypsochromes sont moins importants comparés aux effets hyperchromes, en raison de l'électronégativité moins élevée de l'azote des groupements amino en position 6 sur la cyclodextrine. Ceci influence moins le caractère hydrophobe de la cavité de la β -CD-NH₂ par rapport à la native. Ce qui renforce ainsi la stabilité du complexe β -CD-NH₂/Amlo.

III.3.3. Caractérisation par infrarouge des complexes d'inclusion

La spectroscopie IRTF est un outil très puissant pour prouver l'existence de l'invité et de la molécule hôtes dans le complexe d'inclusion [51]. Nous l'utiliserons notamment pour étudier les interactions susceptibles d'être établies entre l'Amlo et les CDs. Mais avant d'étudier les différents spectres des complexes, nous devons d'abord identifier les principales bandes caractéristiques de l'amlodipine.

III.3.3.a. Caractérisation de l'amlodipine

Le spectre IR-TF de l'amlodipine pure en pastille de KBr, a été enregistré entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.15).

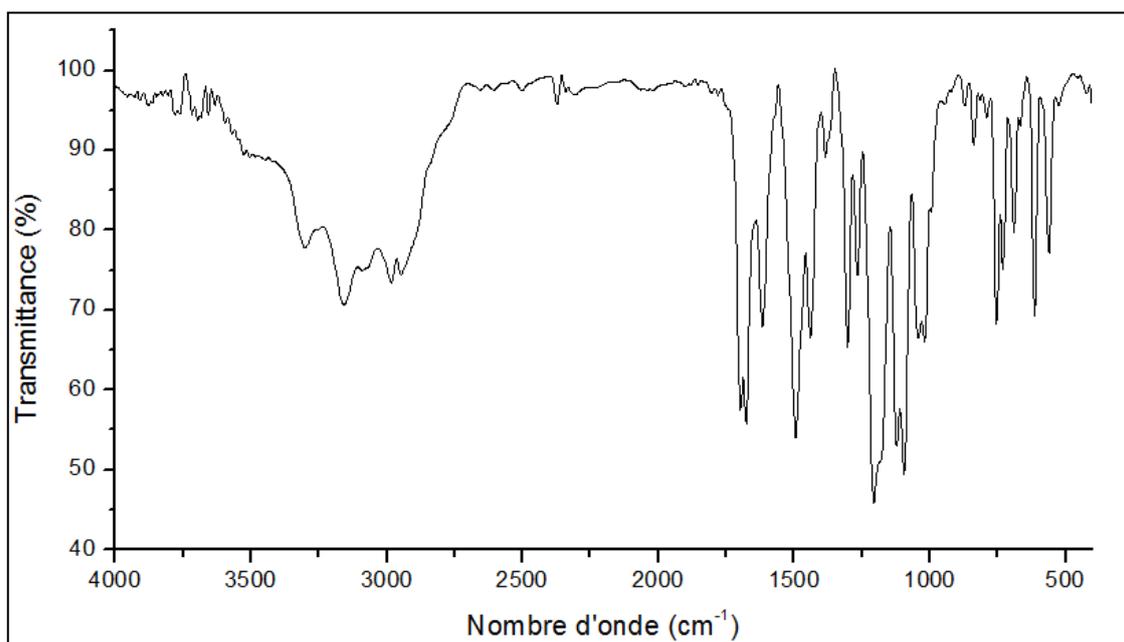


Figure III.15: Spectre IR de l'amlodipine bésylate en pastille de KBr.

Pour mieux repérer les différentes liaisons contenues dans l'amlodipine et trouver les principales bandes de ce dernier, la figure III.16 montre la structure et la numérotation des atomes moléculaire de l'amlodipine bésylate.

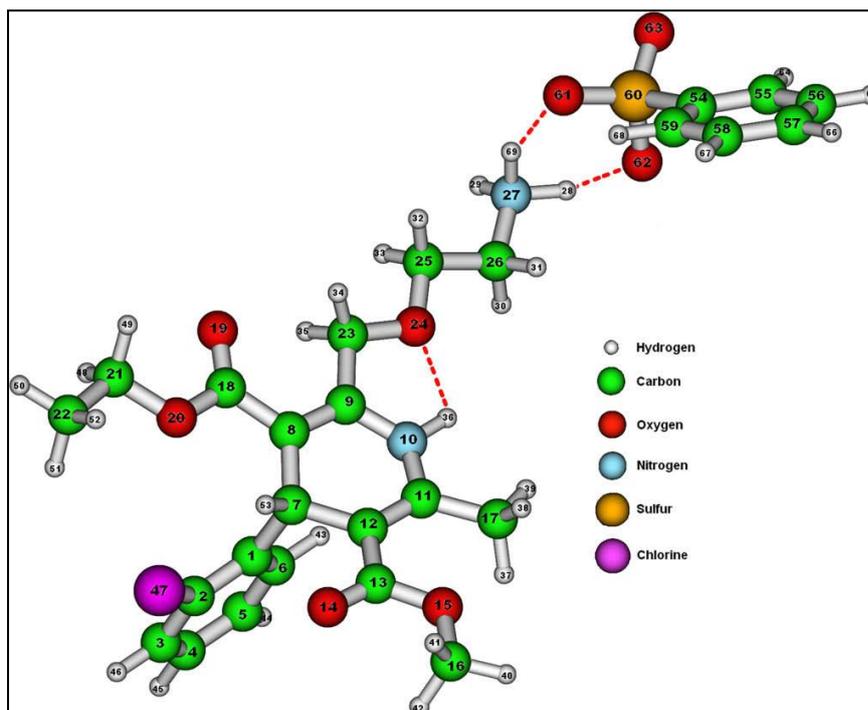


Figure III.16 : Représentation schématique (3D) d'une molécule d'amlodipine bésylate avec la numérotation de ces atomes moléculaires [93].

Les principales bandes caractéristiques de l'amlodipine ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes sont donnés sur le tableau III.5 :

Tableau III.5 : Attribution des principales bandes observées sur le spectre IR de l'amlodipine (bésylate)

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution
3298, 3157	ν_{as} et ν_{s} (N-H) de NH_2 d'amine primaire (N27H)
3084	ν_{as} (C-H) du cycle Benzène liée au groupement sulfonium
2947	ν_{s} (C-H) de CH_3 de l'éthyle porche de l'ester (C22H ₃)
1699,29	ν (C=O) ester proche du méthyle en méta du cycle dihydropyridine (C13O14)
1676,14	ν (C=O) ester proche de l'éthyl et en méta du cycle dihydropyridine (C18O19)
1645,28	ν (C=C) cycle dihydropyridine δ (NH) dans le plan du groupement amine secondaire cyclique (N10H)
1616,35	δ (NH) dans le plan du groupement amine primaire NH_2 (N27H)
1562,06	ν (C-C) du cycle benzénique qui porte la fonction sulfonium
1492,90	δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique

1467,82	$\delta_{\text{as}}(\text{C-H})$ du CH_3 liée au cycle dihydropyridine (C17H_3) $\delta_{\text{as}}(\text{C-H})$ du CH_3 liée à l'ester proche du méthyle (C16H_3)
1444,68	$\delta_{\text{as}}(\text{C-H})$ du CH_3 liée au cycle dihydropyridine (C17H_3)
1207,44	$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$ élongation asymétrique du groupement sulfonium $\delta(\text{C-H})$ en para du cycle dihydropyridine (C7H)
1124,50	$\nu_{\text{as}}(\text{C-O-C})$ élongation de la fonction éther (C25O24C23)
1112,93	$\nu_{\text{as}}(\text{C-O-C})$ de la fonction ester liée à un éthyle (C18O20C21)
1093,64	$\nu_{\text{s}}(\text{SO}_3)$ élongation symétrique du groupement sulfonium
1049,28	$\nu_{\text{as}}(\text{C-C})$ de l'éthyle proche de l'amine primaire $\nu_{\text{as}}(\text{C-N})$ du groupement amine primaire (C25C26N27)
1016,49	$\delta(\text{C-C})$ et $\delta(\text{CH})$ du cycle benzénique liée au groupement sulfonium

En comparant le spectre IRTF de l'amlodipine (bésylate) à celui obtenu par Szabó et al. [84] (figure III.17), on retrouve la plus part des bandes caractéristiques de l'amlodipine.

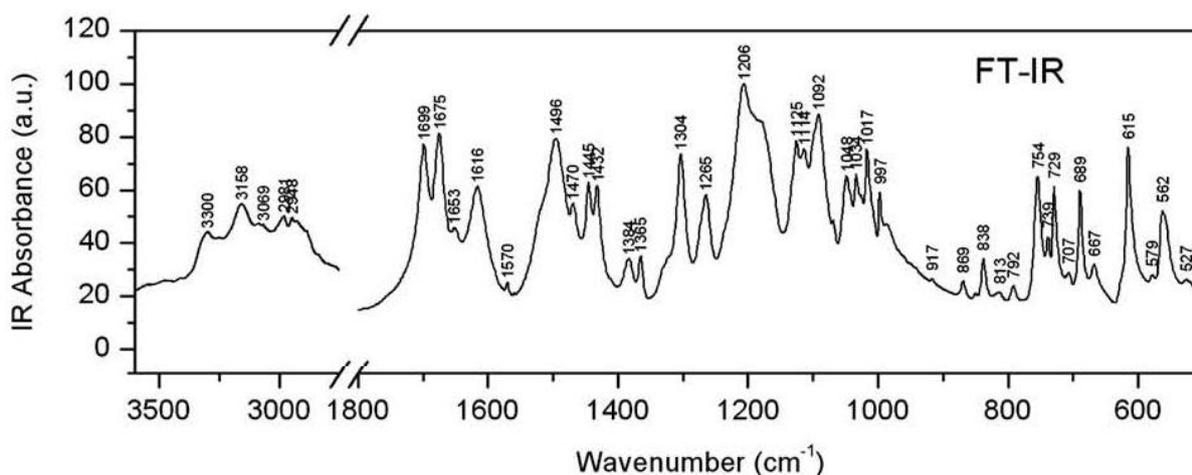


Figure III.17: Spectre IR de l'amlodipine bésylate en pastille de KBr [93].

III.3.3.b. Caractérisation du complexe β -CD/Aml préparé par la méthode Kneading(Kn)

Pour confirmer la formation du complexe d'inclusion et étudier les interactions susceptibles d'être établies entre l'amlodipine et la β -CD, les spectres IR-TF de l'amlodipine, de la β -CD, du complexe β -CD/Aml préparé par la méthode Kneading (Kn) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.18).

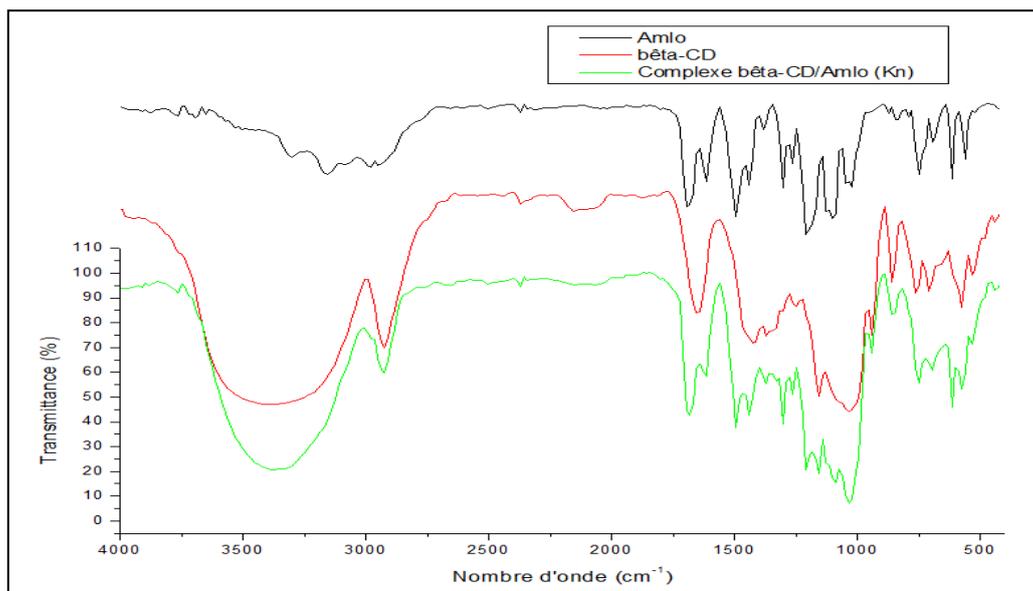


Figure III.18: Spectres IRTF de l'Amlodipine de la β -CD et du complexe β -CD/Amlodipine(Kn) dans le KBr.

Nous remarquons que toutes les bandes de la β -CD apparaissent dans le spectre du complexe β -CD/Amlodipine(Kn), mais on remarque aussi des bandes supplémentaires attribuées à l'amlodipine associée, certaines d'entre elles sont néanmoins décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine seule, ce qui confirme la formation du complexe d'inclusion avec la β -CD.

La majorité des bandes de l'amlodipine interfèrent avec celles de la β -CD ; pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons aux régions situées entre 1800 et 900 cm^{-1} (figure III. 19).

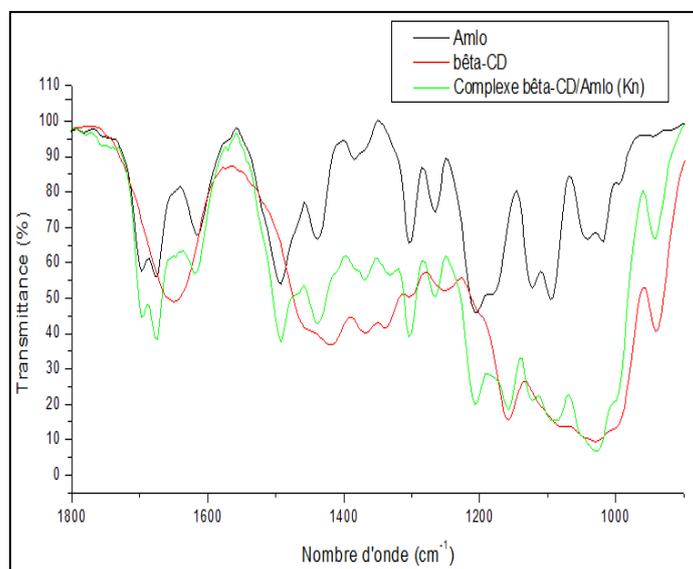


Figure III. 19: Spectres IRTF de l'Amlodipine de la β -CD et du complexe β -CD/Amlodipine(Kn) entre 1800 et 900 cm^{-1}

Le tableau III.6 résume le déplacement des bandes de l'amlodipine dans le complexe d'inclusion.

Tableau III.6 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD/Aml(Kn).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo seul	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche du méthyle	1699,29	1697,36	-0,93
ν (C=C) cycle dihydropyridine δ (NH) dans le plan du groupement amine secondaire cyclique	1645,28	1656,85	+11,57
δ (NH) dans le plan du groupement amine secondaire cyclique	1616,35	1620,21	+3,86
ν_s (SO ₃) du groupement sulfonium	1093,64	1095,57	-1,93
ν_{as} (C-C) de l'éthyle proche de l'amine primaire	1049,28	1029,99	-19,29
ν_{as} (C-N) du groupement amine primaire δ (C-C) et δ (CH) du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	999,12	-17,37

Nous remarquons à partir de ces résultats, que nous avons une augmentation de $\Delta\delta$, de la liaison C=C du cycle dihydropyridine et de la liaison N-H du groupement amine secondaire cyclique, ceci est dû aux effets d'attraction exercés par les deux fonctions éthyle ester et éther insérées dans la cavité hydrophobe de la β -CD, ce qui augmente l'électronégativité des carbones liés directement à celles-ci, et conduisant ainsi à l'augmentation des fréquences de leurs liaisons respectives [51].

On remarque aussi une diminution de $\Delta\delta$, d'une part de la liaison C=O de l'ester proche du méthyle due à l'effet de la conjugaison avec la double liaison du cycle dihydropyridine en position 3, et d'autre part de C-C de l'éthyle proche de l'amine primaire et de C-N du groupement amine primaire qui se trouvent dans la cavité de la β -CD, qui renforce en raison de son caractère hydrophobe la densité de charge autour de ces liaisons et leur stabilité.

L'absence de certaines bandes à 3298, 3157 et 2947 cm^{-1} , qui sont attribués à la liaison N-H de l'amine primaire et au CH₃ de l'éthyle proche de l'ester peuvent être dues soit au masquage des bandes d'élongations NH par celle des OH de la β -CD, qui sont plus

intenses et larges, ou bien à l'inclusion de certaines liaisons de l'amlopidine à l'intérieur de la cavité, qui modifient les mouvements de vibration de ces liaisons et subissent des contraintes d'empêchement stérique due à la dimension de la cavité. Celle-ci peut à la limite faire barrière ou constituer un écran, qui absorbe fortement le rayonnement infrarouge et empêche ainsi son interaction avec les liaisons insérées en particulier dans la cavité. D'où ces bandes n'apparaissent pas sur le spectre du complexe.

Un résultat similaire a été observé dans la littérature, **Bradea et al. [89]**, où la spectroscopie IRTF a permis de prouver que la partie carboxylate de l'éthyle de l'ester était incluse dans la cavité de β -CD.

III.3.3.c. Caractérisation du complexe β -CD/Amlo préparé par mélange physique(MP)

Les spectres IR-TF de l'amlopidine, de la β -CD, du complexe Amlo/ β -CD préparé par la méthode du mélange physique ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.20).

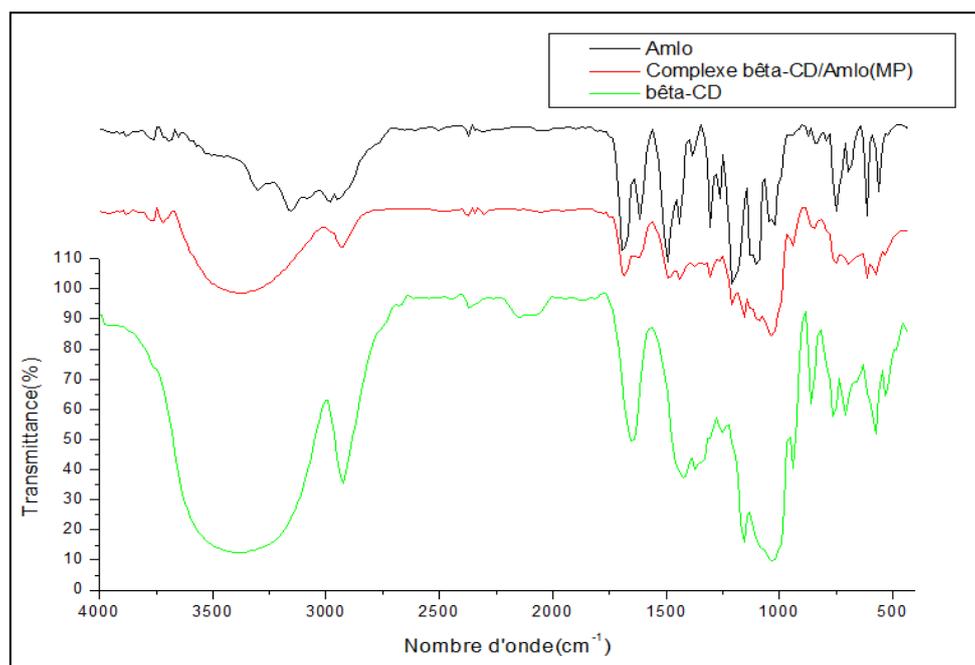


Figure III.20: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(PM) dans le KBr.

Nous remarquons que la plus part des bandes de la β -CD apparaissent sur le spectre du complexe β -CD/Amlo(MP), mais nous observons aussi des bandes supplémentaires attribuées

à l'amlodipine associée. Certaines d'entre elles sont décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine seule. Pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons aux régions situées entre 1800 et 900 cm^{-1} (figure III. 21).

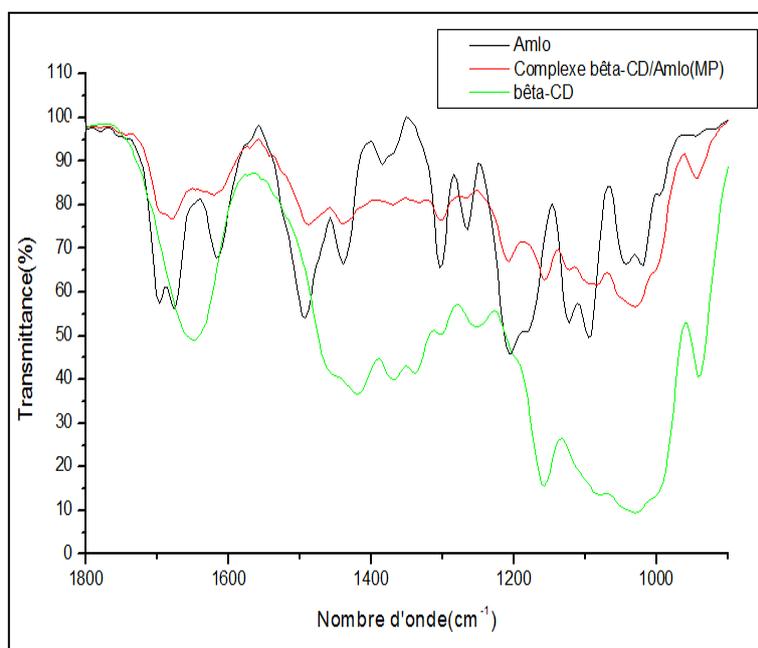


Figure III. 21: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(MP) entre 1800 et 900 cm^{-1}

Le tableau III.7 résume la différence de position des bandes de l'amlodipine pure et celle du complexe d'inclusion.

Tableau III.7 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD/Amlo(MP).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo seul	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche du méthyle	1699,29	1687,74	-11,55
ν (C=C) cycle dihydropyridine	1645,28	1639,49	-5,79
δ (NH) dans le plan du groupement amine secondaire cyclique	1616,35	1625,99	+9,64
δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1492,90	1489,05	-3,85
ν_s (SO ₃) du groupement sulfonium	1093,64	1080,14	-13,5

$\nu_{as}(\text{C-C})$ de l'éthyle $\nu_{as}(\text{C-N})$ du groupement amine secondaire cyclique	1049,28	1029,99	-19,29
$\delta(\text{C-C})$ et $\delta(\text{CH})$ du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	999,13	-17,36

Nous remarquons à partir de ces résultats, que nous avons exactement des déplacements des mêmes bandes, que pour le cas du complexe préparé avec la méthode kneading. Nous pouvons expliquer ce phénomène par la présence d'humidité et de l'eau de cristallisation et à l'effort du broyage qui produit une énergie dans la biomasse. L'humidité a joué le rôle de solvant ce qui a induit les mêmes types de déplacement des bandes et donc la formation du même type d'interactions avec la cavité que dans le cas de la méthode Kneading.

III.3.3.d. Caractérisation du complexe β -CD/Amlo préparé par évaporation solvant (Evap)

Les spectres IR-TF de l'amlopidine, de la β -CD, du complexe β -CD/ Amlo préparé par évaporation solvant (évap) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.22).

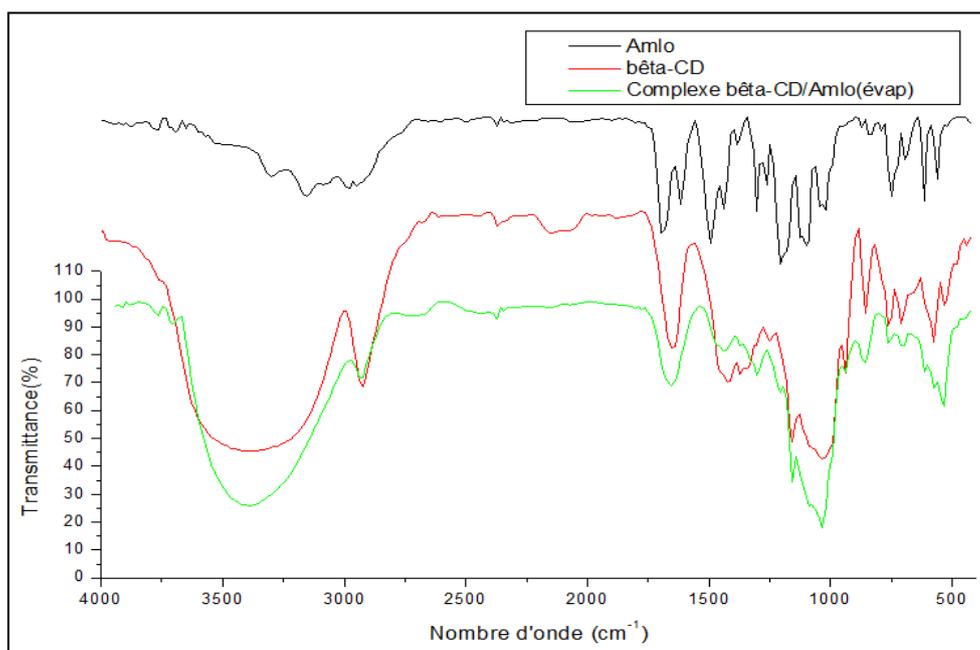


Figure III.22: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(évap) dans le KBr.

Dans le spectre du complexe β -CD/Amlo(évap), on remarque la présence de la plus part des bandes de la β -CD, mais on remarque aussi l'apparition de bandes supplémentaires attribuées à l'amlodipine associée, certaines d'entre elles sont décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine seule, pour déterminer avec précision ce déplacement, on s'intéresse aux régions situées entre 1800 et 900 cm^{-1} (figure III. 23).

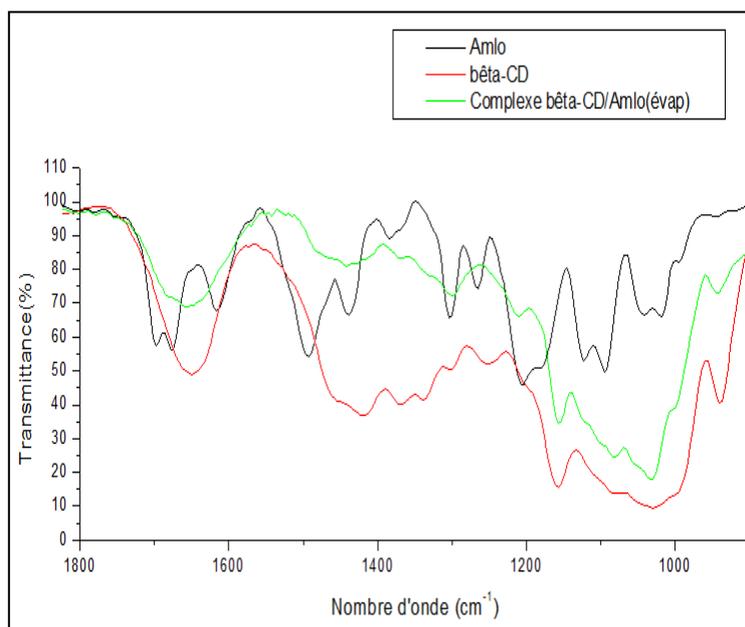


Figure III. 23: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo(évap) entre 1800 et 900 cm^{-1}

Le tableau III.8 résume la différence de position des bandes de l'amlodipine pure et de l'amlodipine associée au complexe d'inclusion.

Tableau III.8 : Comparaison entre les positions des bandes de l'Amlodipine seul et associée dans le complexe β -CD/Amlo(évap).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo seul	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche de l'éthyle	1676,14	1660,71	-15,43
ν (C=C) cycle dihydropyridine δ (NH) de l'amine secondaire cyclique	1645,28	1651,07	+5,79
ν (C-C) du cycle benzénique qui porte la fonction sulfonium	1562,06	1537,27	-24,79
δ (NH) de l'amine secondaire cyclique	1492,90	1467,83	-25,07
δ_{as} (C-H) du CH_3 liée au cycle dihydropyridine	1444,68	1436,97	-7,71

$\nu_{as}(\text{SO}_3)$ élongation asymétrique du groupement sulfonium $\delta(\text{C-H})$ en para du cycle dihydropyridine	1207,44	1211,30	+3,86
$\nu_s(\text{SO}_3)$ du groupement sulfonium	1093,64	1082,07	-11,57
$\nu_{as}(\text{C-C})$ de l'éthyle proche de l'amine primaire $\nu_{as}(\text{C-N})$ de l'amine primaire	1049,28	1033,85	-15,43

L'écart le plus important du nombre d'onde ($-15,43 \text{ cm}^{-1}$) de l'élongation du C=O de l'éthyle ester inséré dans la cavité est obtenu avec la méthode d'évaporation de solvant. Ce qui montre que l'association par inclusion est très importante preuve de la diminution très nette de la fréquence de la liaison C=O.

Dans le spectre du complexe β -CD/Amlo(évap), nous remarquons que certaines bandes de la β -CD sont elles aussi décalées, par rapport aux bandes de la β -CD native. Le tableau III.9, résume le déplacement des bandes de la β -CD native dans le complexe d'inclusion.

Tableau III.9 : Comparaison entre les positions des bandes de la β -CD seul et dans le complexe β -CD/Amlo(évap).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	β -CD seul	Complexe d'inclusion	
$\nu(\text{O-H})$	3388,14	3388,93	+0,79
$\nu(\text{CH}_2)$ d'un alcool primaire	2926,01	2929,87	+3,86
$\delta(\text{O-H})$ de l'eau	1649,14	1651,07	+1,93
$\nu(\text{C-O-C})$ $\alpha(1,4)$ liaison glucose	1157,29	1155,36	-1,93
$\nu(\text{C-O-C})$ unité glucose	1080,14	1082,07	+1,93
$\nu(\text{C-O-H})$	1028,06	1033,85	+5,79

On voit à partir de ces résultats, que nous avons une augmentation des $\Delta\delta$ pour la majorité des bandes déplacées de la β -CD dans le complexe, due aux effets d'attractions intermoléculaires exercées par les liaisons de l'amlodipine insérées dans la cavité sur les liaisons de la β -CD correspondantes par l'intermédiaire des courants de cycle induits par la circulation électronique le long du squelette de la cyclodextrine. Exception faite pour la liaison glucose (C-O-C) $\alpha(1,4)$, qui peut être réorientée vers l'extérieur de la cavité due aux interactions avec les oxygènes des liaisons éther et éthyle ester de l'amlodipine. Cette

réorientation est telle que la liaison glucose bascule d'une position axiale vers une position proche de l'équatoriale. Ceci a pour effet de diminuer l'électronégativité de l'oxygène de la liaison glucose C-O-C (liaison glucose) en $\alpha(1,4)$ et sa fréquence de vibration.

III.3.3.e. Caractérisation du complexe β -CD-I/Amlo préparé par la méthode Kneading(Kn)

Les spectres IR-TF de l'amlodipine, de la β -CD, du complexe Amlo/ β -CD préparé par la méthode Kneading(Kn) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.24).

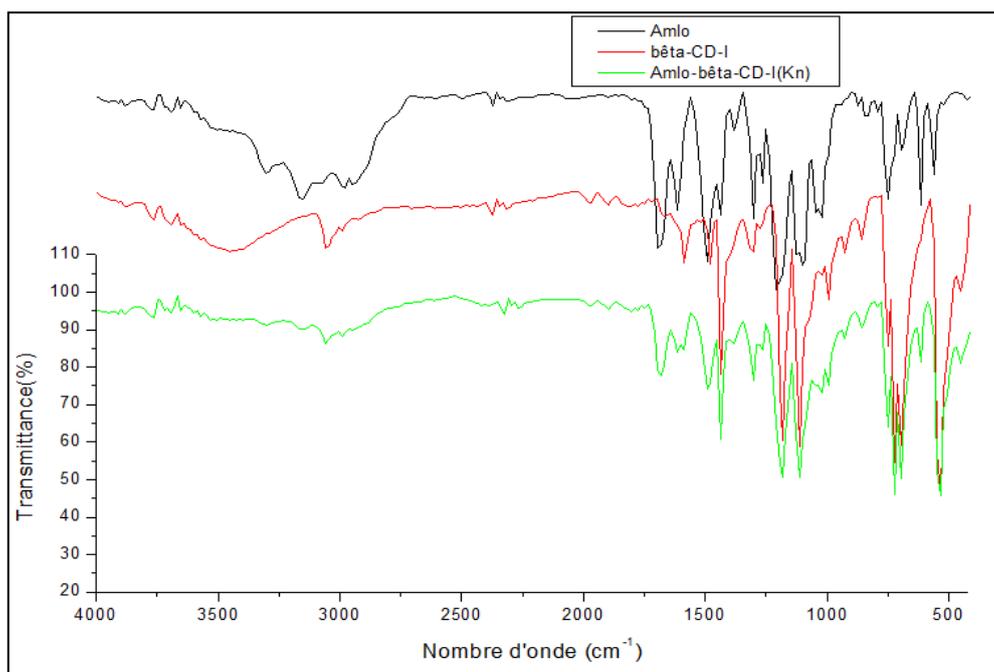


Figure III.24: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD-I/Amlo(Kn) dans le KBr.

Nous remarquons que toutes les bandes de la β -CD-I apparaissent sur le spectre du complexe β -CD-I/Amlo(Kn), mais nous notons aussi quelques bandes supplémentaires attribuées à l'amlodipine associée. Certaines d'entre elles sont décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine seule. Pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons aux régions situées entre 1800 et 900 cm^{-1} (figure III. 25).

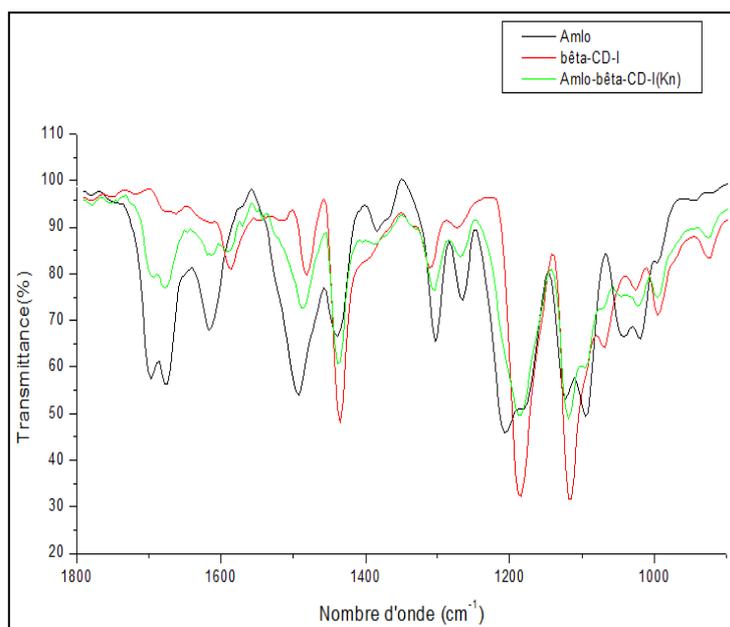


Figure III. 25: Spectres IRTF de l'Amlodipine de la β -CD et du complexe β -CD-I/Amlo(Kn) entre 1800 et 900 cm^{-1}

Le tableau III.10 résume le déplacement des bandes de l'amlodipine pure et celle associée au complexe d'inclusion.

Tableau III.10 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associée au complexe β -CD-I/Amlo(Kn).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo seul	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche du méthyle	1699,29	1695,42	-3,87
ν (C=O) ester proche de l'éthyle	1676,14	1680	-3,86
δ (NH) de l'amine primaire NH_2	1616,35	1620,21	+3,86
δ (NH) de l'amine secondaire cyclique	1492,9	1485,19	-7,71
δ_{as} (C-H) du CH_3 liée au cycle dihydropyridine	1444,58	1436,97	-7,61
ν_{as} (C-O-C) de la fonction éther	1124,5	1118,71	-5,79
ν_{s} (SO_3) élongation symétrique du groupement sulfonium	1093,64	1095,57	+1,93
δ (C-C) et δ (CH) du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	1022,27	+5,78

Nous remarquons une diminution moins importante du nombre d'onde de la vibration de la liaison éthyle ester ($-3,86 \text{ cm}^{-1}$) insérée dans la cavité par rapport à celui de la native. Ceci montre que les atomes d'iodes de la face primaire exerce une attraction très importante en raison de leur électronégativité plus élevée, sur l'ensemble des liaisons du squelette de la CD modifiée. D'où, une diminution du caractère hydrophobe de la cavité qui exerce ainsi une attraction sur les liaisons de l'amlodipine existant dans la cavité.

III.3.3.f. Caractérisation du complexe β -CD-I/Amlo préparé par mélange physique (MP)

Les spectres IR-TF de l'amlodipine, de la β -CD-I, du complexe β -CD-I/Amlo préparé par mélange physique ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.26).

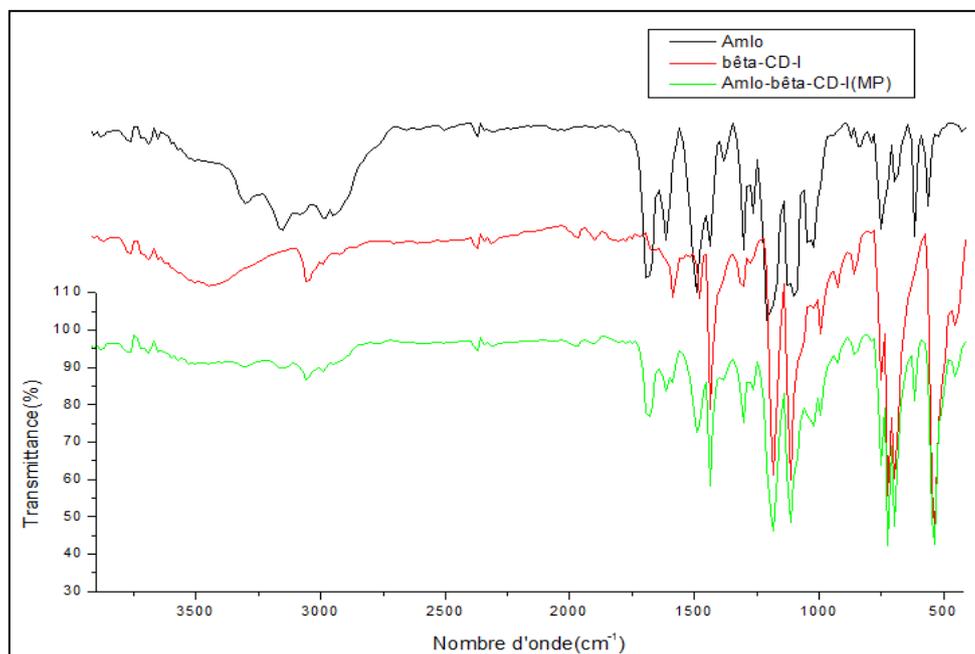


Figure III.26: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-I et du complexe β -CD-I/Amlo(MP) dans le KBr.

Nous remarquons que toutes les bandes de la β -CD-I apparaissent sur le spectre du complexe β -CD-I/Amlo(MP), mais nous observons aussi des bandes supplémentaires attribuées à l'amlodipine associée. Ces dernières sont décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine pure, pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons aux régions situées entre 1800 et 900 cm^{-1} (figure III. 27).

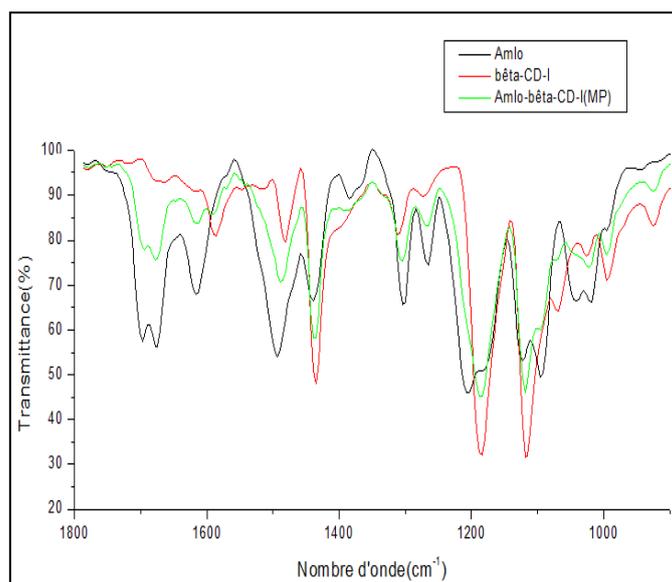


Figure III. 27: Spectres IRTF de l'Amlodipine de la β -CD-I et du complexe β -CD-I/Amlo(MP) entre 1800 et 900 cm^{-1}

Le tableau III.11 résume la différence de position des bandes de l'amlodipine pure et celle du complexe d'inclusion.

Tableau III.11 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associée au complexe β -CD-I/Amlo(MP).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo seul	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche du méthyle	1699,29	1695,43	-3,86
ν (C=O) ester proche de l'éthyle	1676,14	1674,21	-1,93
δ (NH) de l'amine primaire NH_2	1616,35	1614,42	-1,93
δ (NH) de l'amine secondaire cyclique	1492,9	1485,19	-7,71
δ_{as} (C-H) du CH_3 liée au cycle dihydropyridine	1444,58	1436,97	-7,61
ν_{as} (C-O-C) de la fonction éther	1124,5	1118,71	-5,79
ν_{s} (SO_3)	1093,64	1095,57	+1,93
δ (C-C) et δ (CH) du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	1018,41	+1,92

Comme pour le cas du complexe avec la β -CD native, nous remarquons les mêmes déplacements des bandes que pour le cas du complexe préparé avec la méthode kneading, ici

aussi l'humidité a joué le rôle de solvant, ce qui a induit les mêmes déplacements des bandes et donc la formation du même type de liaisons avec la cavité, que pour le cas de la méthode Kneading.

III.3.3.g. Caractérisation du complexe β -CD-I/Amlo préparé par évaporation solvant (évap)

Les spectres IR-TF de l'amlodipine, de la β -CD, du complexe β -CD-I/Amlo préparé par évaporation solvant (évap) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} (figure III.28).

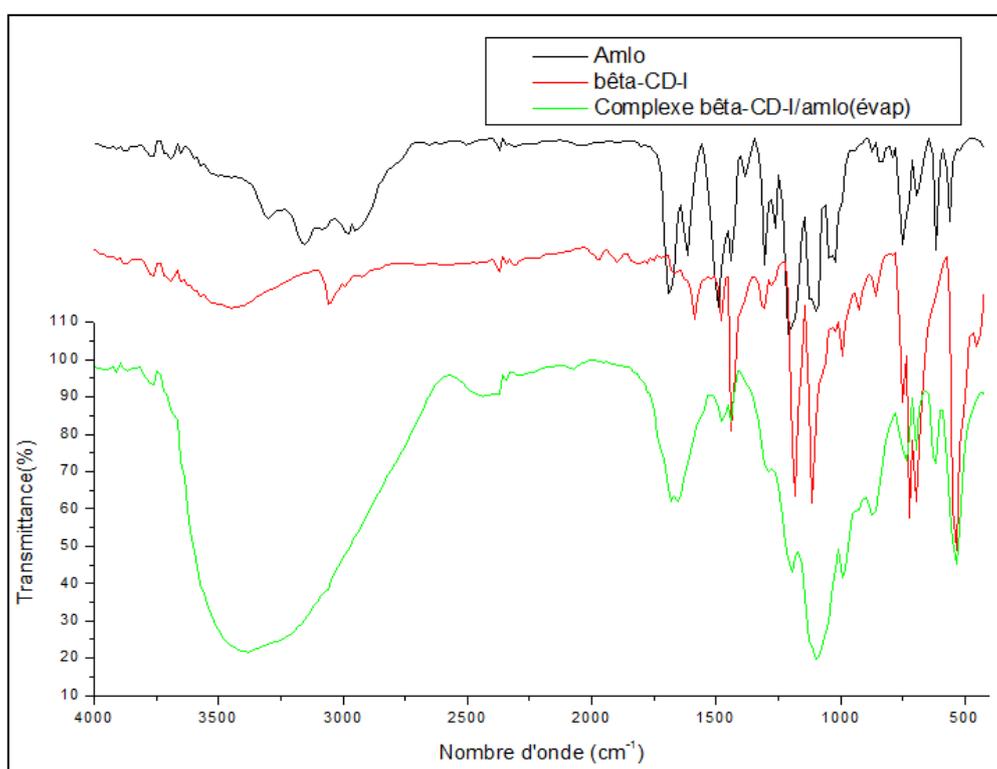


Figure III.28: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD et du complexe β -CD-I/Amlo(évap) dans le KBr.

Nous notons que toutes les bandes de la β -CD-I apparaissent sur le spectre du complexe β -CD-I/Amlo(évap), mais nous remarquons aussi des bandes supplémentaires attribuées à l'amlodipine associée. Ces dernières sont décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine pure, pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, on s'intéresse aux régions situées entre 1800 et 500 cm^{-1} (figure III. 29).

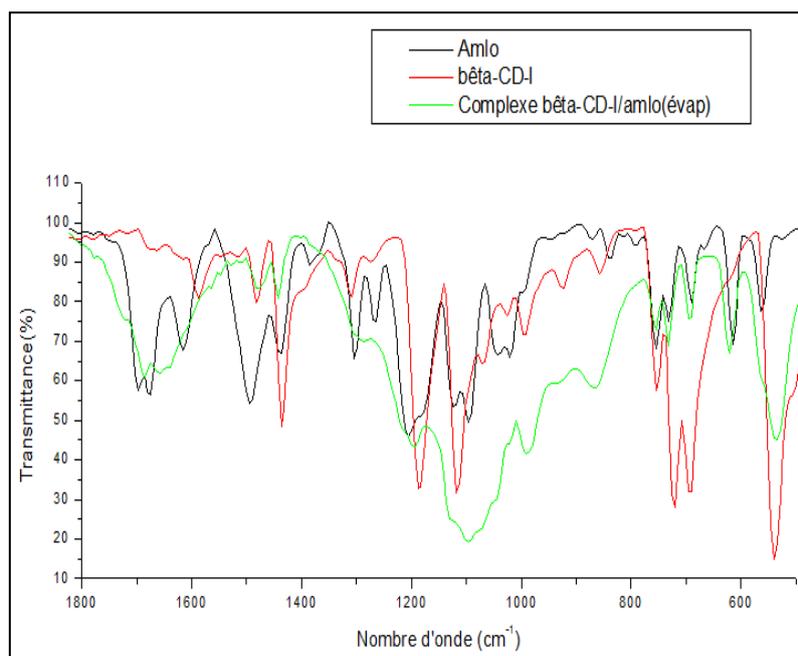


Figure III. 29: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-I et du complexe β -CD-I/Amlo(Evap) entre 1800 et 500 cm^{-1}

Le tableau III.12 résume le déplacement des bandes de l'amlodipine dans le complexe d'inclusion.

Tableau III.12 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-I/Amlo(évap).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm^{-1})		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo seul	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche du méthyle	1699,29	1720,5	+21,21
ν (C=O) ester proche de l'éthyle	1676,14	1685,79	+9,65
δ (NH)dp du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1492,9	1481,33	-11,57
δ_{as} (C-H) du CH_3 liée au cycle dihydropyridine	1444,58	1442,75	-1,83
ν_{as} (C-O-C) élongation de la fonction éther	1124,5	1128,36	+3,86
ν_{s} (SO ₃) élongation symétrique du groupement sulfonium	1093,64	1095,87	+2,23
δ (C-C) et δ (CH) du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	1022,27	-5,78

Nous remarquons en particulier l'augmentation des nombres d'onde des carbonyles des fonctions esters due à l'action de l'électronégativité des iodes sur l'ensemble des liaisons

du squelette de la CD modifiée, qui exerce une attraction plus importante sur les groupements carboxylates (électroattracteurs). Cet effet d'attraction est plus important dans le complexe préparé par évaporation de solvant, mettant en évidence l'existence d'une plus forte association de la molécule invitée avec la β -CD-I.

III.3.3. h. Caractérisation du complexe β -CD-NH₂/Amlo préparé par la méthode Kneading(Kn)

Les spectres IR-TF de l'amlopidine, de la β -CD-NH₂, du complexe β -CD-NH₂/Amlo préparé par la méthode Kneading (Kn) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm⁻¹ (figure III.30).

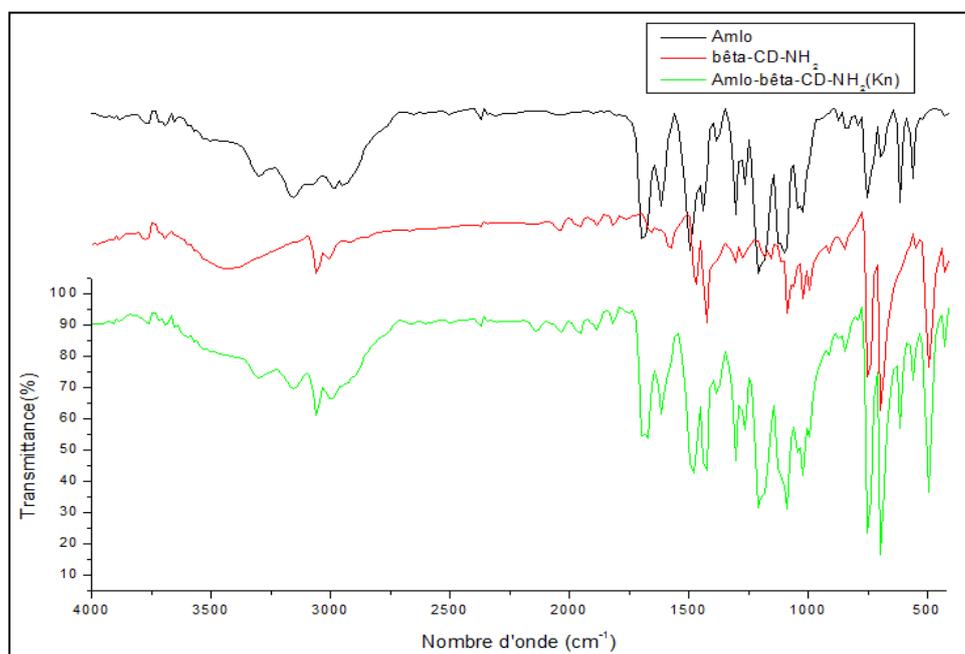


Figure III.30: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-NH₂ et du complexe β -CD-NH₂/Amlo(Kn) dans le KBr.

Nous observons toutes les bandes de la β -CD-NH₂ sur le spectre du complexe β -CD-NH₂/Amlo(Kn), mais nous remarquons aussi des bandes supplémentaires attribuées à l'amlopidine. Ces dernières sont décalées par rapport aux bandes de l'amlopidine pure, pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons aux régions situées entre 1800 et 900 cm⁻¹(figure III. 31).

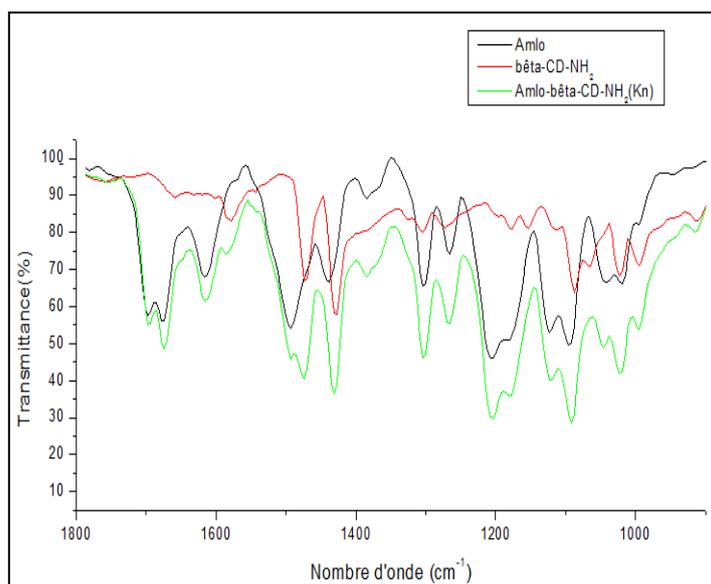


Figure III. 31: Spectres IRTF de l'Amlodipine de la β -CD-NH₂ et du complexe β -CD-NH₂/Amlodipine(Kn) entre 1800 et 900cm⁻¹

Le tableau III.13 résume le déplacement des bandes de l'amlodipine dans le complexe d'inclusion.

Tableau III.13 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associée au complexe β -CD-NH₂/Amlodipine(Kn).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm ⁻¹)		Décalage $\Delta\delta$
	Amlodipine seule	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche du méthyle	1699,29	1697,36	-1,93
ν (C=O) ester proche de l'éthyle	1676,14	1674,21	-1,93
ν (C=C) cycle dihydropyridine δ (NH) de amine secondaire cyclique	1645,28	1643,35	-1,93
δ (NH) dans le plan du groupement amine primaire NH ₂ (N27H)	1616,35	1614,42	-1,93
ν (C-C) du cycle benzénique qui porte la fonction sulfonium	1562,06	1566,2	-4,14
δ (NH)dp du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1492,9	1494,83	-1,93
δ_{as} (C-H) du CH ₃ liée au cycle dihydropyridine δ_{as} (C-H) du CH ₃ liée à l'ester proche du méthyle	1467,82	1473,62	-5,8
δ_{as} (C-H) du CH ₃ liée au cycle dihydropyridine	1444,58	1431,18	-13,4
ν_{as} (SO ₃) δ (C-H) en para du cycle dihydropyridine	1207,44	1205,51	-1,93
ν_{as} (C-O-C) élongation de la fonction éther	1124,5	1122,57	-1,93
ν_s (SO ₃) élongation symétrique du groupement sulfonium	1093,64	1089,78	-3,86

$\nu_{as}(C-C)$ de l'éthyle proche de l'amine primaire $\nu_{as}(C-N)$ de l'amine primaire	1049,28	1047,35	-1,93
$\delta(C-C)$ et $\delta(CH)$ du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	1020,34	+3,85

Toutes les bandes de l'amlodipine sont décalées vers des nombres d'ondes inférieures. Cette baisse des valeurs des fréquences montrent que les groupements amino de la face primaire sont associées par des liaisons hydrogènes, avec les groupements polaires de l'amlodipine.

III.3.3.i. Caractérisation du complexe β -CD-NH₂/Amlo préparé par évaporation solvant (évap)

Les spectres IR-TF de l'amlodipine, de la β -CD-NH₂, du complexe β -CD-NH₂/Amlo préparé par évaporation solvant(évap) ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm⁻¹ (figure III.32).

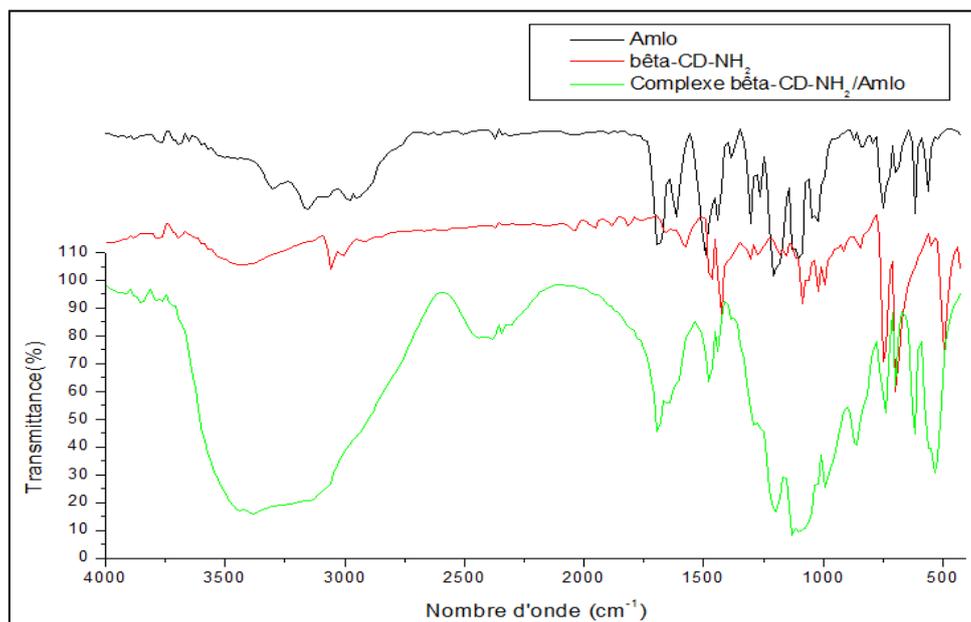


Figure III.32: Spectres IRTF de l'Amlo de la β -CD-NH₂ et du complexe β -CD-NH₂/Amlo(évap) dans le KBr.

Nous remarquons que toutes les bandes de la β -CD-NH₂ apparaissent sur le spectre du complexe β -CD-NH₂/Amlo(évap), ainsi que des bandes supplémentaires attribuées à l'amlodipine associée au complexe. Les déplacements de ces dernières par rapport aux bandes de l'amlodipine seule, sont résumés dans le tableau III.14.

Tableau III.14 : Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'Amlodipine seule et associé au complexe β -CD-NH₂/Amlo(évap).

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde (cm ⁻¹)		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo	Complexe d'inclusion	
ν (C=O) ester proche de l'éthyle	1676,14	1687,71	+11,57
ν (C=C) cycle dihydropyridine δ (NH) de amine secondaire cyclique	1645,28	1654,92	+9,67
δ (NH) dans le plan du groupement amine primaire NH ₂ (N27H)	1616,35	1608,63	-7,72
δ (NH)dp du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1492,9	1481,33	-11,57
δ_{as} (C-H) du CH ₃ liée au cycle dihydropyridine δ_{as} (C-H) du CH ₃ liée à l'ester proche du méthyle	1467,82	1469,76	-1,94
ν_{as} (C-O-C) élongation de la fonction éther	1124,5	1130,29	+5,79
ν_s (SO ₃) élongation symétrique du groupement sulfonium	1093,64	1097,5	+3,86
ν_{as} (C-C) de l'éthyle proche de l'amine primaire ν_{as} (C-N) de l'amine primaire	1049,28	1043,49	-5,79
δ (C-C) et δ (CH) du cycle benzénique liée au groupement sulfonium	1016,49	1020,34	+ 3,85

L'augmentation très nette des nombres d'ondes des fonctions esters et éthers montre l'importance de l'effet électroattracteur exercé par la cavité hydrophobe, sur les liaisons insérées dans celle-ci. En raison de l'apparition de courants de cycle le long du squelette de la CD modifiée, induits par les azotes des groupements amino de la face primaire.

CONCLUSION

CONCLUSION

Au terme de cette étude, réalisée dans le but de fonctionnaliser la β -cyclodextrine afin de l'utiliser en tant qu'agent d'inclusion pour la complexation de l'amlodipine, nous avons obtenu les principaux résultats suivants :

✓ Pour la fonctionnalisation :

Le protocole expérimental suivi pour la modification chimique de la β -CD est réalisé en trois étapes :

- Pour l'iodation de la β -CD nous avons remarqué que :

L'augmentation du temps d'agitation pendant lequel on ajoute I_2 permet d'avoir de meilleurs résultats avec un temps plus prolongé égal à 3h. Ceci est expliqué par une cinétique plus lente au départ lors de la formation de l'iodure de Vilsmeier, responsable du déplacement nucléophile des alcools primaires de la β -CD et ainsi de la formation de la Per-6-Iodo- β -CD.

La réduction du volume du mélange avant de le traiter avec le méthanolate de sodium a permis une meilleure purification en éliminant les formiates et l'oxyde de $P(Ph)_3$.

La méthode de purification a une grande influence sur les résultats obtenus. Ceci a été confirmé par analyse IRTF, qui montre que la purification par extraction au Soxhlet induit plus de pertes par dissolution, alors que la séparation par filtration a conduit à un meilleur rendement en produit iodé solide (Iodo- β -CD).

L'optimisation de la réaction par variation des quantités de $P(Ph)_3$ (médiateur) et de I_2 a permis d'aboutir à de meilleurs rendements (92,53%) en produit, en minimisant la quantité d'impuretés. De plus, l'utilisation d'un pH basique (9-10) a permis de mieux éliminer les formiates et l'oxyde de $P(Ph)_3$.

L'analyse UV-visible des solutions d'Iodo- β -CD a mis en évidence l'existence d'une bande d'absorption caractéristique de ce dérivé.

- Pour l'azidation

Le dérivé azido (β -CD- N_3) obtenu à partir du dérivé iodé a été analysé par infrarouge, ce qui a permis de l'identifier grâce à la bande d'élongation à 2054 cm^{-1} des liaisons du groupement $-N_3$ substitué en position C-6.

- Pour l'amination

Le dérivé amino (β -CD- NH_2) obtenu à partir du dérivé azidé a été également analysé par infrarouge, qui montre l'existence d'une bande caractéristique de déformation dans le plan à 1577 cm^{-1} des liaisons N-H appartenant au groupement NH_2 .

- ✓ Pour la complexation de l'amlodipine par les β -CD modifiées et native :

- Propriétés physico-chimiques du complexe d'inclusion :

Afin de déterminer la stœchiométrie du complexe formé et évaluer la constante d'association, nous avons utilisé la méthode du diagramme de solubilité de Higuchi-Connors.

Nous avons conclu grâce au diagramme de solubilité, que pour la β -CD native et la β -CD- NH_2 nous avons une isotherme de type A_L . Ce profil est attribué à la formation de complexe 1 :1. Par contre pour la β -CD-I, on a un profil de type B_s qui indique la formation d'un complexe à solubilité limitée.

La comparaison de la complexation de l'amlodipine avec la β -CD native et avec la β -CD- NH_2 a permis de repérer deux domaines de linéarité et deux comportements de la solubilité de l'amlodipine en fonction de l'ajout des cyclodextrines.

Les valeurs des constantes de stabilité K_s obtenues ont permis de conclure que pour de faibles concentrations en cyclodextrine, la complexation avec la β -CD- NH_2 permet de mieux solubiliser l'amlodipine, par contre pour des concentrations plus élevées (ratio >1) nous aurons une meilleure solubilité de l'amlodipine par complexation avec la β -CD native.

- Préparation et caractérisation des complexes d'inclusion :

Les trois complexes β -CD/Aml, β -CD-I/Aml et β -CD- NH_2 /Aml ont été préparés par trois méthodes différentes, le malaxage (Kneading), le mélange physique, et l'évaporation de solvant.

L'analyse par UV-visible a mis en évidence la formation de trois bandes très intéressantes dans les complexes β -CD modifiés/ amlodipine, et grâce aux règles de calculs de Woodward-Fieser nous avons pu attribuer la longueur d'onde maximale 215nm aux fonctions esters, celle à 241nm au groupement 2-chlorophényle, tandis que la longueur d'onde 367 nm

correspond au chromophore le plus important, qui est le noyau 1,4-dihydropyridine substitué en 2, 3, 4, 5 et 6.

L'analyse IR a dévoilé grâce aux largeurs et aux déplacements plus importants des bandes, que la méthode d'évaporation du solvant est la plus efficace pour former quantitativement des complexes d'inclusion.

- ✓ En perspective, nous montrons que:
 - le procédé de modification chimique peut être amélioré par diminution de la quantité de $P(Ph)_3$ jusqu'à un seuil minimal (15-20%) peut être réalisée.
 - Il est préférable d'utiliser des réactifs chimiques synthétisés au préalable tels que le méthanolate de sodium.
 - Opter pour une méthode de purification des cyclodextrines modifiées, comme la LC préparative d'exclusion stérique ou de gel perméation, serait plus efficace et plus sélectif.
 - La variation de certains paramètres tels que le pH et la température, permet d'optimiser la préparation des complexes en solution.
 - Une étude de la cinétique de libération de l'amlodipine dans différents milieux pourrait être réalisée pour tester les complexes formés.

Enfin, nous pouvons donner suite à cette étude par l'application de ces complexes d'inclusion dans diverses formulations de médicaments dans le domaine pharmaceutique.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Tekendra Pant, Kanchan Mishra, Robhash Kusam Subedi, *In vitro studies of amlodipine besylate tablet and comparison with foreign brand leader in nepal*, IJPSR, 2013, 4, 3958-3964.
2. Javadzadeha Y., Siahi-Shadbada M.R., Barzegar-Jalalia M., Nokhodchi A., *Enhancement of dissolution rate of piroxicam using liquisolid compacts*, Farmaco., 2005, 60, 361-365.
3. JACQUET R., *Cyclodextrines hydrophiles : caractérisation et étude de leurs propriétés énantiométrique et complexante. Utilisation de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse*, Thèse de l'Université D'ORLEANS, Discipline : Chimie et physicochimie des composés d'intérêt biologique, Novembre 2006.
4. Perly B., Azaroual-Bellanger N., Djedaïni-Pilard F., *Dérivés de cyclodextrine, utilisable pour solubiliser des composés chimiques hydrophobes tels que des médicaments et leurs procédés de préparation*, n° du Brevet : EP 0736044 B1, juin 1995.
5. HANNA K., *Etude de faisabilité de l'utilisation de molécules "cage" dans la dépollution des sols : Solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines*, Thèse de l'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, Spécialité : Sciences et techniques du déchet, Novembre 2004.
6. BAKKOUR Y., *Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des cyclodextrines natives et polymérisées*, Thèse de l'Université des Sciences et Technologies de Lille 1, Mention: Chimie Organique et Macromoléculaire, juillet 2005.
7. SALLAS F., *Méthodologies de fonctionnalisation directe, Etude structurale et physico-chimique de nouveaux dérivés de cyclodextrines*, Thèse de l'Université HENRI POINCARÉ, NANCY-1, Mention Sciences du Médicament, Juillet 1996.

8. BISSON-BOUTELLIEZ C., *Desulfovibrio spp. dans la maladie parodontale : Interactions avec les cellules épithéliales KB et activité de l'amoxicilline libre ou complexée sur ses formes extracellulaires et intracellulaires*, Thèse de l'Université HENRI POINCARÉ, Nancy-1, Mention Pharmacologie, Novembre 2009.
9. WEISSE S., *Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A : stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée*. Thèse de l'Université Paris XI, FACULTE DE PHARMACIE DE CHÂTENAY-MALABRY, 2002.
10. PATRIGEON J., *Elaboration de ligands bidentates supramoléculaires par auto-assemblage de cyclodextrines modifiées et de phosphines hydrosolubles - application a la catalyse en milieu aqueux*, Thèse de L'Université D'ARTOIS, FACULTÉ DES SCIENCES JEAN PERRIN, Juillet 2010.
11. Szejtli J., *Past, present, and future of cyclodextrin research*, Pure Appl. Chem., 2004, 76, 1825-1845.
12. BENHADI S., *Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement Corona sur matériaux cellulosiques*, Thèse de l'Université Henri Poincaré Nancy-1, Spécialité Chimie-physique, Novembre 2010.
13. Szejtli J., *Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry*, Chem. Rev., 1998, 98, 1743-1753.
14. KARAKASYAN C., *Fonctionnalisation de surfaces par l'intermédiaire du couple ADAMANTANE/ β -Cyclodextrine ; application du procédé pour l'élaboration d'un immunocapteur*, Thèse de doctorat de l'Université PARIS XXII, Spécialité : Physico-Chimie des Polymères, Juin 2005
15. STELLA V., RAJEWSKI R.A., *Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery*. Pharm. Res., 1997, 14, 556–5567.

16. THARIN M., *Synthèse de polyéthers linéaires et cycliques substitués par des cyclodextrines. Applications en chromatographie gazeuse et électrophorèse capillaire*, Thèse de l'Université de Neuchâtel, Mai 2002.
17. BALOU G. R., *Synthèse de glycophanes à partir du D-glucal*, Thèse de l'Université HENRI POINCARÉ, Nancy-1, en Chimie et Physicochimie, Novembre 2008.
18. Atwood J. L., D. Davies J. E., Macnicol D., Vögtle F., « *Comprehensive Supramolecular Chemistry, Vol.3 : Cyclodextrins* », Pergamon, 1996.
19. CASTAGNE D., *Etude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques*, Thèse de l'Université de Liège, en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques, 2009-2010.
20. MOUTARD S., *Relation entre la structure et les propriétés d'organisation de nouvelles cyclodextrines amphiphiles*, Thèse de l'Université de Picardie Jules Verne, 2003.
21. Kahn A. R., Forgo P., Stine K. J., D'Souza V. T., *Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins*, Chem. Rev., 1998, 98, 1977-1996
22. Atwood J. L., D. Davies J. E., Macnicol D., Vögtle F., « *Comprehensive Supramolecular Chemistry, Vol.3 : Cyclodextrins* », Pergamon, 1996.
23. Szente L., Szejtli, *Highly soluble cyclodextrine derivatives: chemistry, properties, and trends in development*, J., Adv. Drug. Deliv. Rev., 1999, 36, 17-28.
24. Croft A. P., Bartsch R. A., *Synthesis of chemically modified cyclodextrins*, Tetrahedron, 1983, 39, 1417-1474.
25. Lautsch Von W., Wiechert R., Lehmann H., *Kolloid-Ztg.* 1954, 135, 134
26. Umezawa S., Tatsuta K., *Bull. Chem. Soc. J. pn.* 1968, 41, 464-468

27. Cramer F., Mackensen G., Senses K., *On ring compounds. XX. ORD-spectra and conformation of the glucose ring in cyclodextrins*, *Chem. Ber.* 1969, 102, 494-508.
28. Breslow R., Czarniecki M. F., Emert J., Hamagushi H., *Improved acylation rates within cyclodextrin complexes from flexible capping of the cyclodextrin and from adjustment of the substrate geometry*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, 102, 762-770
29. Ashton P. R., Elwood P., Staton I., Stoddart J. F., *Synthesis and Characterization of Per-3,6-anhydro Cyclodextrins*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1991, 1, 80-81
30. Ashton P. R., Elwood P., Staton I., Stoddart J. F., *Per-3,6-anhydro-.alpha.-cyclodextrin and per-3,6-anhydro-.beta.-cyclodextrin*, *J. Org. Chem.* 1991, 56, 7274-7280
31. YAMAMURA H., FUJITA K., *Preparation of Heptakis(6-O-(p-tosyl))-β-cyclodextrin and Heptakis(6-O-(p-tosyl))-2-O-(p-tosyl)-β-cyclodextrin and their Conversion to Heptakis(3,6-anhydro)-β-cyclodextrin*, *Chem. Pharm. Bull.*, 1991, 39, 2505-2508.
32. Takeo K., Sumimoto T., Kuge T., *An Improved Synthesis of 6-Deoxy-Analogues of Cyclodextrins and Amylose. Further Interpretations of the Proton Magnetic Resonance Spectra of the Peracetates of Cyclodextrins and Amylose*, *Starch* 1974, 26, 111-118.
33. Gadelle, A.; Defaye, *Selective halogenation at primary positions of cyclomaltooligosaccharides and a synthesis of per-3,6-anhydro cyclomaltooligosaccharides*, *J. Ange. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1991, 30, 78-80.
34. Gorin B. I., Riopelle R. J., Thatcher G. R.J., *Efficient Perfacial Derivatization of Cyclodextrins at the Primary Face*, *Tetrahedron Lett.*, 1996, 37, 4647-4650
35. Chmurski K., Defaye J., *An improved synthesis of 6-deoxyhalo cyclodextrins via halomethylenemorpholinium halides Vilsmeier-Haack type reagents*; *Tetrahedron Lett.*, 1997, 38, 7365-7368

36. Chmurski K., Defaye J., *An Improved Synthesis of Per(6-Deoxyhalo) Cyclodextrins Using N-Halosuccinimides —Triphenylphosphine in Dimethylformamide*, *Supramol. Chem.* 2000, 12, 221-224.
37. BOGER J., Richard J. Corcoran, Jean-Marie Lehn, *Cyclodextrin chemistry. Selective modification of all primary hydroxyl groups of α - and β -cyclodextrins*, *helv. Chim. Acta. journal*, 1978, 61,2191-2218
38. TAMAGAKI S., TAKAHASHI M., KANAMORI J., TAGAKI W., *Schiff bases formed between pyridoxal 5'-phosphate and Amino- β -cyclodextrins: Intramolecular remote ion pair interactions of the phosphate with ammonium moieties*, *Supramol. Chem.*, 1994, 4, 159-164.
39. PARROT-LOPEZ H., LING C-C., ZHANG P., BASZKIN A., ALBRECHT G., DE RANGO C., COLEMAN A. W., *Self-assembling systems of the amphiphilic cationic per-6-amino-.beta.-cyclodextrin 2,3-di-O-alkyl ethers*, *J. Am. Chem.Soc.*, 1992, 114, 5479-5480
40. Peter R. Ashton, Rainer Königer, and J. Fraser Stoddart, *Amino Acid Derivatives of β -Cyclodextrin*, *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 903-908.
41. FLEURY G., *Des polyrotaxanes de haute masse moléculaire au réseau topologique : les gels à points de réticulation glissants*, Thèse de Doctorat de l'Université Louis Pasteur – Strasbourg I, en chimie et science des matériaux, Décembre 2005.
42. Martin del Valle E., *Cyclodextrins and their uses: a review*, *Proc. Biochem.*, 2004, 39 1033-1046.
43. Pravin N., Basaheb A., Neha D., Vilasro K., Rajashree H., *Solid state characterization of the inclusion complex of valsartan with methyl- β -cyclodextrin*, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2009, 65, 377-383.

44. Shyam S., Bhaskar C., Prajakta S., *Cyclodextrins: Application in different routes of drug administration*, Acta Pharm., 2005, 55 , 139–156.
45. Nagabhushanam M. V., *Formulation studies on cyclodextrin complexes of piroxicam*, Rasayan J. Chem., 2010, 3, 314-320
46. Dua K., Pabreja K., Ramana M. V., Lather V., *Dissolution behavior of β -cyclodextrin molecular inclusion complexes of aceclofenac*, J. Pharm. Bioallied. Sci., 2011, 3, 417-425.
47. Vaysse-Dufaure J., *Apport de la Résonance Magnétique Nucléaire pour le contrôle et la qualité de médicaments conventionnels, de phytomédicaments et de compléments alimentaires*, Thèse de l'Université de TOULOUSE III, spécialité : *Chimie - Biologie – Santé*, Décembre 2011
48. Mehta S.K., Bhasin K.K., S. Dham, *Energetically favorable interactions between diclofenac sodium and cyclodextrin molecules in aqueous media*, Journal of Colloid and Interface. Science, 2008, 326, 374-381.
49. Acerbi D., Bovis G., Carli F., Pasini M., Pavesi L., Peveri T., *Biopharmaceutical optimisation of beta-cyclodextrins inclusion compounds*. Drug investment.,1990, 2, 29-36.
50. Gibaud S., Zirar SB., Mutzenhardt P., Fries I., Astier A., *Melarsoprol-cyclodextrins inclusion complexes*, Int. J. Pharm., 2005, 306, 107-121.
51. Kavirajaa P. S., Sharifah Mohamad, Norazilawati M. S., Nor Atiqah I., *Synthesis and Characterization of the Inclusion Complex of β -cyclodextrin and Azomethine* Int. J. Mol. Sci. 2013, 14, 3671-3682
52. Van Axel Castelli V., Trivieri G., Zucchelli I., Brambilla L., Barbuzzi T., Castiglioni C., Paci M., Zerbi G., Zanol M., *Characterisation of an inclusion complex between cladribine and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin*, J. Pharm. Sci., 2008, 97, 3897-3906.

53. Al Omari M.M., Daraghmeih NH., El-Barghouthi M.I., Zughul M.B., Chowdhry B.Z., Leharne S.A., Badwan A.A., *Novel inclusion complex of ibuprofen tromethamine with cyclodextrins: Physicochemical characterization*. J. Pharm. Biomed. Anal., 2009, 50, 449-458.
54. Higuchi T., Connors K.A., Phase-solubility techniques, *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, 1965, 4, 117-212.
55. ARUN RASHEED, ASHOK KUMAR C. K., SRAVANTHI V.V.N.S.S., *Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review*, Sci Pharm. 2008; 76; 567–598.
56. Magnúsdóttir A., Másson M., Loftsson T., *Self Association and Cyclodextrin Solubilization of NSAIDs*, *J. Incl. Phenom. Macroc.Chem.*, 2002, 44, 213-218.
57. Piel. G, Moutard. S, Perly. B, Henry de Hassonville. S, Bertholet. P, Barillaro. V, Piette. M, Delattre. L, Evrard. B., *Comparison of two methods currently used to determine the interaction between cyclodextrins and drugs*, J. Drug Del. Sci. Tech., 2004, 14, 87 – 91.
58. Loftsson, 1998b ; Duchêne, 1987 ; Chem. review, 1998
59. Regiert M., *Light-stable vitamin E by inclusion in γ -cyclodextrin*, SOFW JOURNAL, 2006,131, 10-18.
60. Sekharan T.R., Sudha P., Palanichamy S., Thanga Thirupathi A., *Formulation and evaluation of acid stabilized lansoprazole oral tablet by forming inclusion complex with the combination of cyclodextrin and tromethamine*, Journal of Pharmacy Research., 2010, 3, 3018-3022.
61. Fauvelle F. et Debouzy J.C., *What can we do with cyclodextrins?* Annales pharmaceutiques françaises, 2001, 59, 363-5.

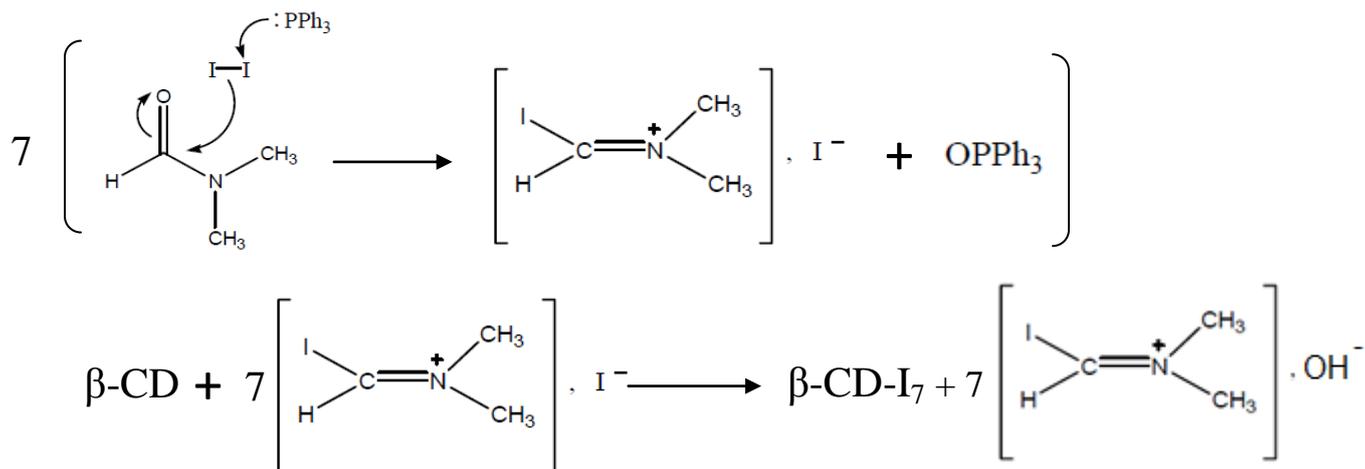
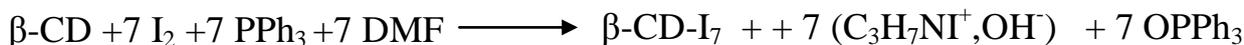
62. Linde G.A., Laverde A., Vaz de Faria E., Barros Colauto N., Faria de Moraes F., Zanin G. M., *Taste modification of amino acids and protein hydrolysate by α -cyclodextrin*, Food research international., 2009, 42, 814-818.
63. Beni, S., Z. Szakacs, O. Csernak, L. Barcza, and B. Noszal., *Cyclodextrin/imatinib complexation: binding mode and charge dependent stabilities*, Eur. J. Pharm. Sci., 2007, 30, 167-174.
64. McCormack, P. L., et Scott L. J., *Diclofenac sodium injection (Dyloject): in postoperative pain*. Drugs, 2008, 68, 123-130.
65. Perly B. et Pilard F., *Cyclodextrins and their applications*, Clefs CEA., 1997, 35, 32-43.
66. Astray G., Gonzalez-Barreiro C., Mejuto J.C., R. Rial-OteroR., Simal-Gandara J., *A review on the use of cyclodextrins in foods*, Food Hydrocolloids, 2009, 23, 1631-1640.
67. Ruijiao Dong, Linzhu Zhou, Jieli Wu, Chunlai Tu, Yue Su, Bangshang Zhu, Hongchen Gu, Deyue Yan, Xinyuan Zhu, *A Supramolecular Approach to the Preparation of Charge-Tunable Dendritic Polycations for Efficient Gene Delivery*, Supplementary Material (ESI) for Chemical Communications This journal is (c) The Royal Society of Chemistry 2011.
68. Alker, D., Harding, V. D., *Amino Acid Derivatives of β -Cyclodextrin*, J. Org. Chem. 1996, 61, 903-908.
69. Hui Zhao, Han Feng Cui, Lin Cheng, Hao Fan, *An Electrochemical Sensor for DNA Detection based Metal Nanoparticle Modified with Cyclodextrins*, J. New Mat. Electrochem. Systems, 2013, 16.
70. Carey Richard F.A., Sundberg J., *«Advanced Organic Chemistry: Structure and Mechanisms, Part A: Structure and Mechanisms»*, mai 2008, Fifth Edition

71. Krishna P. Kaliappan, Function Group Transformations, Cours de synthèse organique, INDIAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY BOMBAY.
72. R-M.SILVERSTEIN, F.WEBSTER, D-J.KIEMLE, *Identification spectrométrique de composés organiques*, 2^{ème} édition de boeck 2007.
73. MAHAMMEDI F., *Modification de l'amidon et l'étude de ses propriétés en solution*, Mémoire de Magister en chimie, Option: Chimie et Physico-Chimie Organiques Macromoléculaires, Université ABOU-BAKR BELKAID – TLEMCEM, 2010.
74. Goodfellow, B. J., et Wilson R. H., *A Fourier transform IR study of the gelation of amylose and amylopectin*. Biopolymers, 1990, 30, 1183–1189.
75. Van Soest, J. J. G., Tournois, H., de Wit, D., Vliegenthart, J. F. G., *Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy*, Carbohydrate Research, 1995, 279, 201–214.
76. Irudayaraj, J., Yang, H., *Depth profiling of a heterogeneous food-packing model using step-scan Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy*, Journal of Food Engineering, , 2002, 55, 25–33.
77. Xueju (Sherry) Xie, Qiang Liu, Steve W. Cui, *Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates*, Food Research International, 2006, 39, 332–341.
78. Stanculescu I., Dobrica I., Mandravel C., Mindrila G., *FTIR and molecular modeling study of the interaction between β -cyclodextrin and polychlorobiphenyls*, Annals of University of Bucharest, 2010, 19, 47 – 52.
79. Hart H., Craine L. E., Hart D. J., Hadad C. M., Girouard S., Lapierre D., *Chimie Organique 1 – Chapitre 8 – Complément* © 2008, Les Éditions de la Chenelière inc.

- 80.** National Institute of Standards and technology, Webbook, <http://webbook.nist.gov/chemistry>, 2011
- 80a. Smith, A.L., *The Coblentz Society Desk Book of Infrared Spectra* in Carver, C.D., editor, *The Coblentz Society Desk Book of Infrared Spectra, Second Edition*, The Coblentz Society:Kirkwood, MO, 1982, pp 1-24. (citée à l'intérieur de [72]).
- 80b. D. E. Gray, ed., *American Institute of Physics Handbook, Third Edition*, McGraw Hill:New York, 1972. (citée à l'intérieur de [72]).
- 81.** National Institute of Standards and technology, Webbook, <http://webbook.nist.gov/chemistry>, 2011.
- 82.** Rüdiger W. Seidel, Bojidarka B. Koleva, *β -Cyclodextrin 10-hydrate*, Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online, 2009, 65, 3162–3163.
- 83.** Clarissa Xavier R., Ana Paula C. Silva, Liege C. Schwingel, Greice S. Borghetti, Letícia S. Koester, Paulo Mayorga, Helder F. Teixeira e Valquiria L. Bassani, *Improvement of GENISTEIN content in solid GENISTEIN/ β -cyclodextrin complexes*, Quim. Nova, 2010, 33, 587-590.
- 84.** ZAYDOUN S., *Les méthodes spectroscopiques*, cours de chimie analytique, Faculté des Sciences Rabat, 2010.
- 85.** Bencini M., Ranucci E., Ferruti P., Trotta F., Donalisio M., Cornaglia M., Lembo D., Cavalli R., *Preparation and in vitro evaluation of the antiviral activity of the Acyclovir complex of a β -cyclodextrin/poly(amidoamine) copolymer*, Journal of Controlled Release, 2008, 126, 17–25.
- 86.** Philippe Galez, *Techniques spectroscopiques d'analyse / Spectrométrie Infrarouge*, Cours De Mesures Physiques Annecy, 2011, Source : Michigan State University (www.cem.msu.edu).
- 87.** PHARMACOPÉE EUROPÉENNE, 6^{ème} Edition, Tome 1, 2008

- 88.** Monographie de GD-amlodipine (bésylate d'amlodipine) Pfizer Canada inc., novembre 2013.
- 89.** Bradea O., Kacso I., Borodi G., Bende A., Bratu I., *Complexation of Amlodipine Besylate with β -Cyclodextrin*, Acta Chim. Slov., 2012, 59, 18–23.
- 90.** Ramnik Singh, Nitin Bharti, Jyotsana Madan, Hiremath S. N., *Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review*, Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2010, 2, 171-183.
- 91.** SILVERSTEIN, BASLER, MORILL, *Identification spectrométrique de composés organiques*, 5^{ème} édition de boeck 2007.
- 92.** R. A. Abramovitch, *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Pyridine and Its Derivatives*, Edition John Wiley et sons, 1974
- 93.** Szabo L., Chis V., Pirnau A., Leopold N., Cozar O. , Orosz Sz., *Spectroscopic and theoretical study of amlodipine besylate*, Journal of Molecular Structure, 2009, 924–926, 385–392.

ANNEXES

❖ La réaction d'iodation de la β -CD :**Réaction globale:**

- $n_{\beta\text{-CD}} = \frac{5}{1135} = 4,405 \text{ mmol}$
- $m_{\beta\text{-CD-I}_7} = 4,405 \times 10^{-3} \times 1904,3 = 8,3884 \text{ g}$
- $7 \text{ moles PPh}_3 \longrightarrow 1 \text{ mole } \beta\text{-CD}$
 $? \longrightarrow 4,405 \text{ mmol} \quad \Rightarrow n(\text{PPh}_3) = 30,835 \text{ mmol}$
- $m_{\text{P(Ph)}_3} = 30,835 \times 10^{-3} \times 162,29 = 8,0877 \text{ g}$
- $m_{\text{I}_2} = 30,835 \times 10^{-3} \times 253,8 = 7,8640 \text{ g}$
- $n_{\text{DMF}} = \frac{\rho \times V}{M} \Rightarrow V = \frac{n \times M}{\rho(\text{DMF})}$
 $\Rightarrow V = \frac{30,835 \times 10^{-3} \times 73,094}{0,944} = 2,388 \text{ ml}$ (volume de DMF participant à la réaction)

Les quantités des réactifs nécessaires à la réaction d'iodation sont résumés dans le tableau A.1.

Tableau A : Quantités nécessaires pour réaliser la réaction d'iodation.

Réaction globale	$\beta\text{-CD}$	$+ 7 \text{I}_2$	$+ 7 \text{PPh}_3$	$+ 7 \text{DMF} \longrightarrow$	$\beta\text{-CD-I}_7$	$+ 7 (\text{C}_3\text{H}_7\text{NI}^+, \text{OH}^-)$	$+ 7 \text{OPPh}_3$
n(mmol)	4,405	30,835	30,835	30,835	4,405	30,835	30,835
m(g)	5	7,8640	8,0877	2,388	8,3884	6,1948	8,5811

1. MATIERES PREMIERES

❖ Dihydrogénophosphate de potassium

Le phosphate monopotassique (KH_2PO_4), pur à 99,5%, utilisé pour préparer les solutions tampons, a été fourni par Biochem Chemopharma (Montréal, Québec).

❖ Hydroxyde de sodium

L'hydroxyde de sodium (NaOH), pur à 98%, a été fourni par PROLABO, (France).

2. PREPARATION DE LA SOLUTION TAMPON PH=6,8 [80]

Dans une fiole de 500ml, on met 125ml d'une solution de phosphate monopotassique à 0,2M et 56ml d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,2 M, on complète puis on ajuste le pH à 6,8 avec l'une des deux solutions.

- La solution de phosphate monopotassique à 0,2 M est préparée en faisant dissoudre 13,4413g de phosphate monopotassique dans 500ml d'eau distillée.
- La solution d'hydroxyde de sodium à 0,2 M est préparée en faisant dissoudre 3,96g de NaOH (99%) dans 500ml d'eau distillée.

❖ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le tampon à pH=6,8

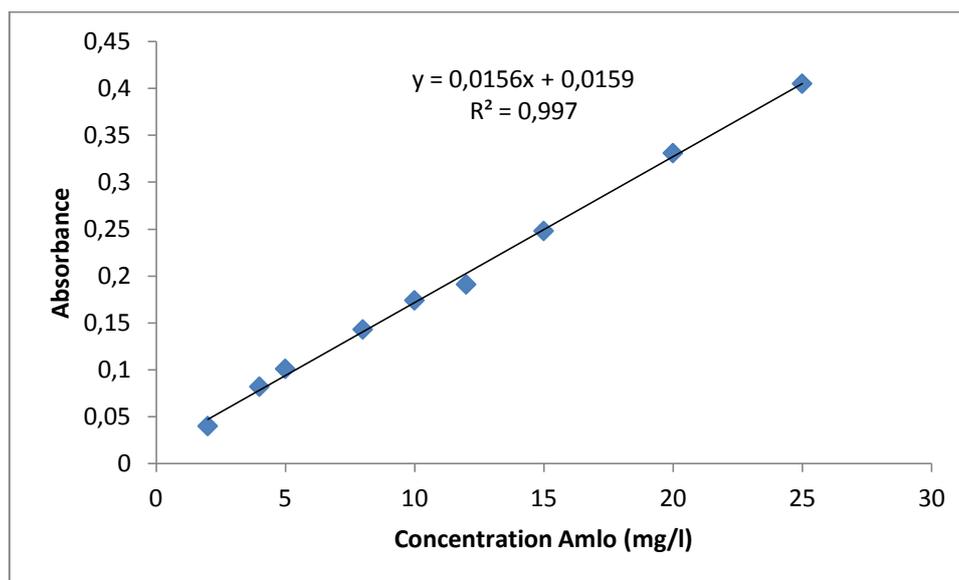
La courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le milieu tampon (pH=6,8) a été réalisée à l'aide d'une solution mère d'amlodipine de 500 mg/l, des dilutions ont été ensuite préparées, pour obtenir des solutions filles qui sont analysées par spectrophotométrie UV-Visible de marque **Optizen**.

L'analyse des neuf solutions étalons par spectroscopie UV-visible ($\lambda_{\max}=367\text{nm}$) a donné les résultats suivants (tableau C).

Tableau C : Quantification par spectroscopie UV-visible des solutions étalons.

Concentration Amlo(mg/l)	2	4	5	8	10	12	15	20	25
Absorbance	0,04	0,082	0,101	0,143	0,174	0,191	0,248	0,331	0,405

La courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le milieu tampon (pH=6,8) est représentée sur la figure C.

**Figure C**: Courbe d'étalonnage de l'amlodipine dans le milieu tampon (pH=6,8)à $\lambda_{\max} = 367 \text{ nm}$

❖ Calculs des longueurs d'onde maximales :

- Les fonctions esters :
 - En position 5 sur le noyau dihydropyridine,

$$\begin{aligned} \lambda_{\text{base}}[\mathbf{91}] &= 195 \text{ nm (ester } \alpha, \beta \text{ insaturée)} \\ &+ 10 \text{ nm (résidu de cycle en } \alpha) \\ &+ 17 \text{ nm (OR en } \gamma) \\ \hline \lambda_{\text{cal/ETOH}} &= 222 \text{ nm} \Rightarrow \lambda_{\text{cal/H}_2\text{O}} = 222 - 8 \text{ nm} = \mathbf{214 \text{ nm}}; \quad \lambda_{\text{exp}} = 215 \text{ nm} \end{aligned}$$

- En position 3 sur le noyau dihydropyridine,

$$\begin{aligned} \lambda_{\text{base}}[\mathbf{91}] &= 195 \text{ nm (ester } \alpha, \beta \text{ insaturée)} \\ &+ 10 \text{ nm (résidu de cycle en } \alpha) \\ &+ 12 \text{ nm (OR en } \beta) \\ \hline \lambda_{\text{cal/ETOH}} &= 217 \text{ nm} \Rightarrow \lambda_{\text{cal/H}_2\text{O}} = (217 - 8) \text{ nm} = \mathbf{209 \text{ nm}}; \quad \lambda_{\text{exp}} = 215 \text{ nm} \end{aligned}$$

Nous concluons que la valeur calculée 214 nm correspondant à la fonction ethyle ester en position 5 tend plus vers la valeur expérimentale 215 nm. Celle de la deuxième fonction méthyle ester substituée en position 3 estimée à 209 nm s'éloigne légèrement de la valeur expérimentale. Mais du fait que la bande expérimentale est à la fois intense et large, elle peut être le résultat d'un recouvrement des deux bandes d'absorption des deux fonctions esters de longueurs d'onde très proches.

- 2-chlorophényle :

$$\begin{aligned} \lambda_{\text{base}}[\mathbf{91}] &= 254 \text{ nm} \\ &+ 0 \text{ nm (Cl en ortho)} \\ \hline \lambda_{\text{cal/ETOH}} &= 254 \text{ nm} \Rightarrow \lambda_{\text{cal/H}_2\text{O}} = (254 - 8) \text{ nm} = \mathbf{246 \text{ nm}}; \quad \lambda_{\text{exp}} = 241 \text{ nm}. \end{aligned}$$

L'écart entre la valeur expérimentale et la valeur calculée est de 5 nm est dans la limite de tolérance prévue par les règles de Woodward-Fieser. Donc, nous pouvons considérer que la bande à 241 nm est attribuée au radical 2-chlorophényle.

Pour le noyau 1,4-dihydropyridine, il se présente sous la forme d'un chromophore d'un hétérocycle azoté comprenant 2 doubles liaisons conjuguées en α,β respectivement à deux carboxylates, substitués en 3 et 5 du cycle et possédant trois autres substituants en 2, 4 et 6.

Le chromophore de base absorbe généralement à plus de 300 nm, la longueur d'onde maximale varie selon le type, la position et le nombre de substituants sur le cycle 1,4 dihydropyridine [92]. Pour le cas de l'amlodipine, l'absorption de ce chromophore apparaît à environ 367 nm.

Résumé : L'objectif de cette étude consiste à optimiser les paramètres de modification chimique de la β -cyclodextrine native. Les dérivés de la cyclodextrine obtenus ont ensuite été utilisés pour former des complexes d'inclusion avec un principe actif (l'amlodipine). Celui-ci est connu pour son rôle important dans le traitement de l'hypertension artérielle et pour ses problèmes de formulation causés par sa faible solubilité dans l'eau.

L'étude de la réaction de l'iodation de la β -CD a montré que le temps nécessaire pour former l'iodure de Vilsmeier est de 3h, tandis que la diminution des quantités du médiateur $P(Ph)_3$ permet d'aboutir à un meilleur rendement (92,53%).

Les techniques utilisées pour caractériser les dérivés de la β -CD sont l'IRTF et l'UV-visible.

Pour la formation des complexes d'inclusion trois méthodes de préparation ont été utilisées: Mélange physique, Kneading et l'évaporation du solvant. La caractérisation de ces derniers a été effectuée par spectroscopie infrarouge et UV-visible. Le ratio molaire de complexation a été déterminé selon la méthode de Higuchi-Connors, et indique que pour la β -CD native et la β -CD-NH₂ un complexe 1:1 est formé. La complexation avec la β -CD-NH₂ permet de mieux solubiliser l'amlodipine dans le cas de faibles concentrations en CD, par contre pour des concentrations plus élevées (ratio>1) nous aurons une meilleure solubilité de l'amlodipine par complexation avec la β -CD native.

Mots clés : β -cyclodextrine, Amlodipine, fonctionnalisation sélective, complexe d'inclusion, solubilité.

Abstract: The aim of the present study was to optimize the parameters of chemical modification of the native β -cyclodextrin. The cyclodextrin derivatives obtained were then used to form inclusion complexes with an active drug (amlodipine). This one is known for its important role in the treatment of hypertension and for its formulation problems caused by its low solubility in water.

The study of the iodination reaction of the β -CD showed that the time required to form the Vilsmeier iodide is 3h, while decreasing amounts of mediator $P(Ph)_3$ allows to achieve better performance (92.53%).

The techniques used to characterize the β -CD derivatives are the FTIR, UV-visible and the XRD.

For the formation of inclusion complexes three preparation methods were used: physical mixture, Kneading and solvent evaporating. Characterization of these latter has been performed by infrared spectroscopy and UV-visible. The molar ratio of complexation was determined by the method of Higuchi-Connors, and showed that for the native β -CD and β -CD-NH₂ a 1:1 complex is formed. The complexation with the β -CD-NH₂ allows better solubilization of amlodipine in the case of low concentrations of CD, against for higher concentrations (ratio > 1) a better solubility of amlodipine was obtained by complexation with native β -CD.

Keywords: β -cyclodextrin, Amlodipine, selective functionalization, inclusion complex, solubility.

ملخص: الهدف من هذه الدراسة هو تحسين معايير التعديل الكيميائي ل β -cyclodextrin الأصلية. إستخدمت بعد ذلك مشتقات cyclodextrin المتحصل عليها لتشكيل مجمعات إدراج مع العنصر النشط (الأملوديبين). وهو معروف بدوره المهم في علاج ارتفاع ضغط الدم ومشاكل في صياغته الناجمة عن ذوبانه المنخفض في الماء. أظهرت دراسة تفاعل إضافة اليود إلى β -CD أن الوقت اللازم لتشكيل يوديد Vilsmeier هو 3سا، بينما تناقص كميات الوسيط $P(PH)_3$ يسمح بتحقيق مردود أفضل (92.53%).

التقنيات المستخدمة لدراسة مشتقات β -CD هو FTIR، UV-visible و XRD. لتشكيل مجمعات الإدراج إستخدمت ثلاث طرق : الخلط المادي، العجن وتبخر المذيب. وقد أجريت دراسة خصائص هذه الأخيرة بواسطة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية - المرئية. تم تحديد النسبة المولية للمجمع باستخدام طريقة Higuchi-Connors، ويبين أن بالنسبة ل β -CD الأصلية و β -CD-NH₂ تم تشكيل مجمع 1:1. التجميع مع β -CD-NH₂ يؤدي إلى ذوبان أفضل للأملوديبين في حالة التركيزات المنخفضة ل CD، بينما التركيزات الأعلى (نسبة > 1) يؤدي إلى الحصول على ذوبان أفضل للأملوديبين من خلال التجميع مع β -CD الأصلية.

مفتاح الكلمات : cyclodextrin- β ، أملوديبين ، مجمعات الإدراج، ذوبان.